

# Dosage des catécholamines et métabolites par LCMS/MS

C. Le Goff

CHU de Liège

Belgique

Glem ULB 23/3/2018

## Définition :

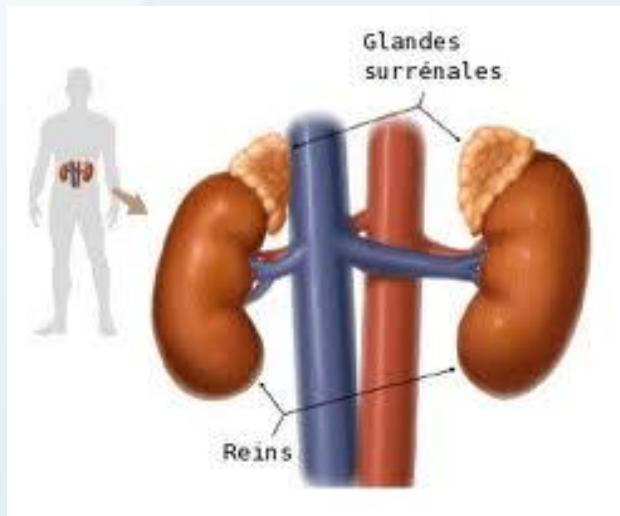
Tumeur svt bénigne de la médullosurrénale qui se manifeste par la sécrétion intermittente ou continue de catécholamines

## Synonyme :

- Médullosurrénalome
- Paragangliome surrénalien
- Chromaffinome
- Phaechromoblastome

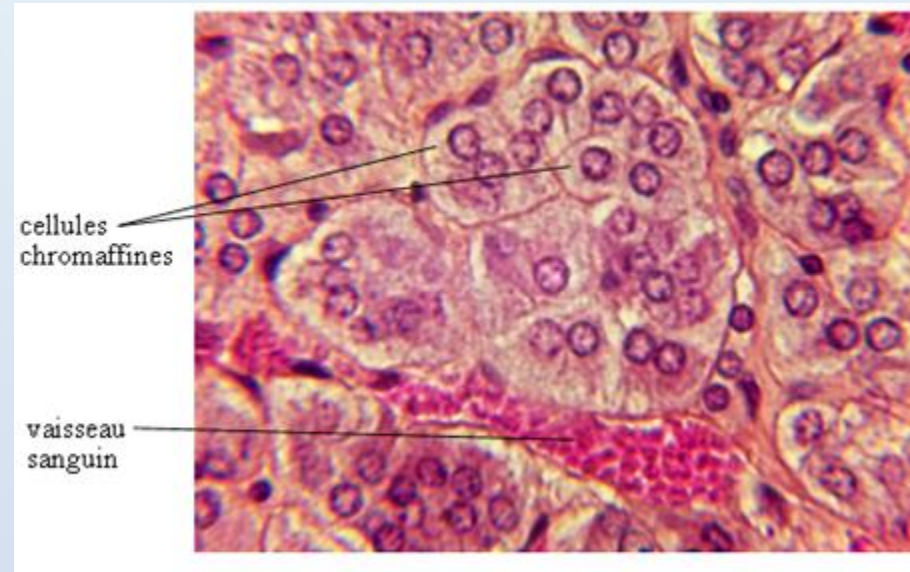
# La médullo-surrénale

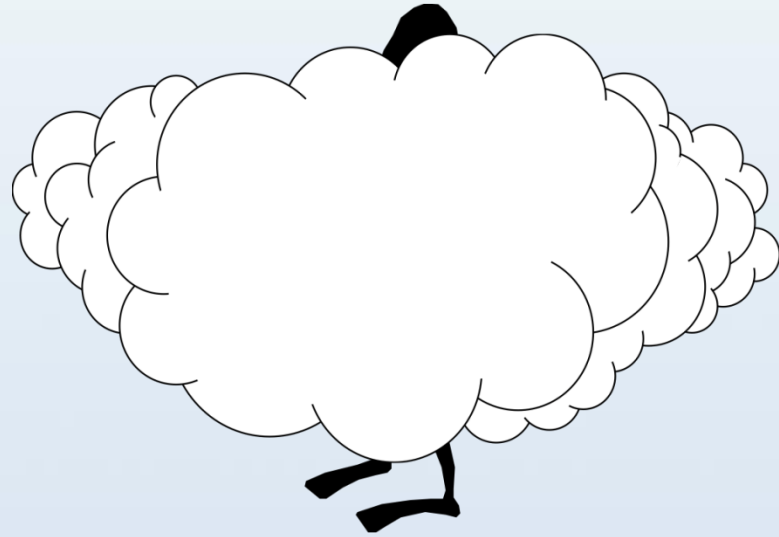
- Glandes surrénales = petites glandes paires  
3cm X 1cm



- Cellules du cortex : glucocorticoides, mineralocorticoides et androgènes surrénaliens
- Médullosurrénale: catécholamines

- Tumeur endocrine → développée à partir tissu chromaffine (issu des chaînes ganglionnaires sympathiques)
- HTA due à la sécrétion de catécholamines ou leurs métabolites
- 75% = au niveau des surrénales
  - 40% à gauche
  - 25% à droite
  - 10% des 2 côtés
- Tumeurs ectopiques :
  - vessie
  - hiles rénaux
  - médiastin post-péricardique
  - cou





« Nothing is known about its true incidence » de Graeff, 1964.

Entre 0,1 et 20 par million et par an

Mais HTA est fréquente!

« N'importe quel paragangliome  
peut donner lieu à n'importe quel signe,  
à n'importe quel symptôme,  
chez n'importe quel patient »

Pheochromocytoma, the impressionist tumor.

Ch. Proye et G.W. Geelhoed

1993

# Présentation clinique

- 1 Hypertension (sustained or paroxysmal) with the following:
  - (a) Symptoms (Table 51.1) and signs (Table 51.2) or co-existing disease or syndromes (Table 51.3)
  - (b) Group 3 or 4 retinopathy of unknown cause
  - (c) Weight loss
  - (d) Hyperglycaemia
  - (e) Hypermetabolism without hyperthyroidism
  - (f) Cardiomyopathy
  - (g) Resistance to antihypertensive therapy
  - (h) Orthostatic hypotension (without antihypertensive drugs)
  - (i) Unexplained fever
- 2 Persons with marked hyperlability of blood pressure
- 3 Recurrent attacks of symptoms and signs of pheochromocytoma, even if hypertension not demonstrated
- 4 Severe pressor response during or induced by the following:
  - (a) Anaesthesia induction
  - (b) Intubation
  - (c) Surgery
  - (d) Angiography
  - (e) Parturition
  - (f) Antihypertensive therapy
  - (g) Precipitating factors listed under 'Clinical presentation' in text
- 5 Unexplained circulatory shock
  - (a) During anaesthesia
  - (b) During pregnancy, delivery, or in puerperium
  - (c) During operation or post-operatively
  - (d) Following administration of phenothiazine drugs
- 6 Family history of pheochromocytoma, especially if hypertensive (also screen siblings and children)
- 7 Hypertension with disease or complications sometimes associated with pheochromocytoma (Table 51.1)
- 8 Hyperlabile BP or severe hypertension during pregnancy or apparent pre-eclampsia or eclampsia
- 9 Transient abnormal electrocardiogram during hypertensive episodes
- 10 X-ray evidence of suprarenal mass

- Fasting hyperglycaemia (two-thirds of sustained hypertensives)  
Glycosuria  
Impaired glucose tolerance  
 ↑ BMR (> 20%) (three-fourths of sustained hypertensives)  
 ↑ Plasma FFA (mainly sustained hypertensives) (? ↑ glycerol)  
 Hypercholesterolaemia  
 Anaemia or polycythaemia; ↑ WBC and ESR normal (? ↑ platelets)  
 ↓ Plasma and/or total blood volume  
 ↑ Blood urea < 60 mg/dl in 95%; with or without proteinuria (rarely slight serum creatinine ↑)  
 Hyperreninaemia ± aldosteronism  
 Hypokalaemia  
 ↑ Serum glucagon  
 Hypercalcaemia (caused by pheochromocytoma)  
 Hypoinsulinaemia (rarely hyperinsulinaemia + hypoglycaemia)  
 Hyperamylasaemia  
 Lactic acidosis (↓ pH, ↓  $P_{O_2}$ , ↑ phosphorus)  
 ↑ Serum PTH-like substance, ACTH, VIP, calcitonin, serotonin, gastrin, opioids, MSH, ? ANP, somatostatin (all rarely elaborated by pheochromocytoma)
- If associated with:
- Cushing's syndrome*  
 ↑ Serum ACTH (from pheochromocytoma or medullary thyroid carcinoma)  
 ↑ Plasma cortisol  
 ↑ Urinary steroids
- Hyperparathyroidism*  
 ↑ Serum calcium  
 ↑ Serum parathyroid hormone  
 ↓ Serum phosphate
- Medullary thyroid carcinoma*  
 ↑ Serum thyrocalcitonin  
 ↑ Serum prostaglandin ( $E_2$  and  $F_{2\alpha}$ )  
 ↑ Serum serotonin  
 ↑ Urinary 5-HIAA  
 ↑ Serum histaminase  
 ↑ Serum ACTH

# Quand suspecter un phéochromocytome ?

- Signes ou symptômes de décharge adrénérgique
- Hypertension résistante ou inhabituellement sévère
- Hypertension avant l'âge de 20 ans, sans explication
- Syndrome familial (MEN 2, NF1, VHL)
- Histoire familiale de phéochromocytome
- Incidentalome
- Hypertension critique en cours d'anesthésie, de chirurgie, d'angiographie
- Cardiopathie dilatée sans cause évidente



