

MassChrom® Amino acids and acylcarnitines from dried blood
(MassChrom-Aminoácidos e Acilcarnitinas em sangue seco)

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de Aminoácidos e Acilcarnitinas em sangue seco por LC-MS/MS (método sem derivatização).

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

| Artigo | Apresentação |
|--------|--|
| 57000 | Kit Reagente para Análise de Aminoácidos e acilcarnitinas em sangue seco, 960 análises |

Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções MassChrom® Amino acids and acylcarnitines from dried blood (non derivatised) no site www.biosys.com.br.

SUMÁRIO

Este Kit permite a determinação semiquantitativa, simples e rápida, de aminoácidos e acilcarnitinas em (DBS) para triagem neonatal de distúrbios do metabolismo dos ácidos graxos e aminoácidos por espectrometria de massas em *tandem* - LC-MS/MS. O sistema LS-MS/MS é composto por uma bomba de HPLC, um injetor e um espectrômetro de massa em *tandem* com sensibilidade adequada.

MÉTODO

LS-MS/MS com detecção pela espectrometria de massa em tandem. Método sem derivatização da amostra.

PRINCÍPIO

Os seguintes aminoácidos, acilcarnitinas e carnitinas livres podem ser determinados semi-quantitativamente com este kit:

- **Aminoácidos:** alanina (Ala), arginina (Arg), ácido aspártico (Asp), citrulina (Cit), ácido glutâmico (Glu), glicina (Gly), leucina (Leu), metionina (Met), ornitina (Orn), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), tirosina (Tyr), valina (Val) e succinilacetona (SUC).
- **Carnitina livre e acilcarnitinas:** carnitina livre (C0), acetilcarnitina (C2), propionilcarnitina (C3), butirilcarnitina (C4), isovalerilcarnitina (C5), glutarilcarnitina (C5DC), hexanoilcarnitina (C6), octanoilcarnitina (C8), decanoilcarnitina (C10), dodecanoilcarnitina (C12), tetradecanoilcarnitina (C14), hexadecanoilcarnitina (C16) e octadecanoilcarnitina (C18).

REAGENTES

Componentes e Composição:

| Componente | Composição | Apresentação |
|--|--|--------------|
| Fase móvel (<i>Mobile Phase</i>) | Acetonitrila 50-100% | 2 x 1000 mL |
| Padrão Interno (<i>Internal Standard</i>) | solução contendo diversos aminoácidos e acilcarnitinas | 4 x 25 mL |
| Solução de lavagem (<i>Rinsing solution</i>) | Acetonitrila 50-100% | 1 x 1000 mL |
| Tampão de Extração (<i>Extraction buffer</i>) | Metanol 55-100% | 1 x 100 mL |
| Placa de 96 poços | - | 30 unidades |
| Folha de proteção para placa de 96 poços | - | 20 unidades |
| Folhas de vedação | - | 12 unidades |

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, desde que as condições de armazenamento estabelecidas sejam obedecidas. A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenagem dos reagentes do kit.

| spots de sangue seco | Produto | Condição |
|------------------------------------|---------|---------------------------------------|
| Fase móvel (art. 57001) | | Temperatura ambiente (+18 a +30°C) |
| Padrão Interno (art. 57004) | | Abaixo de -18°C |
| Solução de lavagem (art. 57007) | | Temperatura ambiente (+18 a +30°C) |
| Tampão de extração (art. 57008) | | Temperatura ambiente (+18 a +30°C) |

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Por favor, consulte a ficha de segurança dos reagentes e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e 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

A Fase Móvel, Solução de Lavagem, Tampão de Extração e os resíduos das amostras preparadas contêm solventes orgânicos. Descarte os resíduos destes produtos em recipientes para solventes orgânicos livres de halogênio.

PREPARO DOS REAGENTES

Fase Móvel: pronto para uso.

Solução de lavagem: pronto para uso.

Tampão de extração: pronto para uso.

Padrão Interno (liof):

O padrão interno (artigo 57004) é utilizado como padrão de calibração para cada amostra e é rastreável a substâncias de referência isotopicamente marcadas adquiridas de fornecedor certificado. Após reconstituição, uma quantidade definida de padrão interno é adicionada a amostra e, então, submetido a todo o procedimento de preparação das amostras.

Antes do preparo de amostras, reconstitua o Padrão Interno (artigo 57004) com 25 ml do Tampão de Extração (artigo 57008). Para isso, abra o frasco do padrão interno e dissolva o conteúdo com 5 mL de solução tampão de extração.

Deixe o frasco em repouso à temperatura +20 a +25°C por cerca de 5 minutos, agite ocasional e suavemente.

Transfira o conteúdo do frasco para um balão volumétrico de 25 mL. Enxague o frasco do padrão interno duas vezes com 5 mL de solução tampão de extração e transfira o líquido para o balão volumétrico. Complete o volume do balão volumétrico para 25 mL com a solução tampão de extração e homogeneíze. Evite a exposição direta à luz. A concentração atual depende do lote e poderá ser encontrada no folheto de informações que acompanha o padrão.

Estabilidade do Padrão Interno após reconstituição: se armazenado em +2 a +8°C, bem fechado e protegido da luz, o padrão interno pode ser armazenado por até 3 semanas.

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- **MassCheck** Amino Acids, Acylcarnitines, Succinylacetone dried blood spot control, Bi-Level (I + II) (Chromsystems art. 0191)
- **MassChrom** Amino Acids And Acylcarnitines – succinylacetone (art. 57111 composto por Padrão Interno succinilacetona (art. 57044) e Tampão de Extração, succinilacetona (art. 57012))
- Espectrômetro de massa em *tandem* com *software* de avaliação;
- Sistema de HPLC com bomba, injetor e amostrador automático;
- Picotador automático ou manual, para picotar as amostras, 3 mm em diâmetro;
- Agitador de placas de 96 poços termoestáveis para extração das amostras;
- Presilhas de borracha (elástico) para prender as folhas de proteção às placas de 96 poços;
- Pipeta ou pipeta multicanal, 100 µL;
- Ponteiras;
- Balão volumétrico com capacidade para 25 ml;
- Opcional: centrífuga para placas de 96 poços

AMOSTRA

Para coleta e armazenamento de amostras de pacientes, diferentes recomendações estão disponíveis para diferentes países. A adesão à regulamentação nacional é fortemente recomendada. Por exemplo, na Alemanha, a coleta para triagem neonatal deve ser feita entre 48 e 72 horas após o nascimento (ver "Kinder Richtlinie") enquanto de acordo com a norma CLSI NBS01-Ed7, 2021^[3] é preferível uma amostra de triagem a ser coletada 24 a 48 horas após o nascimento.

O sangue é coletado do calcanhar do recém-nascido por gotejamento em papel de filtro e colocado em repouso até que esteja seco. Recomenda-se que sejam utilizados papéis de filtro aprovados e específicos para o teste. Amostras com EDTA ou heparina não devem ser utilizadas pois podem levar a resultados falso-negativos ou falso-positivos.

Descrição resumida das etapas da coleta:

1. Limpe a área do calcanhar do recém-nascido destinada à punção com antisséptico. Seque com cotonete estéril.
2. Perfure o calcanhar com uma lanceta estéril. A ponta da lanceta deve ser menor que 2 mm, pois, perfurações profundas podem ferir crianças pequenas.
3. Descarte a primeira gota de sangue com um cotonete estéril.
4. Colha a próxima grande gota de sangue com o papel de filtro, aguardando até que a amostra seja adsorvida no papel e preencha totalmente o círculo delimitado. Não aplique uma gota de sangue sobre a outra e nem colha em ambos os lados do papel, pois isto altera o volume de sangue coletado por *spot* e pode produzir falsos resultados patológicos.
5. Preencha cada um dos círculos remanescentes no papel de filtro, repetindo o mesmo procedimento, com uma única gota de sangue.
6. Cuidados com o local de punção deve estar de acordo com a prática comum do hospital/laboratório
7. Deixe o sangue coletado secar por 4 horas, repousando o papel de filtro em uma superfície horizontal, não-absorvente, em +20 a +25°C.
8. Envie as amostras secas em papel de filtro para o laboratório, dentro de 24 horas.

