

## MassScreen® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED from dried blood (non-derivatised) incl. Ado, dAdo

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de aminoácidos, succinilacetona, carnitina livre, acilcarnitinas, lisofosfolípidios, nucleosídeos, creatina e metabólitos relacionados à creatina em sangue humano seco em papel filtro (DBS) por MS/MS (método sem derivatização).

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

Artigo	Apresentação
57075-ADO	Conjunto de reagentes para 960 análises

**Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções MassScreen® Amino acids and acylcarnitines-EXTENDED from dried blood (non derivatised) no site [www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br).**

### Finalidade pretendida

Este kit de reagentes da Chromsystems é um dispositivo de diagnóstico *in vitro* projetado para usuários profissionais em laboratórios clínicos para a determinação quantitativa dos analitos listados abaixo em amostras de sangue seco em papel de filtro de recém-nascidos.

A preparação das amostras é realizada manualmente e as amostras são analisadas por espectrometria de massas em tandem (MS/MS).

O kit destina-se à triagem de recém-nascidos para distúrbios metabólicos hereditários nos primeiros dias de vida. Uma lista dos analitos determinados é fornecida abaixo.

### Aminoácidos:

Alanina (Ala), Sarcosina\* (Sar), Arginina (Arg), Ácido argininosuccínico (Asa), Citrulina (Cit), Glutamina (Gln), Lisina\* (Lys), Ácido glutâmico (Glu), Glicina (Gly), Leucina (Leu), Isoleucina (Ile), Alo-Isoleucina (Allo-Ile), Hidroxiprolina\* (Hyp), Metionina (Met), Ornitina (Orn), Fenilalanina (Phe), Prolina (Pro), Serina (Ser), Tirosina (Tyr), Valina (Val), 3-O-Metildopa (3-O-metil-DOPA, 3-metoxitirosina) (3-OMD).

### Carnitinas:

Carnitina livre (C0), Acetilcarnitina (C2), Propionilcarnitina (C3), Malonilcarnitina (C3DC), 3-Hidroxi-butirilcarnitina / 3-Hidroxisobutirilcarnitina\* (C4OH), Butirilcarnitina / Isobutirilcarnitina\* (C4), Metilmalonilcarnitina / Succinilcarnitina (C4DC), 3-Hydroxyisovalerilcarnitina / 2-Metil-3-hidroxi-butirilcarnitina\* (C5OH), Isovalerilcarnitina / 2-Metilbutirilcarnitina\* (C5), Tigililcarnitina / 3-Metilcrotonilcarnitina\* (C5:1), Glutarilcarnitina (C5DC), 3-Hidroxi-hexanoilcarnitina\* (C6OH), Hexanoilcarnitina (C6), Adipilcarnitina / 3-Metilglutarilcarnitina\* (C6DC), Octanoilcarnitina (C8), Octenoilcarnitina (C8:1), Decanoilcarnitina (C10), Decenoilcarnitina (C10:1), Decadienoilcarnitina (C10:2), Dodecanoilcarnitina (lauroilcarnitina) (C12), Dodecenoilcarnitina (C12:1), Tetradecanoilcarnitina (miristoilcarnitina) (C14), Tetradecenoilcarnitina (C14:1), Tetradecadienoilcarnitina (C14:2), 3-Hidroxitetradecanoilcarnitina (C14OH), Hexadecanoilcarnitina (palmitoilcarnitina) (C16), Hexadecenoilcarnitina (C16:1), 3-Hidroxi-hexadecanoilcarnitina (3-hidroxi-palmitoilcarnitina) (C16OH), 3-Hidroxi-hexadecenoilcarnitina (C16:1OH), Heptadecanoilcarnitina\* (C17), Octadecanoilcarnitina (estearoilcarnitina) (C18), Octadecenoilcarnitina (*oleoilcarnitina*) C18:1, Octadecadienoilcarnitina (linoleoilcarnitina) C18:2, 3-Hidroxi-octadecanoilcarnitina (*3-hidroxiestearoilcarnitina*) C18OH, 3-Hidroxi-octadecenoilcarnitina (*3-hidroxi-oleoilcarnitina*) C18:1OH, 3-Hidroxi-octadecadienoilcarnitina (*3-hidroxi-linoleoilcarnitina*) C18:2OH, Eicosanoilcarnitina (*araquidoilcarnitina*) C20, Docosanoilcarnitina (*behenoilcarnitina*) C22, Tetracosanoilcarnitina (*lignoceroilcarnitina*) C24, Hexacosanoilcarnitina (*cerotoilcarnitina*) C26.

### Cetonas:

Succinilacetona (SUAC)

### Nucleosídeos:

Adenosina (Ado)\*\*, 2'-Desoxiadenosina (d-Ado)\*\*

### Lisofosfolípidios:

1-Araquidil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfolina (C20:0 *lisofosfatidilcolina*) (C20:0 LPC), 1-Behenil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfolina (C22:0 *lisofosfatidilcolina*) (C22:0 LPC), 1-Lignoceroil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfolina (C24:0 *lisofosfatidilcolina*) (C24:0 LPC), 1-Hexacosanoil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfolina (C26:0 *lisofosfatidilcolina*) (C26:0 LPC).

### Creatina e metabólitos relacionados:

Creatina (CRE), Creatinina (CRN), Ácido guanidinoacético (GAA)

### Obs:

\*: Isômeros ou isóbaros; com este método, eles não podem ser distinguidos no experimento de espectrometria de massa em tandem; portanto, uma estimativa somada (ou uma estimativa pela soma dos isômeros) é fornecida nesses casos

\*\* : Ado e dAdo só podem ser determinados quando se utiliza o "Mix de Padrão Interno Ado, dAdo" e os controles de qualidade de sangue seco correspondentes

### MÉTODO

Deteção por espectrometria de massa em *tandem* (MS/MS). Método sem derivatização da amostra.

### PRINCÍPIO

Este ensaio da Chromsystems permite a análise de rotina confiável de aminoácidos, succinilacetona, carnitina livre, acilcarnitinas, lisofosfolípidios, nucleosídeos, creatina e metabólitos relacionados à creatina em amostras de sangue seco (DBS) para a triagem neonatal de distúrbios metabólicos, como aminoacidopatias, acidúrias orgânicas, distúrbios da oxidação de ácidos graxos e distúrbios do metabolismo de purinas ou creatina por MS/MS.

A preparação da amostra é baseada em um procedimento simples e eficiente. O sangue seco em papel de filtro é perfurado e os analitos são extraídos em placas de 96 poços. A butilação não é necessária.

Para a medição de succinilacetona, cada spot de sangue é extraído uma segunda vez após a extração dos outros analitos. Para permitir a extração, a succinilacetona é convertida em seu derivado pirazol.

Após a combinação dos dois extratos, todos os analitos são medidos na mesma corrida analítica.

Para garantir a determinação quantitativa de alta qualidade dos analitos, este método utiliza padrões internos estáveis marcados isotopicamente para calibração e medição.

## Componentes e Composição:

Componente	Composição	Apresentação
Fase móvel ( <i>Mobile Phase</i> ) (art. 57001)	Acetonitrila Ácido fórmico	2 x 1000 mL
Solução de lavagem ( <i>Rinsing solution</i> ) (art. 57007)	Acetonitrila Ácido fórmico	1 x 1000 mL
Tampão de Extração ( <i>Extraction buffer</i> ) (art. 57078)	Metanol	2 x 100 mL
Tampão de Extração Succinilacetona ( <i>Extraction buffer Succinylacetone</i> ) (art. 57013)	Acetonitrila Formador de derivado de pirazol	4 x 18 mL
Mix Padrão Interno ( <i>Internal Standard Mix</i> ) (art. 57074)	Solução contendo os diversos analitos isotopicamente marcados	4 x 50 mL (liof.)
Padrão Interno succinilacetona (não- derivatisado) ( <i>Internal Standard Succinylacetone (non-derivatised)</i> ) (art.57044)	Solução de acetonitrila contendo o analito isotopicamente marcado (SUC-13C5)	4 x 18 mL
Mix Padrão Interno Ado,dAdo ( <i>Internal Standard Mix Ado, dAdo</i> ) (art.57474)	Solução contendo os analitos isotopicamente marcados (Ado, dAdo)	4 x 50 mL (liof.)
Placa de 96 poços (art. 57010)	-	5 x 5 unidades
Folhas de proteção para placa de 96 poços (art. 55011)	-	4 x 10 unidades

## INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO 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 apresenta a temperatura de armazenagem dos reagentes do kit.

Componente	Condição de armazenamento
Fase móvel (art. 57001)	Temperatura ambiente (+18 a +30°C)
Solução de lavagem (art. 57007)	Temperatura ambiente (+18 a +30°C)
Tampão de Extração (art. 57078)	Temperatura ambiente (+18 a +30°C)
Tampão de Extração Succinilacetona (art. 57013)	Abaixo de -18°C
Mix Padrão Interno (art. 57074)	Abaixo de -18°C
Padrão Interno succinilacetona (não-derivatisado) (art.57044)	2-8°C
Mix Padrão Interno Ado,dAdo (art. 57474)	Abaixo de -18°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.

## DESCARTE

### Resíduos perigosos

A Fase Móvel (art. 57001), Solução de Lavagem (art. 57007), os Tampões de Extração (artigos 57078 e 57013), o Padrão Interno Succinilacetona (art. 57044), Tuning Mix 2 (art.57097-2), Tuning Mix Succinilacetona (art. 57098) e os Padrões Internos reconstituídos (artigos 57074 e 57074/57474 em Tampão de Extração, artigo 57078) contêm solventes orgânicos. Descarte os resíduos destes produtos em recipientes para solventes orgânicos livres de halogênio.

O Tuning Mix 1 (art. 57097-1) contém uma substância sensibilizante da pele e deve ser recolhida e descartada como resíduo perigoso.

Resíduos de amostras de pacientes e amostras preparadas, bem como dos controles *MassCheck Dried Blood Spot Controls* (art. 0295, 0296, 0297) além de materiais de consumo de laboratório contaminados com material humano, devem ser coletados e descartados como resíduos potencialmente infecciosos.

Resíduos perigosos não devem ser descartados junto com o lixo doméstico. Não descarte na rede de abastecimento de água. Faça o descarte em conformidade com as exigências nacionais e locais em vigor. Os recipientes de resíduos devem ser armazenados de forma apropriada e o acesso permitido apenas a pessoal autorizado.

### Resíduos não perigosos

Os Mix Padrão Interno (art. 57074, 57474) e os materiais de consumo de laboratório não contaminados não são classificados como perigosos. Descarte-os em conformidade com as exigências nacionais e locais.

## 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.

## PREPARO DOS REAGENTES

**Fase Móvel:** pronto para uso.

**Solução de lavagem:** pronto para uso.

**Tampão de extração:** pronto para uso.

**Padrão Interno Succinilacetona:** pronto para uso.

### Reconstituição individual do Mix Padrão Interno (*Internal Standard Mix, art. 57074*)

O Mix Padrão Interno (art. 57074) é usado como calibrador para cada amostra. Todos os padrões internos são rastreáveis a materiais de referência de ordem superior. Após a reconstituição, uma quantidade definida da solução de padrão interno é adicionada à amostra e submetida a todo o preparo da amostra.

Antes do preparo da amostra, reconstitua o Mix Padrão Interno com exatamente 50,0 mL de Tampão de Extração (art. 57078). Proceda da seguinte forma:

1. Remova o lacre e a rolha de borracha do frasco.

A rolha de borracha deve ser removida com cuidado, para que sua parte interna não entre em contato com outros itens. Se houver vestígios de produto liofilizado em sua superfície, nenhuma ação adicional é necessária; proceda conforme descrito abaixo.

2. Pipete lentamente 5 mL de Tampão de Extração (art. 57078) no frasco original do Mix Padrão Interno (art. 57074)

3. Feche o frasco com a rolha de borracha e reconstitua por 10 minutos a +20 a +25°C (sem misturar durante a etapa de reconstituição de 10 minutos).

4. Remova a rolha de borracha e, em seguida, usando uma pipeta, misture o conteúdo do frasco aspirando e dispensando-o três vezes e, em seguida, transfira-o para um balão volumétrico de 50,0 mL.