# Présentation clinique



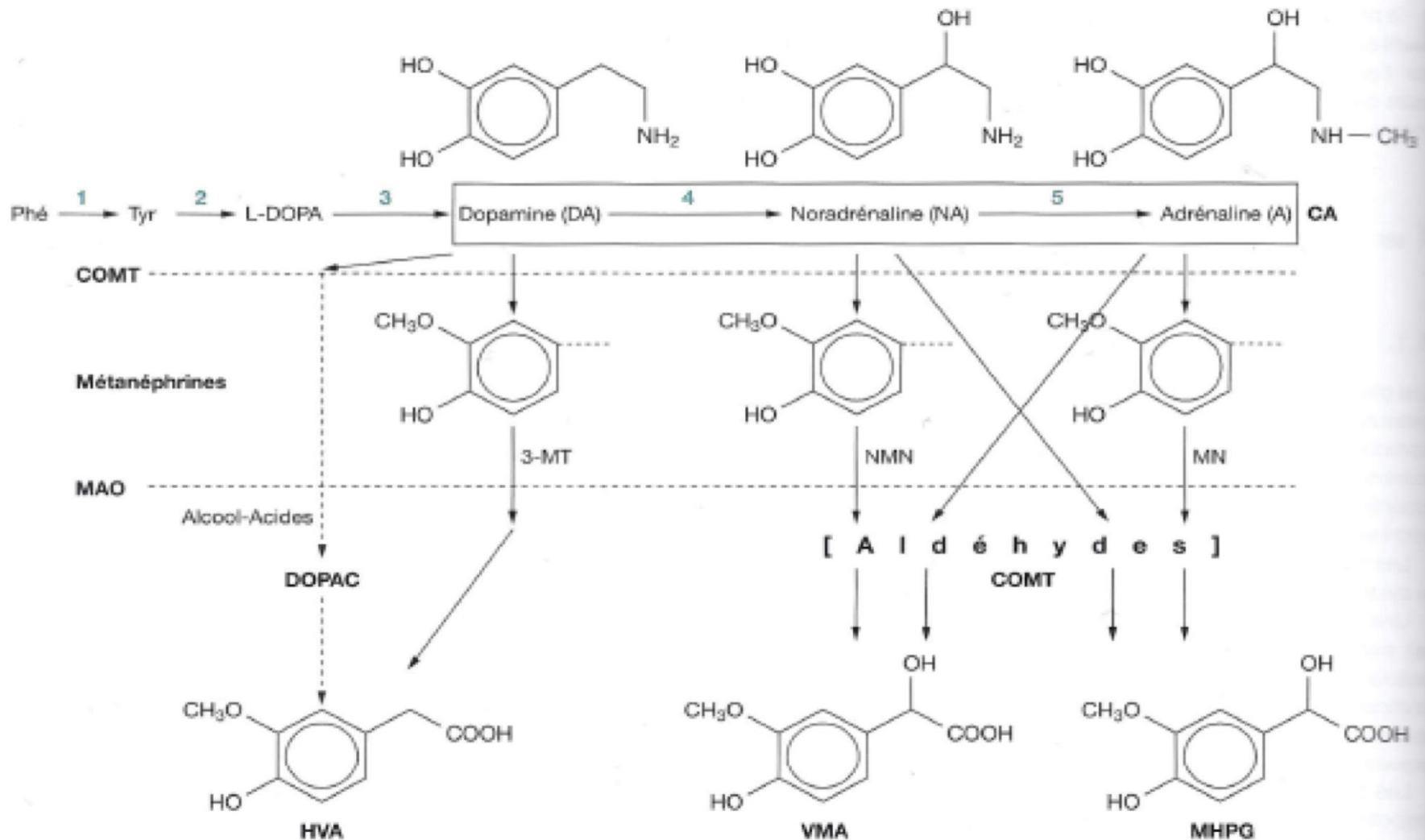


Figure 1 ■ Métabolisme des catécholamines.

(1) : Phénylalanine Hydroxylase, (2) : Tyrosine Hydroxylase, (3) : DOPA décarboxylase, (4) : Dopamine bêta-hydroxylase, (5) : Phényléthanolamine-N-méthyltransférase.

## Dosages sanguins et urinaires

- Catécholamines:

- Adrénaline, Noradrénaline et Dopamine

- Métanéphrines:

- métanéphrine (métadrénaline)- normétanéphrine (normétadrénaline)- méthoxytyramine

# Les tests diagnostiques selon les cliniciens

- Les tests biologiques :
  - les catécholamines urinaires de 24 heures et plasmatiques
  - les métanéphrines urinaires de 24 heures et plasmatiques
  - les autres tests...
- L'imagerie par tomodensitométrie et RMN
- L'imagerie par scintigraphie (MIBG, ...)

## Test d'inhibition à la clonidine :

- Positif (dim de la TA) si HTA non tumorale
- Négatif (pas de dim de la TA) si HTA d'origine tumorale

## Test de stimulation :

- dangereux surtout qu'il y a déjà une HTA

## Sang et urines (Milieu acide ou chélateur)

- Catécholamines plasmaticques : tube spécial préparé au laboratoire
- Catécholamines, métanéphrines, HVA, VMA urinaires : urines acidifiées !

- Plasma: repos strict 20 minutes avant le prélèvement.
- Catécholamines plasmatiques : à prélever en position couchée.
- Les urines doivent être recueillies pendant 24 heures, si possible pendant 3 jours de suite, après une crise hypertensive.
- Un régime alimentaire excluant chocolat, bananes, agrumes et comprenant une consommation modérée de thé et de café dans les 48 heures précédant le prélèvement s'impose.
- Stop médicaments.
- VMA : élimination urinaire diminue avec l'âge

# Médicaments interférents (catécholamines et métabolites)

## AUGMENTATION

### ANTI-PARKINSONIENS :

- Lévodopa : PROLOPA

### ANTI-HYPERTENSEURS :

- Nifédipine (ADALAT®)
- Bêta-bloquants
- Methyldopa

### ANTI DEPRESSEURS :

- Tricycliques
- Inhibiteurs recapture de la sérotonine
- IMAO (inhibiteurs monoamine oxydase)

### ANTI-PSYCHOTIQUES :

- Phénothiazines
- Chlopromazine

### AUTRES :

- Sympathicomimétiques
- Theophylline

## DIMINUTION

- Clonidine (antagoniste des récepteurs adrénergiques)



# Interférences !!! (exceptions)

- Stress, exercices physiques : N<sub>A</sub>x2
- Age : N<sub>A</sub> augmentation
- Nicotine : Catécholamines +métabolites augmentent
- Aliments (Café, thé, banane, vanille, chocolat) → augmentation

# Conservation

**Table 1. Effect of storage for to pH 4, in 4 different sar**

Study participant	24 h rt as percent of -20° C
F2	88.0
M2	95.0
M3	72.4
M4	86.7

**Table 2. Mean urinary concentration different samples after collection**

Days at room temperature	
Unpreserved MN (SD), % of initial value	Range
pH 4 MN (SD), % of initial value	Range
Unpreserved NMN (SD), % of initial value	Range
pH 4 NMN (SD), % of initial value	Range

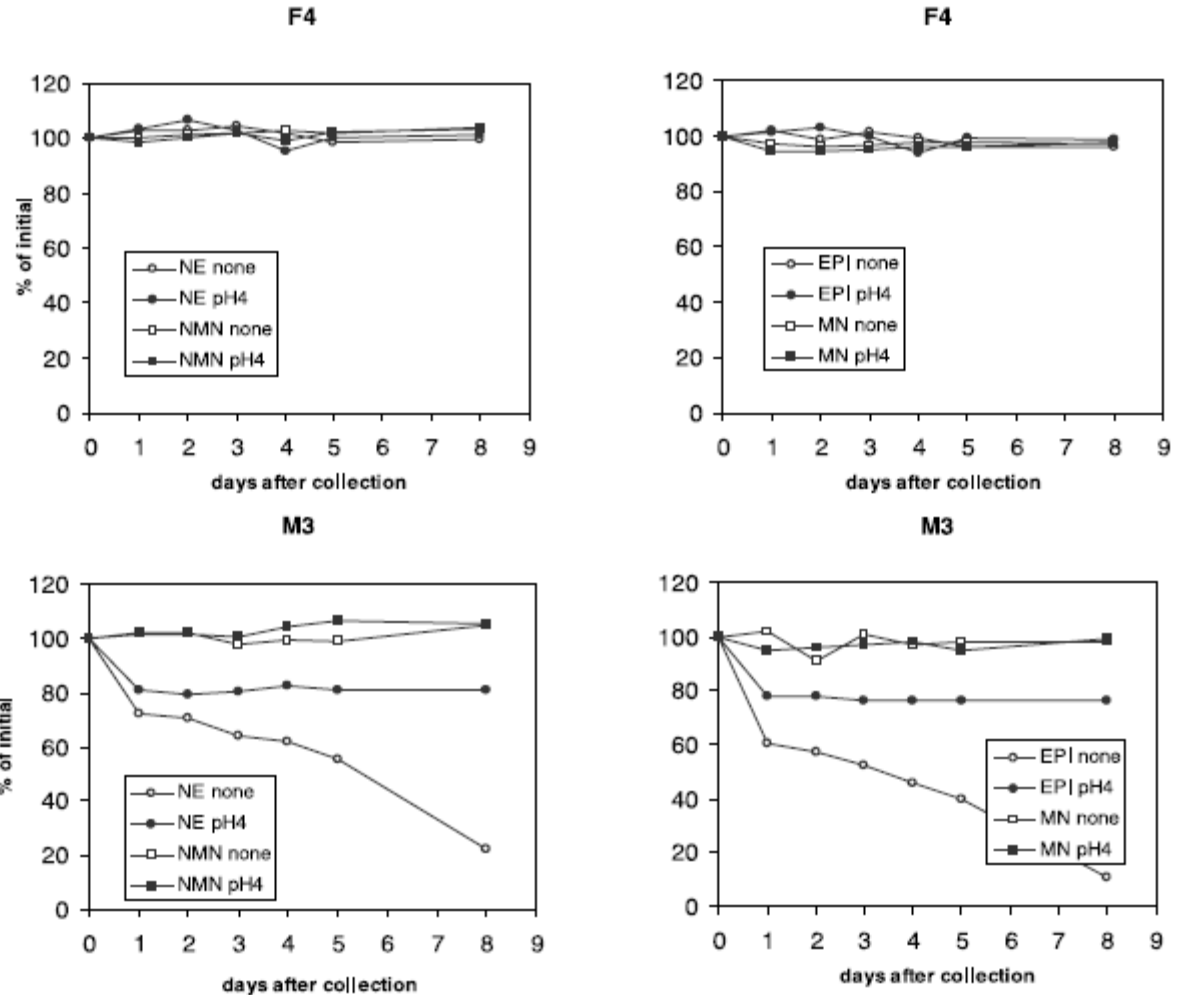


Fig. 1. Two representative patterns of catecholamine and metanephrine concentrations in urine during storage at room temperature for up to 8 days and the effect of acidifying to pH 4 after 24 h.

No detectable decay, as in depicted female study participant F4, was encountered in females F1 and F3, and the male M1. Male study participants M2 and M4 and female F2 displayed a pattern similar to the depicted male M3.

