

# VMA, 5-HIAA y HVA EN ORINA POR LC/MS

Código LC14610





Este producto cumple todos los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro (DIV).

La declaración de conformidad (CE) está disponible previa solicitud.



**EUREKA S.R.L. LAB DIVISION**

**Via M. D'Antona 28**

**60033 Chiaravalle (AN) - Italy**

**Tel +39 071 7450790**

**[eureka-support@sentinel.it](mailto:eureka-support@sentinel.it)**

**[www.eurekakit.com](http://www.eurekakit.com)**

N° 002	06/ 2024
--------	----------

## INTRODUCCIÓN

La **Epinefrina (E)**, la **norepinefrina (NE)** y la **dopamina** son los miembros más importantes de esta familia.

La vía biosintética de las catecolaminas utiliza **L-tirosina** como sustrato inicial. Las células cromafines sintetizan y almacenan epinefrina en la médula suprarrenal, mientras que la producción de norepinefrina tiene lugar en las terminaciones nerviosas simpáticas. La dopamina es sobre todo un neurotransmisor en el SNC.

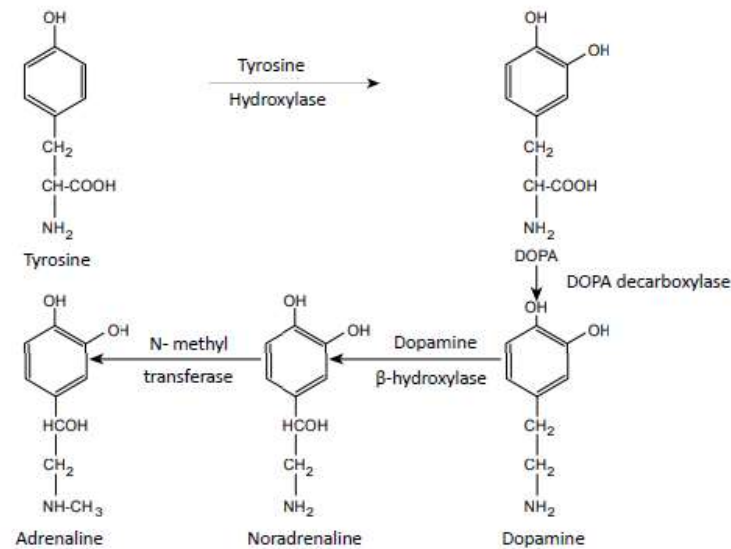


Fig 1. Biosynthesis of catecholamines

## CATABOLISMO

Los efectos biológicos de las catecolaminas terminan rápidamente por absorción en las terminaciones nerviosas simpáticas. Los principales cambios que se producen en estas zonas incluyen su transformación en metabolitos meta-O-metilados y desaminados debido a la **Catecol-O-metiltransferasa (COMT)** y la **monoaminoxidasa (MAO)** respectivamente y, por último, su conjugación con sulfato y glucurónido.

El **ácido homovanílico** es el principal metabolito de la **Dopamina** mientras que el **ácido vanilmandélico** es el principal metabolito de la norepinefrina y la epinefrina. (fig. 2)

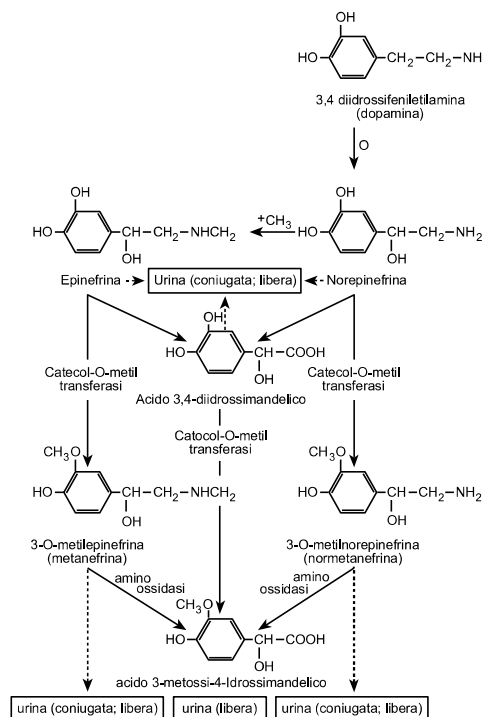


Figura 2: Metabolismo degli ormoni della midollare del surrene

Fig. 2: Metabolismo de las hormonas de la médula suprarrenal

## CONTEXTO CLÍNICO

Las catecolaminas se determinan a menudo en orina para el diagnóstico neurológico y para el seguimiento de la respuesta al tratamiento en enfermedades como el **feocromocitoma** y el **neuroblastoma**.