5. Pipete 5 mL de Tampão de Extração (art. 57078) no frasco original do Mix Padrão Interno e feche-o com a rolha de borracha. Misture bem o conteúdo do frasco (agite em vórtice) e, em seguida, transfira o líquido para o balão volumétrico.

6. Repita a etapa 5 mais duas vezes.

7. Encha o balão volumétrico até 50,0 mL com Tampão de Extração e misture bem o conteúdo do frasco.

Para armazenamento, a solução dos padrões internos reconstituídos pode ser transferida para um frasco de vidro marrom livre de substâncias interferentes. Recomendamos o uso de um frasco original completamente vazio e com a tampa do Tampão de Extração (art. 57078). Certifique-se de rotular este frasco de forma inequívoca.

A solução dos padrões internos reconstituídos apresenta as mesmas propriedades de risco que o Tampão de Extração (art. 57078) e devem ser seguidas as medidas de precaução adequadas.

Evitar a exposição à luz solar direta. As concentrações dos padrões internos dependem do lote e são fornecidas na bula do (Internal Standard Mix, art. 57074).

## Reconstituição combinada dos Mix Padrão Interno 57074/57474

Se a determinação adicional de Ado e dAdo for realizada, ambos os Mix Padrão Interno (art. 57074 e 57474) são usados como calibrador para cada amostra. Todos os padrões internos são rastreáveis a material de referência de ordem superior. Após a reconstituição e unificação de ambos os Mix Padrão Interno, uma quantidade definida da solução de padrão interno resultante é adicionada à amostra e submetida a todo o preparo da amostra.

Antes do preparo da amostra, reconstitua e unifique os Mix Padrão Interno com exatamente 50,0 mL de Tampão de Extração (art. 57078). Proceda da seguinte forma:

### 1. Remova as selagens e as tampas de borracha dos frascos

A tampa de borracha deve ser removida com cuidado, para que sua parte interna não entre em contato com outros objetos. Se houver vestígios do produto liofilizado em sua superfície, nenhuma ação adicional é necessária; prossiga conforme descrito abaixo

2. Adicione lentamente, com pipeta, 5 mL de Tampão de Extração (art. 57078) no frasco original do Mix Padrão Interno (art. 57074)

3. Adicione lentamente, com pipeta, 5 mL de Tampão de Extração (art. 57078) no frasco original do Mix Padrão Interno Ado, dAdo (art. 57474)

4. Tampe cada frasco com a tampa de borracha correspondente e reconstitua o Mix Padrão Interno por 10 min de +20 a +25°C (sem agitar durante a etapa de reconstituição de 10 min)

5. Remova a tampa de borracha e, em seguida, usando uma pipeta, misture o conteúdo de cada frasco aspirando e dispensando-o três vezes e, depois, combine ambos os conteúdos e transfira-os para um único balão volumétrico de 50,0 mL

6. Pipete 5 mL de Tampão de Extração (art. 57078) em cada frasco original dos Mix Padrão Interno e tampe-os com as tampas de borracha correspondentes. Misture bem o conteúdo de cada frasco (vórtex) e, em seguida, transfira o líquido para o balão volumétrico

7. Repita a etapa 6 mais duas vezes

8. Complete o volume do balão volumétrico até 50,0 mL com Tampão de Extração e misture bem o conteúdo do balão

Para armazenamento, a solução dos padrões internos reconstituídos pode ser transferida para um frasco de vidro âmbar livre de substâncias interferentes. Recomendamos utilizar o frasco e a tampa originais, completamente vazios, do Tampão de Extração (art. 57078). Certifique-se de identificar este frasco de forma inequívoca.

A solução dos padrões internos reconstituídos possui as mesmas propriedades de perigo que o Tampão de Extração (art.57078) e as medidas de precaução apropriadas devem ser seguidas.

Evite a exposição à luz solar direta. As concentrações dos padrões internos são dependentes do lote e são fornecidas nos folhetos informativos dos produtos dos Mix Padrão Interno.

### Vida útil de armazenamento dos Padrões Internos após a reconstituição

Após a reconstituição com Tampão de Extração do:

- Mix de Padrão Interno (art. 57074) individualmente,
- ambos os Internal Standard Mix (art. 57074 e 57474) em combinação

todos os padrões internos contidos são estáveis conforme indicado a seguir, mas não além da data indicada no rótulo:

Vida útil de armazenamento do Internal Standard Mix (art. 57074 e 57474) após reconstituição

Temperatura de Armazenamento	Vida útil de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+20 a +25°C	3 dias	Protegido da luz, bem fechado
+2 a +8°C	2 semanas	
abaixo de -18°C	1 mês	
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	-

## Manuseio do Tampão de Extração Succinilacetona (art. 57013)

Após o transporte em temperatura ambiente, o Tampão de Extração Succinilacetona (art. 57013) é armazenado abaixo de -18°C. Isto resulta em segregação (separação de componentes).

Portanto, deixe este reagente atingir a temperatura ambiente e misture-o bem (vórtex) antes de usar. Uma vez que o reagente foi descongelado após armazenamento abaixo de -18°C, armazene-o a +2 a +8°C e evite recongelá-lo.

### Vida útil de armazenamento

Após o descongelamento, o Tampão de Extração Succinilacetona é estável conforme a seguir, mas não além da data indicada no rótulo:

Vida útil de armazenamento do Tampão de Extração Succinilacetona após o descongelamento

Temperatura de Armazenamento	Vida útil de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+2 a +8°C	2 semanas	Proteção da luz, bem fechado
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	-

### MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level I (art. 0295)
- 0296 MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level II (art. 0296)
- 0297 MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level III (art. 0297)
- Tuning Mix 1 Analytes and Internal Standards (art. 57097-1)
- Tuning Mix 2 Analytes and Internal Standards (art. 57097-2)
- Tuning Mix Succinylacetone (non-derivatised) Analyte and Internal Standard (art. 57098)
- Multilevel Dried Blood Spot Linearity Set incl. Ado, dAdo (art. 57090)
- Selos Térmicos Perfuráveis para placas de 96 poços (art. 57014)
- Espectrômetro de massas tandem triplo quadrupolo com fonte ESI (sensibilidade suficiente fornecida)
- Sistema HPLC incluindo amostrador automático
- Software especial de avaliação
- Perfurador manual ou automático para perfuração da amostra, com 3,2 mm de diâmetro
- Agitador com controle termostático para placas de 96 poços: Recomenda-se o uso de 2 agitadores separados, um para a extração em temperatura ambiente e outro para a extração/incubação a 45°C.
- Rolo de borracha para selar as placas de 96 poços com películas protetoras
- Balão volumétrico de 50,0 mL

### AMOSTRA

Assegure-se de que, dentro de uma sequência, o lote de reagentes (incluindo os padrões internos) utilizado para a preparação da amostra, bem como o lote dos controles, não sejam alterados.

Cuidado: Todos os reagentes e materiais de laboratório estão em risco de contaminação por substâncias endógenas. Evite o contacto com a pele. Use sempre luvas novas e certifique-se de que as luvas não entram em contacto com fluidos corporais, especialmente suor. Se isso acontecer, troque de luvas.

Para a coleta e armazenamento de amostras de pacientes, existem recomendações diferentes consoante o país. É fortemente recomendado o cumprimento das regulamentações nacionais. Por exemplo, na Alemanha, a colheita de sangue para a triagem neonatal deve ser realizada entre 36 e 72 horas após o nascimento (ver as diretrizes alemãs "Kinder-Richtlinie" [4]), enquanto de acordo com a Norma CLSI NBS01-Ed7, 2021 [3] "alguns programas de triagem neonatal preferem que a coleta inicial seja feita após 24 horas do nascimento.

O momento da coleta é um compromisso e a maioria dos programas de triagem neonatal recomenda atualmente que a coleta inicial seja feita entre as 24 e as 48 horas de idade".

O sangue é gotejado num papel de filtro e seco. Recomenda-se a utilização de papéis de filtro aprovados pela FDA ou equivalentes (por exemplo, papel de filtro grau 903 ou 226). A amostra de sangue deve preferencialmente ser colhida do calcanhar do recém-nascido. Não deve ser utilizado sangue com EDTA ou heparina, pois podem ser obtidos resultados falsamente negativos ou falsamente positivos!

Descrição resumida das etapas da coleta:

1. Limpe o local designado para a punção no calcanhar do recém-nascido com um antisséptico. Seque o calcanhar com uma gaze estéril.
2. Puncione o calcanhar do recém-nascido com uma lanceta estéril. A ponta da lanceta deve ser menor que 2 mm; punções mais profundas podem lesionar recém-nascidos pequenos.
3. Descarte a primeira gota de sangue com uma gaze estéril.
4. Toque na próxima gota grande de sangue com o papel de filtro. Aguarde até que o sangue tenha impregnado totalmente o papel e preenchido completamente o círculo designado. Não sobreponha gotas de sangue nem as aplique em ambos os lados do papel de filtro. Isso alteraria o volume de sangue aplicado por mancha, podendo indicar falsamente resultados patológicos.
5. Preencha cada um dos círculos restantes no papel de filtro com uma única gota de sangue.
6. Os cuidados com o local da punção devem ser de acordo com a prática comum do hospital.
7. Secar as manchas de sangue durante 4 horas numa superfície seca, horizontal e não absorvente, a +20 a +25°C.
8. Envie os papéis de filtro secos para o laboratório no prazo de 24 horas.

Para instruções detalhadas da coleta da amostra, consulte o manual do fabricante do papel de filtro ou as regulamentações nacionais e locais aplicáveis.

O armazenamento em ambiente com baixa umidade (inferior à 30%) à temperatura ambiente (+20 a +25°C) é adequado, se a análise for prevista dentro de 24 a 48 horas. Baixa umidade e baixas temperaturas (refrigerado ou abaixo de -18°C) são sugeridos para armazenamento além de 48 horas [3].

**Evite temperaturas acima de +25°C.** uma vez que temperaturas elevadas podem levar à degradação de alguns analitos.

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

#### PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes da preparação da amostra, deixe que os reagentes/controles/amostras armazenados congelados ou refrigerados atinjam a temperatura ambiente. Misture bem os produtos líquidos.

#### Ajustes do instrumento:

Amostrador automático	Resfriamento recomendado
Volume de injeção	10 µL
Tempo de corrida	1,7 min
Gradiente de fluxo	20 a 600 µL/min
Solução de lavagem para agulha do injetor	Solução de lavagem (art. 57007)

#### Perfil de gradiente:

O perfil de gradiente mostrado abaixo serve como base para a otimização. Devido aos diferentes volumes mortos dos sistemas de HPLC individuais, o perfil de gradiente pode precisar ser modificado. Se o sistema capilar ou o volume de injeção forem alterados, o gradiente deve ser verificado e ajustado adequadamente.

#### Perfil de gradiente:

<b>Tempo (min)</b>	0,01	0,20	0,21	1,21	1,22	1,70
<b>Taxa de Fluxo (µL/min)</b>	200	200	20	20	600	600

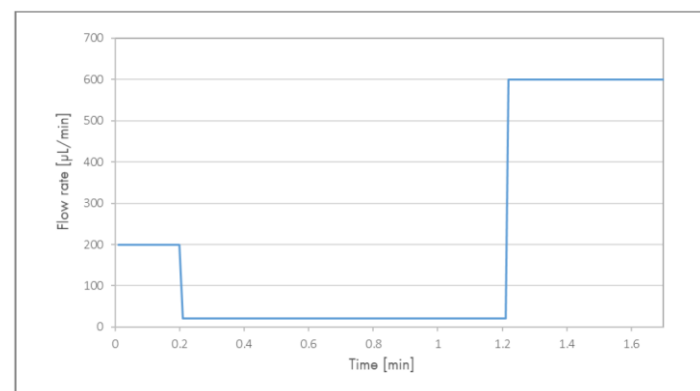


Diagrama do perfil de gradiente

#### OTIMIZANDO OS MRMS (utilizando Tuning Mix, material necessário, não fornecido)

É altamente recomendável verificar a precisão e a resolução de massa do sistema MS/MS. Se a precisão e a resolução de massa estiverem fora das especificações do fabricante do instrumento, recomenda-se uma nova calibração do espectrômetro de massas. Em seguida, as transições MRM do analito devem ser ajustadas da seguinte forma:

1. Dilua os Tuning Mix art. 57097-1, 57097-2 e 57098) com a Fase Móvel (art. 57001) de forma apropriada para o dispositivo específico (por exemplo, 1:50 para instrumentos da série SCIEX 4500 ou Waters Xevo TQ-S micro).
2. Injete o Tuning Mix diluído ou infuse diretamente usando uma bomba de seringa (fluxo de 0,02 mL/min).
3. Use o Q1 Scan (Varredura MS) para determinar as posições exatas do sinal máximo das massas no MS1 (íons precursores/pai) (com pelo menos uma casa decimal).
4. Determine as posições exatas do sinal máximo das massas no MS2 (íons produto/filho) por meio de uma varredura de íon produto (product ion scan) (com pelo menos uma casa decimal).
5. Otimize os parâmetros individuais para cada transição MRM (por exemplo, energia de colisão).
6. Use as transições MRM otimizadas para otimizar os parâmetros da fonte de íons, especialmente a voltagem do capilar, a temperatura e os fluxos de gases.