# Valeurs de référence CHU Liège

ANALYSES	TECHNIQUE	ECHANTILLON	VALEURS DE REFERENCE	UNITE	DIAGNOSTIC
Noradrénaline	LC-MS	Plasma	0 - 500	ng/L	Phéochromocytome
Adrénaline			0 - 100	ng/L	
Dopamine			0 - 145	ng/L	
Noradrénaline	LC-MS	Urine (HCl)	5 - 60	µg/24H	Phéochromocytome
Adrénaline			3 - 30	µg/24H	
Dopamine			0 - 600	µg/24H	
Métanéphrines	LC-MS	Plasma	Métanéphrine : 12-61 Normétanéphrine : 18-112	ng/L	Phéochromocytome
Métanéphrines	LC-MS	Urine	Normétanéphrine : < 500 (Enfant : < 7.1 µg/Kg/24h) Métanéphrine : < 400 (Enfant : < 5.7 µg/Kg/24h) Méthoxytyramine : < 450	µg/24h	Phéochromocytome

Selon la Mayo Clinic:

Adrénaline > 35 µg/24h

Noradrénaline > 170 µg/24h

Dopamine > 700 µg/24h

Métanéphrine > 400 µg/24h

Normétanéphrine > 900 µg/24h

# Cas clinique : exemple

Mme SC (DN : 23/10/1980)

Mère de jumeaux, policière

Symptômes = maux de dos violent avec impotence des MI

Diagnostic = tumeur surrénalienne droite (phéochromocytome surrénalien droit malin) + métastases synchrones au niveau du rachis et du pelvis osseux, ainsi qu'au niveau fémoral et huméral.

Traitement = chirurgie d'exérèse en date du 14/8/2013 + chimio + radiothérapie

		Descriptif	Unité	Normes	-130828-52 28/08/13	-130618-03 18/06/13
					✓	✓
✓	🔍	Noradrénaline plasmatique	ng/L	0 - 500	300	3689 (+)
✓	🔍	Adrénaline plasmatique	ng/L	0 - 100	47	560 (+)
✓	🔍	Dopamine plasmatique	ng/L	0 - 145	56	149 (+)

- Fluorimétrie (EDA) : manque de spécificité et de sensibilité
- Radio-enzymologie: spécificité et sensibilité satisfaisante ms durée +++ (+ radioéléments)
- HPLC: rapide !!!???, sensible et spécifique

## Préparation des échantillons

- Hydrolyse acide
- Extraction sur colonne échangeuse de cations
- Extraction liquide-liquide

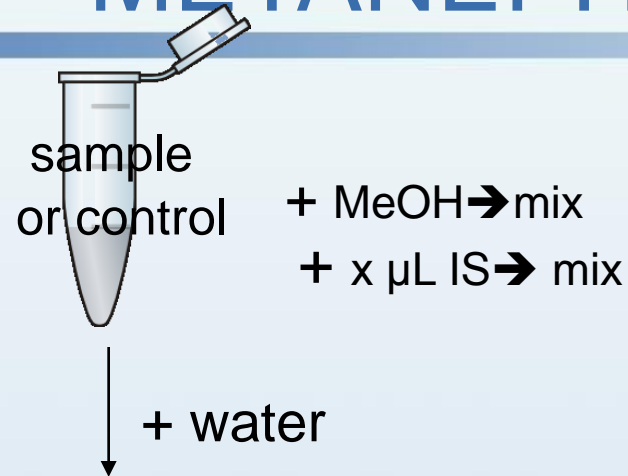
## Séparation chromatographique

- 70 min/ patient sur l'HPLC
- Détecteur électrochimique

## Matériel

- Colonne LiChroCART C18
- Solvants (Acétate de sodium, acide citrique, EDTA et acide sulfonique)

# Méthode (iMethod™-METANEPHRINE)



- ✓ SPE Wash solution then water(2x): conditionement
- ✓ Sample
- ✓ Wash (water+wash solution)
- ✓ Elution (SPE Elution solution) → new 96 well plate
- ✓ Dry
- ✓ Reconstitution (Reconstitution solution)



→ LC/MS-MS

# Méthode (iMethod™ -METHANEPHRINE)

## LC

- System controller CBM-20A
- 4 pumps LC-20AD (with semi-micro 50  $\mu$ L mixer)
- Autosampler SIL-20AC
- Column oven CTO-20AC

## Colonne:

- Colonne C18 pour molécules apolaires: *Phenomenex Analytical Column, 2.6  $\mu$ m, Kinetex HILIC Column, 50 x 2.1 mm*

## Solvants:

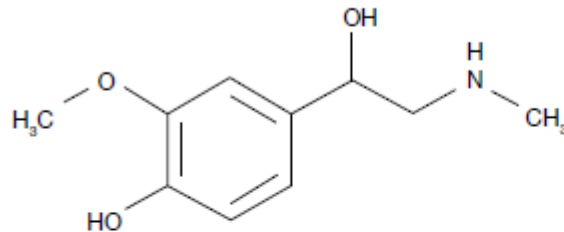
- Mobile Phase A (Ammonium Formate)
- Mobile Phase B (Acetonitrile)
- Needle Rinse (95:5 (v:v)) (Acetonitrile: Water)



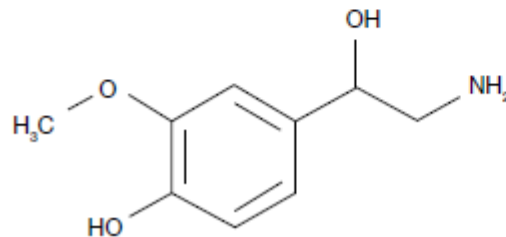


## Notre expérience analytique

Metanephrine (MN,  $\log P$  0.40,  $pK_a$  9.25)

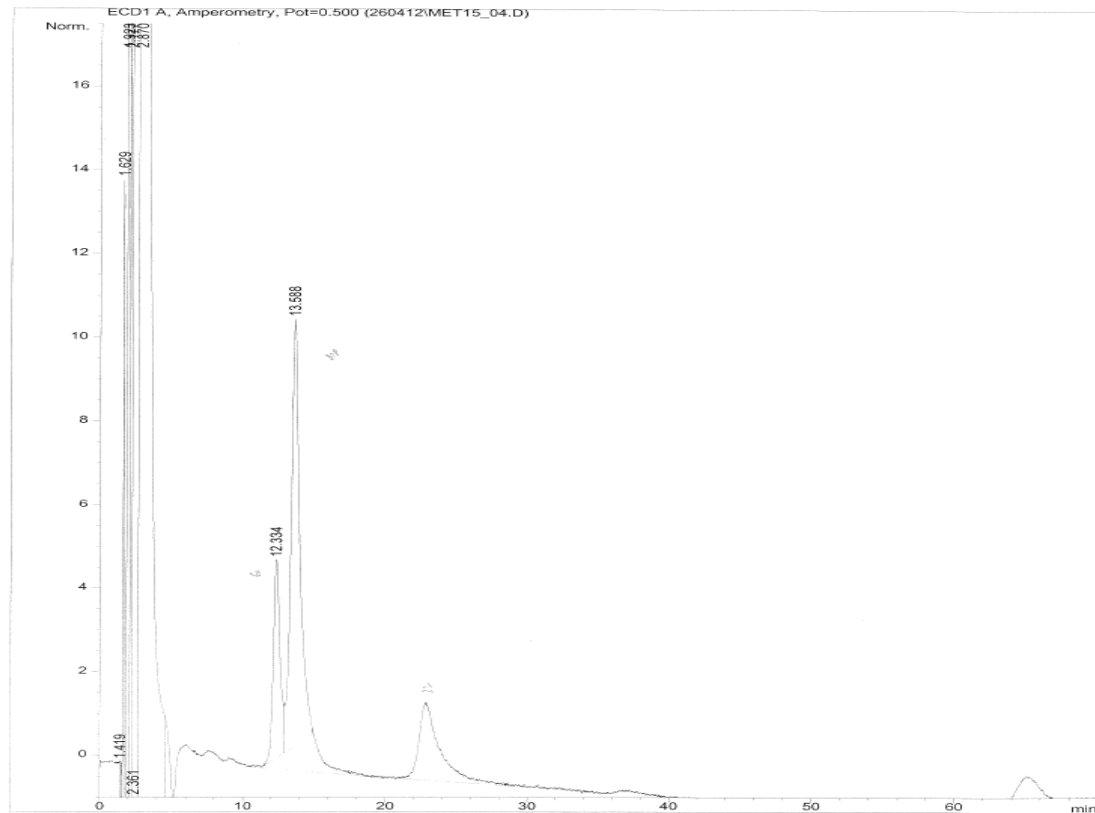


Normetanephrine (NMN,  $\log P$  -0.47,  $pK_a$  9.06)