El **feocromocitoma** es un tumor productor de catecolaminas que procede de las células cromafines de la médula adrenal. Más del 90% parecen ser benignos. Son peligrosos por su capacidad para almacenar y liberar catecolaminas en grandes cantidades, con la consiguiente producción de síndromes alarmantes que incluyen hipertensión sostenida, resistente al tratamiento convencional, y crisis hipertensivas con hipertensión maligna y encefalopatía hipertensiva. El diagnóstico del feocromocitoma se establece mediante la demostración de un aumento de la excreción urinaria de catecolaminas o metabolitos de catecolaminas, y a menudo se determina su concentración en orina para controlar la respuesta al tratamiento. El feocromocitoma es curable si se diagnostica y trata correctamente, pero es mortal si se diagnostica o trata incorrectamente.

El neuroblastoma, el segundo tumor sólido más frecuente en la infancia, puede aparecer casi en cualquier punto de la cadena del sistema nervioso simpático. Este tumor sintetiza y secreta catecolaminas y metabolitos como DOPA, dopamina, VMA y ácido homovanílico. La evaluación de las catecolaminas urinarias y plasmáticas es útil para establecer un diagnóstico y seguir los resultados del tratamiento.

## CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

PRINCIPIO DEL MÉTODO			
La muestra se diluyó y se inyectó en el LC-MS/MS.			
<b>RECUPERACIÓN:</b>	52,8 – 84,4%		
<b>SENSIBILIDAD (LLOD):</b>	Ácido vanilmandélico	0,008 mg/L	
	Ácido 5-hidroxiindolacético	0,01 mg/L	
	Ácido homovanílico	0,03 mg/L	
<b>CONCENTRACIÓN MÍNIMA ANALIZABLE (LLOQ):</b>	Ácido vanilmandélico	0,02 mg/L	
	Ácido 5-hidroxiindolacético	0,04 mg/L	
	Ácido homovanílico	0,1 mg/L	
<b>LINEALIDAD:</b>	Ácido vanilmandélico	0,02 - 250 mg/L	
	Ácido 5-hidroxiindolacético	0,04 - 250 mg/L	
	Ácido vanilmandélico	0,1 - 250 mg/L	
<b>VALORES NORMALES EN ORINA DE 24 H:</b>	Ácido vanilmandélico	1,8 – 6,7 mg/24 h	
	Ácido 5-hidroxiindolacético	0,5 – 8,2 mg/24 h	
	Ácido homovanílico	0,5 – 6,2 mg/24 h	
<b><u>Precisión intraserial (error relativo %)</u></b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
<b><u>Ácido vanilmandélico:</u></b>	0,4 mg/l	8,2 mg/l	
	11,79%	5,19%	
<b><u>Precisión interserial (error relativo %)</u></b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
<b><u>Ácido vanilmandélico:</u></b>	0,4 mg/l	8,2 mg/l	
	10,61%	4,75%	
<b><u>Reproducibilidad intraserial (coeficiente de variación %) Ácido vanilmandélico:</u></b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,02 mg/l	1,8 mg/l	13,9 mg/l
	2,17%	4,32%	2,56%
<b><u>Reproducibilidad interserial (coeficiente de variación %) Ácido vanilmandélico:</u></b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,02 mg/l	1,8 mg/l	13,9 mg/l
	8,32%	5,86%	6,05%
<b><u>Precisión intraserial (error relativo %)</u></b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
<b><u>Ácido 5-hidroxiindolacético:</u></b>	0,4 mg/l	9,8 mg/l	
	7,48%	4,40%	
<b><u>Precisión interserial (error relativo %)</u></b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
<b><u>Ácido 5-hidroxiindolacético:</u></b>	0,4 mg/l	9,8 mg/l	
	5,06%	3,47%	
<b><u>Reproducibilidad intraserial (coeficiente de variación %) Ácido 5-hidroxiindolacético:</u></b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,04 mg/l	1,6 mg/l	13,5 mg/l
	7,97%	2,24%	0,43%