#### TRANSIÇÃO DE MASSA DOS ANALITOS E PADRÕES INTERNOS:

Substância	Abreviação	Transição de Massa (MRM)
<b>Aminoácidos</b>		
*Alanina/sarcosina	Ala/Sar	90 > 44
Alanina-D4	Ala-D4	94 > 48
Arginina	Arg	175 > 70
Arginina-13C6	Arg-13C6	181 > 74
Ácido argininosuccínico	Asa	291 > 70
Ácido argininosuccínico-13C6,15N4	Asa-13C6,15N4	301 > 75
Citrulina	Cit	176 > 113
Citrulina-D4	Cit-D4	180 > 117
*Glutamina/Lisina	Gln/Lys	147 > 84
Glutamina-13C5	Gln-13C5	152 > 88
Ácido glutâmico	Glu	148 > 130
Ácido glutâmico-D3	Glu-D3	151 > 133
Glicina	Gly	76 > 30
Glicina-13C2,15N	Gly-13C2,15N	79 > 32
*Leucina/Isoleucina/Allo-isoleucina/Hidroxiprolina	XLeu	132 > 86
Leucina-D3	Leu-D3	135 > 89
Metionina	Met	150 > 133
Metionina-D3	Met-D3	153 > 136

Ornitina	Orn	133 > 70
Ornitina-D6	Orn-D6	139 > 76
Fenilalanina	Phe	166 > 120
Fenilalanina-13C6	Phe-13C6	172 > 126
Prolina	Pro	116 > 70
Prolina-D7	Pro-D7	123 > 77
Serina	Ser	106 > 60
Serina-D3	Ser-D3	109 > 63
Tirosina	Tyr	182 > 136
Tirosina-D4	Tyr-D4	186 > 140
Valina	Val	118 > 72
Valina-D8	Val-D8	126 > 80
3-O-metildopa	3OMD	212 > 153
3-O-metildopa-D3	3OMD-D3	215 > 156
<b>Carnitinas</b>		
Carnitina livre	C0	162 > 85
Carnitina livre-D9	C0-D9	171 > 85
Acetilcarnitina	C2	204 > 85
Acetilcarnitina-D3	C2-D3	207 > 85
Propionilcarnitina	C3	218 > 85
Propionilcarnitina-D3	C3-D3	221 > 85
*Butirilcarnitina/ Isobutirilcarnitina	C4	232 > 85
Butirilcarnitina-D3	C4-D3	235 > 85
*(Metilmalonilcarnitina/ succinilcarnitina) / (3-Hidroxiisovalerilcarnitina/2- metil-3-hidroxiisovalerilcarnitina)	C4DC/C5OH	262 > 85
3-Hidroxiisovalerilcarnitina- D3	C5OH-D3	265 > 85
*Isovalerilcarnitina/ 2-metilbutirilcarnitina	C5	246 > 85
Isovalerilcarnitina-D9	C5-D9	255 > 85
*Glutarilcarnitina/ 3-hidroxihexanoilcarnitina	C5DC/C6OH	276 > 85
Glutarilcarnitina-D6	C5DC-D6	282 > 85
Hexanoilcarnitina	C6	260 > 85
Hexanoilcarnitina-D3	C6-D3	263 > 85
Octanoilcarnitina	C8	288 > 85
Octanoilcarnitina-D3	C8-D3	291 > 85
Decanoilcarnitina	C10	316 > 85
Decanoilcarnitina-D3	C10-D3	319 > 85
Dodecanoilcarnitina	C12	344 > 85
Dodecanoilcarnitina-D3	C12-D3	347 > 85
Tetradecanoilcarnitina	C14	372 > 85
Tetradecanoilcarnitina-D3	C14-D3	375 > 85
Hexadecanoilcarnitina	C16	400 > 85
Hexadecanoilcarnitina-D3	C16-D3	403 > 85
3- Hidroxihexadecanoilcarnitina	C16OH	416 > 85
3- Hidroxihexadecanoilcarnitina- D3	C16OH-D3	419 > 85
Octadecanoilcarnitina	C18	428 > 85
Octadecanoilcarnitina-D3	C18-D3	431 > 85
Hexacosanoilcarnitina	C26	540 > 85
Hexacosanoilcarnitina-D3	C26-D3	543 > 85
<b>Cetonas</b>		
Succinilacetona	SUAC	155 > 137
Succinilacetona-13C5	SUAC-13C5	160 > 142
<b>Nucleosídeos</b>		
Adenosina	Ado	268 > 136
Adenosina-13C5	Ado-13C5	273 > 136
2'-Deoxiadenosina	dAdo	252 > 136
2'-Deoxiadenosina-13C5	dAdo-13C5	257 > 136
<b>Lisofosfolipídeos</b>		
1-Hexacosanoil-2-hidroxi-sn- glicero-3-fosfolina	C26:0 LPC	636 > 104
1-Hexacosanoil-2-hidroxi-sn- glicero-3-fosfolina-D4	C26:0 LPC-D4	640 > 104
<b>Creatina e metabólitos relacionados</b>		
Creatina	CRE	132 > 90
Creatina-D5	CRE-D5	137 > 95
Creatinina	CRN	114 > 44
Creatinina-D3	CRN-D3	117 > 47
Ácido guanidinoacético	GAA	118 > 101
Ácido guanidinoacético- 13C2,15N	GAA-13C2,15N	121 > 104

\* Os seguintes analitos são isômeros ou isóbaros e não podem ser distinguidos no experimento de espectrometria de massa em tandem:

- Alanina/sarcosina (Ala/Sar)
- Leucina/isoleucina/alo-isoleucina/hidroxi prolina (XLeu = leucina/isoleucina/alo-isoleucina/hidroxi prolina)
- Glutamina/lisina (Gln/Lis)
- Butirilcarnitina/isobutirilcarnitina (C4)
- Isovalerilcarnitina/2-metilbutirilcarnitina (C5)
- Metilmalonilcarnitina/succinilcarnitina (C4DC) / 3-hidroxiisovalerilcarnitina/2-metil-3-hidroxiisovalerilcarnitina (C5OH)
- Glutarilcarnitina/3-hidroxihexanoilcarnitina (C5DC/C6OH)

As massas nominais especificadas são pontos de partida para a otimização. A posição das massas exatas pode variar ligeiramente de um sistema de MS para outro e precisa ser determinada com precisão durante a calibração (tuning) do método. Para configurar o método, recomendamos especificar as posições de massa com pelo menos uma casa decimal. Use os Tuning Mix para este fim (art. 57097-1, 57097-2 e 57098, material necessário, não fornecido).

#### **Transições MRM recomendadas para acilcarnitinas e lisofosfolipídios sem padrões internos próprios (ISTD)**

Substância	Abreviação	MRM	ISTD recomendado
*Malonilcarnitina / 3-hidroxiisovalerilcarnitina	C3DC / C4OH	248 > 85	C4-D3
*Tiglicilcarnitina / 3-metilcrotonilcarnitina	C5:1	244 > 85	C5-D9
*Adipilcarnitina / 3-metilglutirilcarnitina	C6DC	290 > 85	C5DC-D6
Octenilcarnitina	C8:1	286 > 85	C8-D3
Decenilcarnitina	C10:1	314 > 85	C10-D3
Decadienilcarnitina	C10:2	312 > 85	C10-D3
Dodecenilcarnitina	C12:1	342 > 85	C12-D3
Tetradecenilcarnitina	C14:1	370 > 85	C14-D3
Tetradecadienilcarnitina	C14:2	368 > 85	C14-D3
3-Hidroxitetraidecanilcarnitina	C14OH	388 > 85	C14-D3
Hexadecenilcarnitina	C16:1	398 > 85	C16-D3
*3- Hidroxihexadecenilcarnitina / heptadecanilcarnitina	C16:1OH / C17	414 > 85	C16-D3
Octadecenilcarnitina	C18:1	426 > 85	C18-D3
Octadecadienilcarnitina	C18:2	424 > 85	C18-D3
3-Hidroxiocetadecanilcarnitina	C18OH	444 > 85	C18-D3
3-Hidroxiocetadecenilcarnitina	C18:1OH	442 > 85	C18-D3
3- Hidroxiocetadecadienilcarnitina	C18:2OH	440 > 85	C18-D3
Eicosanilcarnitina	C20	456 > 85	C26-D3
Docosanilcarnitina	C22	484 > 85	C26-D3
Tetracosanilcarnitina	C24	512 > 85	C26-D3
1-Araquidonoil-2-hidroxi-sn- glicero-3-fosfolina	C20:0 LPC	552 > 104	C26:0 LPC-D4
1-Behenonoil-2-hidroxi-sn- glicero-3-fosfolina	C22:0 LPC	580 > 104	C26:0 LPC-D4
1-Lignoceroil-2-hidroxi-sn- glicero-3-fosfolina	C24:0 LPC	608 > 104	C26:0 LPC-D4

\* Os seguintes analitos são isômeros ou isóbaros e não podem ser distinguidos no experimento de espectrometria de massa em tandem:

- Malonilcarnitina (C3DC)/ 3-hidroxiisovalerilcarnitina / 3-hidroxiisobutirilcarnitina (C4OH)

- Tigililcarnitina/3-metilcrotonilcarnitina (C5:1)
- Adipilcarnitina/3-metilglutarylcaritina (C6DC)
- 3-hidroxi-hexadecenoilcarnitina/ heptadecanoilcarnitina (C16:1OH/C17)

### Preparo de amostras com Placa de 96 Poços

Para preparar as amostras de pacientes e os controles de qualidade para análise, execute os seguintes passos na ordem indicada:

#### 1. Picotagem da amostra:

Picote um spot de 1/8 polegadas (3,2 mm) do disco de sangue seco do cartão de filtro para um poço da Placa de 96 Poços (art. 57010).

#### 2. Extração:

Adicione 200 µL do Mix Padrão Interno reconstituído (art. 57074) ou, no caso de determinação adicional de Ado e dAdo, 200 µL da combinação reconstituída dos Mix de Padrão Interno (art.57074 e 57474) a cada amostra. Sele a Placa de 96 Poços com uma Folha de Proteção (art. 55011) e agite a 600 rpm por 20 min a +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 (art.57010) e sele-a com uma nova Folha de Proteção (art. 55011). Tome cuidado para transferir o sobrenadante de forma mais completa possível, de modo a que não reste líquido nos discos de spot de sangue seco.

#### 4. Extração da succinilacetona:

Adicione primeiro 75 µL do Padrão Interno Succinilacetona (art. 57044) e, em seguida, 75 µL de Tampão de Extração Succinilacetona (art. 57013) ao disco de spot de sangue seco restante. Sele a Placa de 96 Poços com uma Folha de Proteção (art. 55011) e agite por 30 min a 45°C e 400 rpm.

#### 5. Unindo os extratos:

Remova as Folhas de Proteção de ambas as Placas de 96 Poços e pipete o extrato do passo 4 para o extrato do passo 3. Sele a Placa de 96 Poços com um Selo Térmico Perfurável (art. 57014, material necessário, não fornecido)

#### 6. Incubação:

Antes da injeção, agite a Placa de 96 Poços por 45 min a +45°C e 400 rpm.

