

VMA, HVA, 5-HIAA IN URINE

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* do ácido vanilmandélico (VMA), ácido homovanílico (HVA) e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) em amostras de urina humana.

Nº de lote, data de fabricação e validade: vide rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
1000-C	Kit Reagente para Análise de VMA, HVA e 5-HIAA em Urina (100 análises)

Para informações detalhadas sobre o método e procedimentos, favor consultar o Manual de Instruções para análise de VMA, HVA e 5-HIAA em Urina por HPLC no site www.biosys.com.br.

FINALIDADE PRETENDIDA

O ensaio da Chromsystems "VMA, HVA, 5-HIAA in urine" é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* para uso profissional em laboratórios clínicos, destinado à determinação quantitativa do ácido vanilmandélico (VMA), ácido homovanílico (HVA) e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) em amostras de urina humana.

A preparação das amostras é realizada manualmente e a separação analítica é feita por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica (HPLC-ECD).

O ensaio destina-se a ser utilizado em pacientes nos quais os níveis urinários de ácido vanilmandélico (VMA) e ácido homovanílico (HVA) têm importância clínica, principalmente como auxílio no diagnóstico e monitoramento de suspeita de neuroblastoma.

Além disso, o ensaio é destinado a pacientes em que o nível urinário de ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) tem importância clínica, principalmente como auxílio no diagnóstico e monitoramento de suspeita de carcinoides e tumores neuroendócrinos secretores de serotonina.

Limitações clínicas

Não há intervalos de referência universalmente aplicáveis para os analitos abrangidos no ensaio "VMA, HVA, 5-HIAA na urina". Os resultados obtidos usando diferentes métodos de teste não podem ser comparados. Os laboratórios devem indicar o método usado para análise para permitir a interpretação precisa dos resultados.

Os usuários devem especificar seus próprios intervalos de referência com base na avaliação clínica. Fatores de conversão entre diferentes métodos de análise não devem ser usados para prever resultados para um paciente específico.

Para aumentar a confiabilidade e minimizar o risco de resultados falso-negativos, os testes com resultados limítrofes devem ser repetidos [16]. Além disso, procedimentos diagnósticos de segunda e terceira ordem (por exemplo, histologia, biópsia, ressonância magnética, tomografia computadorizada, sonografia, cintilografia, endoscopia etc.) são recomendados [17].

Este produto IVD não é adequado para detectar neoplasias neuroendócrinas que são bioquimicamente silenciosas, não funcionais ou não secretoras, respectivamente. Por exemplo, uma pequena porcentagem de pacientes com neuroblastoma não secretam VMA ou HVA [13].

VMA e HVA são limitados para detectar tumores acima do estágio III. Estágios iniciais e tumores pequenos podem ser perdidos. De acordo com a literatura, a excreção renal de VMA e HVA é aumentada apenas quando tumores pesando mais de 5 g estão presentes [13].

A triagem para neuroblastoma, incluindo VMA e HVA, <1 ano de idade não é recomendada, porque a frequência de neuroblastomas de alto risco não pode ser reduzida pela triagem e há regressões espontâneas [18,19].

Uma única determinação de 5-HIAA na urina pode não ser suficiente para detectar a síndrome carcinoide. Para aumentar a confiabilidade diagnóstica e minimizar o risco de achados falso-negativos, a determinação múltipla é recomendada para testes

com resultados limítrofes e pacientes com forte evidência clínica [20].

Testes para VMA com amostras de isoladas de urina podem ter menor detecção e maiores taxas de falso-positivo do que coletas de 24 h, porque a quantidade de VMA liberada na urina varia ao longo do dia [13].

5-HIAA não é recomendado para pacientes nos quais há suspeita de carcinoma neuroendócrino digestivo [21].

Pacientes com distúrbios de má absorção, incluindo enteropatia sensível ao glúten (doença celíaca), espru tropical, doença de Whipple, estase intestinal e fibrose cística (obstrução intestinal crônica) podem ter valores de 5-HIAA mais altos [20,22].

Os resultados de pacientes com insuficiência renal podem não ser confiáveis devido à influência da função renal prejudicada na eliminação urinária [16]. Especialmente para 5-HIAA urinário, pacientes em diálise ou pacientes com insuficiência renal podem ter valores mais baixos [20].

Considere as informações sobre coleta e armazenamento de amostras de pacientes (consulte o item "Amostras") e sobre possíveis interferências (consulte o item "Interferentes") ao usar o ensaio.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

Este ensaio da Chromsystems permite a determinação quantitativa simultânea de VMA, HVA e 5-HIAA na urina. A preparação da amostra consiste em uma extração em fase sólida eficiente, que pode ser realizada manualmente ou de forma semiautomatizada. Os analitos e os padrões internos são então separados cromatograficamente em uma corrida única HPLC isocrática e quantificados usando um detector eletroquímico (ECD). O uso de dois padrões internos garante alta precisão e confiabilidade na quantificação dos analitos. O Padrão Interno 1 (ISTD 1 – art. 1004/B) é usado para a determinação de VMA e HVA, e o Padrão Interno 2 (ISTD 2 – art. 51303/B, material necessário, não fornecido) para a determinação de 5-HIAA.