Para instruções detalhadas da coleta da amostra, consulte o manual do fabricante do papel de filtro ou as orientações padronizadas.

A estabilidade das amostras de sangue seco é de até 10 dias em temperatura ambiente (20 a 25°C) ou 6 semanas refrigeradas (2 a 8°C). Para períodos mais longos de armazenamento, proteja as amostras da umidade e congele-as a <-18°C (até 3 meses). Evite temperaturas acima de 37°C por vários dias, isto pode causar a diminuição de alguns aminoácidos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Ajustes do instrumento:

| | |
|------------------------|-------------------------|
| Amostrador automático: | Volume de injeção 10 µL |
| Tempo de corrida: | 1,7 min |
| Gradiente de fluxo: | 20 a 600 µL/min |

Preparo da amostra sem succinilacetona

1. Picotagem da amostra:
Faça um picote no papel de filtro, de forma a retirar um disco de 3 mm da amostra de sangue seco e coloque dentro de um poço da placa de 96 poços.
2. Extração de aminoácidos/acilcarnitinas:
Adicione 100 µL de padrão interno reconstituído. Sele a placa com a folha de proteção e agite por 20 minutos a 600 rpm, em temperatura +20 a +25°C.
3. Transferência:
Remova a folha de proteção da placa de 96 poços. Transfira o sobrenadante para uma nova placa de 96 poços. Sele a placa com a folha de proteção
4. Injeção:
Injete 10 µL do eluato no sistema LC-MS/MS.
5. Controle de Qualidade
A precisão e exatidão da análise devem ser monitoradas com a inclusão de controles adicionais em cada corrida analítica.

Preparo da amostra com succinilacetona, utilizando o kit não fornecido, MassChrom Amino Acids And Acylcarnitines succinylacetone (art. 57111 composto por Padrão Interno succinilacetona (art. 57044) e Tampão de Extração, succinilacetona (art. 57012))

1. Picotagem da amostra:
Faça um picote no papel de filtro, de forma a retirar um disco de 3 mm da amostra de sangue seco e coloque dentro de um poço da placa de 96 poços.
2. Extração de aminoácidos/acilcarnitinas:
Adicione 100 µL de padrão interno (artigo 57004, fornecido) reconstituído. Sele a placa com a folha de proteção e agite por 20 minutos a 600 rpm, em temperatura +20 a +25°C.
3. Transferência:
Remova a folha de proteção da placa de 96 poços. Transfira o sobrenadante para uma nova placa de 96 poços. Sele a placa com a folha de proteção
4. Extração de succinilacetona:
Primeiro adicione 75 µL de Padrão Interno, succinilacetona (art. 57044), depois 75 µL de Tampão de Extração, succinilacetona (art. 57012) ao disco de papel de filtro restante. Sele a placa com uma folha protetora e agite a 600 rpm por 30 min a 45°C.
6. Unindo os extratos:
Remova as folhas protetoras de ambas as placas e pipete o extrato da etapa 4 no extrato da etapa 3. Sele a placa com uma folha de vedação. Agite a 500 rpm durante 1 minuto a +20 a +25°C.
6. Incubação:
Incube a placa por 20 minutos a +20 a +25°C antes da injeção.
7. Injeção:
Injete 10 µL do eluato no sistema LC-MS/MS.

TRANSIÇÃO DE MASSA DOS ANALITOS E PADRÕES INTERNOS:

Aminoácidos

| Substância | Transição de massa |
|----------------------|--------------------|
| Alanina | 90 > 44 |
| Alanina-D4 | 94 > 48 |
| Arginina | 175 > 70 |
| Arginina-D7 | 182 > 77 |
| Ácido Aspártico | 134 > 116 |
| Ácido Aspártico-D3 | 137 > 119 |
| Citrulina | 176 > 113 |
| Citrulina-D2 | 178 > 115 |
| Ácido Glutâmico | 148 > 130 |
| Ácido Glutâmico-D5 | 153 > 135 |
| Glicina | 76 > 30 |
| Glicina-13C2-15N | 79 > 32 |
| Leucina | 132 > 86 |
| Leucina-D3 | 135 > 89 |
| Metionina | 150 > 133 |
| Metionina-D3 | 153 > 136 |
| Ornitina | 133 > 70 |
| Ornitina-D6 | 139 > 76 |
| Fenilalanina | 166 > 120 |
| Fenilalanina-D5 | 171 > 125 |
| Prolina | 116 > 70 |
| Prolina-D7 | 123 > 77 |
| Tirosina | 182 > 136 |
| Tirosina-D4 | 186 > 140 |
| Valina | 118 > 72 |
| Valina-D8 | 126 > 80 |
| Succinilacetona | 155 > 137 |
| Succinilacetona-13C5 | 160 > 142 |

Acilcarnitinas e Carnitina livre:

| Substância | Transição de massa |
|-------------------|--------------------|
| C0-Carnitina | 162 > 85 |
| Carnitina-D9 | 171 > 85 |
| C2-Carnitina | 204 > 85 |
| C2-Carnitina-D3 | 207 > 85 |
| C3-Carnitina | 218 > 85 |
| C3-Carnitina-D3 | 221 > 85 |
| C4-Carnitina | 232 > 85 |
| C4-Carnitina-D3 | 235 > 85 |
| C5-Carnitina | 246 > 85 |
| C5-Carnitina-D9 | 255 > 85 |
| C5DC-Carnitina | 276 > 85 |
| C5DC-Carnitina-D6 | 282 > 85 |
| C6-Carnitina | 260 > 85 |
| C6-Carnitina-D3 | 263 > 85 |
| C8-Carnitina | 288 > 85 |
| C8-Carnitina-D3 | 291 > 85 |
| C10-Carnitina | 316 > 85 |
| C10-Carnitina-D3 | 319 > 85 |
| C12-Carnitina | 344 > 85 |
| C12-Carnitina-D3 | 347 > 85 |
| C14-Carnitina | 372 > 85 |
| C14-Carnitina-D3 | 375 > 85 |
| C16-Carnitina | 400 > 85 |
| C16-Carnitina-D3 | 403 > 85 |
| C18-Carnitina | 428 > 85 |
| C18-Carnitina-D3 | 431 > 85 |

Dados de aquisição e avaliação

O padrão interno é usado como um calibrador individual para cada amostra, de modo que os efeitos da matriz são reduzidos a um mínimo. Para este propósito, a amostra (controle, amostra) é misturada com uma quantidade definida do padrão interno. As concentrações dos compostos marcados isotopicamente no padrão interno dependem do lote e constarão do folheto informativo que acompanha os padrões.

O volume de sangue utilizado é necessário para uma quantificação bem-sucedida das amostras. O volume sanguíneo em um disco perfurado de sangue seco depende do diâmetro do disco, do hematócrito da amostra e do material do papel de filtro utilizado).

A norma CLSI NBS01-Ed7, 2021 [3] recomenda a utilização apenas de papel filtro destinado à análise de spots de sangue seco na triagem neonatal. Alguns papéis de filtro comerciais estão disponíveis, por ex. Whatman 903 (GE Healthcare), que atendem aos requisitos da norma CLSI. O punch deve ter aproximadamente 1/8 polegada (3,2 mm) de diâmetro, o que corresponde a um volume assumido de 3,1 µL para todas as amostras, independentemente do hematócrito [4].

Este método de triagem é um método de determinação quantitativa, que é, no entanto, significativamente influenciado por diferentes volumes de sangue utilizados, dependendo da amostra. Portanto, mais testes laboratoriais de diagnóstico devem sempre ser realizado para confirmar resultados de triagem positivos.

Dependendo do software utilizado, os valores dos compostos do padrão interno e do volume sanguíneo ou a concentração relacionada à amostra do padrão interno é necessária. Insira as concentrações (ver ficha informativa) do padrão interno na tabela de análise.

Se qualquer outro tamanho de perfuração do sangue seco for utilizado (volume de amostra), as concentrações de amostras relacionadas ao padrão interno devem ser corrigidas.

Para garantir que as condições de LC-MS/MS não sofreram variações durante a corrida analítica, os controles preparados devem ser injetados durante a corrida e novamente no final.

Para o correto manuseio do software, entre em contato com o fabricante do seu sistema MS se necessário.