<b>Reproducibilidad interserial (coeficiente de variación %) Ácido 5-hidroxiindolacético:</b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,04 mg/l	1,6 mg/l	13,5 mg/l
	5,37%	4,98%	3,11%
<b>Precisión intraserial (error relativo %) Ácido homovanílico:</b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
	1,0 mg/l	5,3 mg/l	
	7,12%	9,38%	
<b>Precisión interserial (error relativo %) Ácido homovanílico:</b>	<b>Ci</b>	<b>Cs</b>	
	1,0 mg/l	5,3 mg/l	
	8,25%	7,08%	
<b>Reproducibilidad intraserial (coeficiente de variación %) Ácido homovanílico:</b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,1 mg/l	2,6 mg/l	14,4 mg/l
	7,97%	2,64%	1,21%
<b>Reproducibilidad interserial (coeficiente de variación %) Ácido homovanílico:</b>	<b>C LLOQ</b>	<b>Cm</b>	<b>CUP</b>
	0,1 mg/l	2,6 mg/l	14,4 mg/l
	6,36%	3,53%	1,71%
<b>Coeficiente de Correlación R2 + Desv. est.:</b>	0,9974 ± 0,0003 Ácido vanilmandélico 0,9970 ± 0,0007 Ácido 5-hidroxiindolacético 0,9981 ± 0,0013 Ácido homovanílico		

## COMPONENTES DEL KIT (100 PRUEBAS)

<b>Reactivo A</b> – Solución de patrón interno	<b>1 x 2 ml</b>	<b>Almacenar a -20 °C</b>
<b>Reactivo B</b> – Solución de dilución	<b>1 x 20 ml</b>	
<b>Calibrador en orina – Nivel 0</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 1</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 2</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 3</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 4</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 5</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Calibrador en orina – Nivel 6</b>	<b>2 x 1 ml</b>	<b>Código LC77016</b> (Embalado por separado - ver ficha técnica)
<b>Reactivo M1</b> – Fase móvil M1	<b>1 x 500 ml</b>	
<b>Reactivo M2</b> – Fase móvil M2	<b>2 x 500 ml</b>	

Todos los reactivos están listos para su uso y son estables 3 años a 2-8 °C, excepto el Reactivo A que debe conservarse a -20 °C.

El método de conservación del patrón de calibración liofilizado se describe en la ficha técnica correspondiente.

## ACCESORIOS Y CONSUMIBLES

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	EMBALAJE
<b>LC77016</b>	Calibrador en orina para aminas biogénicas	7 x 2 x 1 ml
<b>LC77019</b>	Control en orina para aminas biogénicas - Niveles 1, 2 y 3	3 x 5 x 1 ml
<b>SK14610</b>	Kit de inicio para VMA/HVA/5-HIAA en orina	1 Ud
<b>Z959757902</b>	Columna analítica Zorbax RRHD C18 (50 x 2,1 mm, 1,8 um)	1 Ud

### Bibliografía

- 1- Clinica Chimica Acta 398 53-56 ' HPLC-mass spectrometry method for quantitative detection of neuroendocrine tumor markers: Vanilmandelic acid, homovanillic acid and 5-hydroxyindoleacetic acid.'
  - 2- JALM 01:04 387-399 'Practical LC-MS/MS Method for 5-Hydroxyindoleacetic acid in urine'
  - 3- Current Opinions in Biotechnology 2017, 43:34-40 'The future of NMR-based metabolomics'
- Chimica Clinica Acta, accepted manuscript 'Simple dilute-and-shot method for urinary vanilmandelic and homovanillic acid by liquid chromatography tandem mass spectrometry'

### EQUIPO INSTRUMENTAL MÍNIMO NECESARIO

LC-MS/MS con TRIPLE CUADRUPOLO con bomba binaria  
modo MRM, ESI negativo

### EQUIPOS OPCIONALES

Automuestreador  
Ordenador operativo

### PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA DE ORINA DE 24 H

La orina de 24 horas debe recogerse en un recipiente con 5 ml (Niño) o 10 ml (Adulto) de HCl 5 M por cada litro de orina. Después de la recolección, 10 ml de orina deben ser entregados al laboratorio con la indicación de la diuresis total. **El laboratorio debe verificar que la orina entregada tenga un pH entre 2,5 y 3,5. Si el pH es > 7 la muestra puede no ser adecuada para el análisis.** Los análisis diferidos requieren la congelación de la muestra a -20°C o menos. Estable durante más de 2 meses.

## PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

### PASO

Dispensar en un vial:

- 180 µl de **Reactivo B – Solución de dilución**
- 20 µl de **Reactivo A – Solución de patrón interno**
- 20 µl de **Calibrador (C0-C6)/Controles/Muestras**

Agitar en el vortex durante 10 seg.

**N.B.: en este paso la muestra es estable durante 2 días a 2-8 °C**

### INYECCIÓN

- Inyectar 2 µl de solución en el sistema HPLC.

## HVA, 5-HIAA y VMA en LC/MS - Advertencias

### ACONDICIONAMIENTO DE LA COLUMNA

Instalar la nueva columna analítica Zorbax RRHD C18 (50 x 2,1 mm, 1,8  $\mu$ m), termostatzada a 60 °C. Desconectar el detector y fundir una solución de Fase Móvil M2: Fase móvil M1 (90: 10 v/v) ajustar el flujo a 400  $\mu$ l / minuto durante 20 minutos. Acondicionar la columna con una solución de fase móvil M2: Fase móvil M1 (90: 10 v/v) ajustar el flujo a 400  $\mu$ l / minuto durante 15 minutos. **No reciclar las soluciones de lavado.** Acondicionar la columna con una solución de fase móvil M2 y ajustar el flujo a 400  $\mu$ l/minuto durante 15 minutos. **Dos inyecciones al 50% de agua grado HPLC/50 % de acetonitrilo antes de proceder a la serie analítica.**

**NO es posible hacer análisis en fase de reciclado.**

Si la temperatura ambiente es > de 20 °C, almacenar la fase móvil a 2-8 °C entre una sesión analítica y otra.

### LIMPIEZA Y ALMACENAMIENTO DE COLUMNAS

Lavar con una solución de fase móvil M2: Fase móvil M1 (90: 10 v/v) ajustar el flujo a 400  $\mu$ l / minuto durante 20 minutos. Almacenar la columna en esta solución.

### LAVADO DE LA AGUJA DE INYECCIÓN

Lavar con una solución de metanol: H<sub>2</sub>O (85: 15 v/v).

### PARÁMETROS AJUSTADOS EN WATERS XEVO TQS MICRO

Tensión de capilar (kV)	3,0
Gas de desolvatación (l/hora)	1000
Temperatura de desolvatación (°C)	600
Temperatura de origen (°C)	150