REAGENTES

Produto	Composição	Apresentação
Fase Móvel (Mobile Phase)	Metanol, ácido fórmico e água	1x1000 mL
Padrão Interno VMA, HVA (Internal Standard)	Derivado de VMA	1 x 100 mL
Mix de Analitos (Analytes Mix)	Analitos (VMA, HVA e 5-HIAA) e derivado de VMA	5 x 1 mL (liof)
Tampão de Lavagem I (Wash Buffer I)	Solução de amônia	1 x 300 mL
Tampão de Lavagem II (Wash Buffer II)	Solução de Ácido bórico	2 x 300 mL
Tampão de Eluição (Elution Buffer)	Solução de ácido fórmico	1 x 200 mL
Solução Finalizadora (Finisher)	Hidróxido de sódio	1 x 10 mL
Colunas de preparação (Sample Clean Up columns)	Resina de troca iônica	2 x 50 unidades

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM DOS REAGENTES

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de validade indicada nos rótulos, desde que as condições de armazenamento estabelecidas sejam obedecidas.

A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenagem para os reagentes do kit

Artigo	Produto	Armazenamento
1011	Fase Móvel	18 – 30°C
1004/B	Padrão Interno VMA, HVA	2 – 8°C
1033	Mix de Analitos	2 – 8°C
1005	Tampão de Lavagem I	18 – 30°C
1006	Tampão de Lavagem II	18 – 30°C
1077	Tampão de Eluição	18 – 30°C
1013	Solução Finalizadora	18 – 30°C
1008	Colunas de Preparação	18 – 30°C

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Favor consultar a ficha de segurança dos reagentes e adotar as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto. As instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Resíduos perigosos

A Fase Móvel (art. 1011) contém solventes orgânicos. Descarte os resíduos do produto em um recipiente coletor para solventes orgânicos livres de halogênio. O Tampão de Lavagem II (art. 1006) contém uma substância potencialmente prejudicial à fertilidade ou ao feto e deve ser coletado e descartado como resíduo perigoso. O Finalizador (art. 1013) contém uma base forte, e o Tampão de Eluição (art. 1077) contém um ácido forte. Neutralize os resíduos dos produtos e descarte em um recipiente para soluções salinas.

Os resíduos de amostras de pacientes, amostras preparadas, controles e calibradores, assim como consumíveis de laboratório contaminados com material humano, devem ser coletados e descartados como lixo potencialmente infeccioso.

Resíduos perigosos não devem ser descartados junto com o lixo doméstico. Não circule no suprimento principal de água. Descarte de acordo com as diretrizes e regulamentos nacionais e locais em vigor. Os recipientes de resíduos devem ser armazenados adequadamente e o acesso deve ser permitido apenas a pessoas autorizadas.

Resíduos não perigosos

O Mix de Analitos (art. 1033), o Padrão Interno VMA, HVA (art. 1004/B), o Padrão Interno 5-HIAA (art. 51303/B), o Tampão de Lavagem I (art. 1005), bem como os consumíveis de laboratório não contaminados, não são classificados como perigosos. Descarte de acordo com as diretrizes e regulamentos nacionais e locais em vigor.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Fase Móvel: pronto para uso.

Padrão Interno: pronto para uso.

Tampão de Lavagem I: pronto para uso.

Tampão de Lavagem II: pronto para uso.

Tampão de Eluição: pronto para uso.

Solução Finalizadora: pronto para uso.

Mix de Analitos (lioofilizado):

- Pipete 950 µL de Tampão de Eluição (art. 1077) e 50 µL de Finalizador (art. 1013) no frasco original
- Reconstitua por 5 minutos a +20 a +25°C, girando o frasco repetidamente.

Verifique se o conteúdo do frasco está homogêneo. Se substâncias não dissolvidas ainda estiverem visíveis, estenda o tempo de reconstituição. Evite a exposição à luz solar direta.

Estabilidade do Mix de Analitos após reconstituição

Temperatura de armazenamento	Vida útil de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+2 a +8°C	5 dias	Protegido da luz, bem fechado

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Coluna HPLC equilibrada (Chromsystems art. 1100/B). Padrão de Calibração em Urina, liof. (Chromsystems art. 1009). Controle Endócrino em Urina Nível Normal (Chromsystems art. 0040).

Controle Endócrino em Urina Nível Patológico (Chromsystems art. 0050)

Internal Standard 5-HIAA (Chromsystems art. 51303/B)

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS DE PACIENTES

O material investigado é a urina. Normalmente, a urina de 24 horas é utilizada para análise. Se isso for difícil ou impossível, a urina isolada (spot urine) também pode ser usada. Nesse caso, os resultados devem ser relacionados à creatinina.

Diferentes aminas biogênicas, como catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina), metanefrinas (metanefrina, normetanefrina e 3-metoxitiramina) e seus metabólitos (VMA e HVA), bem como serotonina e seu metabólito 5-HIAA, são frequentemente medidos em combinação, e a coleta de urina de 24 horas é demorada e estressante para os pacientes. Consequentemente, é útil ter um procedimento universal de coleta para todos os analitos.