Controle de Qualidade

Monitore a precisão e exatidão das análises incluindo controles adicionais em cada execução analítica pelo menos no início e no final da sequência de medição. Se os valores estiverem fora dos intervalos indicados no folheto informativo do controle utilizado, verificar o sistema, o procedimento de preparação da amostra, bem como o cálculo dos valores das análises.

Conforme descrito na Norma CLSI NBS04-Ed2, 2017^[5], cada laboratório deve estabelecer seus próprios critérios de aceitabilidade para os resultados obtidos nas amostras de cada corrida analítica. Esses critérios se baseiam principalmente na análise de controles de qualidade.

CALIBRADORES E CONTROLES

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos para calibrar e monitorar a precisão e exatidão das análises:

| Artigo | Produto | Apresentação |
|--------|--|--------------|
| 0191 | MassCheck Amino Acids, Acylcarnitines, succinylacetone dried blood spot control, Bi-Level (I + II) | 2 x 3 spots |

CÁLCULOS

Calcule a concentração do analito A na amostra ($C_{amostra}$) como a seguir:

$$C_{amostra} [\mu\text{mol/L}] = \frac{A_{amostra} \times \text{Volume}_{ISTD}}{IS_{amostra} \times \text{Vol}_{\text{sangue no disco}} \times \text{RRF}} \times C_{ISTD}$$

Sendo:

| | |
|--|--|
| Concentração do analito A na amostra | = $C_{amostra}$ |
| Intensidade de sinal do analito A na amostra | = $A_{amostra}$ |
| Intensidade de sinal do padrão interno (ISTD) no espectro da amostra | = $IS_{amostra}$ |
| Concentração C do padrão interno relacionado à amostra | = C_{ISTD} |
| Volume de sangue seco no disco | = $\text{Volume}_{\text{sangue no disco}}$ |
| Volume do padrão interno | = Volume_{ISTD} |
| Fator de Resposta Relativo | = RRF |

O volume de sangue no disco de sangue seco geralmente é de cerca de 3,11–3,2 µL.

Fatores de resposta relativos (RRF) podem ser usados de acordo com a norma CLSI NBS04-Ed2, 2017^[5] ao usar diferentes instrumentos MS e aplicando os mesmos valores de corte. Desta forma, por exemplo, diferentes eficiências de ionização de diferentes espectrômetros de massa são levadas em consideração e compensadas matematicamente.

Com base nos resultados de medição de amostras de referência com concentrações de analito conhecidas ao longo de vários dias de análise, os RRF são calculados para cada espectrômetro de massa de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{RRF} = \frac{\text{Concentração medida do analito}}{\text{Concentração alvo do analito}}$$

FATORES DE CONVERSÃO

Aminoácidos:

| Analito | µmol/L em mg/L | mg/L em µmol/L |
|-----------------|----------------|----------------|
| Alanina | x 0,0891 | x 11,223 |
| Arginina | x 0,1742 | x 5,7405 |
| Ácido Aspártico | x 0,1331 | x 7,5126 |
| Citrulina | x 0,1752 | x 5,7081 |
| Ácido Glutâmico | x 0,1471 | x 6,7967 |
| Glicina | x 0,0751 | x 13,321 |
| Leucina | x 0,1312 | x 7,6237 |
| Metionina | x 0,1492 | x 6,7020 |
| Ornitina | x 0,1322 | x 7,5666 |
| Fenilalanina | x 0,1652 | x 6,0536 |
| Prolina | x 0,1151 | x 8,6858 |
| Tirosina | x 0,1812 | x 5,5191 |
| Valina | x 0,1172 | x 8,5361 |
| Succinilacetona | X 0,1581 | X 6,3231 |

Acilcarnitinas e Carnitina livre:

| Analito | µmol/L em mg/L | mg/L em µmol/L |
|----------------|----------------|----------------|
| C0-Carnitina | x 0,1612 | x 6,2019 |
| C2-Carnitina | x 0,2032 | x 4,9203 |
| C3-Carnitina | x 0,2172 | x 4,6032 |
| C4-Carnitina | x 0,2312 | x 4,3245 |
| C5-Carnitina | x 0,2452 | x 4,0776 |
| C5DC-Carnitina | x 0,2753 | x 3,6319 |
| C6-Carnitina | x 0,2593 | x 3,8559 |
| C8-Carnitina | x 0,2874 | x 3,4789 |
| C10-Carnitina | x 0,3154 | x 3,1701 |
| C12-Carnitina | x 0,3435 | x 2,9109 |
| C14-Carnitina | x 0,3715 | x 2,6915 |
| C16-Carnitina | x 0,3996 | x 2,5023 |
| C18-Carnitina | x 0,4276 | x 2,3384 |

INTERFERENTES CONHECIDOS

- Isoleucina interfere com leucina. A concentração medida na amostra é um somatório das concentrações dos dois aminoácidos.
- Hidroxiprolina interfere com leucina. O valor padrão da hidroxiprolina é insignificante comparado ao da leucina. Hidroxiprolina não deve causar qualquer falso aumento da concentração de leucina durante a análise de rotina.
- Metionina sulfona interfere com tirosina. Metionina sulfona é um produto de degradação da metionina. A concentração padrão da metionina em recém-nascidos é de aproximadamente 20 µmol/L e as concentrações máximas esperadas de metionina sulfona estão dentro dessa faixa. O valor patológico de tirosina é de aproximadamente 300 µmol/L. Desta forma, metionina sulfona não deve causar acréscimos significativos na concentração de tirosina durante análises de rotina.
- Metionina sulfóxido interfere com tirosina e fenilalanina. Metionina sulfóxido é um produto da oxidação da metionina. A concentração normal de metionina em recém-nascidos é de aproximadamente 20 µmol/L e as concentrações máximas esperadas de metionina sulfona estão dentro dessa faixa. Os valores patológicos de tirosina e de fenilalanina é de aproximadamente 100-300 µmol/L. Desta forma, metionina

sulfóxido não deve causar acréscimos significativos na concentração durante análises de rotina.

- Asparagina interfere com ornitina. A concentração máxima de asparagina em crianças é de até 140 µmol/l. Somente concentrações maiores de 300 µmol/l de asparagina geram um aumento de 20% na concentração de ornitina. Asparagina não deve causar nenhum falso aumento nas concentrações de ornitina durante análises de rotina.
- Sarcosina interfere com alanina. A concentração de sarcosina em relação a alanina, no entanto, é negligenciável. Portanto, sarcosina não deve causar resultados falsamente aumentados de alanina.
- Creatina, uma substância endógena também utilizada como suplemento dietético para o aumento da massa muscular interfere com a alanina e leucina.
- 4-aminoantipirina, um metabólito do analgésico metamizol (por exemplo Novalgina) interfere com C2-carnitina.
- As substâncias medicamentosas alopurinol (um medicamento para diminuir os níveis de ácido úrico), triantereno (um diurético), gabapentina (um antiepiléptico) e acetilcisteína (um expectorante) interferem na transição de massa (MRM) de succinilacetona e levam a valores falsamente positivos de succinilacetona.
- As substâncias medicamentosas azatioprina (um imunossupressor) e aloxantina/oxipurinol (metabólito do alopurinol) interferem na transição de massa (MRM) do padrão interno da succinilacetona e levam a valores falsamente positivos de succinilacetona.
- Lidocaína interfere com a transição de massa (MRM) do padrão interno de C4-carnitina e, portanto, pode levar a valores falsamente negativos de C4-carnitina.
- Gabapentina (um antiepiléptico) interfere com a transição de massa (MRM) do padrão interno de C5DC-carnitina e pode levar a valores falsamente positivos de C5DC-carnitina.
- Levetiracetam, um antiepiléptico, interfere com a transição de massa (MRM) de C12-carnitina e, portanto, pode levar a valores falsamente negativos de C12-carnitina.
- Pregabalina, um antiepiléptico, interfere na transição de massa (MRM) do padrão interno da succinilacetona e pode, portanto, levar a valores falsamente negativos de succinilacetona.
- Prilocaína, um anestésico local, interfere na transição de massa (MRM) do padrão interno de C3-carnitina e, portanto, pode levar a valores falsamente negativos de C3-carnitina.
- Acilcarnitinas isobáricas com fragmentações idênticas são medidas como uma soma. Isto se aplica aos seguintes pares de acilcarnitina: C3DC / C4OH; C4DC / C5OH; C5DC / C6OH etc
- Aditivos em materiais plásticos (placas de 96 poços), folhas de proteção) usados na preparação das amostras, podem interferir consideravelmente com algumas acilcarnitinas, gerando resultados falso-positivos. Logo, este kit de reagentes da Chromsystems contém todos os materiais plásticos necessários para a análise, devidamente testados e classificados como livre de interferentes.
- Em pacientes com dietas parenterais, com substituição de tirosina por acetil tirosina, pode ocorrer decréscimo na concentração de tirosina. A razão elevada entre as concentrações de Fenilalanina e Tirosina (Phe/Tyr) pode indicar falsamente fenilcetonúria, mesmo com a concentração de fenilalanina em valores normais.
- Pacientes tratados com certos antibióticos (por exemplo, pivmecilinam, pivampicilina), o ácido piválico pode ser formado por metabolização e, por processos posteriores, a pivaloilcarnitina. A pivaloilcarnitina é isobárica à isovalericarnitina (C5-carnitina), o que pode levar a uma sobreposição de pico sugerindo acidemia isovaleriana, embora nenhum distúrbio metabólico esteja presente.