**Fragmentaciones (optimizado en TRIPLE CUADRUPOLO WATERS XEVO TQS MICRO)**

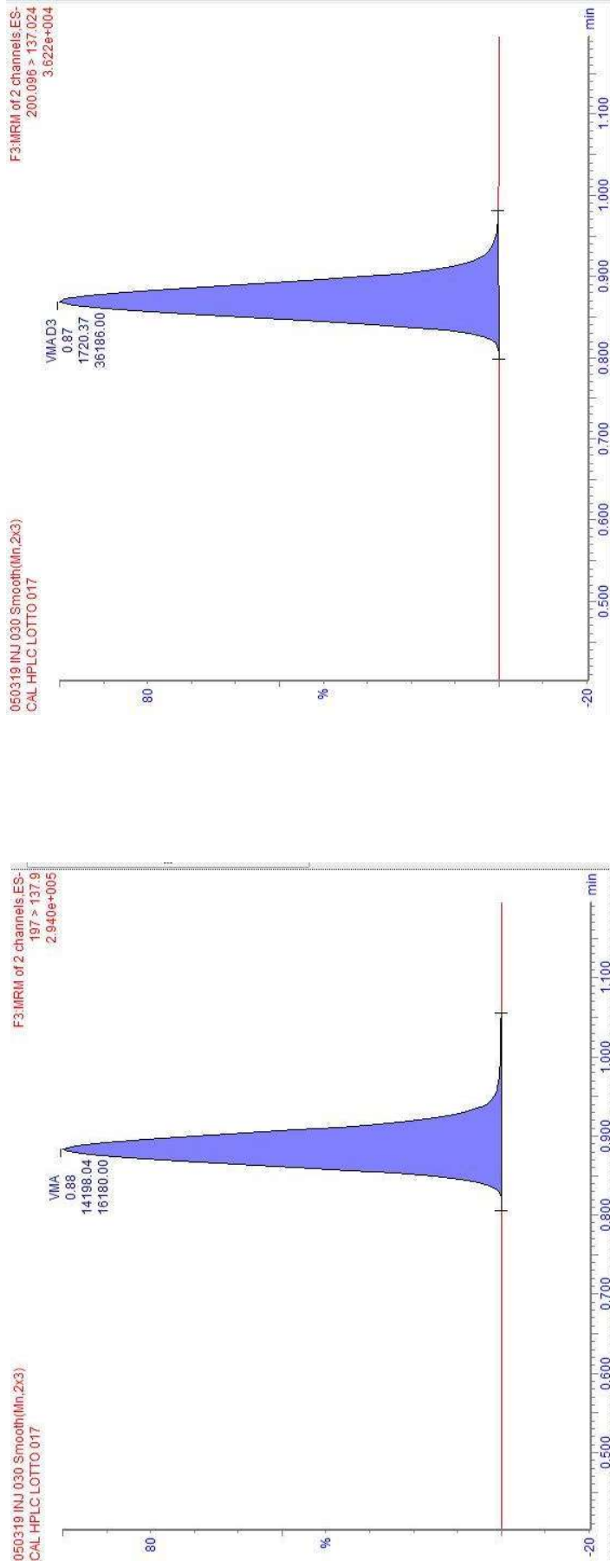
<b>Analito</b>	<b>Transiciones MRM m/z</b>	<b>ENERGÍA DE COLISIÓN</b>
HVA	181.0>121.9	15
5-HIAA	190>145.9	5
VMA	197.0>137.9	10
HVA-D5	186.0>142.0	6
5-HIAA-13C6	196.0>152.0	10
VMA-D3	200.0>137.0	18

**GRADIENTE**

<b>Tiempo (min)</b>	<b>% M1 (BOMBA A)</b>	<b>% M2 (BOMBA B)</b>	<b>FLUJO (µl/min)</b>
0	100	0	400
0,5	100	0	400
3,5	70	30	400
3,51	0	100	400
4,50	0	100	400
4,51	100	0	400
6,0	100	0	400

# VMA, 5-HIAA y HVA BY LC/MS

(Cromatogramas de referencia)



**Fig. 3:** Calibrador orina

R.T.	Peak
0.88	VMA

**Fig. 4:** Calibrador orina

R.T.	Peak
0.87	VMA-D3

# VMA, 5-HIAA y HVA BY LC/MS

(Cromatogramas de referencia)