#### 7. Injeção:

Injete 10 µL do eluato no sistema de LC-MS/MS.

#### Importante

- O Tampão de Extração Succinilacetona (art. 57013) segregase durante o armazenamento abaixo de -18°C. Após o descongelamento, este reagente deve ser misturado completamente (vórtex) antes do uso, para evitar heterogeneidade na solução.

- Na etapa 5, as Folhas de Proteção da Placa de 96 Poços (art. 57010) devem ser removidas imediatamente após a extração para evitar a condensação de solvente no filme.

### Vida útil de armazenamento das amostras preparadas

As amostras preparadas para análise de acordo com o item anterior possuem a seguinte estabilidade quando seladas com Selos Térmicos Perfuráveis (art. 57014), desde que o selo térmico não tenha sido perfurado:

Vida útil de armazenamento das amostras preparadas em Placas de 96 Poços seladas com Selos Térmicos Perfuráveis (art. 57014)

Temperatura	Vida útil de armazenamento	Outras condições
+20 a +25°C	Asa, GAA: 12 horas Todos os demais: 3 dias	protegido da luz, bem fechado
+2 a +8°C	5 dias	
<-18°C	7 dias	
Ciclos de congelamento/ descongelamento	1 ciclo	-

### Nota:

Devido a efeitos de evaporação, o prazo de validade das amostras é consideravelmente reduzido assim que os Selos Térmicos Perfuráveis (art. 57014) são perfurados. Neste caso, a determinação correta das concentrações pode já não ser possível. A extensão da redução do prazo de validade depende fortemente das configurações do autosampler.

Prazo de validade das amostras preparadas em Placas de 96 Poços seladas com Selos Térmicos Perfuráveis (art. 57014) após perfuração da película

Temperatura	Vida útil de armazenamento	Outras condições
+20 a +25°C	6 horas	protegido da luz
+2 a +8°C	GAA: 6 horas C26, C26:0 LPC: 8 horas Todos os outros analitos: 12 horas	

### DADOS DE AQUISIÇÃO E AVALIAÇÃO

#### Calibração do sistema de análise

O padrão interno é utilizado como um calibrador individual para cada amostra, de modo que os efeitos de matriz sejam reduzidos ao mínimo. Para este fim, a amostra (controle, paciente) é misturada com uma quantidade definida dos Padrões Internos (art. 57074, 57474, 57044). As concentrações dos compostos marcados isotopicamente nos Padrões Internos dependem do lote e são fornecidas na folha de informações do produto.

O nosso conceito para a exatidão e a rastreabilidade metrológica para amostras de pacientes baseia-se adicionalmente na correção dos resultados de medição com fatores de resposta relativa (RRF, Relative Response Factors), que são definidos individualmente para cada analito em cada sistema de análise. Estes valores de RRF corrigem diferenças específicas do sistema na resposta entre os analitos e os seus padrões internos correspondentes.

#### Spot de sangue seco - volume de sangue

Conhecer o volume de sangue utilizado é necessário para a análise quantitativa bem-sucedida das amostras. O volume de sangue num disco recortado de um spot 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] fornece a recomendação de que deve ser utilizado apenas papel de filtro destinado à análise de spots de sangue secos para a triagem neonatal. Alguns papéis de filtro que cumprem os requisitos do Apêndice C da Norma CLSI estão comercialmente disponíveis, por exemplo, papel de filtro grau 903 ou 226. O furador utilizado deve ter 1/8 de polegada (3,2 mm) de diâmetro.

O volume de sangue em um disco de spot de sangue seco depende do valor do hematócrito. Na Norma CLSI NBS01-Ed7, 2021 [3], é especificado sangue de doador ajustado para um valor de hematócrito de 0,55, e o CDC (Centers for Disease Control and Prevention) utiliza sangue total de doador com um valor de hematócrito de 0,50 [5].

Dependendo do valor do hematócrito, o volume de sangue varia entre 3,42 µL para um hematócrito de 0,55 [6] e 2,86 µL para um hematócrito de 0,5 [5].

No entanto, assume-se e é geralmente aceito que o volume de sangue em um disco de spot de sangue seco com um diâmetro de 3,2 mm (1/8 de polegada) é de aproximadamente 3,1 µL [7]. Como o volume de sangue utilizado varia de amostra para amostra, um procedimento de triagem que utiliza spots de sangue secos para a determinação da concentração é algo limitado. Para confirmar resultados positivos de triagem, é essencial realizar testes de diagnóstico adicionais.

#### Controle de Qualidade

Monitore a exatidão e a precisão das análises incluindo os controles de qualidade MassCheck® (art. 0295, 0296, 0297) em cada rodada analítica. Execute os três níveis idealmente no início e no final de cada placa de 96 poços, conforme recomendado na Norma CLSI NBS04-Ed2, 2017 [8], mas pelo menos no início e no final da sequência de medição. Se a análise desses controles apresentar concentrações fora dos intervalos indicados na bula do produto, recalcule os valores do Fator de Resposta Relativo (RRF) (ver item "Quantificação dos resultados").

Se as concentrações dos controles continuarem fora da faixa especificada após a aplicação dos valores RRF recalculados, verifique o sistema, o procedimento de preparo da amostra, bem como o cálculo das concentrações do analito.

Conforme descrito na Norma CLSI NBS04-Ed2, 2017 [8], cada laboratório deve estabelecer critérios para aceitar os resultados das amostras de cada rodada analítica. Esses critérios são baseados principalmente na análise dos controles de qualidade.

A Chromsystems disponibiliza os seguintes controles para monitoramento da precisão e exatidão das análises:

Artigo	Produto	Apresentação
0295	MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level I	1 x 3 spots
0296	MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level II	1 x 3 spots
0297	MassCheck® Amino Acids, Acylcarnitines EXTENDED incl. Ado, dAdo Dried Blood Spot Control Level III	1 x 3 spots

### QUANTIFICAÇÃO DE RESULTADOS

Calcule a concentração de um analito na amostra de sangue seco ( $C_{\text{Analito}}$ ) como a seguir:

$$C_{\text{Analito}} [\mu\text{mol/L}] = \frac{I_{\text{Analito}} \times V_{\text{ISTD}}}{I_{\text{ISTD}} \times V_{\text{sangue no spot}} \times \text{RRF}} \times C_{\text{ISTD}}$$

Sendo:

Concentração do analito na amostra	= $C_{\text{Analito}}$
Intensidade de sinal do analito no eluato da amostra	= $I_{\text{Analito}}$
Intensidade de sinal do padrão interno no eluato da amostra	= $I_{\text{ISTD}}$
Concentração do padrão interno na solução ISTD	= $C_{\text{ISTD}}$
Volume de sangue contido no picote DBS (DBS punch)*	= $V_{\text{sangue no picote DBS}}$ (DBS punch)
Volume da solução de padrão interno usado na preparação da amostra	= $V_{\text{ISTD}}$
Fator de Resposta Relativo#	= RRF

\* Geralmente é aceito que o volume do picote de sangue (DBS punch) seco em um disco de 1/8 de polegada (3,2 mm) é de aproximadamente 3,1  $\mu\text{L}$ .

# Para cada nível de controle de qualidade de spot de sangue seco:

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

### Nota:

O cálculo e a aplicação do RRF dependem do software de análise neonatal utilizado. Em alguns casos (por exemplo, Waters IonLynx), a fórmula fornecida abaixo deve ser aplicada:

$$C_{\text{Analito}} [\mu\text{mol/L}] = \frac{I_{\text{Analito}} \times C_{\text{ISTD amostra}} \times \text{RRF}^\#}{I_{\text{ISTD}}}$$

A concentração do padrão interno na amostra ( $C_{\text{ISTD amostra}}$ ) é fornecida no folheto informativo do produto

$$C_{\text{ISTD amostra}} [\mu\text{mol/L}] = \frac{V_{\text{ISTD}}}{V_{\text{sangue no picote DBS (DBS punch)}}} \times C_{\text{ISTD}}$$

# Para cada nível de controle de qualidade de spot de sangue seco:

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

### FATORES DE CONVERSÃO

Substância	$\mu\text{mol/L}$ a $\text{mg/L}$	$\text{mg/L}$ a $\mu\text{mol/L}$
<b>Aminoácidos</b>		
Ala	0,08909	11,22
Arg	0,1742	5,740
Asa	0,2903	3,445
Cit	0,1752	5,708
Gln	0,1461	6,843
Glu	0,1471	6,797
Gly	0,07507	13,32
Leu	0,1312	7,624
Met	0,1492	6,702
Orn	0,1322	7,567
Phe	0,1652	6,054
Pro	0,1151	8,686
Ser	0,1051	9,515
Tyr	0,1812	5,5191
Val	0,1171	8,536
3-OMD	0,2112	4,735
<b>Carnitinas</b>		
C0	0,1612	6,204
C2	0,2032	4,920
C3	0,2173	4,603
C4OH	0,2473	4,044
C4	0,2313	4,324
C5OH	0,2613	3,827
C5	0,2453	4,076
C5:1	0,2433	4,110
C5DC	0,2753	3,632
C6	0,2593	3,856
C6DC	0,2893	3,456
C8	0,2874	3,480
C8:1	0,2854	3,504
C10	0,3154	3,170
C10:1	0,3134	3,190
C10:2	0,3114	3,211
C12	0,3435	2,911
C12:1	0,3415	2,928
C14	0,3716	2,691
C14:1	0,3695	2,706
C14:2	0,3675	2,721
C14OH	0,3876	2,580
C16	0,3996	2,502
C16:1	0,3976	2,515
C16OH	0,4156	2,406
C16:1OH	0,4136	2,418
C18	0,4277	2,338
C18:1	0,4256	2,349
C18:2	0,4236	2,361
C18OH	0,4437	2,254
C18:1OH	0,4416	2,264
C18:2OH	0,4396	2,275
C20	0,4557	2,194
C22	0,4838	2,067
C24	0,5118	1,954
C26	0,5399	1,852
<b>Cetonas</b>		
SUAC	0,1582	6,323
<b>Nucleosídeos</b>		
Ado	0,2672	3,742
dAdo	0,2512	3,980
<b>Lisofosfolídeos</b>		
C20:0 LPC	0,5517	1,812
C22:0 LPC	0,5798	1,725
C24:0 LPC	0,6078	1,645
C26:0 LPC	0,6359	1,573
<b>Creatina e metabólitos relacionados</b>		
CRE	0,1311	7,626
CRN	0,1131	8,840
GAA	0,1171	8,539



## INTERFERENTES

### Interferências detectadas

Na presença das seguintes substâncias, foram observadas interferências:

A presença das interferências declaradas e das condições de amostra pode afetar a precisão dos resultados dos testes dos analitos em suas concentrações clinicamente relevantes em > 20%.

- D-Maltose, um metabólito da icodextrina, que é um agente osmótico usado em soluções de diálise peritoneal, interfere com o padrão interno C14-d3, levando ao aumento das intensidades do sinal de C14-d3 e, conseqüentemente, à diminuição das concentrações determinadas de C14, C14:1, C14:2 e C14OH (todos quantificados com o padrão interno C14-d3) e, assim, a resultados de triagem falsos negativos.

- Pregabalina, um antiepiléptico, interfere com a transição de massa (MRM) do padrão interno da succinilacetona e pode, assim, levar a concentrações falsamente baixas de succinilacetona e, conseqüentemente, a resultados de triagem falsos negativos.

- Torasemida, um diurético, interfere com a transição de massa (MRM) do C6DC, levando ao aumento das concentrações detectadas de C6DC e, assim, a resultados de triagem falsos positivos.

- 4-aminoantipirina, um metabólito do analgésico metamizol, interfere com a C2-carnitina, levando ao aumento das concentrações determinadas e a resultados de triagem falsos.

- 4-Metilaminoantipirina, um produto de degradação do analgésico metamizol, interfere com a transição de massa (MRM) da C3-carnitina, levando ao aumento das concentrações determinadas e a resultados de triagem falsos.

- Metionina sulfona, um produto de degradação da metionina, que está elevado sob condições de estresse oxidativo, interfere com a transição de massa (MRM) da tirosina. Assim, pode levar ao aumento das concentrações determinadas de Tyr e a resultados de triagem falsos.