Os seguintes compostos isobáricos, substâncias medicamentosas, drogas de abuso e metabólitos foram testadas. Não foram observadas interferências nas análises.

Compostos isobáricos:

Acetilserina, ácido málico, ácido aminocapróico, amitriptilina, aripiprazol, atomoxetina, atropina, betametasona, budesonida, bupivacaína, carbimazol, cefalexina, cetirizina, clorprotixeno, clemastina (meclostina), clenbuterol, clomipramina, clonidina, clotrimazol, colchicina, ciclofosfamida, ciproterona, difenidramina, domperidona, etambutol, etilefrina, ácido formiminoglutâmico, fluticasona, fluvoxamina, fosfomicina, hidroxicloroquina, imipramina, irbesartana, isoniazida, lactulose, maprotilina, melperona, mepivacaína, mercaptopurina, mesalazina, metronidazol, moxifloxacina, naproxeno, nitrofurantoina, norfloxacina, nortriptilina, ofloxacina, ondansetrona, opipramol, oxcarbazepina, oximetazolina, paliperidona, penicilamina, fenilbutazona, pipamperona, proguanil, propofol, propranolol, propiltiouracil, propifenazona, pseudoefedrina, pirazinamida, piridostigmina, piridoxina, pirimetamina, ramipril, ranitidina, reproterol, ropivacaína, sotalol, espiromolactona, sulbactam, sulfasalazina, terbinafina, teofilina, tiamazol, tioridazina, timolol, tolperisona, tranilcipromina, trimetoprim, venlafaxina, xilometazolina, zolmitriptano, zuclopentixol.

Drogas/metabólitos:

Acetazolamida, ácido acetilsalicílico, aciclovir, alprazolam, α -hidroxialprazolam, ampicilina, amlodipina, amoxicilina, ampicilina, azitromicina, benzocaína, betaína, bisoprolol, bromazepam, 3-OH-bromazepam, brotizolam, buprenorfina, captopril, carbamazepina, carbamazepina-10,11-epóxido, carbamilglutamato, cefradina, cloranfenicol, clordiazepóxido, clorexidina, cimetidina, ciprofloxacina, claritromicina, clobazam, clonazepam, 7-aminoclonazepam, codeína, demoxepam, dexametasona, dextrometorfano, diazepam, diclofenaco, digoxina, digoxina, dihidrocodeína, 2,3-ácido dihidroxibenzóico, disopiramida, EDDP (2-etilideno-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina), enalaprilato, eritromicina, estazolam, fentanil, norfentanil, flunitrazepam, desmetilflunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam, flurazepam, desalquilflurazepam, furosefida, ganciclovir, gentamicina, hidroclorotiazida, ibuprofeno, nitrato de isossorbida, itraconazol, cetamina, norcetamina, cetoconazol, levofloxacina, levotiroxina, lorazepam, lormetazepam, medazepam, meperidina, normeperidina, metformina HCl (1,1-dimetilbiguanida), metadona, metilicina, metilfenidato, metilprednisolona, metoclopramida, metoprolol, midazolam, α -hidroximidazolam, morfina, ácido micofenólico, glucuronídeo de ácido micofenólico, N-acetil-procaïnâmica, nadolol, naloxona, naltrexona, benzoato de sódio, fluoreto de sódio, fenilbutirato de sódio, N-desmetildiazepam, neomicina, nitrazepam, 7-aminonitrazepam, nifedipina, nitisinona, norbuprenorfina, norclobazam, norverapamil, omeprazol, oxazepam, oxicodeona, paracetamol (4-acetamidofenol ou acetaminofeno), penicilina G, penicilina V, fenobarbital, fenitoína, prazepam, prazosina, prednisolona, prednisona, procaïnâmica, prometazina, (\pm)-propranolol, propoxifeno, quetiapina, norpropoxifeno, ranitidina, rifampicina, risperidona, ácido ritalínico, salbutamol (albuterol), ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzóico), sopropterina, estreptomina, sufentanil, sulfametoxazol, tapentadol, nortapentadol, temazepam, tiopental, tilidina, nortilidina, tramadol, O-DM-tramadol, triazolam, α -hidroxitriazolam, trimetoprima, ácido valpróico, vancomicina, verapamil, zaleplon, zolpidem, zopiclona.

Drogas de abuso/metabólitos:

2C-B (4-bromo-2,5-dimetoxifeniletilamina), 2C-I (2,5-dimetoxi-4-iodofenetilamina), 2-Oxo-3-hidroxi-LSD, 6-monoacetilmorfina, acetilcodeína, alobarbitol, amobarbitol, anfetamina, barbital, BDB (1-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-butilamina), benzoilecgonina, butalbital, butilona, catinona, cocaetilenol, cocaína, ácido d, l-11-nor- Δ^9 -THC-carboxílico, hexobarbital, hidrocodona, hidromorfona, LSD (diethylamida do ácido lisérgico), MBDB (2-metilamino-1-(3,4-metilenodioxifenil)butano), MDA (3,4-metilenodioxianfetamina), MDEA (3,4-metilenodiox-N-etilanfetamina), MDMA (3,4-metilenodiox-N-metilanfetamina), MDPV (metilenodioxiprovalerona), meconina, mefedrona, mescalina, metanfetamina, metaqualona, metilona, norcocaína, norcodeína, oximorfona, papaverina, PCP (fenilciclohexilpiperidina), pentobarbital, PMA (4-metoxianfetamina), secbutabarbitol, secobarbital, tebaína.

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Recuperação

A recuperação analítica foi determinada a partir do coeficiente angular da curva de calibração de amostras de sangue fortificadas de quantidades definidas de aminoácidos e acilcarnitinas e soluções padrões diluídas.

Espectrômetro de massa Waters® Quattro Micro™ API

| Aminoácidos: | | Acilcarnitinas e Carnitina livre | |
|-----------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| Analito | Recuperação (%) | Analito | Recuperação (%) |
| Alanina | 79 | C0-Carnitina | 85 |
| Arginina | 80 | C2-Carnitina | 86 |
| Ácido Aspártico | 88 | C3-Carnitina | 89 |
| Citrulina | 94 | C4-Carnitina | 88 |
| Ácido Glutâmico | 81 | C5-Carnitina | 92 |
| Glicina | 81 | C5DC-Carnitina | 91 |
| Leucina | 86 | C6-Carnitina | 90 |
| Metionina | 90 | C8-Carnitina | 91 |
| Ornitina | 86 | C10-Carnitina | 92 |
| Fenilalanina | 94 | C12-Carnitina | 94 |
| Prolina* | 89 | C14-Carnitina | 94 |
| Tirosina | 93 | C16-Carnitina | 94 |
| Valina | 90 | C18-Carnitina | 87 |

* a determinação deste analito foi realizada no AB Sciex API4000™

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Aminoácidos: | | Acilcarnitinas e Carnitina livre | |
|-----------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| Analito | Recuperação (%) | Analito | Recuperação (%) |
| Alanina | 73 | C0-Carnitina | 85 |
| Arginina | 64 | C2-Carnitina | 80 |
| Ácido Aspártico | 74 | C3-Carnitina | 72 |
| Citrulina | 80 | C4-Carnitina | 76 |
| Ácido Glutâmico | 68 | C5-Carnitina | 88 |
| Glicina | 78 | C5DC-Carnitina | 102 |
| Leucina | 76 | C6-Carnitina | 73 |
| Metionina | 73 | C8-Carnitina | 72 |
| Ornitina | 85 | C10-Carnitina | 70 |
| Fenilalanina | 77 | C12-Carnitina | 64 |
| Prolina* | 74 | C14-Carnitina | 63 |
| Tirosina | 78 | C16-Carnitina | 66 |
| Valina | 74 | C18-Carnitina | 65 |

* a determinação deste analito foi realizada no AB Sciex API4000™

Linearidade e limite de quantificação:

O limite de quantificação e a linearidade foram determinados por diluição de um eluato de amostras de sangue preparada com padrão interno. O método é considerado linear a partir do limite de quantificação até o limite máximo.