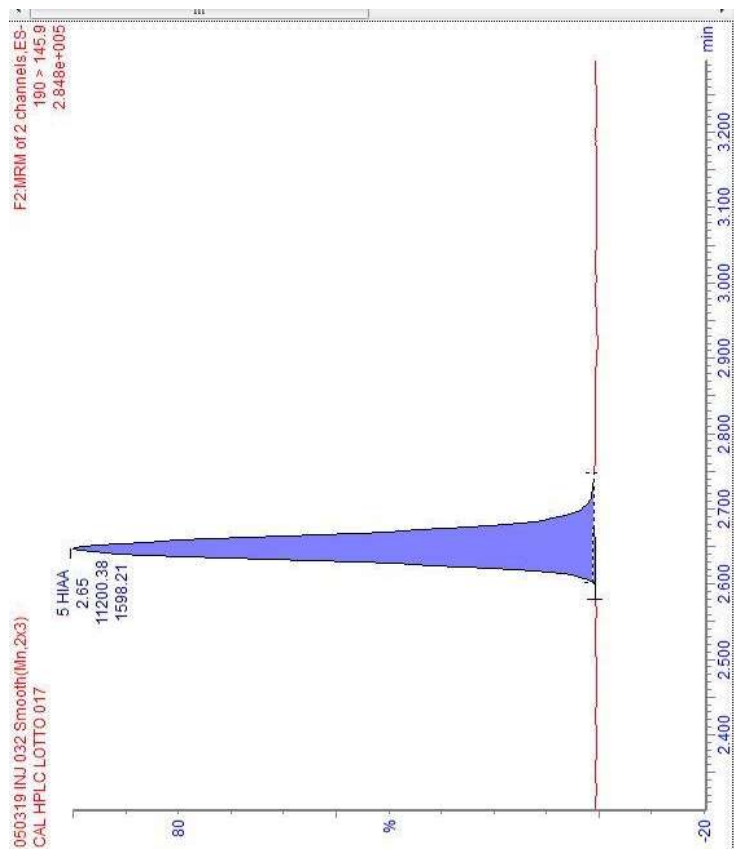


Fig. 5:	Calibrador orina
	R.T. 2.65      5-HIAA

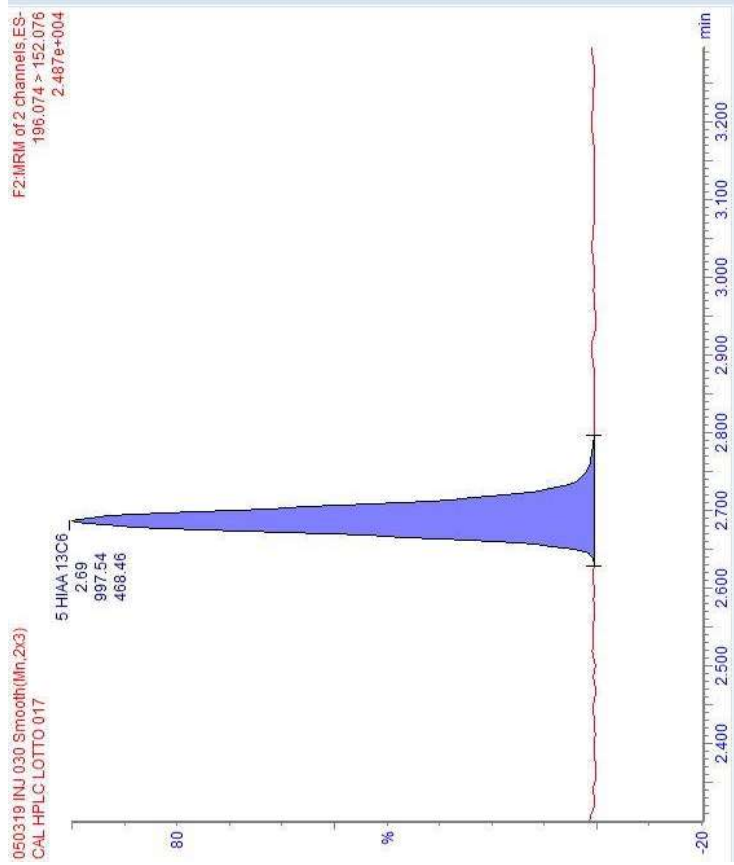
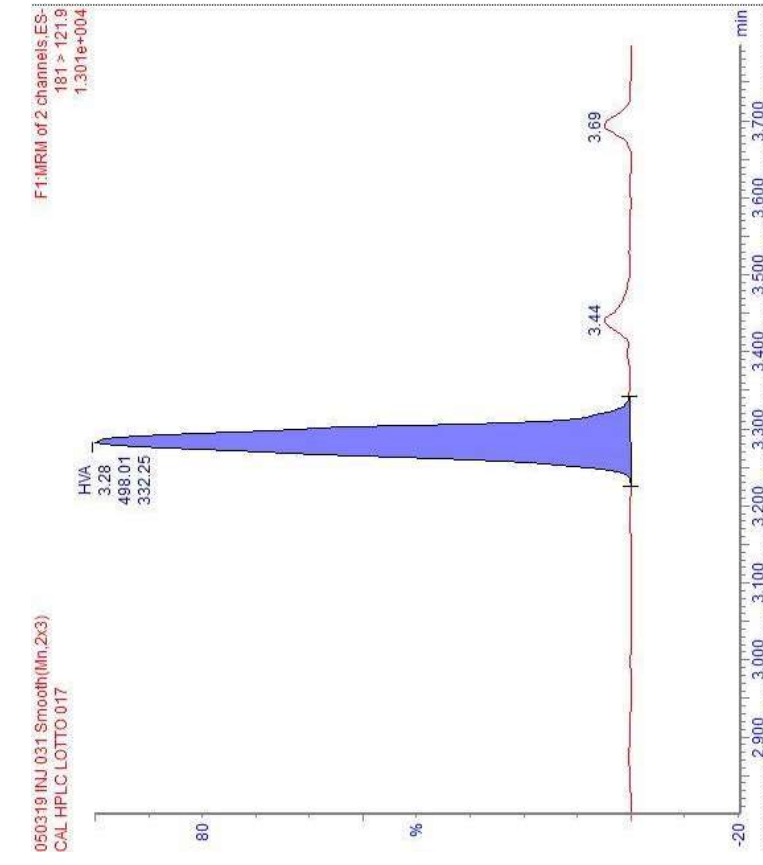