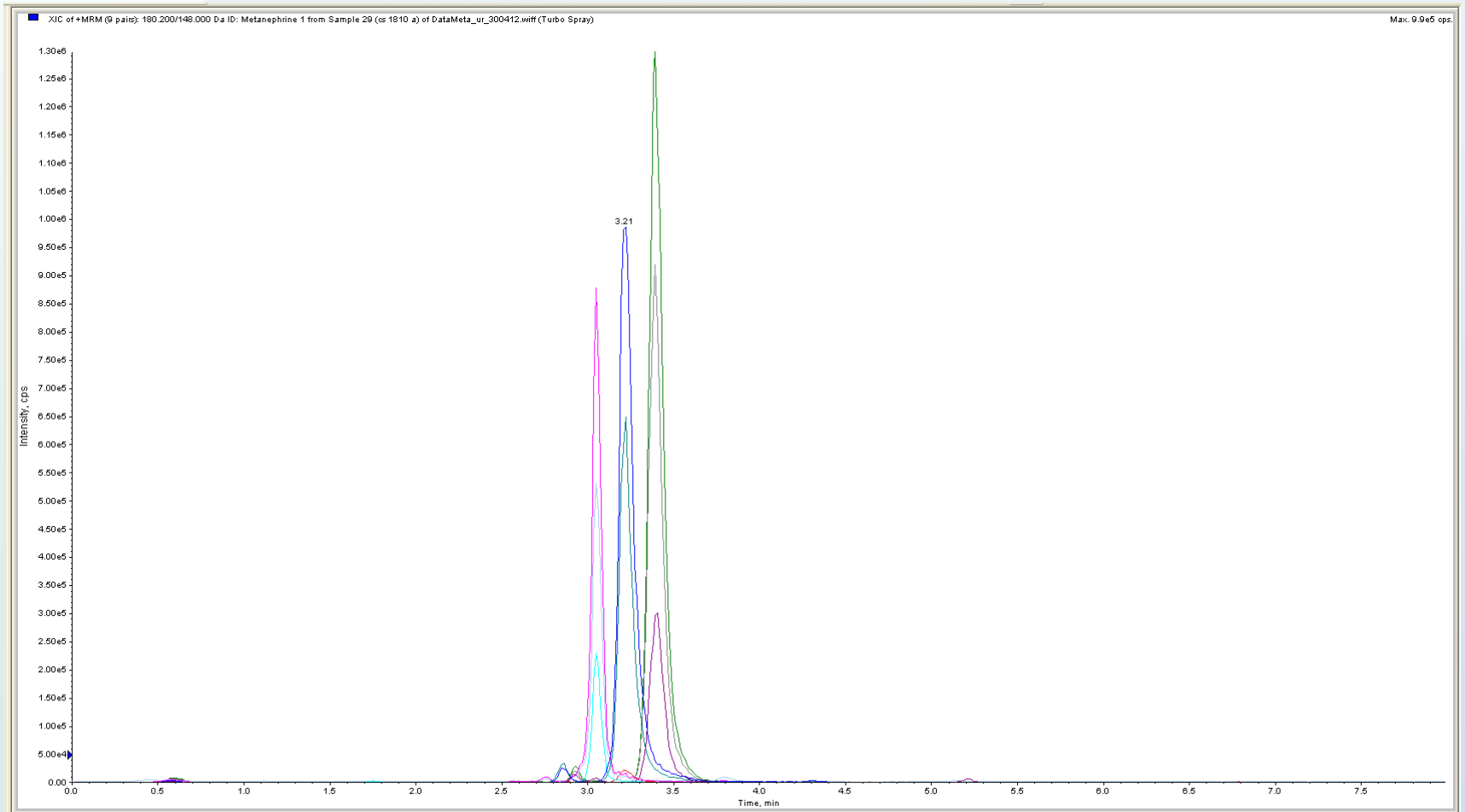


- 1 chromatogramme métanéphrine et norméтанéφrine en HPLC

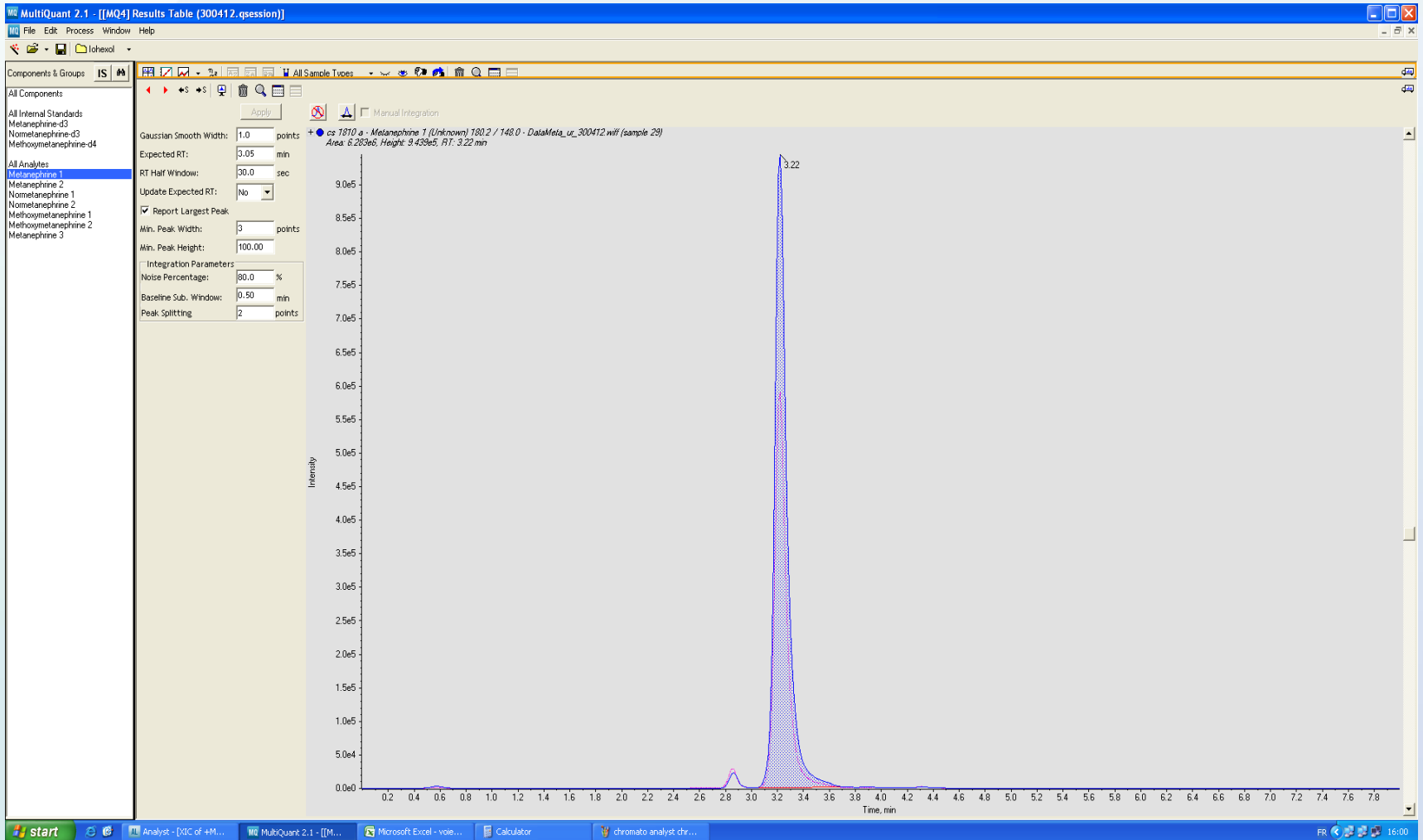
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\260412\MET15\_04.D Sample Name: CS 1810  
=====  
Injection Date : 4/26/2012 6:20:20 PM Seq. Line : 3  
Sample Name : CS 1810 Vial : 41  
Acq. Operator : yc Inj : 1  
Inj Volume : 40 µl  
Sequence File : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\META15YC.S  
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\META.M  
Last changed : 10/14/2011 1:54:58 PM by Yc  
=====