• Aminoácidos

Espectrômetro de massa Waters® Quattro Micro™ API

| Analito | Limite de quantificação aproximado ($\mu\text{mol/L}$)* | Limite máximo de linearidade ($\mu\text{mol/L}$) |
|-----------------|---|--|
| Alanina | 15,6 | 2000 |
| Arginina | 7,8 | 2000 |
| Ácido Aspártico | 15,6 | 2000 |
| Citrulina | 7,8 | 2000 |
| Ácido Glutâmico | 15,6 | 2000 |
| Glicina | 15,6 | 2000 |
| Leucina | 15,6 | 2000 |
| Metionina | 7,8 | 2000 |
| Ornitina | 7,8 | 2000 |
| Fenilalanina | 7,8 | 2000 |
| Prolina* | 4,8 | 2400 |
| Tirosina | 15,6 | 2000 |
| Valina | 15,6 | 2000 |

*A determinação deste analito foi realizada no AB Sciex API 4000™

** O limite de quantificação depende do sistema LC-MS/MS usado.

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Limite de quantificação aproximado (µmol/L) * | Limite máximo de linearidade (µmol/L) |
|-----------------|---|---------------------------------------|
| Alanina | 13.5 | 2000 |
| Arginina | 2.5 | 2000 |
| Ácido Aspártico | 30.0 | 2000 |
| Citrulina | 2.5 | 2000 |
| Ácido Glutâmico | 25.0 | 2000 |
| Glicina | 10.5 | 2000 |
| Leucina | 13.0 | 2000 |
| Metionina | 2.5 | 2000 |
| Ornitina | 8.0 | 2000 |
| Fenilalanina | 6.0 | 2000 |
| Prolina* | 5.0 | 2400 |
| Tirosina | 12.0 | 2000 |
| Valina | 16.5 | 2000 |

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre:**

Espectrômetro de massa Waters® Quattro Micro™ API

| Analito | Limite de quantificação aproximado (µmol/L) * | Limite máximo de linearidade (µmol/L) |
|----------------|---|---------------------------------------|
| C0-Carnitina | 1,6 | 200 |
| C2-Carnitina | 1,6 | 200 |
| C3-Carnitina | 0,2 | 50 |
| C4-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C5-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C5DC-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C6-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C8-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C10-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C12-Carnitina | 0,2 | 25 |
| C14-Carnitina | 0,1 | 25 |
| C16-Carnitina | 0,1 | 33 |
| C18-Carnitina | 0,1 | 33 |

*O limite de quantificação depende do sistema LC-MS/MS usado.

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Limite de quantificação aproximado (µmol/L) * | Limite máximo de linearidade (µmol/L) |
|----------------|---|---------------------------------------|
| C0-Carnitina | 1.5 | 200 |
| C2-Carnitina | 1.0 | 200 |
| C3-Carnitina | 0.1 | 50 |
| C4-Carnitina | 0.2 | 25 |
| C5-Carnitina | 0.2 | 25 |
| C5DC-Carnitina | 0.1 | 25 |
| C6-Carnitina | 0.1 | 25 |
| C8-Carnitina | 0.2 | 25 |
| C10-Carnitina | 0.1 | 25 |
| C12-Carnitina | 0.1 | 25 |
| C14-Carnitina | 0.1 | 25 |
| C16-Carnitina | 0.1 | 33 |
| C18-Carnitina | 0.1 | 33 |

*O limite de quantificação depende do sistema LC-MS/MS usado.

Precisão intra-ensaio:

A determinação da precisão intra-ensaio foi realizada em três diferentes concentrações, a partir da média e coeficiente de variação de múltiplas análises (n=10) de uma mesma amostra).

• **Aminoácidos**

Espectrômetro de massa SCIEX 45000MD™

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=10 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|--|-----------|-----------|
| Alanina | 5,2 (281) | 4,7 (390) | 4,6 (745) |
| Arginina | 4,2 (7) | 10,4 (12) | 3,4 (125) |
| Ácido Aspártico | 4,7 (96) | 5,1 (147) | 5,8 (345) |
| Citrulina | 6,8 (20) | 7,3 (61) | 5,0 (256) |
| Ácido Glutâmico | 4,9 (218) | 3,0 (388) | 3,8 (749) |

| | | | |
|--------------|------------|-----------|------------|
| Glicina | 10,9 (241) | 6,0 (336) | 5,0 (1085) |
| Leucina | 6,4 (181) | 2,9 (281) | 2,8 (592) |
| Metionina | 6,8 (19) | 4,0 (62) | 2,9 (268) |
| Ornitina | 5,6 (95) | 7,1 (217) | 5,4 (626) |
| Fenilalanina | 4,7 (69) | 3,4 (129) | 3,0 (566) |
| Prolina* | 8,8 (231) | 6,4 (525) | 5,4 (834) |
| Tirosina | 4,7 (69) | 2,9 (158) | 3,5 (488) |
| Valina | 4,8 (111) | 2,3 (171) | 4,3 (365) |

*A determinação deste analito foi realizada no Sciex API 4000™

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=10 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|--|-----------|------------|
| Alanina | 3.5 (378) | 2.6 (411) | 4.0 (752) |
| Arginina | 2.5 (19) | 1.7 (80) | 3.3 (167) |
| Ácido Aspártico | 3.9 (180) | 2.5 (231) | 4.0 (461) |
| Citrulina | 3.8 (26) | 4.6 (73) | 3.8 (275) |
| Ácido Glutâmico | 2.0 (482) | 3.8 (433) | 4.3 (876) |
| Glicina | 8.3 (285) | 5.9 (389) | 7.2 (1032) |
| Leucina | 3.4 (348) | 2.0 (351) | 4.3 (637) |
| Metionina | 4.7 (36) | 3.3 (73) | 4.3 (238) |
| Ornitina | 2.3 (251) | 1.9 (220) | 4.0 (677) |
| Fenilalanina | 1.8 (117) | 2.1 (196) | 4.2 (572) |
| Prolina* | 3.5 (332) | 2.6 (481) | 4.2 (716) |
| Tirosina | 2.2 (96) | 1.9 (192) | 4.3 (585) |
| Valina | 3.1 (221) | 1.9 (267) | 4.0 (520) |

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre**

Espectrômetro de massa Waters Quattro Micro™ API

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=10 (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|--|------------|------------|
| C0-Carnitina | 4,7 (26,4) | 3,0 (48,0) | 4,1 (105) |
| C2-Carnitina | 5,5 (15,2) | 2,7 (39,5) | 2,6 (81,6) |
| C3-Carnitina | 6,1 (1,78) | 2,7 (6,54) | 2,7 (15,1) |
| C4-Carnitina | 6,2 (0,34) | 4,9 (1,15) | 4,0 (4,42) |
| C5-Carnitina | 8,1 (0,14) | 4,0 (0,60) | 3,9 (2,35) |
| C5DC-Carnitina | 12,2(0,19) | 12,2(0,66) | 9,0 (2,38) |
| C6-Carnitina | 9,6 (0,06) | 3,2 (0,48) | 4,1 (2,11) |
| C8-Carnitina | 8,5 (0,10) | 3,9 (0,57) | 4,2 (2,31) |
| C10-Carnitina | 8,2 (0,16) | 3,7 (0,63) | 3,1 (2,44) |
| C12-Carnitina | 8,1 (0,07) | 3,8 (0,52) | 3,5 (2,25) |
| C14-Carnitina | 10,3(0,10) | 4,6 (0,50) | 3,8 (2,00) |
| C16-Carnitina | 5,7 (0,72) | 4,9 (4,56) | 3,3 (12,2) |
| C18-Carnitina | 6,6 (0,54) | 4,9 (2,26) | 5,2 (7,69) |