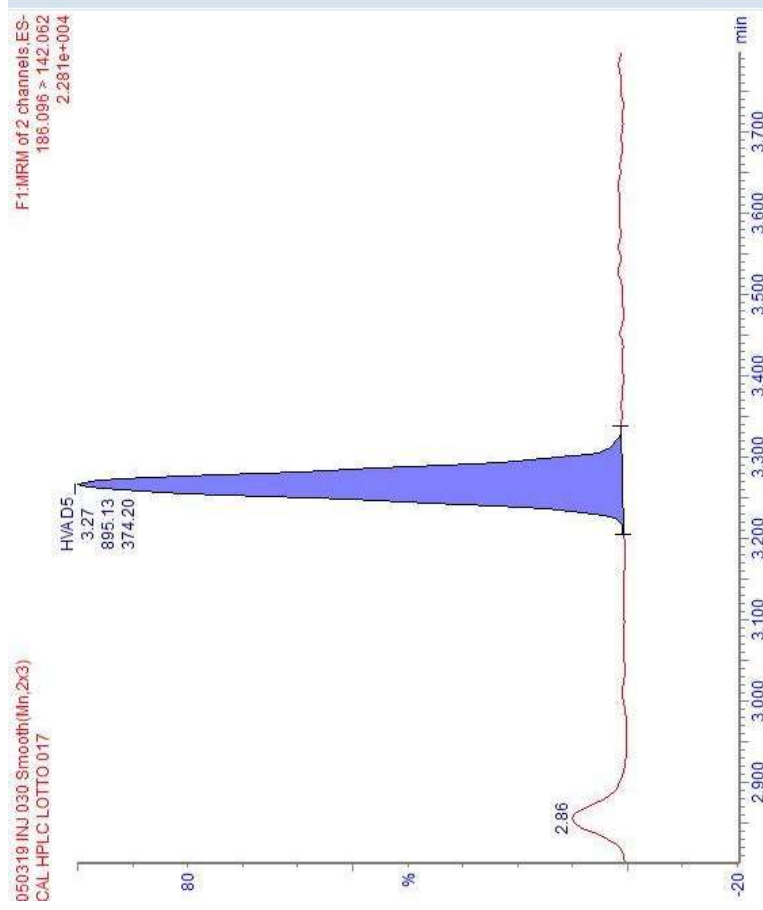
Fig. 6:	Calibrador orina
	R.T. 2.69      5-HIAA-13C6

# VMA, 5-HIAA y HVA BY LC/MS

(Cromatogramas de referencia)



<b>Fig. 7:</b>	<b>Calibrador orina</b>
	R.T. 3.28    HVA










<b>Fig. 8:</b>	<b>Calibrador orina</b>
	R.T. 3.27    HVA-D5




## ROTULOS INTERNOS


**Free VMA/5-HIAA/HVA  
in URINE by LC/MS  
LC14610**

**REF**

**LOT** 002  2022-07  2025-07



 100    






  


 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**Free VMA/5-HIAA-HVA in URINE  
BY LC/MS - MOBILE PHASE M1  
LC14611**