### Testes com substâncias concentração-dependentes:

#### Creatina (CRE):

Com o aumento dos níveis de CRE em uma amostra contendo 414 µmol/L de Ala endógena, observou-se um aumento na interferência e, portanto, concentrações elevadas de Ala. Quando 250–2000 µmol/L de CRE foram adicionados a uma amostra nativa contendo 122 µmol/L de CRE, as concentrações de Ala aumentaram de 29–304% (533–1673 µmol/L). Considere as concentrações de CRE ao avaliar amostras de pacientes que apresentam concentrações elevadas de Ala, pois estas podem estar falsamente elevadas em casos raros com altas concentrações de CRE.

#### Glutamina (Gln):

Com o aumento dos níveis de Gln em uma amostra contendo 181 µmol/L de Glu endógeno, observou-se um aumento na interferência e, portanto, concentrações elevadas de Glu. Quando 1500–2000 µmol/L de Gln foram adicionados a uma amostra nativa contendo 271 µmol/L de Glu, as concentrações de Glu aumentaram em 21–27% (219–230 µmol/L).

Considere as concentrações de Gln ao avaliar amostras de pacientes que apresentam concentrações aumentadas de Glu, pois estas podem estar falsamente elevadas em casos raros com concentrações muito elevadas de Gln.

#### Ornitina (Orn):

Com o aumento dos níveis de Orn em uma amostra contendo 254 µmol/L de Pro endógeno, observou-se um aumento na interferência e, portanto, concentrações elevadas de Pro. Quando 1000–2000 µmol/L de Orn foram adicionados a uma amostra nativa contendo 194 µmol/L de Orn, as concentrações de Pro aumentaram em 25–58% (317–401 µmol/L). Essa interferência é causada pela sobreposição da transição de massa entre um fragmento de Orn formado na fonte de íons e Pro.

Considere as concentrações de Orn ao avaliar amostras de pacientes que apresentam concentrações aumentadas de Pro, pois estas podem estar falsamente elevadas em casos raros com altas concentrações de Orn.

#### Ácido aspártico (Asp):

Com o aumento dos níveis de Asp em uma amostra contendo 0,096 µmol/L de C6DC endógeno, observamos um aumento da interferência e, portanto, concentrações falsamente elevadas de C6DC. Quando 150–1200 µmol/L de Asp foram adicionados a uma amostra nativa de Asp de 260 µmol/L, as concentrações de C6DC aumentaram de 24–182% (0,119–0,271 µmol/L). Portanto, em casos raros de níveis muito elevados de Asp, é possível um resultado falso positivo para C6DC.

#### Triglicerídeos:

Concentrações intralípídicas superiores a 2,5 g/L afetam os resultados quantitativos de algumas acilcarnitinas em níveis de concentração clinicamente relevantes. Como as concentrações fisiológicas de triglicerídeos em recém-nascidos (0-14 dias) variam de aproximadamente 0,0082 a 0,0259 g/L no soro (correspondendo a aproximadamente 0,004 a 0,013 g/L no sangue total), um grau relevante de interferência é muito improvável em testes de rotina [9].

Observe que, embora a levodopa (L-DOPA) não interfira na determinação analítica de nenhum analito neste método (desvio ≤ 20%), recém-nascidos de mães tratadas com este medicamento ainda podem apresentar níveis elevados de 3-OMD, por se tratar de um produto de metilação do medicamento [10].

#### Possíveis interferências

As seguintes interferências foram relatadas em ensaios de triagem neonatal baseados em FIA-MS/MS:

#### Interferências conhecidas na literatura

Fonte de interferência	Analitos afetados
<b>Diretriz CLSI NBS04 [8]</b>	
Nutrição Parenteral Total (NPT)	Concentrações elevadas de múltiplos aminoácidos (p. ex., Met, Phe, Val, Leu, Arg), levando a resultados de triagem falso-positivos, podem ser determinadas se a DBS estiver contaminada com a solução de NPT devido à coleta inadequada.  Algumas soluções de NPT são enriquecidas apenas em aminoácidos de cadeia ramificada, resultando em um padrão sugestivo de MSUD.  A NPT frequentemente não contém carnitina; portanto, após administração prolongada, pode resultar em baixa concentração de carnitina livre.  Outros componentes em fluidos intravenosos podem apresentar massas dentro de uma ou duas unidades de uma acilcarnitina específica, por exemplo, picos de interferência em m/z 343 e m/z 399 podem causar C8 (m/z 344,1) e C12 (m/z 400,1) falsamente elevados.
Ácido valproico	Níveis elevados de C8 são esperados no caso de tratamento com ácido valproico; sugestivos de MCAD
Administração de carnitina	Resulta em níveis aumentados de acilcarnitinas de cadeia curta e média. Resultados falso-positivos são esperados.
Administração de pivalato (ésteres piválicos de antibióticos ou corticosteroides) à mães ou recém-nascidos	Níveis falsamente elevados de C5-carnitina devido à formação de pivaloicarnitina. Pode levar à depleção de carnitina.
Neopentanoato em fissura mamilar	Causa potencial de resultados falso-positivos para C5-carnitina.
Óleo de triglicerídeos de cadeia média (MCT) para bebês com	O uso deste aditivo de fórmula contendo ácidos graxos com comprimento de cadeia de 6, 8, 10 e 12 átomos de carbono pode resultar em



baixo peso ao nascer.	concentrações aumentadas de C6, C8, C10 e C12 no DBS
Doenças Maternas	Perfil anormal de analitos em amostras de recém-nascidos para - defeito na captação de carnitina - deficiência de 3-metilcrotonil-CoA carboxilase - acidemia glutárica tipo I - deficiência de vitamina B12
Efeitos ambientais	Concentrações de analitos falsamente elevadas ou reduzidas devido a calor ou umidade excessivos.
Desconhecido	Um interferente isobárico não identificado de C26:0 LPC foi observado em amostras de triagem para X-ALD no modo íon positivo. Concentrações falsamente aumentadas de C26:0 LPC, levando a resultados de triagem falso-positivos, são esperadas neste caso.

<b>Fator ambiental:</b>	
Causa da contaminação desconhecida	Pode ocorrer elevação falsa e inexplicável de citrulina e/ou arginina no teste inicial; resultado que não se reproduz ao testar novamente a amostra; CV > 35%
<b>Neonatologia/Pediatria - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 13 [12]</b>	
Nutrição Parenteral	Em recém-nascidos com nutrição parenteral, substituindo a tirosina por N-acetil-tirosina (um análogo hidrossolúvel da tirosina com baixa biodisponibilidade em neonatos), as concentrações de tirosina ainda podem estar reduzidas. Portanto, o quociente Phe/Tyr elevado pode indicar falsamente fenilcetonúria, embora a concentração de fenilalanina esteja na faixa normal.

<b>Associação de Laboratórios de Saúde Pública - "Newborn Screening Analyte Interference List" [11]</b>	
<b>Tratamento da amostra</b>	
Tratamento cutâneo com benzocaína antes da coleta	Pode resultar em Phe elevado e, portanto, em resultados de triagem falso-positivos.
Uso de lenços umedecidos desinfetantes	Pode levar ao aumento das concentrações de Malonilcarnitina (C3DC) e, conseqüentemente, a resultados falso-positivos na triagem.
Agentes antiestáticos, como Staticide.	Ar comprimido com produtos antiestáticos em spray (como Staticide) pode interferir com C4, C6, C8, C10 e C6DC, causando elevações falsas. Conseqüentemente, resultados falso-positivos na triagem podem ser determinados.
<b>Condição materna:</b>	
Esteatose hepática gestacional ou síndrome HELLP (hemólise, elevação das enzimas hepáticas, plaquetas baixas).	Condições maternas que levam ao aumento dos níveis de acilcarnitinas de cadeia par e, conseqüentemente, a resultados falso-positivos na triagem. (Presumível transferência de analito da mãe para o bebê através do cordão umbilical).
PKU materna ou hiperfenilalaninemia moderada não controlada por dieta ou medicamentos.	Concentrações aumentadas de fenilalanina podem ser determinadas e, conseqüentemente, um resultado falso-positivo na triagem. (Presumível transferência de analito da mãe para o bebê através do cordão umbilical).
<b>Condição infantil</b>	
Deficiência de Vitamina C	Pode resultar em elevações transitórias de tirosina devido à deficiência de vitamina C ou enzimas hepáticas imaturas devido ao parto prematuro. É uma condição transitória, que dura até que a vitamina C seja suplementada.
Hiperbilirrubinemia	Concentrações elevadas de C3 são esperadas nas primeiras duas semanas de vida devido à hiperbilirrubinemia, levando a resultados de triagem falso-positivos.
Imaturidade das enzimas hepáticas ou doença hepática	Elevações transitórias de tirosina, metionina e galactose, ocasionalmente de outros aminoácidos, levando a resultados de triagem falso-positivos.

### Observações gerais e internas sobre aditivos de materiais plásticos:

Aditivos de materiais plásticos utilizados antes ou durante o preparo da amostra podem interferir consideravelmente com algumas acilcarnitinas, causando resultados falso-positivos. Interferências foram observadas em particular para as acilcarnitinas C8, C5:1, C5DC e C6DC.

- No caso de C8 e C5:1, o cloreto de polivinilideno (PVdC) foi identificado como a causa raiz dos resultados falsamente elevados.

- Outras interferências desconhecidas de aditivos podem levar a concentrações aumentadas e, portanto, a resultados falso-positivos de triagem de C6DC.

Portanto, todos os reagentes e recipientes de preparação de amostras necessários neste kit de reagentes foram testados quanto à adequação. A ausência de interferências de materiais plásticos não fornecidos neste kit (por exemplo, pontas de pipeta) deve ser garantida pelo usuário final.

A substância endógena oleamida também é usada em sua forma sintética como agente de deslizamento, lubrificante ou inibidor de corrosão na produção de utensílios plásticos, como pontas de pipeta, tubos de ensaio e placas de poço. Alguns desses produtos podem, portanto, conter oleamida residual e contaminar a amostra durante o preparo. A oleamida interfere no padrão interno da C5DC-carnitina e, portanto, um aumento na intensidade do sinal tem sido observado esporadicamente. Isso pode levar a resultados de triagem falso-negativos. Para identificar amostras afetadas, monitore as intensidades do padrão interno da C5DC-carnitina em busca de valores discrepantes com sinais anormalmente altos. Para amostras de pacientes afetados, repita o preparo da amostra para obter resultados válidos.

### Nenhuma interferência detectada

As seguintes substâncias foram testadas e tiveram influência insignificante nos resultados quantitativos (desvio ≤ 20%).

### Substâncias isobáricas

Beta-alanina, ácido 5-aminolevulínico, 7-metilguanina, acetilglicina, ADP, citidina, desoxiguanosina, epiandrosterona, epicatequina, epietiocolanolona, eucaliptol, ácido fólico, ácido formiminoglutâmico, frutose-6-fosfato, ácido guanidinosuccínico, difosfato de guanosina, ácido indolacético, isomaltose, caempferol, lactulose, L-asparagina, sulfóxido de metionina, ácido N-acetil-L-aspartico, ácido protocatecuico, piridoxal-5'-fosfato, ácido chiquímico, sacarose, pirofosfato de tiamina, N-óxido de trimetilamina, turanose.

Observe que o ácido formiminoglutâmico não interfere na determinação de C4 neste ensaio. Portanto, ao contrário dos métodos que aplicam derivatização que demonstram essa interferência, não é possível detectar acidúria formiminoglutâmica (também conhecida como deficiência de formiminotransferase ciclodesaminase, código OMIM 229100) com o método não derivatizado [8,13,14].