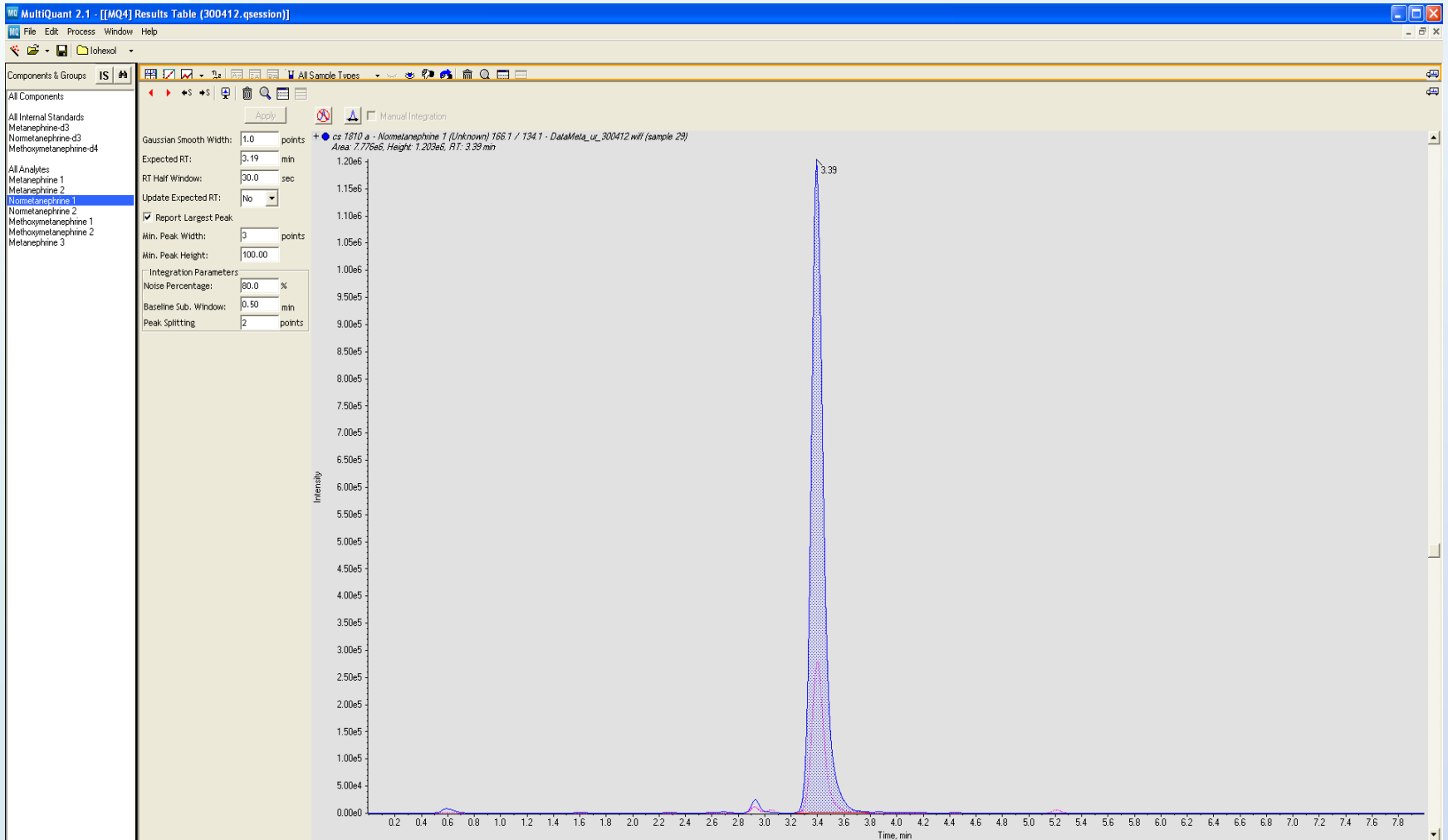
- 1 chromatogramme LC-MS/MS-Analyst



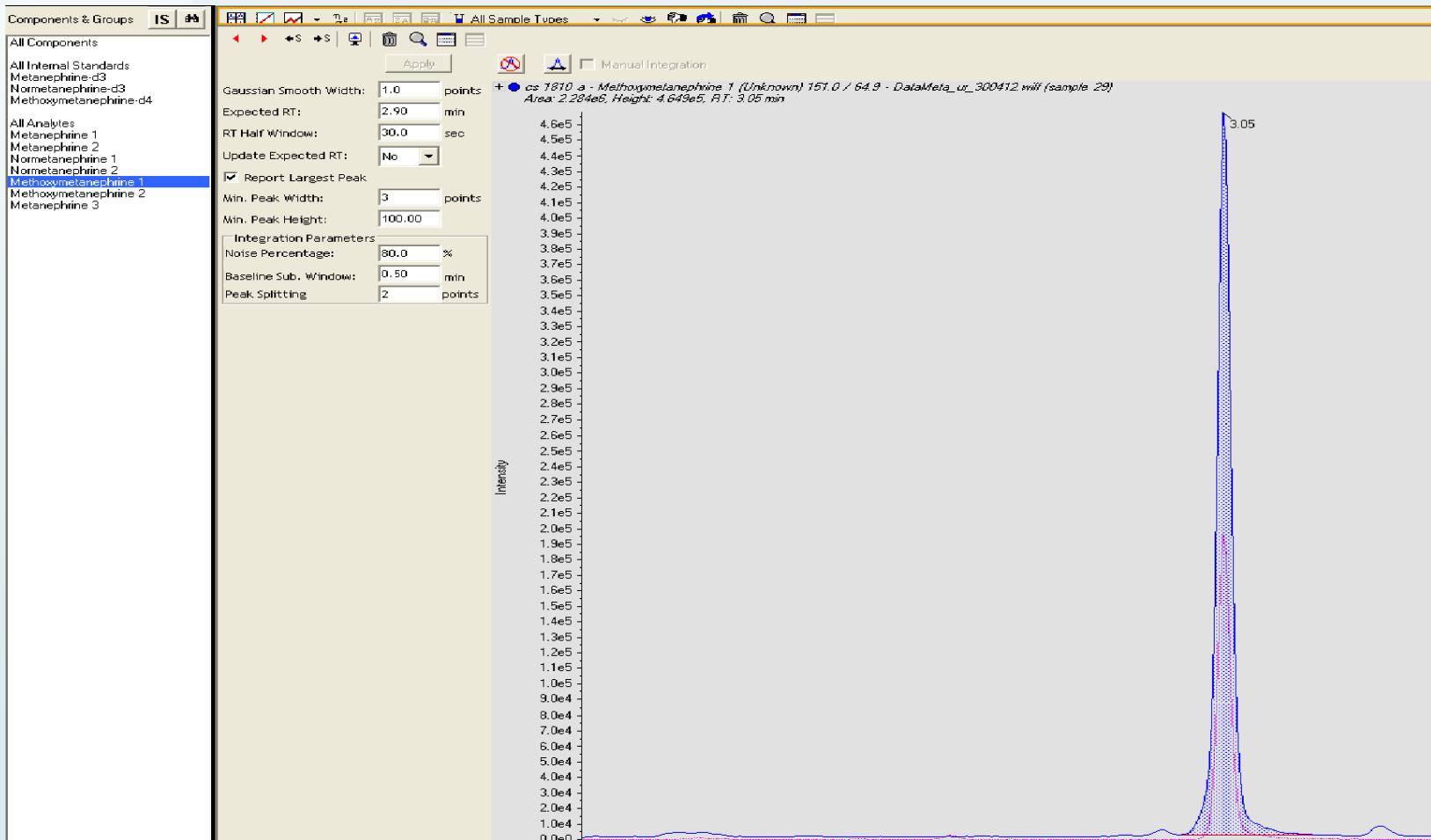
- 1 chromatogramme Méтанéphrine (LCMS/MS-Multiquant)



- 1 chromatogramme Normétanéphrine (LCMS/MS- Multiquant)

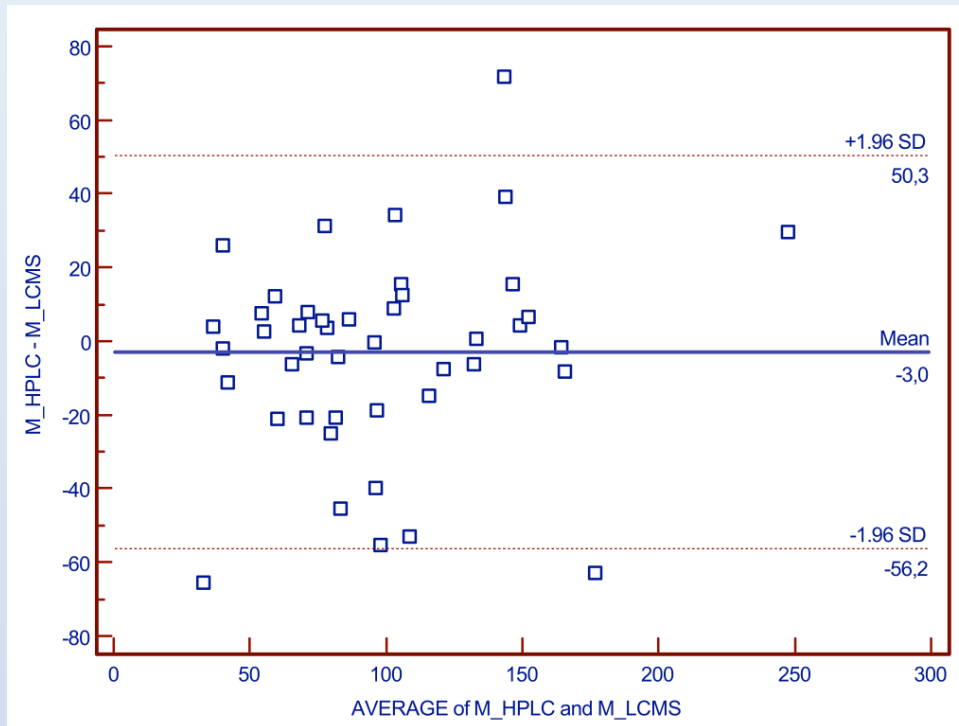


- 1 chromatogramme méthoxymétanéphrine (LCMS/MS-Multiquant)



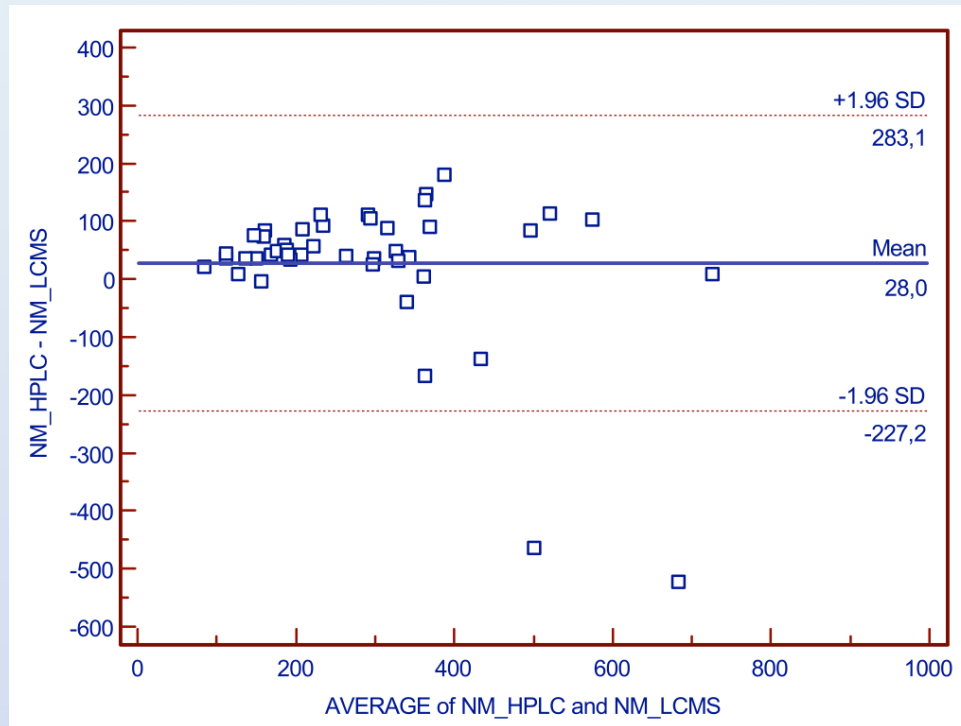
- Corrélation HPLC avec la LCMS/MS (Métanéphrines) → Bland-Altman

N=44



- Corrélation HPLC avec la LCMS/MS (Normétanéphrines) → Bland-Altman

N=44





# Performances méthanéphrines urinaires (CHU)

## HPLC

### •LOQ

–NM < 50 µg/24h

–M < 20 µg/24h

### •Répétabilité:

–NM: CV 4.4 et 2.2% (52 et 1085 µg/24h)

–M: CV 3.5 et 2.8 % (21 et 137 µg/24h)

### •Reproductibilité

–NM: 6.3 et 5.2 % (52 et 1085 µg/24h)

–M: 8.3 et 7% (21 et 137 µg/24h)

### •Linéarité:

–NM → 850 µg/24h

–M → 350 µg/24h

## LCMSMS

### •LOQ

–NM < 14.5 µg/24h

–M < 33.8 µg/24h

### •Répétabilité:

–NM: CV 6.8% (71-853 µg/24h)

–M: CV 8.4% (71-781 µg/24h)

### •Reproductibilité

–NM: CV 11.8% (71-853 µg/24h)

–M: CV 12.5% (71-781 µg/24h)

### •Linéarité:

–NM → 858 µg/24h

–M → 781 µg/24h

NM	LC	LCMS
Lot	2008	1511
Période	25/06/08- 02/11/10	06/08/12- 08/03/13
Moyenne ( $\mu\text{g}/24\text{H}$ )	1115	952
Moyenne cible ( $\mu\text{g}/24\text{H}$ )	951	992
Biais (%)	<b>17.2</b>	<b>4.0</b>
n	112	25

M	LC	LCMS
Lot	2008	1511
Période	25/06/08- 02/11/10	06/08/12- 08/03/13
Moyenne ( $\mu\text{g}/24\text{H}$ )	379	389
Moyenne cible ( $\mu\text{g}/24\text{H}$ )	332	363
Biais (%)	<b>14.2</b>	<b>7.2</b>
n	110	25

## HPLC

NM	11H01	11H02	11H03	11H04	11H05	11H06	12H01	12H02
n	40	41	43	45	42	41	44	45
Valeur (nmol/L)	1347	1587	6847	6309	1520	1036	953	1348
Cible (nmol/L)	1042	1600	6757	6693	1594	1017	1013	1450
Biais (%)	<b>29,3</b>	<b>-0,8</b>	<b>1,3</b>	<b>-5,7</b>	<b>-4,6</b>	<b>1,9</b>	<b>-5,9</b>	<b>-7,0</b>
Note	<b>1</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>

M	11H01	11H02	11H03	11H04	11H05	11H06	12H01	12H02
n	40	41	43	45	42	41	44	45
Valeur (nmol/L)	436	505	2593	2563	459	462	435	6395
Cible (nmol/L)	463	479	2681	2652	485	489	453	7014
Biais (%)	<b>-5,8</b>	<b>5,4</b>	<b>-3,3</b>	<b>-3,4</b>	<b>-5,4</b>	<b>-5,5</b>	<b>-4,0</b>	<b>-8,8</b>
Note	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>

## LCMSMS

NM	12H03	12H04	12H05	12H06	13BB01
n	43	39	41	42	43
Valeur (nmol/L)	5975	5868	1219	886	834
Cible (nmol/L)	7002	6813	1435	969	975
Biais (%)	<b>-14,7</b>	<b>-13,9</b>	<b>-15,1</b>	<b>-8,6</b>	<b>-14,5</b>
Note	<b>B-</b>	<b>B-</b>	<b>B-</b>	<b>TB</b>	<b>B-</b>

M	12H03	12H04	12H05	12H06	13BB01
n	43	39	41	42	43
Valeur (nmol/L)	3283	3189	7356	535	507
Cible (nmol/L)	2868	2840	7300	463	473
Biais (%)	<b>14,5</b>	<b>12,3</b>	<b>0,8</b>	<b>15,6</b>	<b>7,2</b>
Note	<b>B+</b>	<b>TB</b>	<b>TB</b>	<b>B+</b>	<b>TB</b>

- Gain de temps:
  - Préparation de l'échantillon
    - 8 h → 4 h
  - Analyse
    - 145 min/échantillon → 4 min/échantillon
- ➔ Temps dégagé pour d'autres développements

The LC-MS/MS analysis for plasma methoxycatecholamines has been in routine use at Lillebaelt Hospital since October 2015. During the last 9 months we have experienced an increasing problem with sample chromatograms showing lower peak height for metanephrine and d3-metanephrine, but not for normetanephrine and d3-normetanephrine. The problem only affects a few samples in each run, but these samples also show poor peak shape.