**REF**

**LOT** 001  2021-11  2024-11



 4x500ml    









 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**Free VMA/5-HIAA-HVA in URINE  
BY LC/MS - MOBILE PHASE M1  
LC14621**

**REF**

**LOT** 001  2021-11  2024-11



 4x500ml    











 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**STARTER KIT for VMA/5-HIAA/HVA  
in URINE by LC-MS  
SK14610**

**REF**


**LOT** 008  2023-08  2024-02

 6x1ml    

 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579




**EUREKA LAB DIVISION**

**VMA/HVA/5-HIAA by LC-MS  
LC14630** 


Mix Solution ISTD (2 ml)


H225-301+311+331-370 P210-261-280-308+311-370+378-403

Lot N° 002 Oct 2022 Exp. Date: Apr-23



**EUREKA LAB DIVISION**




**VMA/HVA/5-HIAA in urine by LC/MS** 

**REAGENT A** **LC14610** 

Internal Std Solution (2 ml)


H225-301+311+331-370 P210-261-280-308+311-370+378-403

**LOT** 002  2022-07  2025-07





  

**EUREKA LAB DIVISION**

**VMA/HVA/5-HIAA in urine by LC/MS**

**REAGENT B** LC14610  IVD **CE**

Diluting Solution (20 ml)


 002  2022-07  2025-07 





**EUREKA LAB DIVISION**

**VMA/HVA/5-HIAA in urine by LC/MS** IVD **CE**

**REAGENT M1** LC14610

MOBILE PHASE M1 READY TO USE (500 ml)




 002  2022-07  2025-07 







**EUREKA LAB DIVISION**

**VMA/HVA/5-HIAA in urine by LC/MS** **CE**

**REAGENT M2** LC14610 IVD

MOBILE PHASE M2 READY TO USE (500 ml)




H225-302+312+332-319 P210-233-261-280 P312-370+378 





 002  2022-07  2025-07   




## ROTULOS EXTERNOS


**Free VMA/5-HIAA/HVA**  
**in URINE by LC/MS**  
**LC14610**

**REF** 1/4

 002  2022-07  2025-07




 100    IVD **CE**






  




 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**STARTER KIT for VMA/5-HIAA/HVA**  
**in URINE by LC-MS**

**REF** SK14610

 008  2023-08  2024-02



 6x1ml     IVD **CE**




  




 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**DEUTERATED INTERNAL  
STANDARD MIX SOLUTION  
in URINE  
LC14630**

**REF**

**LOT** 002  2022-10  2023-04



 1x2ml  -25 °C  -15 °C **IVD** **CE**




  


 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**Free VMA/5-HIAA-HVA in URINE  
BY LC/MS - MOBILE PHASE M1  
LC14611**

**REF**

**LOT** 001  2021-11  2024-11



 4x500ml  +2 °C  +8 °C **IVD** **CE**







 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579


**Free VMA/5-HIAA-HVA in URINE  
BY LC/MS - MOBILE PHASE M1  
LC14621**

**REF**

**LOT** 001  2021-11  2024-11

 4x500ml  +2 °C  +8 °C **IVD** **CE**



 Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579

## ROTULADO IMPORTADOR

**Producto:** EUREKA - Kit de reactivos para la determinación de VMA, 5-HIAA y HVA en orina por LC/MS

**Fabricante:** Eureka srl - Lab Division, Via Enrico Ferini, 25 / Via M. D'Antona, 28 - 60033 Chiaravalle (AN), Italia.

**Importador:** EXSA S.R.L.; Bernardo Ader N° 3620, Villa Adelina, Vicente López, Provincia de Buenos Aires.

**D.T.:** Farmacéutica Liliana Parodi, MN 9357

**No utilizar si el producto se encuentra dañado o abierto.**

**USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - Autorizado por la ANMAT PM 1489-65**

  
**LILIANA E. PARODI**  
FARMACEUTICA  
MAT. 9357

  
**EZEQUIEL BOEZIO**  
SOCIO-GERENTE



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
AÑO DE LA RECONSTRUCCIÓN DE LA NACIÓN ARGENTINA

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:**

**Referencia:** Rotulo e instrucciones de uso-EXSA S R L

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 17 pagina/s.