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=10 (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|--|------------|------------|
| C0-Carnitina | 4.0 (26.5) | 3.1 (40.7) | 4.5 (108) |
| C2-Carnitina | 2.8 (10.3) | 3.2 (28.5) | 4.4 (75.4) |
| C3-Carnitina | 5.5 (1.30) | 3.1 (5.84) | 4.9 (16.7) |
| C4-Carnitina | 3.5 (0.19) | 3.3 (1.04) | 5.5 (4.84) |
| C5-Carnitina | 6.6 (0.09) | 2.9 (0.60) | 4.9 (2.70) |
| C5DC-Carnitina | 9.0 (0.16) | 8.7 (0.58) | 5.1 (2.16) |
| C6-Carnitina | 9.4 (0.04) | 2.5 (0.49) | 4.7 (2.43) |
| C8-Carnitina | 3.0 (0.04) | 4.6 (0.51) | 4.1 (2.53) |
| C10-Carnitina | 3.1 (0.08) | 4.9 (0.50) | 6.0 (2.47) |
| C12-Carnitina | 6.8 (0.04) | 4.1 (0.47) | 5.8 (2.36) |
| C14-Carnitina | 7.8 (0.08) | 4.6 (0.52) | 3.9 (2.45) |
| C16-Carnitina | 2.9 (0.79) | 4.2 (4.91) | 5.5 (14.3) |
| C18-Carnitina | 5.1 (0.56) | 2.8 (2.54) | 5.5 (9.38) |

Precisão inter-ensaio:

A determinação da precisão inter-ensaio foi realizada em três diferentes concentrações, a partir da média e coeficiente de variação de múltiplas análises (n=10) de uma mesma amostra, em 10 diferentes séries de testes.

• **Aminoácidos**

Espectrômetro de massa Waters Quattro Micro™ API

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=100 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|---|-----------|------------|
| Alanina | 6.6 (281) | 7.9 (390) | 5.6 (745) |
| Arginina | 9.3 (7) | 17.6 (12) | 10.3 (125) |
| Ácido Aspártico | 6.4 (96) | 6.7 (147) | 6.1 (345) |
| Citrulina | 11.4 (20) | 7.6 (61) | 5.7 (256) |
| Ácido Glutâmico | 6.1 (218) | 7.0 (388) | 5.4 (749) |
| Glicina | 8.4 (241) | 8.3 (336) | 6.0 (1085) |

| | | | |
|--------------|-----------|-----------|-----------|
| Leucina | 5.8 (181) | 6.3 (281) | 5.5 (592) |
| Metionina | 6.7 (19) | 6.3 (62) | 5.4 (268) |
| Ornitina | 9.4 (95) | 8.8 (217) | 8.6 (626) |
| Fenilalanina | 5.9(69) | 6.6 (129) | 5.0 (566) |
| Prolina* | 7.7 (241) | 8.2 (562) | 7.1 (869) |
| Tirosina | 5.3 (69) | 5.8 (158) | 4.9 (488) |
| Valina | 7.3 (111) | 8.2 (171) | 5.7 (365) |

*A determinação deste analito foi realizada no Sciex API 4000™

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=100 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|--|------------|-------------|
| Alanina | 10.1 (392) | 10.2 (411) | 7.7 (752) |
| Arginina | 4.2 (18) | 3.6 (80) | 3.5 (167) |
| Ácido Aspártico | 6.2 (177) | 6.3 (231) | 4.8 (461) |
| Citrulina | 6.1 (25) | 4.6 (73) | 5.2 (275) |
| Ácido Glutâmico | 5.7 (469) | 5.1 (433) | 5.9 (876) |
| Glicina | 12.0 (295) | 11.9 (389) | 10.3 (1032) |
| Leucina | 5.1 (345) | 5.5 (351) | 5.2 (637) |
| Metionina | 5.7 (35) | 5.3 (73) | 5.0 (238) |
| Ornitina | 4.8 (236) | 3.8 (220) | 5.0 (677) |
| Fenilalanina | 5.2 (118) | 7.0 (196) | 5.4 (572) |
| Prolina* | 6.3 (330) | 5.3 (481) | 5.2 (716) |
| Tirosina | 6.1 (96) | 7.3 (192) | 5.5 (585) |
| Valina | 6.2 (216) | 5.0 (267) | 5.4 (520) |

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre:**

Espectrômetro de massa Waters Quattro Micro™ API

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=100 (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|--|------------|------------|
| C0-Carnitina | 6,7 (26,4) | 7,1 (48,0) | 6,1 (105) |
| C2-Carnitina | 6,1 (15,2) | 6,8 (39,5) | 5,1 (81,6) |
| C3-Carnitina | 5,8 (1,78) | 6,8 (6,54) | 5,3 (15,1) |
| C4-Carnitina | 7,0 (0,34) | 6,8 (1,15) | 5,2 (4,42) |
| C5-Carnitina | 8,5 (0,14) | 7,0 (0,60) | 5,8 (2,35) |
| C5DC-Carnitina | 14,3 (0,19) | 11,7(0,66) | 9,0 (2,38) |
| C6-Carnitina | 13,3 (0,06) | 7,4 (0,48) | 5,6 (2,11) |
| C8-Carnitina | 9,3 (0,10) | 7,6 (0,57) | 5,6 (2,31) |
| C10-Carnitina | 7,8 (0,16) | 7,0 (0,63) | 5,5 (2,44) |
| C12-Carnitina | 9,1 (0,07) | 6,9 (0,52) | 5,7 (2,25) |
| C14-Carnitina | 8,8 (0,10) | 7,1 (0,50) | 6,1 (2,00) |
| C16-Carnitina | 6,4 (0,72) | 6,6 (4,56) | 5,5 (12,2) |
| C18-Carnitina | 6,3 (0,54) | 6,8 (2,26) | 5,5 (7,69) |

Espectrômetro de massa SCIEX API 3200™

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=100 (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|--|------------|------------|
| C0-Carnitina | 6.4 (26.5) | 5.0 (40.7) | 5.3 (108) |
| C2-Carnitina | 5.4 (10.2) | 5.1 (28.5) | 5.4 (75.4) |
| C3-Carnitina | 5.9 (1.27) | 5.3 (5.84) | 5.8 (16.7) |
| C4-Carnitina | 6.6 (0.18) | 5.2 (1.04) | 5.8 (4.84) |
| C5-Carnitina | 7.6 (0.08) | 5.3 (0.60) | 6.0 (2.70) |
| C5DC-Carnitina | 13.7 (0.18) | 8.9 (0.58) | 6.6 (2.16) |
| C6-Carnitina | 9.8 (0.04) | 5.6 (0.49) | 5.5 (2.43) |
| C8-Carnitina | 6.8 (0.04) | 5.8 (0.51) | 5.4 (2.53) |
| C10-Carnitina | 6.1 (0.08) | 6.1 (0.50) | 5.7 (2.47) |
| C12-Carnitina | 7.2 (0.04) | 6.0 (0.47) | 5.7 (2.36) |
| C14-Carnitina | 7.0 (0.08) | 5.9 (0.52) | 5.0 (2.45) |
| C16-Carnitina | 5.7 (0.77) | 5.1 (4.91) | 4.8 (14.3) |
| C18-Carnitina | 5.1 (0.54) | 4.8 (2.54) | 4.9 (9.38) |

VALORES DE CUT-OFF

Em um estudo piloto no centro de triagem do Hospital Universitário de Dresden, os seguintes valores de cut-off dados como percentil 99,9% foram determinados usando o kit de reagentes 57000 (sem succinilacetona).