## Medicamentos

Acetaminofeno/paracetamol, acetilcisteína, ácido acetilsalicílico, alopurinol, aloxantina/oxipurinol, alprazolam, anlodipino, amoxicilina, anfetamina/dexanfetamina, apixabana, atenolol, atorvastatina, azatioprina, azitromicina, bisoprolol, bupropiona, candesartana, carvedilol, cefuroxima, citalopram, clonazepam, clodogrel, cicloenzaprina, diclofenaco, duloxetine, edoxabana, empagliflozina, enalaprilato, fenoterol, fluoxetina, fluticasona, formoterol, furosemida, gabapentina, glimepirida, glipizida, hidroclorotiazida, hidrocodona, ibuprofeno, brometo de ipratrópio, lercanidipina, levetiracetam, levodopa, levotiroxina, lidocaína, lisinopril, lorazepam, losartana, meloxicam, metformina, metocarbamol, metilfenidato, metoclopramida, metoprolol, montelucaste, nebivolol, noscapina, omeprazol/esomeprazol, pantoprazol, femprocumona, pravastatina, prednisolona, prednisona, prilocaína, propranolol, ramipril, ranitidina, rivaroxabana, rosuvastatina, salbutamol/albuterol, sertralina, sinvastatina, sitagliptina, espirolactona, tansulosina, tilidina (como nortilidina), tramadol, trazodona, triantereno, valsartana, venlafaxina, vitamina K1 (fitomenadiona), zolpidem.

A análise sem interferências é possível com os seguintes estados de amostra:

## Icterícia

Amostras de sangue total foram adicionadas separadamente com bilirrubina não conjugada e conjugada (0,4 g/L) antes da coleta em papel de filtro. As concentrações de analito determinadas para essas DBS foram comparadas com as da DBS não modificada preparada a partir das mesmas amostras de sangue: Não ocorreram interferências significativas (desvio ≤ 20%).

## DADOS DE DESEMPENHO

### Recuperação

A recuperação relativa foi determinada usando diferentes amostras de sangue total de adultos. Para esse propósito, cada amostra individual foi contaminada com os analitos antes da produção de DBS. Três níveis de concentração próximos aos valores de corte foram investigados.

Substância	Faixa de concentração testada [µmol/L]	Taxa média de recuperação relativa em DBS (faixa)	
		Determinação com espectrômetro de massa	
		SCIEX 4500MD™	Waters Xevo™ TQ-S micro
<b>Aminoácidos</b>			
Ala	355-711	59% (58-60%)	50% (49-52%)
Arg	21,6-43,3	60% (59-61%)	62% (61-64%)
Asa	0,514-1,03	58% (56-60%)	59% (58-60%)
Cit	23,4-46,9	65% (64-66%)	67% (66-68%)
Gln	503-1509	77% (76-78%)	58% (58-59%)
Glu	533-1065	58% (56-61%)	58% (57-60%)
Gly	744-1488	57% (56-57%)	30% (29-31%)
Leu	138-275	64% (62-66%)	68% (66-70%)
Met	25,3-50,5	65% (64-66%)	66% (64-67%)
Orn	164-327	52% (51-52%)	55% (55-56%)
Phe	57,2-114	69% (67-70%)	68% (66-69%)
Pro	236-472	65% (64-66%)	62% (61-64%)
Ser	460-1382	59% (58-60%)	57% (56-59%)
Tyr	192-383	69% (68-70%)	69% (68-70%)
Val	145-289	66% (64-68%)	64% (63-65%)
3-OMD	0,917-2,75	73% (71-75%)	70% (69-72%)
<b>Carnitinas</b>			
C0	53,8-108	79% (76-82%)	79% (75-82%)
C2	21,4-64,1	78% (74-81%)	77% (74-79%)
C3	2,25-6,76	71% (70-73%)	72% (71-74%)
C4OH	0,439-0,878	82% (81-84%)	86% (84-87%)
C4	0,873-1,75	73% (70-75%)	73% (70-75%)
C5OH	0,436-0,873	92% (90-94%)	94% (91-95%)
C5	0,827-1,65	65% (62-66%)	66% (63-68%)
C5:1	0,025-0,050	81% (76-84%)	81% (79-83%)
C5DC	0,246-0,492	85% (83-87%)	89% (87-91%)
C6	0,391-0,782	78% (75-81%)	85% (81-88%)
C6DC	0,099-0,198	58% (55-61%)	71% (71-72%)
C8	0,353-0,705	69% (66-72%)	68% (65-70%)
C8:1	0,537-1,07	68% (67-70%)	70% (69-72%)
C10	0,321-0,642	86% (83-89%)	87% (83-89%)

C10:1	0,489-0,978	73% (72-75%)	75% (73-76%)
C10:2	0,038-0,076	50% (46-53%)	52% (48-55%)
C12	0,148-0,443	70% (67-71%)	71% (68-72%)
C12:1	0,224-0,673	75% (73-76%)	72% (70-73%)
C14	0,136-0,410	79% (76-81%)	82% (78-84%)
C14:1	0,207-0,622	74% (72-75%)	72% (71-73%)
C14:2	0,417-0,834	33% (32-34%)	30% (29-30%)
C14OH	0,038-0,076	62% (60-63%)	39% (38-39%)
C16	3,45-10,4	88% (86-90%)	87% (86-89%)
C16:1	0,193-0,578	74% (73-76%)	67% (66-69%)
C16OH	0,027-0,081	88% (87-90%)	83% (81-85%)
C16:1OH	0,087-0,174	61% (59-62%)	49% (47-50%)
C18	0,474-0,948	81% (78-84%)	82% (78-86%)
C18:1	0,720-1,44	66% (63-67%)	65% (62-67%)
C18:2	0,362-0,723	46% (45-47%)	35% (34-36%)
C18OH	0,042-0,083	121% (118-125%)	115% (112-118%)
C18:1OH	0,032-0,065	64% (63-66%)	47% (46-47%)
C18:2OH	0,014-0,028	43% (42-46%)	31% (30-32%)
C20	0,068-0,135	109% (93-117%)	133% (129-139%)
C22	0,014-0,036	109% (94-117%)	120% (103-130%)
C24	0,016-0,032	113% (112-115%)	116% (112-118%)
C26	0,012-0,042	84% (82-88%)	86% (80-89%)
<b>Cetonas</b>			
SUAC	0,719-1,44	37% (35-39%)	36% (33-39%)
<b>Nucleosídeos</b>			
Ado	0,851-2,55	76% (75-76%)	77% (75-78%)
dAdo	0,034-0,102	89% (87-91%)	84% (82-88%)
<b>Lisofosfolípeios</b>			
C20:0 LPC	0,550-1,65	120% (116-123%)	123% (118-128%)
C22:0 LPC	0,319-0,637	139% (137-142%)	139% (135-142%)
C24:0 LPC	1,28-2,56	143% (142-144%)	140% (137-142%)
C26:0 LPC	0,363-0,762	94% (92-98%)	80% (77-83%)
<b>Creatina e metabólitos relacionados</b>			
CRE	461-1383	64% (57-71%)	72% (70-73%)
CRN	89,3-179	86% (85-87%)	82% (81-84%)
GAA	2,65-5,29	35% (32-42%)	42% (41-44%)

### Faixa de medição analítica

Limite inferior de quantificação (LLOQ) e limite superior de quantificação (ULOQ)

A linearidade e o limite superior de quantificação (ULOQ) foram determinados pela adição de quantidades definidas de substâncias padrão em sangue total adulto antes da produção de DBS e análise subsequente. O limite inferior de quantificação (LLOQ) foi determinado por diluições definidas de amostras de matriz derivadas de sangue adulto adicionadas ou de um substituto da matriz antes da produção de pontos de matriz seca e análise subsequente.

Substância	SCIEX 4500MD™		Waters Xevo™ TQ-S micro	
	LLOQ [µmol/L]	ULOQ [µmol/L]	LLOQ [µmol/L]	ULOQ [µmol/L]
<b>Aminoácidos</b>				
Ala	15,8	3245	26,4	2785
Arg	6,37	902	6,00	967
Asa	0,196	119	0,173	126
Cit	4,17	1291	4,00	1300
Gln	23,3	4309	18,6	3153
Glu	10,4	2311	22,4	1435
Gly	73,4	2727	21,5	2213
Leu	5,19	704	6,09	1921
Met	2,84	979	2,37	968
Orn	8,29	1151	16,2	1397
Phe	2,33	782	2,51	1651
Pro	3,61	1492	4,27	1889
Ser	11,5	2919	12,3	2876
Tyr	4,55	1695	4,60	1695
Val	7,77	1430	8,10	1997
3-OMD	0,449	70,6	0,436	75,3
<b>Carnitinas</b>				
C0	0,338	593	0,300	585
C2	0,122	164	0,068	429
C3	0,022	50,2	0,014	50,2

C4OH	0,028	14,4	0,014	14,7
C4	0,008	12,3	0,005	12,4
C5OH	0,012	18,1	0,010	17,6
C5	0,007	15,1	0,005	15,2
C5:1	0,021	16,4	0,021	16,9
C5DC	0,033	14,3	0,012	15,2
C6	0,027	5,11	0,006	5,73
C6DC	0,044	14,6	0,019	18,0
C8	0,005	11,2	0,014	11,7
C8:1	0,007	11,7	0,005	13,8
C10	0,007	15,3	0,005	15,7
C10:1	0,012	17,6	0,012	8,53
C10:2	0,048	10,4	0,028	5,45
C12	0,005	10,6	0,003	11,7
C12:1	0,009	14,5	0,006	17,4
C14	0,027	13,5	0,004	14,2
C14:1	0,020	14,5	0,025	14,1
C14:2	0,014	5,67	0,007	6,99
C14OH	0,009	12,1	0,001	6,19
C16	0,043	47,3	0,013	71,0
C16:1	0,006	15,8	0,004	15,8
C16OH	0,006	15,1	0,002	17,4
C16:1OH	0,004	9,75	0,002	6,72
C18	0,032	27,4	0,009	32,5
C18:1	0,023	19,7	0,006	21,6
C18:2	0,022	8,03	0,003	8,40
C18OH	0,007	19,4	0,003	21,3
C18:1OH	0,011	6,81	0,002	4,61
C18:2OH	0,007	4,57	0,002	3,15
C20	0,010	18,1	0,004	35,0
C22	0,022	18,0	0,005	29,9
C24	0,012	15,9	0,009	22,1
C26	0,015	9,56	0,008	10,3
<b>Cetonas</b>				
SUAC	0,485	59,4	0,271	132
<b>Nucleosídeos</b>				
Ado	0,029	70,3	0,029	72,0
dAdo	0,018	71,8	0,016	79,9
<b>Lisofosfolipídeos</b>				
C20:0 LPC	0,279	27,1	0,349	37,0
C22:0 LPC	0,306	32,4	0,124	39,7
C24:0 LPC	0,329	36,2	0,152	39,9
C26:0 LPC	0,129	11,7	0,079	11,9
<b>Creatina e metabólitos relacionados</b>				
CRE	1,87	1112	1,69	4424
CRN	4,72	528	12,2	500
GAA	1,36	27,8	0,450	17,3

#### Precisão intra-ensaio:

Os dados de desempenho foram determinados com base em pelo menos 3 amostras diferentes, por processamento duplo em 20 dias diferentes, com 2 execuções por dia. O procedimento baseia-se na CLSI EP05-A3 e corresponde a um delineamento de teste 20 × 2 × 2.