ID	nmol/L	RT	Height	IS Height	IS Area
103925053310	0.184	1.641	99195	1380271	41198.949
104015067002	0.174	1.641	90906	1331810	39968.402
104013039079	0.253	1.641	109027	1099551	33970.063
104013142902	0.219	1.645	112213	1308898	39134.094
104016704960	0.142	1.645	76800	1378553	41027.250
103925621955	0.154	1.641	67494	1119300	33431.785
104028003644	0.007	1.638	3448	1320566	39092.668
103925625179	0.089	1.645	11814	339080	13398.056
102856723339	0.084	1.641	44963	1363713	40535.309
00588	0.266	1.638	145009	1392977	40817.266
103925155687	0.254	1.641	138119	1388808	40643.723
103925521764	0.254	1.641	133601	1346045	40145.270
104028031524	0.098	1.645	50856	1325111	39736.594
103925605682	0.415	1.641	214733	1320319	38413.922
104016309280	0.177	1.641	101427	1465806	44083.316
104016685184 A	0.151	1.661	4785	80946	2553.916
103925319833 B	0.091	1.641	46716	1309007	39381.477
104008666915	0.447	1.655	26128	149287	4886.138
104027912950	0.077	1.641	45646	1506153	45535.066
102899810365	0.115	1.641	61975	1378523	40750.316
103243844483	0.136	1.641	73439	1375997	41025.898
103316381212	0.117	1.658	3703	80978	2403.075
00587	7.250	1.641	3794048	1336847	39437.715

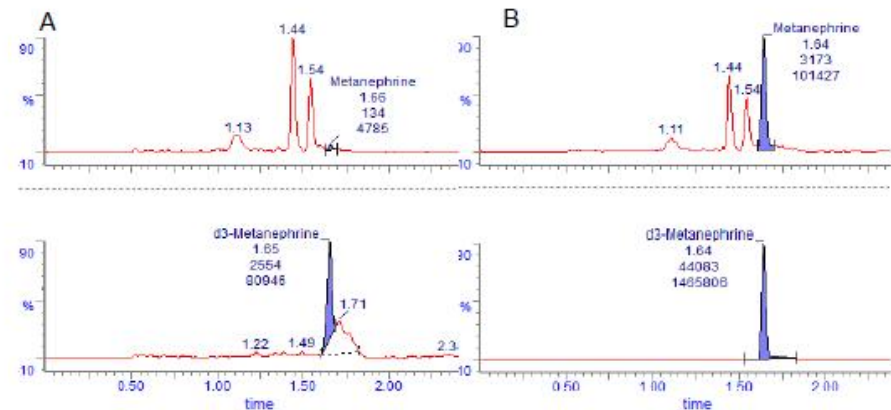


Figure 1. Chromatograms of a poor (A) and a good (B) sample. The metanephrine level in the two samples is comparable (0.151 and 0.177 nmol/L, respectively), however the peak heights and shapes are very different.

Table 1. Several samples in the sample list display lower internal standard peak height (marked in red). Chromatograms for the two samples A and B can be seen in figure 1.

# Interférences

We suspected that the problem could be caused by an interfering compound in these samples that co-elutes with metanephrine, causing ions suppression. A full-scan of one of these samples displayed that a massive peak of 130 m/z co-eluted with metanephrine (Figure 2). Metformin has the molecular weight of 129 g/mol and we therefore added an MRM transition for metformin to the method. Next, the analysis of a test solution of metformin also co-eluted with metanephrine and when re-analyzing a patient sample the chromatogram displayed a massive peak for metformin (Figure 3).

Metformin is widely used in high doses (up to 2000 mg/day), in the treatment of diabetes type 2. A large patient group that often show hypertension, and therefore could have indication for methoxycatecholamine measurement.

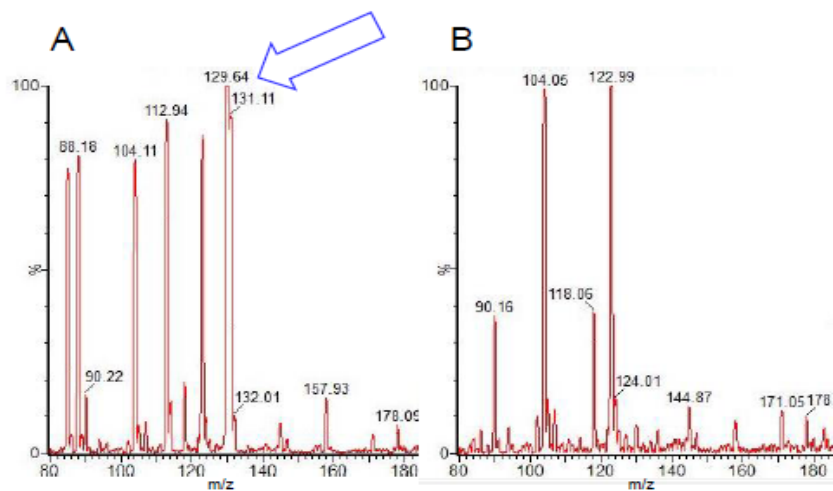


Figure 2. Mass spectrum showing peaks co-eluting with metanephrine identified in a full-scan of a poor (A) and good (B) sample. An extra peak at 130 m/z was identified (marked with blue arrow) in the poor sample.

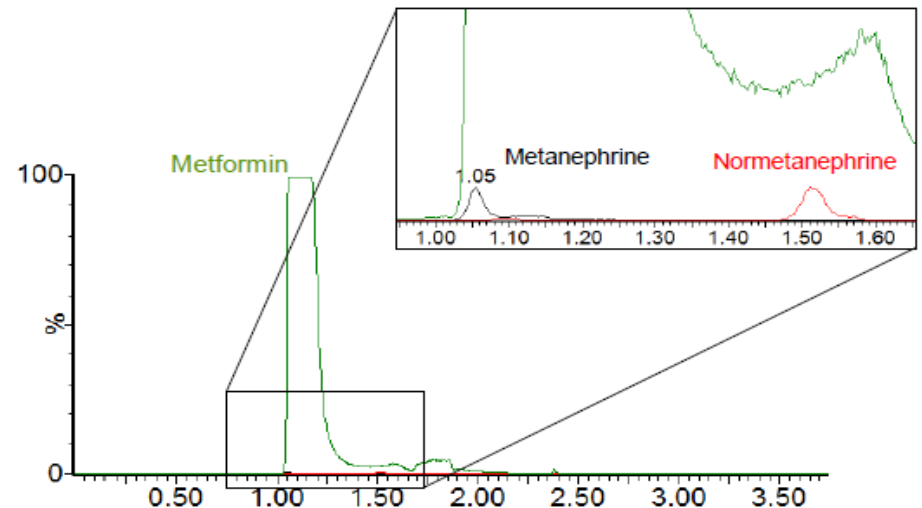


Figure 3. Chromatogram of a patient sample with an extra MRM transition for metformin (130.1>70.9) Signal is normalized to the largest peak in the chromatogram.

# Les catécholamines

## Préparation des échantillons avec des plaques SPE 96 puits

1. Poser une plaque SPE 96 puits sur une plaque de récupération (utilisée pour le recueil des résidus).
2. Charger 200 µl d'échantillon/de calibrateur/de contrôle dans chaque cavité de la plaque SPE 96 puits.
3. Ajouter 50 µl de mélange d'étalons internes (Internal Standard Mix) et 600 µl de tampon de neutralisation (contient un indicateur).
4. Vérifier la couleur : lorsque la couleur de l'échantillon passe au vert, cela signifie que la valeur de pH est correctement ajustée pour l'étape suivante d'extraction en phase solide.

Veuillez-vous reporter à ce propos aux indications de la figure 3 relatives à l'ajustement du pH.

Il est essentiel de procéder rapidement lors de l'ajustement du pH des échantillons à préparer. Si le temps de séjour des échantillons dans le tampon de neutralisation est trop long, il en résulte des pertes de surface pour certains paramètres. Le ratio (paramètre/étalon interne) ne s'en trouve pas affecté tant que la durée maximale de séjour est limitée à 2 heures.

5. Centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g. Jeter l'éluat.
6. Ajouter 0,9 ml de tampon de lavage 1 et centrifuger pendant 5 minutes à 150 x g. Jeter l'éluat.
7. Ajouter 2 x 0,9 ml de tampon de lavage 2, centrifuger à chaque fois pendant une minute à 150 x g. Jeter l'éluat.
8. Centrifuger pendant 1 minute à 2000 x g jusqu'à séchage complet. Jeter l'éluat.
9. Poser la plaque SPE 96 puits sur une nouvelle plaque de récupération
10. Pipeter 500 µl de tampon d'élution dans chaque cavité puis centrifuger pendant 2 minutes à 100 x g.

## Préparation continue des échantillons avant l'injection

11. Pipeter 500 µl de tampon de dilution dans chaque cavité de la plaque de récupération.
12. Recouvrir la plaque de récupération avec un couvercle souple.
13. Agiter la plaque de récupération durant 2 minutes à 900 tours/min (orbite de 2 mm) puis transvaser le contenu dans l'injecteur automatique.
14. Injecter jusqu'à 10 µl de chaque éluat dans le système LC-MS/MS.