Os dados são diferenciados entre a semana de gestação (SG) e a coleta de sangue após o nascimento.

Esses valores de referência são apenas para orientação e podem variar dependendo do grupo de pacientes e do sistema MS/MS utilizado. Os laboratórios devem determinar os seus próprios valores de referência.

• **Aminoácidos**

| Analito | Cut off (µmol/L) | Cut off (µmol/L) | Cut off (µmol/L) |
|----------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 32-42 SG, > 36h | 38-42 SG, > 36h | todas SG, > 0h |
| Alanina | 583 | 564 | 736 |
| Arginina | 52 | 49 | 55 |

| | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ácido Aspártico | 420 | 402 | 420 |
| Citrulina | 50 | 51 | 50 |
| Glutâmico | 1074 | 1087 | 1073 |
| Glicina | 1003 | 962 | 1001 |
| Leucina | 277 | 299 | 276 |
| Metionina | 35 | 35 | 37 |
| Ornitina | 454 | 455 | 453 |
| Fenilalanina | 127 | 124 | 141 |
| Prolina* | Não determinado | Não determinado | Não determinado |
| Tirosina | 248 | 217 | 248 |
| Valina | 192 | 199 | 212 |

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre**

| Analito | Cut off (µmol/L) | Cut off (µmol/L) | Cut off (µmol/L) |
|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 32-42 SG, > 36h | 38-42 SG, > 36h | todas SG, > 0h |
| C0-Carnitina | 55,87 | 54,96 | 55,83 |
| C2-Carnitina | 71,17 | 73,40 | 71,08 |
| C3-Carnitina | 6,35 | 6,41 | 6,34 |
| C4-Carnitina | 1,07 | 1,18 | 1,07 |
| C5-Carnitina | 0,43 | 0,37 | 0,48 |
| C5DC-Carnitina | 0,56 | 0,58 | 0,56 |
| C6-Carnitina | 0,17 | 0,17 | 0,17 |
| C8-Carnitina | 0,24 | 0,24 | 0,24 |
| C10-Carnitina | 0,35 | 0,29 | 0,35 |
| C12-Carnitina | 0,35 | 0,31 | 0,35 |
| C14-Carnitina | 0,50 | 0,49 | 0,50 |
| C16-Carnitina | 9,90 | 10,03 | 9,89 |
| C18-Carnitina | 2,06 | 2,07 | 2,06 |

Dados de Desempenho na determinação de succinilacetona utilizando o kit necessário, não fornecido MassChrom Amino Acids And Acylcarnitines – succinylacetone (art. 57111)

Recuperação relativa

• **Aminoácidos**

Espectrômetro de massa Waters® ACQUITY™ TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%) (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|---|-----------|------------|
| Alanina | 94 (124) | 96 (243) | 113 (344) |
| Arginina | 103(49.6) | 94 (108) | 108 (147) |
| Ácido Aspártico | 108(45.4) | 94 (106) | 114 (144) |
| Citrulina | 107(44.5) | 95 (98.9) | 109 (136) |
| Ácido Glutâmico | 90(112) | 91 (231) | 105 (329) |
| Glicina | 98 (95.7) | 99 (195) | 115 (274) |
| Leucina | 98 (41.7) | 99 (83.4) | 114 (121) |
| Metionina | 98 (35.8) | 98 (72.2) | 110 (102) |
| Ornitina | 110 (37.8) | 94 (87.4) | 113 (112) |
| Fenilalanina | 100 (53.0) | 98 (107) | 110 (153) |
| Prolina* | 101 (39.0) | 96 (81.8) | 114 (114) |
| Tirosina | 97 (55.3) | 96 (112) | 110 (158) |
| Valina | 97 (36.7) | 99 (73.3) | 114 (106) |
| Succinilacetona | 95 (2.31) | 96 (4.57) | 105 (6.60) |

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre**

Espectrômetro de massa Waters® ACQUITY™ TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%) (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|---|-----------|------------|
| C0-Carnitina | 100 (24.1) | 98 (48.6) | 110 (65.6) |
| C2-Carnitina | 101 (29.0) | 97 (58.1) | 107 (77.8) |
| C3-Carnitina | 101 (3.79) | 97 (7.71) | 107 (10.4) |
| C4-Carnitina | 101 (4.79) | 97 (9.74) | 108 (13.1) |
| C5-Carnitina | 100 (2.62) | 96 (5.34) | 107 (7.17) |
| C5DC-Carnitina | 100 (1.85) | 96 (3.77) | 106 (4.98) |
| C6-Carnitina | 102 (2.42) | 96 (4.98) | 106 (6.70) |
| C8-Carnitina | 101 (2.33) | 97 (4.76) | 107 (6.38) |
| C10-Carnitina | 102 (1.99) | 98 (4.06) | 106 (5.52) |
| C12-Carnitina | 102 (2.40) | 99 (4.88) | 106 (6.69) |
| C14-Carnitina | 104 (2.23) | 99 (4.57) | 107 (6.30) |
| C16-Carnitina | 105 (8.81) | 101(17.8) | 106 (24.9) |
| C18-Carnitina | 109 (4.37) | 103(8.94) | 106 (12.9) |

Linearidade e limite de quantificação:

- Aminoácidos**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Limite de quantificação aproximado (µmol/L) | Limite máximo de linearidade (µmol/L) |
|-----------------|---|---------------------------------------|
| Alanina | 12 | 7000 |
| Arginina | 7 | 2500 |
| Ácido Aspártico | 9 | 2500 |
| Citrulina | 1 | 2500 |
| Ácido Glutâmico | 7 | 7000 |
| Glicina | 10 | 7000 |
| Leucina | 4 | 2500 |
| Metionina | 10 | 2500 |
| Ornitina | 3 | 2500 |
| Fenilalanina | 2 | 2500 |
| Prolina | 6 | 2500 |
| Tirosina | 4 | 2500 |
| Valina | 3 | 2500 |
| Succinilacetona | 0,6 | 120 |

- Acilcarnitinas e Carnitina livre:**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Limite de quantificação aproximado (µmol/L) | Limite máximo de linearidade (µmol/L) |
|----------------|---|---------------------------------------|
| C0-Carnitina | 2,0 | 120 |
| C2-Carnitina | 0,15 | 400 |
| C3-Carnitina | 0,04 | 50 |
| C4-Carnitina | 0,03 | 50 |
| C5-Carnitina | 0,02 | 25 |
| C5DC-Carnitina | 0,03 | 15 |
| C6-Carnitina | 0,01 | 25 |
| C8-Carnitina | 0,01 | 25 |
| C10-Carnitina | 0,01 | 25 |
| C12-Carnitina | 0,01 | 20 |
| C14-Carnitina | 0,02 | 20 |
| C16-Carnitina | 0,02 | 80 |
| C18-Carnitina | 0,1 | 40 |

Precisão intra-ensaio:

A determinação da precisão intra-ensaio foi realizada em três diferentes concentrações, a partir da média e coeficiente de variação de múltiplas análises (n=21) de uma mesma amostra).