A interseção da faixa de pH ideal para todos os analitos mencionados acima na urina é de pH 2,5 a 5,0, que pode ser alcançada pela adição de ácido clorídrico ou acético ao recipiente de coleta antes da coleta de urina. Nesse pH, não há diferença na estabilidade entre a estabilização com ácido clorídrico ou acético. Alguns analitos também são estáveis em uma faixa de pH mais ampla. No entanto, ácidos oxidantes, como o ácido sulfúrico, não são adequados.

Alguns analitos são sensíveis à luz. Consequentemente, as amostras de urina devem ser protegidas da luz durante a coleta e o armazenamento.

Para atingir a faixa de pH ideal de 2,5 a 5,0, recomenda-se adicionar 9 mL de ácido clorídrico a 20% ao recipiente de coleta protegido da luz antes da coleta de urina, o que também é usado em sistemas comerciais de coleta de urina. Também são comumente usados 10 mL de ácido clorídrico a 10-25% ou 10-20 mL de ácido acético. O pH resultante depende fortemente do volume da urina e da capacidade de tamponamento da urina. Portanto, o pH deve ser verificado quando as amostras chegarem ao laboratório.

Amostras de urina de 24 horas de crianças podem ser difíceis de obter e, portanto, podem estar incompletas. Urina isolada é uma alternativa rotineiramente utilizada [13].

A ingestão das seguintes substâncias pode influenciar os resultados da análise:

A ingestão dos seguintes alimentos pode causar níveis elevados de VMA e HVA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-positivo de neuroblastoma):

Suco de maçã, bananas e chocolate [18].

A ingestão dos seguintes medicamentos pode causar níveis elevados de VMA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-positivo de neuroblastoma):

Drogas psicoativas, incluindo supressores de apetite (por exemplo, cafeína e morfina), antidepressivos tricíclicos (por exemplo, imipramina), alcaloides de Rauwolfia, simpatomiméticos (por exemplo, isoproterenol), neurolépticos (por exemplo, clorpromazina) ou lítio; relaxantes musculares (por exemplo, metocarbamol), histamina, insulina, epinefrina, levodopa, nitroglicerina e sulfonamida [23].

A ingestão dos seguintes medicamentos pode causar níveis diminuídos de VMA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-negativo de neuroblastoma):

Anti-hipertensivos (por exemplo, clonidina, guanetidina, reserpina), analgésicos/anti-inflamatórios (por exemplo, salicilatos), dissulfiram, inibidores da monoamina oxidase (MAO) e metildopa [23].

A ingestão dos seguintes alimentos pode causar níveis elevados de 5-HIAA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-positivo de carcinoides e tumores neuroendócrinos secretores de serotonina):

Berinjelas, abacates, bananas, castanhas-do-pará, nozes butternuts, melões cantaloupe, chocolate, cocos, café e bebidas com cafeína, groselhas, tâmaras, toranjas (grapefruits), nozes de nogueira-pecã (Hickory nuts), kiwis, melões, ameixas mirabelles, amendoins, nozes-pecã, abacaxi, bananas-da-terra, ameixas, framboesas, chá, tomates, baunilha e nozes [13,15,22].

A ingestão dos seguintes medicamentos pode causar níveis elevados de 5-HIAA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-positivo de carcinoides e tumores neuroendócrinos secretores de serotonina):

Drogas psicoativas, incluindo antipsicóticos, antidepressivos tricíclicos, ansiolíticos, nicotina, fenobarbital, estimulantes (por exemplo, cafeína, metanfetamina, fenmetrazina); xaropes para tosse, medicamentos para resfriado e gripe (por exemplo, anti-histamínicos, efedrina-HCl, guaifenesina); analgésicos/anti-inflamatórios, incluindo acetanilida (pró-droga do paracetamol), paracetamol (acetaminofeno), mesalamina (também conhecida como mesalazina ou ácido 5-aminosalicílico (5-ASA)), fenacetina ou salicilatos, por exemplo, ácido acetilsalicílico (por exemplo, aspirina); anticoagulantes (por exemplo, cumarina ou varfarina); anti-hipertensivos (por exemplo, fentolamina ou reserpina); relaxantes musculares (por exemplo, mefenesina ou metocarbamol); citostáticos (por exemplo, fluorouracil ou melfalano); anti-enxaquecas (por exemplo, maleato de metisergida); e antieméticos [2,13,20,22].

A ingestão dos seguintes medicamentos pode causar níveis diminuídos de 5-HIAA (potencialmente levando a um diagnóstico falso-negativo de carcinoides e tumores neuroendócrinos secretores de serotonina):

Ácido acetilsalicílico, clorpromazina, corticotropina, heparina, imipramina, isoniazida, levodopa, metenamina, maleato de metenamina, metildopa, inibidores da MAO, p-clorofenilalanina, fenotiazina, prometazina, ranitidina, estreptozocina [13,20].

O álcool também pode levar a resultados falso-negativos para 5-HIAA [20].

Estabilidade das amostras

Os dados de estabilidade a seguir baseiam-se em investigações internas. Como não há descrição na literatura de dependência do doador na estabilidade, nem foi encontrada em pré-testes, uma amostra de urina de várias pessoas saudáveis foi analisada após acidificação com ácido clorídrico (HCl) e ácido acético (HOAc), bem como sem acidificação. Em todos os casos, as amostras foram protegidas da luz e hermeticamente fechadas.