*Precisão (repetibilidade e precisão dentro do laboratório) para amostras de sangue seco, determinação com espectrômetro de massa SCIEX 4500MD™*

Substância	Nível	Conc. Média [µmol/L]	Repetibilidade		Precisão intra-laboratório	
			CV%	95% IC	CV%	95% IC
<b>Amino acids</b>						
Ala	1	347	4,1	3,4-5,3	4,9	4,2-5,9
	2	712	5,8	4,8-7,4	6,2	5,3-7,4
	3	1107	4,9	4,0-6,3	5,6	4,8-6,7
Arg	1	19,7	4,9	4,0-6,3	6,5	5,5-8,0
	2	29,4	4,4	3,6-5,6	5,4	4,6-6,6
	3	43,1	4,7	3,8-6,0	4,8	4,1-5,6
	4	54,0	4,3	3,5-5,5	4,9	4,2-6,0
Asa	1	0,507	7,3	6,0-9,3	10,9	9,0-13,7
	2	0,726	5,2	4,3-6,7	7,2	6,0-8,8
	3	1,27	6,1	5,0-7,8	6,1	5,3-7,2
Cit	1	18,2	8,6	7,0-11,0	8,9	7,7-10,6
	2	29,7	5,6	4,6-7,1	6,1	5,3-7,3
	3	54,8	4,8	3,9-6,1	5,3	4,5-6,3
	4	70,2	4,2	3,4-5,4	5,0	4,2-6,1
Gln	1	650	5,0	4,1-6,4	5,9	5,0-7,1
	2	1225	5,0	4,1-6,4	5,4	4,6-6,4
	3	1737	5,2	4,3-6,7	5,8	5,0-6,9

Glu	1	363	4,1	3,4-5,3	5,0	4,3-6,1
	2	604	4,9	4,1-6,3	5,3	4,6-6,3
	3	1101	4,8	3,9-6,1	5,7	4,8-6,9
Gly	1	625	4,1	3,4-5,3	5,1	4,4-6,1
	2	1311	5,8	4,7-7,4	6,5	5,6-7,8
	3	1701	4,5	3,7-5,8	5,1	4,4-6,0
Leu	1	168	4,1	3,4-5,2	4,6	3,9-5,5
	2	367	4,9	4,0-6,3	5,4	4,7-6,5
	3	432	3,8	3,1-4,8	4,4	3,8-5,4
Met	1	15,1	4,2	3,4-5,3	4,8	4,1-5,7
	2	28,5	4,4	3,6-5,7	4,9	4,2-5,9
	3	57,1	4,8	3,9-6,2	5,5	4,7-6,6
	4	73,8	4,0	3,3-5,1	4,9	4,1-5,9
Orn	1	194	2,9	2,4-3,8	3,9	3,3-4,8
	2	345	6,4	5,2-8,2	7,2	6,1-8,7
	3	423	8,0	6,6-10,2	8,3	7,1-10,1
Phe	1	84,9	4,6	3,7-5,8	5,0	4,3-6,0
	2	143	5,7	4,7-7,3	6,3	5,4-7,5
	3	177	4,5	3,7-5,8	5,3	4,5-6,4
Pro	1	199	4,2	3,4-5,4	4,9	4,2-5,9
	2	419	4,9	4,0-6,2	5,4	4,6-6,4
	3	638	4,3	3,5-5,5	5,0	4,3-6,1
Ser	1	124	6,2	5,1-7,9	6,3	5,5-7,5
	2	1025	5,3	4,4-6,8	5,6	4,9-6,7
	3	1465	5,6	4,6-7,2	6,1	5,3-7,4
	4	1993	4,5	3,7-5,7	5,2	4,4-6,2
Tyr	1	142	4,9	4,0-6,3	5,6	4,8-6,7
	2	332	5,0	4,1-6,4	5,4	4,7-6,5
	3	439	4,2	3,5-5,4	4,9	4,2-5,8
Val	1	158	4,1	3,4-5,3	5,1	4,3-6,3
	2	304	5,0	4,1-6,4	5,7	4,9-6,9
	3	454	4,3	3,5-5,4	4,9	4,2-5,9
3-OMD	1	1,13	4,6	3,8-5,9	5,5	4,7-6,6
	2	2,07	4,2	3,5-5,4	4,5	3,9-5,3
	3	4,05	4,0	3,3-5,1	4,6	3,9-5,6
<b>Carnitinas</b>						
C0	1	21,5	3,9	3,2-5,0	4,5	3,8-5,4
	2	39,4	5,4	4,4-6,9	6,6	5,6-8,0
	3	62,8	5,5	4,5-7,0	6,0	5,1-7,1
	4	99,3	5,0	4,1-6,4	5,8	4,9-6,9
C2	1	24,2	5,0	4,1-6,4	5,5	4,7-6,5
	2	53,6	5,8	4,8-7,5	6,2	5,4-7,4
	3	77,5	6,0	4,9-7,7	6,8	5,8-8,1
	4	94,8	4,3	3,5-5,5	5,3	4,5-6,5
C3	1	0,138	9,4	7,8-12,1	10,1	8,7-12,0
	2	1,85	5,1	4,2-6,5	5,8	5,0-7,0
	3	4,04	5,3	4,3-6,8	5,8	5,0-6,9
	4	5,93	5,7	4,7-7,3	6,8	5,8-8,3
C4OH	1	0,272	4,1	3,4-5,3	5,1	4,4-6,2
	2	0,632	4,8	4,0-6,2	5,8	4,9-7,1
	3	0,870	4,3	3,5-5,5	5,1	4,30-6,2
C4	1	0,650	5,4	4,4-6,9	5,8	5,0-6,9
	2	0,925	5,7	4,7-7,3	6,5	5,6-7,8
	3	1,15	4,5	3,7-5,7	5,3	4,5-6,4
C5OH	1	0,462	3,9	3,2-5,0	4,8	4,1-5,9
	2	0,906	5,2	4,2-6,6	5,8	5,0-7,0
	3	1,07	4,4	3,6-5,6	5,2	4,4-6,3
C5	1	0,364	5,6	4,6-7,1	6,0	5,1-7,1
	2	0,519	5,1	4,2-6,6	6,0	5,1-7,2
	3	0,646	5,1	4,2-6,6	6,1	5,2-7,4
C5:1	1	0,052	4,9	4,0-6,3	8,9	7,2-11,6
	2	0,072	4,7	3,9-6,1	7,0	5,8-8,8
	3	0,089	3,5	2,9-4,5	7,5	6,0-9,9
C5DC	1	0,159	8,1	6,7-10,4	8,3	7,1-9,9
	2	0,356	6,3	5,1-8,0	6,9	6,0-8,3
	3	0,430	5,5	4,5-7,0	6,6	5,6-8,0
C6	1	0,092	5,4	4,5-7,0	6,1	5,2-7,3
	2	0,192	5,5	4,5-7,1	6,5	5,5-7,9
	3	0,230	4,8	4,0-6,2	5,6	4,7-6,7
C6DC	1	0,204	6,8	5,6-8,7	7,2	6,2-8,6
	2	0,350	6,4	5,2-8,2	7,0	6,0-8,3
	3	0,437	4,8	3,9-6,1	6,4	5,4-7,9
C8	1	0,129	3,0	2,5-3,9	4,5	3,8-5,7
	2	0,230	3,3	2,7-4,2	4,4	3,7-5,5
	3	0,271	3,5	2,9-4,4	5,2	4,4-6,4
C8:1	1	0,102	4,6	3,8-5,9	5,2	4,5-6,2
	2	0,225	6,0	4,9-7,7	6,5	5,6-7,8
	3	0,309	5,2	4,3-6,6	6,1	5,2-7,5
C10	1	0,198	5,4	4,4-6,8	6,4	5,5-7,8
	2	0,368	6,1	5,0-7,9	6,8	5,8-8,1
	3	0,439	5,2	4,3-6,7	6,3	5,4-7,8

C10:1	1	0,076	5,2	4,3-6,6	6,0	5,1-7,2
	2	0,122	6,5	5,4-8,3	7,0	6,0-8,3
	3	0,166	5,5	4,6-7,1	6,5	5,5-7,8
C10:2	1	0,057	5,0	4,1-6,4	6,9	5,8-8,4
	2	0,088	6,4	5,2-8,2	7,5	6,4-9,1
	3	0,110	4,8	3,9-6,1	5,8	4,9-7,1
C12	1	0,140	5,5	4,5-7,0	6,0	5,1-7,1
	2	0,370	5,2	4,3-6,7	5,8	5,0-7,0
	3	0,453	4,6	4,7-5,8	5,3	4,6-6,5
C12:1	1	0,159	5,6	4,6-7,1	5,9	5,1-7,1
	2	0,372	5,9	4,8-7,6	6,7	5,7-8,1
	3	0,514	4,6	3,7-5,8	5,5	4,7-6,7
C14	1	0,374	4,8	4,0-6,2	5,3	4,5-6,2
	2	0,533	6,1	5,0-7,8	6,5	5,6-7,7
	3	0,654	4,7	3,8-6,0	5,5	4,7-6,7
C14:1	1	0,168	4,5	3,7-5,7	4,9	4,2-5,8
	2	0,370	6,1	5,0-7,8	6,5	5,6-7,8
	3	0,505	4,8	4,0-6,2	5,9	5,0-7,2
C14:2	1	0,031	4,9	4,1-6,3	5,6	4,8-6,7
	2	0,063	5,6	4,6-7,1	6,2	5,3-7,4
	3	0,092	4,6	3,8-5,9	5,5	4,7-6,7
C14OH	1	0,028	5,6	4,6-7,1	6,1	5,3-7,3
	2	0,043	5,6	4,6-7,1	6,2	5,3-7,4
	3	0,072	4,5	3,7-5,8	5,3	4,5-6,3
C16	1	0,406	4,6	3,8-5,9	5,7	4,9-6,9
	2	3,18	6,1	5,0-7,8	6,4	5,5-7,6
	3	6,72	5,6	4,6-7,2	6,3	5,4-7,5
	4	9,73	6,3	5,1-8,0	6,7	5,8-7,9
C16:1	1	0,260	5,6	4,6-7,2	6,4	5,5-7,6
	2	0,501	5,1	4,2-6,5	6,1	5,2-7,2
	3	0,922	4,8	3,9-6,1	5,7	4,9-7,0
C16OH	1	0,032	4,8	3,9-6,1	5,7	4,9-6,8
	2	0,084	6,3	5,1-8,0	6,6	5,7-7,8
	3	0,105	4,5	3,7-5,7	5,1	4,3-6,1
C16:1OH	1	0,048	5,8	4,8-7,4	5,8	5,0-6,9
	2	0,107	6,8	5,5-8,7	7,3	6,3-8,7
	3	0,146	5,3	4,3-6,7	6,0	5,1-7,2
C18	1	0,398	4,8	3,9-6,1	6,6	5,6-8,0
	2	0,969	6,4	5,3-8,2	7,3	6,3-8,7
	3	2,31	5,8	4,8-7,5	6,2	5,3-7,3
	4	2,80	5,1	4,2-6,5	5,9	5,1-7,1
C18:1	1	0,699	4,7	3,8-6,0	5,9	5,1-7,1
	2	2,00	5,7	4,7-7,3	6,7	5,7-8,0
	3	3,36	4,9	4,0-6,3	6,2	5,4-7,5
	4	5,76	4,8	3,9-6,1	5,9	5,0-7,1
C18:2	1	0,227	4,6	3,8-5,9	5,3	4,6-6,4
	2	0,399	5,7	4,7-7,3	6,5	5,6-7,7
	3	0,579	5,5	4,5-7,1	6,3	5,4-7,5
	4	0,692	6,0	4,9-7,8	6,8	5,8-8,2
C18OH	1	0,056	6,2	5,1-7,9	6,5	5,6-7,7
	2	0,073	5,3	4,3-6,8	5,9	5,0-7,0
	3	0,099	4,9	4,0-6,2	5,5	4,7-6,6
C18:1OH	1	0,028	4,2	3,4-5,4	6,4	5,4-7,9
	2	0,043	5,3	4,3-6,7	5,7	4,9-6,8
	3	0,072	4,8	3,9-6,1	5,5	4,7-6,7
C18:2OH	1	0,011	7,7	6,3-9,8	7,7	6,7-9,1
	2	0,024	5,7	4,7-7,3	6,8	5,8-8,1
	3	0,036	4,6	3,8-5,9	5,2	4,5-6,2
C20	1	0,031	5,3	4,3-6,8	6,6	5,6-8,0
	2	0,065	6,6	5,4-8,5	8,6	7,3-10,3
	3	0,125	6,8	5,5-8,7	7,7	6,6-9,2
C22	1	0,021	4,7	3,8-6,0	5,7	4,9-6,9
	2	0,030	5,5	4,5-7,0	6,9	5,9-8,3
	3	0,041	5,4	4,4-6,9	6,9	5,9-8,3
C24	1	0,026	4,9	4,0-6,2	6,8	5,7-8,4
	2	0,031	5,7	4,7-7,3	6,6	5,7-7,9
	3	0,050	5,6	4,6-7,2	6,2	5,4-7,4
C26	1	0,017	7,9	6,5-10,1	9,5	8,1-11,4
	2	0,028	6,5	5,4-8,4	7,8	6,7-9,3
	3	0,040	5,4	4,4-6,9	7,3	6,2-8,8
<b>Cetonas</b>						
SUAC	1	1,00	5,8	4,7-7,4	6,9	5,9-8,4
	2	1,68	6,6	5,5-8,5	7,5	6,4-8,9
	3	2,23	6,8	5,6-8,8	7,9	6,7-9,5
<b>Nucleosídeos</b>						
Ado	1	1,65	3,1	2,6-4,0	3,4	3,0-4,1
	2	2,42	3,5	2,9-4,5	4,1	3,5-4,9
	3	3,30	3,1	2,5-4,0	3,6	3,1-4,3
dAdo*	1	0,015	9,4	7,2-13,6	10,6	8,6-13,7
	2	0,051	4,8	3,6-6,9	6,4	5,0-8,8
	3	0,083	4,1	3,2-6,0	5,4	4,2-7,3