# Kit Chromsystem

**Pr** Si la couleur des échantillons ne passe pas au vert et reste violette/gris-violette, cela signifie que les échantillons n'ont pas (ou pas suffisamment) été acidifiés lors du prélèvement. L'étape suivante d'extraction en phase solide se déroulera quand même correctement mais il est possible que la stabilité moléculaire ne soit pas assurée pour tous les paramètres (adrénaline, noradrénaline, dopamine, sérotonine) (cf. chap. 5.1 : prélèvement et conservation des échantillons de patients). Il est donc essentiel de veiller à ce que les urines aient été correctement prélevées (acidifiées) et à ce que les analyses soient répétées plusieurs fois.

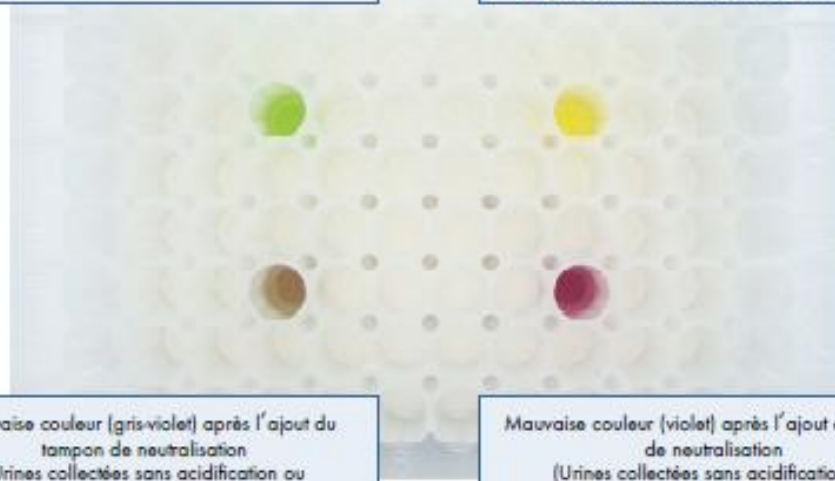
Si les échantillons prennent une couleur jaune, ajouter du réactif d'ajustement (n° de commande : 80603) par paliers de 20 µl en agitant doucement jusqu'à ce que la couleur passe au vert.

Il  
 de  
 pc  
 mi

Bonne couleur (vert) après l'ajout du tampon de neutralisation

Mauvaise couleur (jaune) après l'ajout du tampon de neutralisation

— Ajouts de réactif d'ajustement par paliers de 20 µl jusqu'à ce que la couleur passe au vert

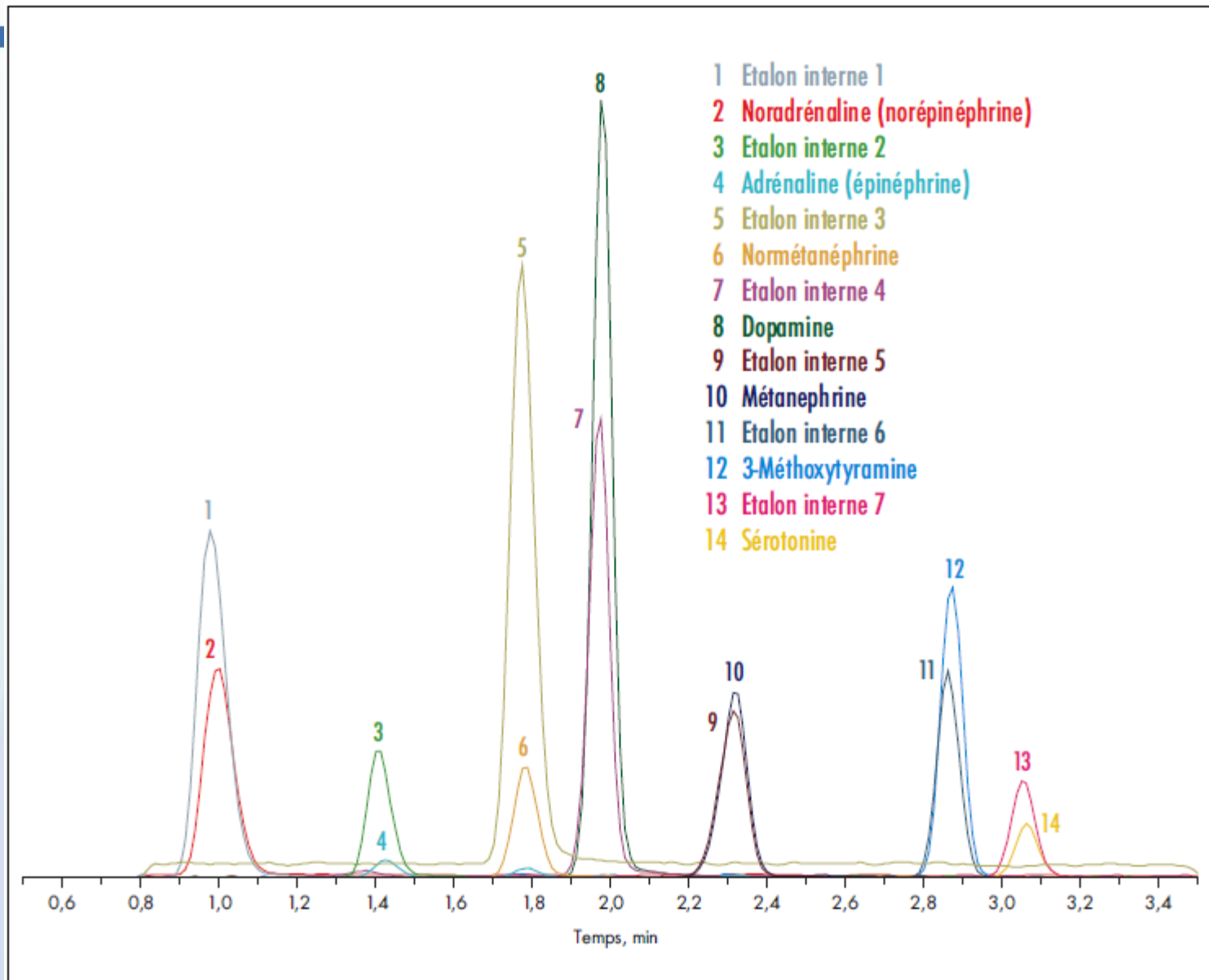


Mauvaise couleur (gris-violet) après l'ajout du tampon de neutralisation  
 (Urines collectées sans acidification ou avec une acidification insuffisante)

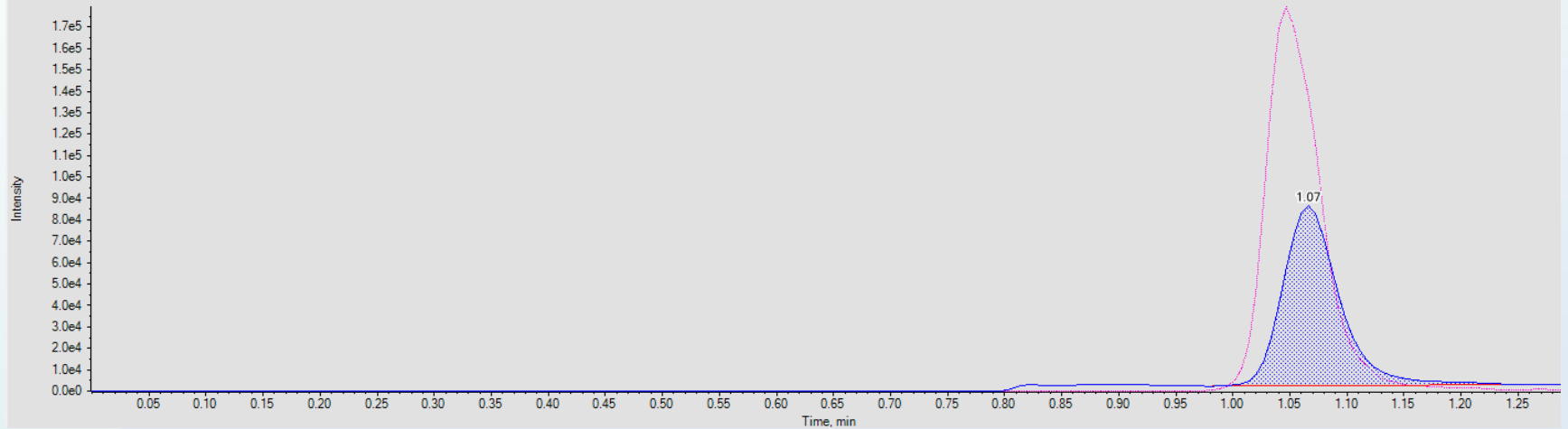
Mauvaise couleur (violet) après l'ajout du tampon de neutralisation  
 (Urines collectées sans acidification ou avec une acidification insuffisante)