Temperatura de armazenamento	Vida útil de armazenamento		
	pH 1.5 (HCl)	pH 2.5 (HCl)	pH 3.5 (HCl/HOAc)
+20 a +25°C	5-HIAA: instável VMA+HVA: 2 semanas	2 semanas	2 semanas
+2 a +8°C	4 semanas	4 semanas	4 semanas
abaixo -18°C	4 semanas	4 semanas	4 semanas
Ciclos de congelamento/descongelamento	3 ciclos	3 ciclos	3 ciclos

Temperatura de armazenamento	Vida útil de armazenamento	
	pH 5.0 (HCl/HOAc)	pH 6.1 (sem acidificação)
+20 a +25°C	2 semanas	5-HIAA: 5 dias VMA+HVA: 2 semanas
+2 a +8 °C	4 semanas	4 semanas
abaixo -18 °C	4 semanas	4 semanas
Ciclos de congelamento/descongelamento	3 ciclos	3 ciclos

Nota importante:

Urinas com valor de pH abaixo de 1 não devem ser analisadas, pois valores de pH tão baixos levam a recuperações reduzidas na preparação da amostra. Não ajuste o valor do pH com hidróxido de sódio ou outros álcalis, pois altas concentrações de sal também levam a recuperações reduzidas.

Observação:

É responsabilidade de cada laboratório utilizar todas as referências disponíveis e/ou seus próprios estudos para determinar critérios específicos de estabilidade.

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Ajustes do instrumento:

Volume de injeção: 10 a 20 µL

Tempo de corrida: 20 min

Taxa de fluxo: 1 mL/min

Temperatura da coluna: +20 a +25°C

Solução de limpeza da agulha para o injetor: água/metanol, 95/5 v/v

Tempos de retenção

A tabela a seguir mostra os tempos de retenção aproximados dos analitos a uma vazão de 1,0 mL/min.

Analito	Tempo de retenção aprox.
VMA	2,5 min.
ISTD 1 (para VMA, HVA)	3,5 min.
5-HIAA	8,6 min.
HVA	11,7 min.
ISTD 2 (para 5-HIAA)	13,0 min.

Os tempos de retenção podem variar ligeiramente, por exemplo, se houver uma mudança na temperatura ambiente, se você usar um novo lote de fase móvel ou se você substituir a coluna de HPLC. Portanto, use um cromatograma de calibração para determinar os valores atuais.

Procedimento de preparo de amostras

Importante:

A proteção adequada contra a luz é essencial para todas as amostras, calibrador (art. 1009), controles (art. 0040, 0050), Padrão Interno 5-HIAA (art. 51303/B) e Mix de Analitos (art. 1033). Não os exponha à luz solar direta em nenhum momento.

Certifique-se de que o lote de reagentes (incluindo o padrão interno) utilizado para o preparo da amostra, bem como o lote do calibrador e do controle, não sejam alterados dentro de uma sequência. Se vários frascos do padrão interno forem necessários para uma sequência de preparo da amostra, junte-os antes do uso.

Antes do preparo da amostra, deixe os reagentes/calibradores/controles/amostras armazenados congelados ou refrigerados atingirem a temperatura ambiente e misture bem.

Preparo manual da amostra

Para preparar amostras de pacientes, controles e calibradores para análise, siga as seguintes etapas na ordem indicada:

Tamponamento das amostras de urina/calibrador/controle

1. Transfira 50 µL de amostra/calibrador/controle em um frasco adequado
2. Adicione 1,0 ml de Padrão Interno VMA, HVA (art. 1004/B, contendo ISTD 1)

- Adicione 50 µL de Padrão Interno 5-HIAA (art. 51303/B, contendo ISTD 2, material necessário, não fornecido)*
- Misture brevemente

Extração de amostra com Sample Clean Up Column

- Aplique todo o volume da amostra/calibrador/controle tamponado em uma Sample Clean Up Column (art. 1008), centrifugue (1 minuto a 700 x g) ou aspire, e descarte o efluente
- Aplique 3,0 mL do Tampão de Lavagem I (art. 1005) na Sample Clean Up Column, centrifugue (1 minuto a 700 x g) ou aspire, e descarte o efluente
- Aplique 3,0 mL do Tampão de Lavagem II (art. 1006) na Sample Clean Up Column, centrifugue (1 minuto a 700 x g) ou aspire, e descarte o efluente.
- Repita o passo 7
- Aplique 2 mL do Tampão de Eluição (art. 1077) na Sample Clean Up Column, centrifugue (1 minuto a 700 x g) ou aspire, e colete o eluato

Continuação do preparo da amostra antes da injeção

- Adicione 100 µL do Finalizador (art. 1013) ao eluato, misture brevemente
- Injete 10 a 20 µL no sistema de HPLC

* O uso do Padrão Interno 5-HIAA (art. 51303/B) é necessário apenas para a determinação de 5-HIAA. O passo 3 pode ser omitido se apenas VMA e/ou HVA forem determinados.

Estabilidade da amostra preparada

Temperatura de armazenamento	Vida útil de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+20 a +25°C	7 dias	Protegido da luz, bem fechado, frascos de vidro
+2 a +8°C	7 dias	Protegido da luz, bem fechado, frascos de vidro

Importante: Não congele amostras preparadas.