- Aminoácidos:**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=21 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|--|------------|------------|
| Alanina | 3.3 (614) | 4.3 (434) | 5.0 (864) |
| Arginina | 3.4 (63.7) | 2.8 (105) | 5.1 (282) |
| Ácido Aspártico | 6.3 (241) | 7.8 (150) | 4.3 (393) |
| Citrulina | 5.4(42.9) | 8.6 (65.1) | 6.1 (265) |
| Ácido Glutâmico | 3.4 (644) | 4.9 (442) | 6.1 (739) |
| Glicina | 3.7 (516) | 4.7 (305) | 4.2 (842) |
| Leucina | 2.5 (281) | 4.3 (328) | 5.1 (636) |
| Metionina | 4.9(35.6) | 4.8(53.5) | 5.3 (201) |
| Ornitina | 3.5 (275) | 5.1 (178) | 5.0 (435) |
| Fenilalanina | 2.8 (153) | 4.2 (130) | 4.8 (537) |
| Prolina* | 2.4 (283) | 3.8 (218) | 4.5 (600) |
| Tirosina | 2.9 (211) | 4.0 (193) | 4.4 (558) |
| Valina | 2.7 (212) | 4.1 (240) | 4.8 (469) |
| Succinilacetona | 9.2 (0.61) | 6.9 (1.59) | 5.7 (5.36) |

*A determinação deste analito foi realizada no Sciex API 4000TM

- Acilcarnitinas e Carnitina livre**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=21 (concentração em µmol/L) | | |
|--------------|--|------------|------------|
| C0-Carnitina | 2.7 (63.9) | 3.8 (53.1) | 5.4 (112) |
| C2-Carnitina | 2.8 (29.8) | 4.2 (19.6) | 5.0 (54.9) |
| C3-Carnitina | 3.0 (2.48) | 4.0(4.41) | 4.7 (12.4) |
| C4-Carnitina | 3.6 (0.55) | 6.1 (0.93) | 5.9 (4.08) |

| | | | |
|----------------|------------|------------|------------|
| C5-Carnitina | 3.5 (0.50) | 4.3 (0.54) | 3.9 (2.23) |
| C5DC-Carnitina | 6.7 (0.17) | 6.4 (0.45) | 7.3 (1.85) |
| C6-Carnitina | 4.6 (0.16) | 4.9 (0.43) | 4.9 (2.01) |
| C8-Carnitina | 3.5 (0.21) | 4.3 (0.46) | 5.4 (2.06) |
| C10-Carnitina | 4.0 (0.16) | 5.7 (0.41) | 5.0 (1.75) |
| C12-Carnitina | 5.3 (0.14) | 5.6 (0.45) | 5.4 (2.12) |
| C14-Carnitina | 3.6 (0.30) | 5.2 (0.47) | 5.1 (2.11) |
| C16-Carnitina | 3.4 (3.23) | 5.7 (4.75) | 5.0 (13.0) |
| C18-Carnitina | 4.3 (1.49) | 5.8 (2.58) | 5.4 (9.04) |

Precisão inter-ensaio:

A determinação da precisão inter-ensaio foi realizada em três diferentes concentrações, a partir da média e coeficiente de variação de múltiplas análises (n=8) de uma mesma amostra, em 20 diferentes dias.

- Aminoácidos**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=320 (concentração em µmol/L) | | |
|-----------------|---|------------|------------|
| Alanina | 5.5 (603) | 5.6 (459) | 5.5 (919) |
| Arginina | 6.4 (60.4) | 6.2 (107) | 7.0 (284) |
| Ácido Aspártico | 7.0 (243) | 8.1 (146) | 8.0 (390) |
| Citrulina | 7.8 (42.5) | 7.2 (65.4) | 6.4 (268) |
| Ácido Glutâmico | 4.9 (623) | 4.6 (451) | 5.8 (752) |
| Glicina | 5.0 (513) | 4.6 (310) | 5.2 (854) |
| Leucina | 4.6 (277) | 4.4 (336) | 5.2 (660) |
| Metionina | 6.7 (35.4) | 5.3 (53.7) | 5.4 (205) |
| Ornitina | 6.7 (258) | 7.1 (190) | 7.7 (468) |
| Fenilalanina | 4.9 (149) | 5.1 (136) | 5.5 (564) |
| Prolina* | 4.3 (280) | 4.3 (226) | 5.7 (628) |
| Tirosina | 4.9 (209) | 4.7 (194) | 5.1 (571) |
| Valina | 5.7 (210) | 6.0 (257) | 6.2 (507) |
| Succinilacetona | 10.0(0.58) | 6.5 (1.55) | 8.6 (5.75) |

- Acilcarnitinas e Carnitina livre:**

Espectrômetro de massa Waters^R ACQUITYTM TQD

| Analito | Coeficiente de variação (%), n=320 (concentração em µmol/L) | | |
|----------------|---|------------|------------|
| C0-Carnitina | 4.7 (63.0) | 5.1 (55.1) | 5.9 (118) |
| C2-Carnitina | 4.3 (29.5) | 4.3 (19.6) | 5.4 (55.9) |
| C3-Carnitina | 4.6 (2.46) | 4.3 (4.44) | 5.4 (12.7) |
| C4-Carnitina | 5.0 (0.55) | 5.0 (0.92) | 5.8 (4.11) |
| C5-Carnitina | 5.5 (0.50) | 4.9 (0.53) | 5.2 (2.22) |
| C5DC-Carnitina | 10.8(0.17) | 7.5 (0.44) | 6.7 (1.80) |
| C6-Carnitina | 6.1 (0.16) | 5.2 (0.43) | 5.5 (2.03) |
| C8-Carnitina | 6.0 (0.21) | 5.0 (0.45) | 5.4 (2.08) |
| C10-Carnitina | 5.7 (0.16) | 4.8 (0.41) | 5.8 (1.76) |
| C12-Carnitina | 6.0 (0.14) | 4.7 (0.45) | 6.1 (2.14) |
| C14-Carnitina | 5.0 (0.31) | 4.7 (0.47) | 6.1 (2.13) |
| C16-Carnitina | 4.7 (3.24) | 4.8 (4.71) | 6.1 (13.0) |
| C18-Carnitina | 5.1 (1.48) | 5.2 (2.53) | 6.6 (8.91) |

VALORES DE CUT-OFF

Em um estudo piloto utilizando o kit de reagentes 57000 em combinação com 57111 (com succinilacetona), em 1642 recém-nascidos realizados no Institute for Clinical Chemistry and Pathobiochemistry do Hospital Universitário Laboratório de Triagem e Metabolismo Neonatal da Universidade de Magdeburg, os seguintes limites de valores foram determinados como percentil 99,9%.

Esses valores de referência são apenas para orientação e podem variar dependendo do grupo de pacientes e do sistema MS/MS utilizado. Os laboratórios devem determinar os seus próprios valores de referência.

- Aminoácidos**

| Analito | Cut off (µmol/L) |
|-----------------|------------------|
| Alanina | 544 |
| Arginina | 70.9 |
| Ácido Aspártico | Não determinado |
| Citrulina | 93.9 |
| Glutâmico | Não determinado |
| Glicina | 742 |
| Leucina | 349 |
| Metionina | 51.1 |
| Ornitina | Não determinado |
| Fenilalanina | 136 |

| | |
|-----------------|-----------------|
| Prolina | Não determinado |
| Tirosina | 335 |
| Valina | 276 |
| Succinilacetona | 1,23 |

Fabricante: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH

Regularizado por: BioSys Ltda

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

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

Anvisa: 10350840419

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

www.biosys.com.br

• **Acilcarnitinas e Carnitina livre**

| Analito | Cut off (µmol/L) |
|--------------------------------|-------------------------|
| C0-Carnitina | 55.4 |
| C0-valor baixo (0,1 percentil) | 4.76 |
| C2-Carnitina | 66.7 |
| C3-Carnitina | 7.19 |
| C4-Carnitina | 1.08 |
| C5-Carnitina | 0.58 |
| C5DC-Carnitina | 0.79 |
| C6-Carnitina | 0.24 |
| C8-Carnitina | 0.27 |
| C10-Carnitina | 0.35 |
| C12-Carnitina | 0.37 |
| C14-Carnitina | 0.56 |
| C16-Carnitina | 7.66 |
| C18-Carnitina | 2.32 |

LITERATURA

1. Gemeinsamer Bundesausschuss: Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern. Kinder-RL, 2021.
2. Hall EM, Flores SR, Jesus VR de: Influence of Hematocrit and Total-Spot Volume on Performance Characteristics of Dried Blood Spots for Newborn Screening. Int J Neonatal Screen 2015; 1:69-78.
3. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): NBS01-Ed7: Dried Blood Spot Specimen Collection for Newborn Screening. Approved Standard 2021.
4. Miller IV JH: An On-card Approach for Assessment of Hematocrit on Dried Blood Spots Which Allows for Correction of Sample Volume. J Anal Bioanal Techniques 2013; 04.
5. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): NBS04: Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry 2017.

Símbolos utilizados:

| | |
|---|---|
|  | Fabricante |
|  | Número de catálogo |
|  | Quantidade suficiente para <n> ensaios |
|  | Código do lote |
|  | Validade |
|  | Limite de temperatura |
|  | Consultar as instruções para utilização |
|  | Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Cuidado |
|  | Atenção |
|  | Perigo |
|  | Perigo |
|  | Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> |