**Pr**

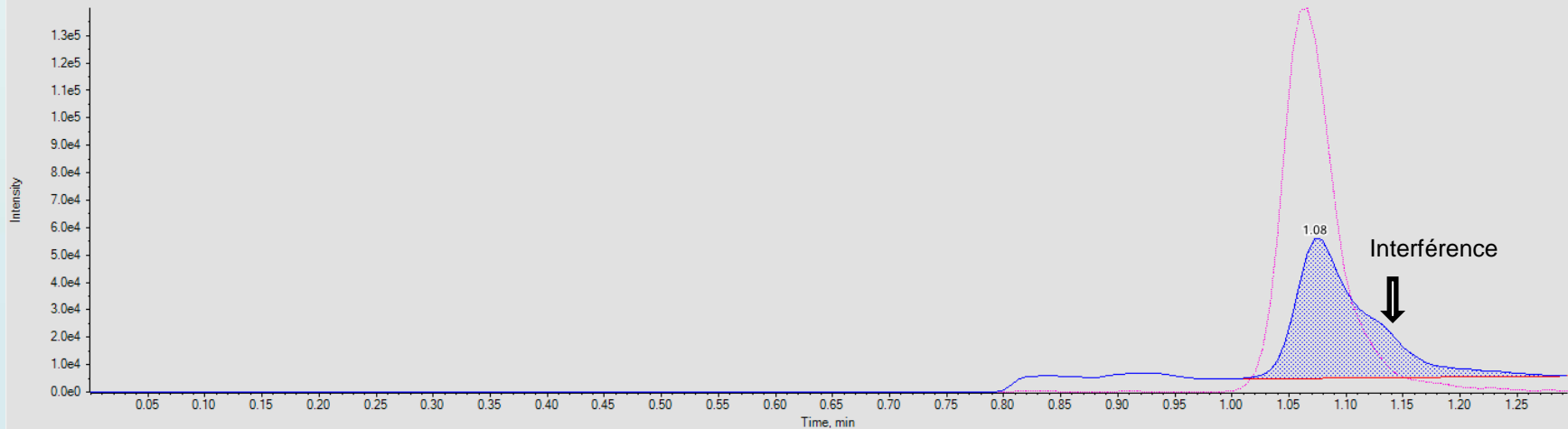
# Kit Chromsystem



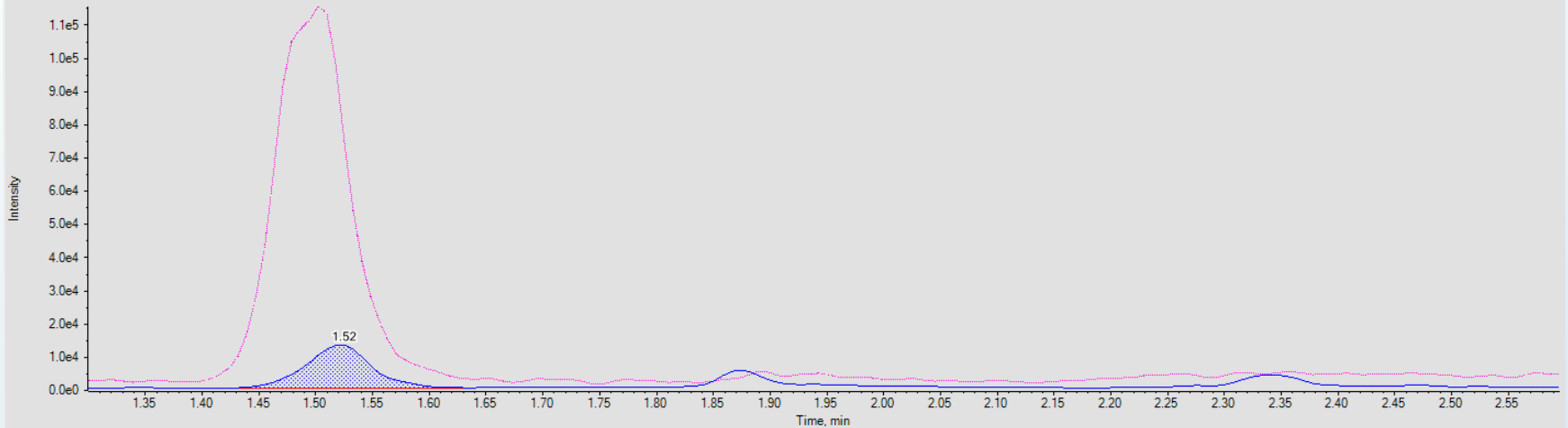
+ ● Cal 3 #2817 - Noradrenaline (Standard) 152.1 / 107.0 - D:\Analyst Data\Projects\CS Catecholamines in Urine\Data\20180206\_CS Catecholamines in Urine\_Installation.wiff (sample 19)  
Area: 2.9e5, Height: 8.418e4, RT: 1.07 min



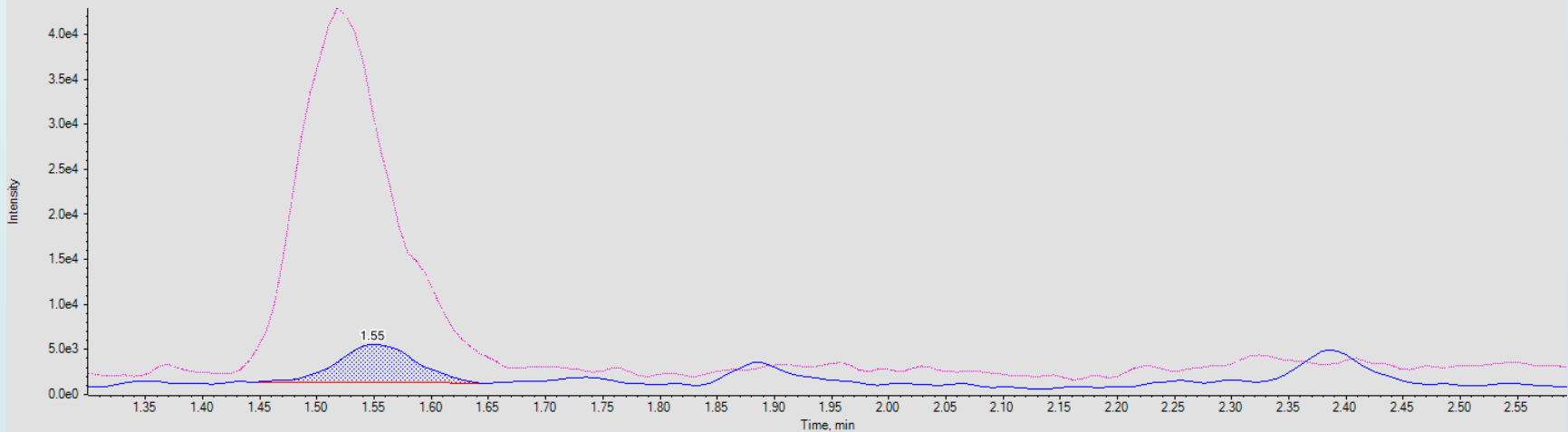
+ ● 110205013201 - Noradrenaline (Unknown) 152.1 / 107.0 - D:\Analyst Data\Projects\CS Catecholamines in Urine\Data\180214 CATU.wiff (sample 13)  
Area: 2.2e5, Height: 5.105e4, RT: 1.08 min

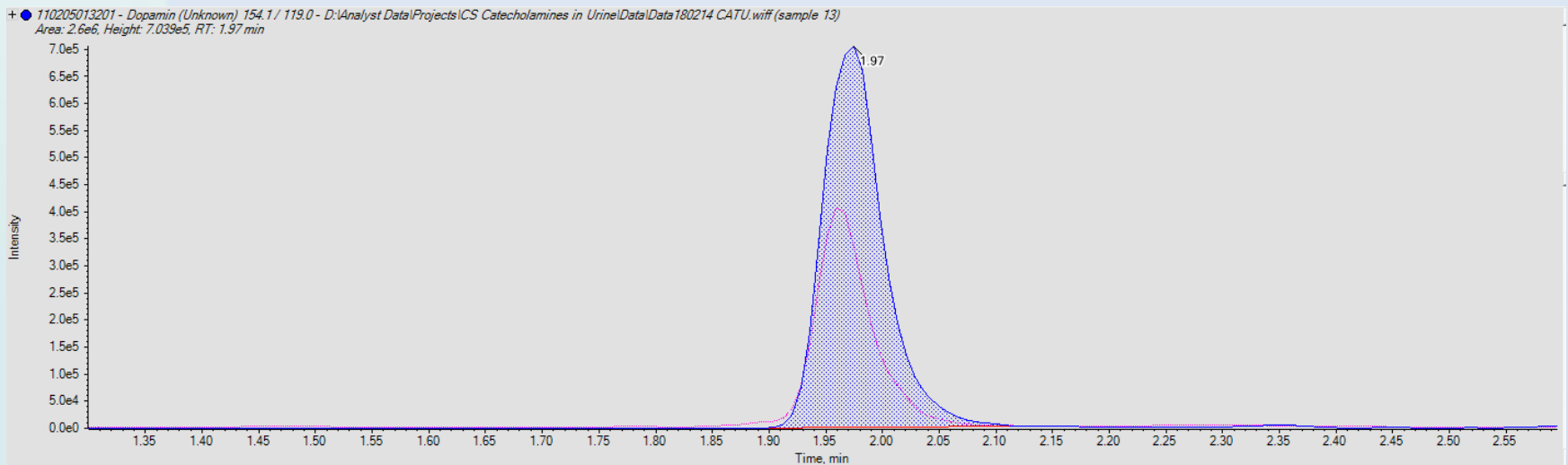
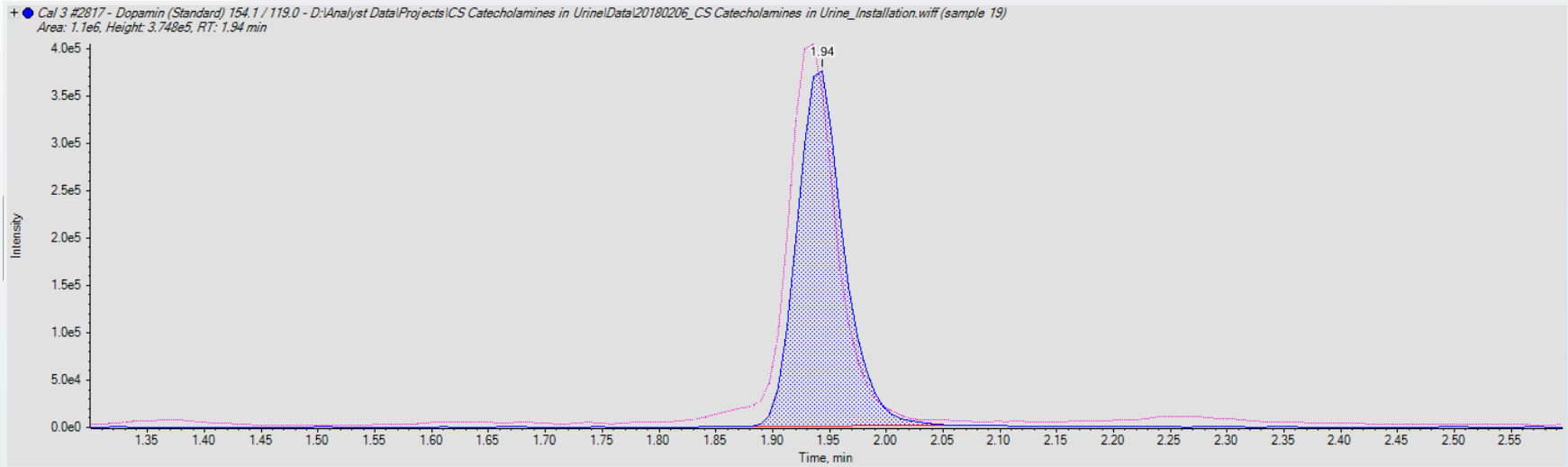


+ ● Cal 3 #2817 - Adrenaline (Standard) 166.1 / 151.1 - D:\Analyst Data\Projects\CS Catecholamines in Urine\Data\20180206\_CS Catecholamines in Urine\_Installation.wiff (sample 19)  
Area: 5.3e4, Height: 1.295e4, RT: 1.52 min



+ ● 110205013201 - Adrenaline (Unknown) 166.1 / 151.1 - D:\Analyst Data\Projects\CS Catecholamines in Urine\Data\180214 CATU.wiff (sample 13)  
Area: 2.0e4, Height: 4.242e3, RT: 1.55 min





Merci pour votre attention