Manipulação de amostras acima da faixa de medição analítica

Amostras de pacientes cujas concentrações de analito estejam acima da faixa de medição analítica devem ser tratadas da seguinte forma:

Antes do preparo da amostra, dilua a amostra original do paciente com água a uma proporção de até 1:15, de modo que o resultado da análise, independentemente do fator de diluição, esteja dentro da faixa de medição do método. Em seguida, prepare as amostras conforme descrito no item "Procedimento de preparo de amostras".

Ao calcular as concentrações dos analitos nas amostras, o fator de diluição deve ser levado em consideração.

Controle de Qualidade

Monitore a veracidade e a precisão das análises incluindo controles em cada corrida analítica, pelo menos uma vez durante e no final de uma série de amostras. Se a análise desses controles apresentar valores fora das faixas indicadas na Instrução de uso que acompanha o produto, verifique o sistema e tome as medidas apropriadas. Se a discrepância persistir, recalibre o sistema.

A Chromsystems disponibiliza os seguintes controles:

Artigo	Produto	Apresentação
0040	Endocrine Urine Control, Normal Range	10 x 8,0 mL (liof.)
0050	Endocrine Urine Control, Pathological Range	10 x 8,0 mL (liof.)

Calibração do sistema de análise

Execute uma calibração do sistema de análise para cada série de medições.

A Chromsystems disponibiliza o seguinte Calibrador:

Artigo	Produto	Apresentação
1009	Urine Calibration Standard - VMA, HVA, 5-HIAA in urine	5 x 5,0 mL (liof.)

As concentrações dos analitos no calibrador são dependentes do lote. Os níveis exatos são fornecidos na Instrução de Uso que acompanha o produto.

As curvas de calibração são construídas calculando a razão entre a área ou altura do pico do analito e o padrão interno (ISTD) no eixo y, em relação à concentração do calibrador no eixo x. Em seguida, plote uma curva de calibração passando pela origem para todos os analitos (calibração de ponto único).

Selecione o método de padrão interno para calibração no seu sistema de análise e defina a concentração dos padrões internos como "1".

Fatores de conversão

A tabela a seguir lista os fatores de conversão entre concentrações de massa e molares e vice-versa.

substância	mg/L a µmol/L mg/24 h a µmol/24 h	µmol/L a mg/L µmol/24 h a mg/24 h
VMA	x 5,046	x 0,1982
HVA	x 5,489	x 0,1822
5-HIAA	x 5,231	x 0,1912

Para a conversão de dados com referência à creatinina, aplicam-se os seguintes fatores de conversão.

substância	mg/g creatinina a µmol/mol creatinina	µmol/mol creatinina a mg/g creatinina
VMA	x 0,5708	x 1,752
HVA	x 0,6209	x 1,610
5-HIAA	x 0,5917	x 1,690

CÁLCULO MANUAL

Para o cálculo manual, os seguintes dados são requeridos:

- Área/altura do pico da substância A no cromatograma da amostra = $A_{amostra}$
- Área/altura do pico do padrão interno no cromatograma da amostra = $IS_{amostra}$
- Inclinação da curva de calibração = a

Calcule a concentração da substância A na amostra $C_{amostra}$ da seguinte forma:

$$C_{amostra} = \frac{(A_{amostra} \times IS_{padrão})}{a}$$

DADOS DE DESEMPENHO

Linearidade e limite de quantificação

O limite inferior de quantificação (LLOQ) foi determinado por diluições definidas de amostras de urina com matriz isenta de analito. O limite superior de quantificação (ULOQ) foi determinado pela adição de quantidades definidas de substâncias padrão às amostras de urina. A preparação das amostras foi realizada manualmente e semiautomaticamente, com a pior condição para o volume de injeção (LLOQ 10 µL, ULOQ 20 µL).

Analito	LLOQ	ULOQ
VMA	0,32 mg/L	80 mg/L
HVA	0,35 mg/L	100 mg/L
5-HIAA	0,30 mg/L	60 mg/L

Repetibilidade intra-ensaio

Os coeficientes de variação foram determinados em três concentrações diferentes por preparação repetida (n=10) da mesma amostra de urina em uma sequência. A preparação da amostra foi feita manualmente.

Analito	Coeficiente de variação (concentração do analito)		
VMA	1,7% (4,74 mg/L)	1,7% (10,1 mg/L)	1,6% (16,8 mg/L)
HVA	1,8% (4,67 mg/L)	1,7% (8,84 mg/L)	1,3% (14,3 mg/L)
5-HIAA	2,8% (4,46 mg/L)	2,6% (8,46 mg/L)	2,3% (15,1 mg/L)

Repetibilidade inter-ensaios

A determinação da repetibilidade interensaio foi feita em duas concentrações diferentes por preparação repetida (n = 4) da mesma amostra de urina em 20 dias diferentes. A preparação da amostra foi feita manualmente.

Analito	Coeficiente de variação (concentração do analito)	
VMA	5,0% (4,54 mg/L)	3,9% (15,9 mg/L)
HVA	5,5% (4,30 mg/L)	5,0% (13,1 mg/L)
5-HIAA	8,3% (3,98 mg/L)	6,2% (12,3 mg/L)

Precisão (reprodutibilidade)

Os dados de desempenho foram determinados em 3 locais com base em quatro amostras de urina diferentes por processamento em 5 vezes em 5 dias diferentes. O procedimento é baseado na CLSI EP05-A3 e corresponde a um projeto de teste 3x5x5. A preparação da amostra foi feita manualmente por dois locais e semiautomatizada no terceiro local.

Analito	Conc. Média	CV	IC95%
VMA	0,851 mg/L	17,4 %	11,3–37,9 %
	20,3 mg/L	8,1 %	5,8–13,1 %
	41,4 mg/L	6,6 %	4,5–12,6 %
	72,1 mg/L	14,3 %	8,5–42,7 %
HVA	0,813 mg/L	8,8 %	7,4–10,9 %
	21,2 mg/L	8,6 %	5,7–17,5 %
	42,9 mg/L	9,2 %	7,2–12,7 %
	86,0 mg/L	11,4 %	7,5–24,0 %
5-HIAA	0,912 mg/L	11,1 %	8,1–17,5 %
	24,8 mg/L	9,8 %	7,3–15,1 %
	48,3 mg/L	9,7 %	7,0–15,6 %
	85,3 mg/L	9,5 %	7,0–14,6 %

INTERFERENTES

Na presença das seguintes substâncias, interferências foram observadas:

A presença das interferências declaradas pode afetar a precisão dos resultados do teste em >15%. Isso pode ser causado por interferência cromatográfica que não afeta o analito e o padrão interno na mesma medida.

5-Metoxiindoleacetato, um metabólito de 5-HIAA, causa um pico de eluição tardio após aproximadamente 80 a 90 min. Isso pode causar uma interferência em uma execução cromatográfica subsequente.

As seguintes substâncias foram testadas e não foram observadas interferências significativas, os resultados quantitativos não foram afetados (desvio ≤ 15%):

Adrenalina/epinefrina, acetaminofeno/paracetamol, ácido acetilsalicílico, alopurinol, alprazolam, amlodipina, amoxicilina, anfetamina/dexanfetamina, apixabana, atenolol, azitromicina, bisoprolol, cafeína, candesartana, captopril, carvedilol, cefuroxima, clorpromazina, citalopram, clonazepam, dexametasona, ácido 3,4-di-hidroximandélico (DOMA), ácido 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC), 3,4-di-hidroxifenilglicol (DHPG), dissulfiram, dopamina, doxorrubicina, edoxabana, empagliflozina, enalaprilato, fluorouracil, fluoxetina, formoterol, furosemida, gabapentina, glipizida, guaifenesina, heparina, hexametilenoetetramina, hidroclorotiazida, hidrocodona, iobenguane, brometo de ipratrópio, isoniazida, levodopa/L-dopa, levotiroxina, lisinopril, losartana, melfalano, mefenesina, metamazol (como 4-metilaminoantipirina), metanfetamina, metanefrina, metformina, metocarbamol, 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), 3-metoxitiramina, metildopa, metoclopramida, metoprolol, minoxidil, naloxona, nifedipina, noradrenalina/norepinefrina, normetanefrina, fenpropion, pravastatina, pregabalina, ranitidina, reserpina, rivaroxabana, rosuvastatina, salbutamol/albuterol, ácido salicílico, serotonina, sitagliptina, sotalol, sulfametoxazol, tansulosina, teniposídeo, tilidina (como nortilidina), torasemida, tramadol, trimetoprima, valsartana, venlafaxina.

INTERVALOS DE REFERÊNCIA E PONTO DE CORTE

Os intervalos de referência para as aminas biogênicas variam consideravelmente e são altamente dependentes da idade e do sexo. Recomendamos estabelecer um intervalo de referência específico para cada laboratório. Ao determinar os intervalos, certifique-se de cumprir os requisitos regionais e nacionais.

Nota:

Os intervalos de referência listados abaixo representam níveis encontrados em uma proporção de uma população saudável/sem doença. Consequentemente, eles não necessariamente se alinham com níveis de decisão clinicamente relevantes ou valores de corte em relação à finalidade pretendida deste dispositivo. Para dados de desempenho clínico, incluindo níveis de decisão e/ou valores esperados ou detectados em pessoas afetadas e não afetadas, consulte as tabelas abaixo, no item "Dados de Desempenho clínico". Esses dados de desempenho clínico referem-se apenas ao presente método da Chromsystems.

Intervalos de referência para VMA e HVA

Coletivo de pacientes	Intervalos de referência expressos por 24 horas [24]	
	VMA	HVA
idade		
4 meses a 18 anos	1,86–39,32 µmol/24 h i.e. 0,37–7,79 mg/24 h*	5,50–36,11 µmol/24h i.e. 1,00–6,58 mg/24h*

*os valores em mg/24h não estão incluídos na literatura original, mas foram posteriormente calculados usando os fatores de conversão apresentados no item acima "Fatores de conversão".

Intervalos de referência para ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA)

Coletivo de pacientes	Intervalos de referência expressos por 24 horas [12]	
	2 - 9 mg/24 h 10,4-46,8 µmol/24 h	
não especificado*		

*A fonte não especifica o coletivo de pacientes (por exemplo, idade, sexo ou estado de saúde) usado para estabelecer esses intervalos. Portanto, esses intervalos de referência devem ser interpretados com cautela.

DADOS DE DESEMPENHO CLÍNICO

O método do ensaio da Chromsystems "VMA, HVA, 5-HIAA in urine" e o método da literatura apresentado nas tabelas abaixo são equivalentes, conforme comprovado por comparações de métodos internos realizadas na Chromsystems.

VMA = ácido vanilmandélico; HVA = ácido homovanílico; 5-HIAA = ácido 5-hidroxiindolacético

Dados de desempenho clínico referentes ao neuroblastoma para VMA e HVA combinados [8].

Os dados são baseados em diferentes grupos de pacientes com neuroblastoma de acordo com o Sistema Internacional de Estadiamento do Neuroblastoma (INSS) ou idade do paciente. Os valores são indicados em mg/g de creatinina (Cr).

		Neuroblastoma - estágio (INSS)					Idade do paciente	
		1+2	3	4	4S	Todos os estágios do tumor	< 18 meses	> 18 meses
Limiar (limite superior) [mg/g Cr]	VMA	9,9	12,6	15,4	20,4	13,7	20,1	9,7
	HVA	22,5	21,5	25,7	29,2	22,5	26,5	15,9
Sensibilidade diagnóstica*		74,5%	87,5%	85,3%	100,0%	81,9%	86,8%	87,9%
Especificidade diagnóstica		94,8%	98,8%	96,3%	99,7%	96,3%	98,9%	88,2%
Valor preditivo positivo		56,8%	74,5%	72,1%	87,9%	85,5%	99,0%	66,5%
Valor preditivo negativo		97,6%	99,5%	98,3%	100,0%	95,2%	85,6%	96,5%
Razão de verossimilhança positiva		14,3	72,9	23,1	333,3	22,1	78,9	7,4
Razão de verossimilhança negativa		0,3	0,1	0,2	0,0	0,2	0,1	0,1
Valores esperados na população normal [mg/g Cr]		VMA [mediana (intervalos – 10º a 90º percentil)]						
		0–3 meses: 10,90 (5,64–15,92)						
		3–6 meses: 10,85 (7,83–16,85)						
		6–12 meses: 9,95 (6,26–16,62)						
		1–2 anos: 7,40 (5,18–12,05)						
		2–5 anos: 6,30 (4,41–11,87)						
		5–10 anos: 4,60 (2,90–8,40)						
		10–15 anos: 3,70 (2,40–9,16)						
		15–20 anos: 3,10 (2,14–7,85)						
		HVA [mediana (intervalos – 10º a 90º percentil)]						
		0–3 meses: 19,60 (13,04–28,60)						
		3–6 meses: 21,85 (14,38–33,43)						
		6–12 meses: 15,40 (11,40–25,30)						
		1–2 anos: 13,70 (9,85–21,85)						
		2–5 anos: 11,50 (8,20–18,62)						
		5–10 anos: 7,25 (4,91–10,70)						
		10–15 anos: 5,05 (3,15–9,35)						
		15–20 anos: 3,40 (2,60–6,24)						
		Valores observados em pacientes (0-20 anos)						
Valores esperados na população afetada [mg/g Cr]		VMA: 1,5–477 HVA: 0,8–387						

* É suficiente para um proposto diagnóstico positivo se apenas um analito estiver acima do cut-off.

Dados de desempenho clínico relacionados à tumores carcinoides e neuroendócrinos secretores de serotonina para 5-HIAA [14].

Limiar (limite superior)	3,60 µmol/mmol creatinina i.e. 6,08 mg/g creatinina*
Sensibilidade diagnóstica	100,0%
Especificidade diagnóstica	90,2%
Valor preditivo positivo	42,9%
Valor preditivo negativo	100,0%
Razão de verossimilhança positiva	10,2
Razão de verossimilhança negativa	0,0
Valores esperados na população normal (44 a 67 anos)	0,1–1,4 µmol/mmol creatinina i.e. 0,17–2,4 mg/g creatinina*
Valores esperados na população afetada (55 a 79 anos)	0,2–4,6 µmol/mmol creatinina i.e. 0,34–7,8 mg/g creatinina*














*Os valores em mg/g de creatinina não foram incluídos na literatura original, mas foram posteriormente calculados usando os fatores de conversão apresentados no item "Fatores de conversão"

LITERATURA

- Gressner AM, Arndt T (ed): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Springer, Berlin, Heidelberg, 2019.
- Fanciulli G, Ruggeri RM, Grossrubatscher E, Lo Calzo F, Wood TD, Faggiano A, et al.: Serotonin pathway in carcinoid syndrome: Clinical, diagnostic, prognostic and therapeutic implications. *Rev Endocr Metab Disord* 2020; 21:599–612.
- Lattke P, Peitzsch M, Darr R, Siegert G, Eisenhofer G: Labordiagnostik Katecholamin-produzierender Tumoren. *LaboratoriumsMedizin* 2013; 37:187–197.
- Verly IRN, van Kuilenburg ABP, Abeling NGGM, Goorden SMI, Fiocco M, Vaz FM, et al.: Catecholamines profiles at diagnosis: Increased diagnostic sensitivity and correlation with biological and clinical features in neuroblastoma patients. *Eur J Cancer* 2017; 72:235–243.
- Candito M, Thyss A, Albertini M, Deville A, Politano S, Mariani R, et al.: Methylated catecholamine metabolites for diagnosis of neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol* 1992; 20:215–220.
- Monsaingeon M, Perel Y, Simonnet G, Corcuff J-B: Comparative values of catecholamines and metabolites for the diagnosis of neuroblastoma. *Eur J Pediatr* 2003; 162:397–402.
- Lam L, Woollard GA, Teague L, Davidson JS: Clinical validation of urine 3-methoxytyramine as a biomarker of neuroblastoma and comparison with other catecholamine-related biomarkers. *Ann Clin Biochem* 2017; 54:264–272.
- Barco S, Gennai I, Reggiardo G, Galleni B, Barbagallo L, Maffia A, et al.: Urinary homovanillic and vanillylmandelic acid in the diagnosis of neuroblastoma: report from the Italian Cooperative Group for Neuroblastoma. *Clin Biochem* 2014; 47:848–852.
- Barco S, Verly I, Corrias MV, Sorrentino S, Conte M, Tripodi G, et al.: Plasma free metanephrines for diagnosis of neuroblastoma patients. *Clin Biochem* 2019; 66:57–62.
- Peitzsch M, Butch ER, Lovorn E, Mangelis A, Furman WL, Santana VM, et al.: Biochemical testing for neuroblastoma using plasma free 3-O-methyldopa, 3-methoxytyramine, and normetanephrine. *Pediatr Blood Cancer* 2020; 67:e28081.
- Das S, Stockton SS, Hassan SA: Carcinoid Heart Disease Management: A Multi-Disciplinary Collaboration. *Oncologist* 2023; 28:575–583.
- Grozinsky-Glasberg S, Davar J, Hofland J, Dobson R, Prasad V, Pascher A, et al.: European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) 2022 Guidance Paper for Carcinoid Syndrome and Carcinoid Heart Disease. *J Neuroendocrinol* 2022; 34:e13146.
- Thomas L: Clinical Laboratory Diagnostics. Chapter 32 Pheochromocytoma, paraganglioma, neuroblastoma. <https://www.clinical-laboratory-diagnostics.com/k32.html>, accessed November 11, 2024.
- Padelli M, Bruno C, Lemarchand J, Vourc'h P, Andres C, Blasco H, et al.: Quelles valeurs de reference pour la concentration de la serotonine plaquettaire et du 5-HIAA urinaire pour le diagnostic des tumeurs neuroendocrines digestives? *Ann Biol Clin (Paris)* 2019; 77:161–168.
- Subash N, Papali MM, Bahadur KP, Avanthika C, Jhaveri S, Thannir S, et al.: Recent Advances in the Diagnosis and Management of Carcinoid Syndrome. *Dis Mon* 2022; 68:101304.
- Eisenhofer G, Pamporaki C, Lenders JWM: Biochemical Assessment of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Endocr Rev* 2023; 44:862–909.
- Fishbein L, Del Rivero J, Else T, Howe JR, Asa SL, Cohen DL, et al.: The North American Neuroendocrine Tumor Society Consensus Guidelines for Surveillance and Management of Metastatic and/or Unresectable Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Pancreas* 2021; 50:469–493.
- Simon T: Simon 2019_S1-Leitlinie Neuroblastom. *AWMF* 2019.
- Berthold F, Spix C, Erttmann R, Hero B, Michaelis J, Treuner J, et al.: Neuroblastoma Screening at 1 Year of Age: The Final Results of a Controlled Trial. *JNCI Cancer Spectr* 2021; 5.
- Rinke A., Wiedenmann B., Auernhammer C., Bartenstein P., Bartsch D.K., Begum, N., Faiss S. et al.: S2k-Leitlinie Neuroendokrine Tumore. *Z Gastroenterol* 2018; 56:583–681.
- Sorbye H, Grande E, Pavel M, Tesselaar M, Fazio N, Reed NS, et al.: European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) 2023 guidance paper for digestive neuroendocrine carcinoma. *J Neuroendocrinol* 2023; 35:e13249.

- Oberg K, Couvelard A, Delle Fave G, Gross D, Grossman A, Jensen RT, et al.: ENETS Consensus Guidelines for Standard of Care in Neuroendocrine Tumours: Biochemical Markers. *Neuroendocrinology* 2017; 105:201–211.
- Hanna Lee: Vanillylmandelic Acid (VMA), 2020. <https://emedicine.medscape.com/article/2089620-overview%23a4#a4>, accessed August 30, 2024.
- Shen Y, Li H, Lu J, Luo X, Guan Q, Cheng L: Analytical validation and clinical application of urinary vanillylmandelic acid and homovanillic acid by LC-MS/MS for diagnosis of neuroblastoma. *Biomed Chromatogr* 2019; 33:e4484.

Símbolos utilizados:

	Fabricante
	Número de catálogo
	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Código do lote
	Validade
	Limite de temperature
	Consultar as instruções para utilização
	Produto para a saúde para diagnóstico in vitro
	Cuidado
	Atenção
	Perigo
	Perigo
	Este produto cumpre as exigências da Regulation (EU) 2017/746 relativa aos dispositivos médicos para uso em diagnóstico in vitro

Fabricante: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH

Am Haag 12 - 82166 Gräfelfing - Alemanha

Regularizado por: BioSys Ltda

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

CEP: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

Anvisa: 10350840481

SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.biosys.com.br