<b>Lisofosfolipídeos</b>						
C20:0 LPC	1	0,463	8,3	6,8-10,6	11,6	9,8-14,2
	2	0,572	10,6	8,7-13,5	11,2	9,7-13,3
	3	0,707	9,3	7,6-11,9	10,4	9,0-12,4
C22:0 LPC	1	0,417	9,7	7,9-12,3	11,0	9,5-13,0
	2	0,691	10,5	8,7-13,5	10,7	9,3-12,7
	3	1,17	9,2	7,5-11,7	9,5	8,2-11,2
C24:0 LPC	1	0,439	7,3	6,0-9,4	8,7	7,5-10,4
	2	1,10	8,4	6,9-10,7	9,0	7,8-10,7
	3	1,87	6,2	5,1-8,0	7,3	6,3-8,7
C26:0 LPC	1	0,405	14,2	11,6-18,1	14,3	12,4-16,9
	2	0,583	12,4	10,2-15,8	12,8	11,0-15,1
	3	0,907	12,7	10,4-16,3	12,8	11,0-15,1
<b>Creatina e metabólitos relacionados</b>						
CRE	1	73,3	4,1	3,4-5,3	4,5	3,9-5,4
	2	440	4,5	3,7-5,8	5,4	4,6-6,5
	3	744	4,3	3,5-5,5	4,7	4,1-5,7
	4	1124	2,9	2,4-3,7	4,7	3,8-5,9
CRN	1	82,3	4,4	3,6-5,7	5,4	4,6-6,5
	2	130	4,4	3,6-5,6	4,8	4,1-5,7
	3	231	4,0	3,3-5,1	5,0	4,2-6,2
GAA	1	1,02	6,6	5,4-8,4	11,9	9,6-15,6
	2	2,58	7,1	5,8-9,1	8,3	7,1-10,1
	3	4,16	6,3	5,1-8,0	8,0	6,7-9,7
	4	7,10	4,3	3,6-5,5	7,2	6,0-8,9

### Desempenho Clínico

Os parâmetros de desempenho clínico foram estabelecidos em testes laboratoriais de rotina no Screening-Labor Hannover, utilizando o ensaio 57075-ADO, de acordo com a finalidade pretendida. A população-alvo foram recém-nascidos da Alemanha, avaliados de acordo com as normas locais [4] em um esquema de triagem ampliado como parte de um estudo de viabilidade.

Com base na experiência de testes de rotina anteriores e nos percentis determinados para recém-nascidos não afetados no mesmo laboratório, utilizando o ensaio em referência, os seguintes valores de corte foram definidos e regras de classificação foram estabelecidas.

### Resumo dos pontos de corte e regras aplicadas em nossa avaliação de desempenho clínico

Análito ou razão	Limite de corte	Regra de classificação: repetição acionada/ classificação positiva
Asa	0,756 µmol/L	como parâmetro único
Cit	56,9 µmol/L	como parâmetro único±
XLeu	347 µmol/L	como parâmetro único
Met	52,9 µmol/L	como parâmetro único + teste de 2º nível
Met low	7,86 µmol/L	como parâmetro único + teste de 2º nível
Phe	147 µmol/L	como parâmetro único
Tyr	284 µmol/L	como parâmetro único
Val	262 µmol/L	somente se XLeu for anormal
3-OMD	2,41 µmol/L	como parâmetro único
SUAC	1,21 µmol/L	como parâmetro único
Phe/Tyr	2,90	como parâmetro único
XLeu/Phe	4,28	somente se XLeu for anormal
C0	61,7 µmol/L	somente se Cxtotal + C0/(C16+C18) forem anormais
C0 low	6,70 µmol/L	como parâmetro único (+ potencial de teste de 2º nível)
C2	70,0 µmol/L	somente informativo
C3	5,30 µmol/L	somente informativo (+ potencial teste de 2º nível)
C3DC&C4OH	0,622 µmol/L	como parâmetro único (+ potencial teste butilado)
C4	1,27 µmol/L	como parâmetro único
C4DC&C5OH	0,944 µmol/L	como parâmetro único (+ potencial teste butilado)
C5	0,539 µmol/L	como parâmetro único + teste de 2º nível)
C5DC&C6OH	0,370 µmol/L	como parâmetro único (+ potencial teste butilado)
C5:1	0,051 µmol/L	somente se C5OH for anormal
C6	0,192 µmol/L	somente se C8 for anormal
C6DC	0,340 µmol/L	somente informativo
C8	0,252 µmol/L	como parâmetro único
C10	0,433 µmol/L	somente se C8 é anormal

C10:1	0,121 µmol/L	somente se C8 for anormal
C12	0,312 µmol/L	somente se C14:1 for anormal
C12:1	0,331 µmol/L	somente informativo
C14	1,01 µmol/L	somente se as proporções incluindo C14, C14:1, C14:2 ou de C12 a C16 forem anormais
C14:1	0,404 µmol/L	como parâmetro único
C14:2	0,059 µmol/L	como parâmetro único
C14OH	0,043 µmol/L	somente se C16OH for anormal
C16	8,59 µmol/L	somente informativo
C16 low	1,32 µmol/L	somente se C0/(C16+C18) estiver aumentado
C16OH	0,144 µmol/L	como parâmetro único
C18	2,12 µmol/L	somente informativo
C18 low	0,311 µmol/L	somente se C0/(C16+C18) estiver aumentado
C18:1	3,59 µmol/L	somente informativo
C18:1 low	0,587 µmol/L	somente se C0/(C16+C18) estiver aumentado
C18:2	0,424 µmol/L	somente informativo
C18:2 low	0,036 µmol/L	somente se C0/(C16+C18) estiver aumentado
C18OH	0,105 µmol/L	como parâmetro único
C18:1OH	0,039 µmol/L	como parâmetro único
C18:2OH	0,024 µmol/L	somente informativo
total Cx*	142 µmol/L	somente se C0/(C16+C18) for aumentado
total Cx low*	20,6 µmol/L	somente informativo
C3/C2	0,212	somente se C3 for anormal
C3/C16	1,48	somente se C3 for anormal
C4DC&C5OH/C0	0,057	somente informativo
C4DC&C5OH/C2	0,048	somente informativo
C4DC&C5OH/Xleu	0,009	somente informativo
C5/C2	0,037	somente se C5 for anormal
C5DC&C6OH/C0	0,027	somente se C5DC for anormal
C5DC&C6OH/C2	0,020	somente se C5DC for anormal
C5DC&C6OH/C8	6,39	somente se C5DC for anormal
C5DC&C6OH/C16	0,113	somente se C5DC for anormal
C8/C2	0,012	somente se C8 for anormal
C8/C10	1,35	somente se C8 for anormal
C8/C12	2,00	somente se C8 for anormal
C14:1/C2	0,021	somente se C14:1 for anormal
C14:1/C4	2,17	somente se C14:1 for anormal
C14:1/C6	7,36	somente se C14:1 for anormal
C14:1/C8	6,25	somente se C14:1 for anormal
C0/(C16+C18)	48,0	como parâmetro único
(C16+C18:1)/C2	1,09	como parâmetro único
C14:1/C12:1	4,04	somente se C14:1 for anormal

\* Cx total = C0 + C2 + C3 + C3DC&C4OH + C4 + C4DC&C5OH + C5 + C5DC&C6OH + C5:1 + C6 + C6DC + C8 + C10 + C10:1 + C12 + C12:1 + C14 + C14OH + C14:1 + C14:2 + C16 + C16OH + C16:1 + C18 + C18:1 + C18:2

#Observe que níveis reduzidos de Cit usados como único parâmetro para triagem de distúrbios do ciclo da ureia (NAGS, OTC, CPS) demonstraram baixa especificidade e provavelmente baixa sensibilidade, pelo menos para OTC de início tardio [15].

### Classificação das amostras de recém-nascidos triados.

	Recém-nascidos não afetados	Recém-nascidos afetados	Total
<b>Triagem final negativa</b>	1485 (verdadeiro negativo)	0 (falso negativo)	1485
<b>Triagem final positiva</b>	93 (falso positivo)	67 (verdadeiro positivo)	160
<b>Total</b>	1578	67	1645 <sup>#</sup>

# Das 1.645 amostras, 179 foram inicialmente classificadas como positivas após a avaliação de uma primeira punção de DBS (corresponde a uma taxa de repetição teórica de 10,9%). Não foi possível repetir a medição em 86 delas devido à falta de material. Elas foram consideradas finalmente positivas. Das 93 amostras restantes, uma segunda punção de DBS foi processada. 19 delas foram finalmente classificadas como negativas e 74 finalmente classificadas como positivas.

Desempenho clínico, dados combinados para todos os alvos e analitos investigados













Sensibilidade	100,00%
Especificidade	94,11%

### LITERATURA

- Loeber JG, Platis D, Zetterström RH, Almashanu S, Boemer F, Bonham JR, et al.: Neonatal Screening in Europe Revisited: An ISNS Perspective on the Current State and Developments Since 2010. *Int J Neonatal Screen* 2021; 7.
- Watson MS, Mann MY, Lloyd-Puryear MA, Rinaldo P, Howell RR: Newborn screening: toward a uniform screening panel and system 2006.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): NBS01-Ed7: Dried Blood Spot Specimen Collection for Newborn Screening. Approved Standard 2021.
- Gemeinsamer Bundesausschuss: Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern. Kinder-Richtlinie, 2024.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Newborn Screening Quality Assurance Program. Annual Summary Report 2015. Atlanta, GA, 2015.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): NBS01-A6: Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs. Approved Standard 2013.
- Carling RS, Whyte E, John C, Garstone R, Goddard P, Greenfield T, et al.: Improving Harmonization and Standardization of Expanded Newborn Screening Results by Optimization of the Legacy Flow Injection Analysis Tandem Mass Spectrometry Methods and Application of a Standardized Calibration Approach. *Clinical Chemistry* 2022; 68:1075–1083.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): NBS04-Ed2: Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry 2017.
- Wong EC, Brugnara C, Straseski J, Kellogg M, Adeli K: Pediatric reference intervals. Academic Press, Amsterdam, 2021.
- Burlina A, Giuliani A, Polo G, Guerardi D, Graganiello V, Cazzorla C, et al.: Detection of 3-O-methyl dopa in dried blood spots for neonatal diagnosis of aromatic L-amino-acid decarboxylase deficiency: The northeastern Italian experience. *Mol Genet Metab* 2021; 133:56–62.
- Association of Public Health Laboratories: Newborn Screening Analyte Interference List, 2023. [https://www.aphl.org/programs/newborn\\_screening/Pages/NBS%20Interference%20List.aspx#](https://www.aphl.org/programs/newborn_screening/Pages/NBS%20Interference%20List.aspx#), accessed April 29, 2025.
- Fusch C, Bauer K, Böhles HJ, Jochum F, Koletzko B, Krawinkel M, et al.: Neonatology/Paediatrics - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 13. *Ger Med Sci* 2009; 7:Doc15.
- Ahrens-Nicklas RC, Ganetzky RD, Rush PW, Conway RL, Ficcioglu C: Characteristics and outcomes of patients with formiminoglutamic aciduria detected through newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2019; 42:140–146.
- Majumdar R, Yori A, Rush PW, Raymond K, Gavrillov D, Tortorelli S, et al.: Allelic spectrum of formiminotransferase-cyclodeaminase gene variants in individuals with formiminoglutamic aciduria. *Mol Genet Genomic Med* 2017; 5:795–799.
- Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS) der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin: Diagnostik und Therapie von Harnstoffzyklusstörungen - S3 Leitlinie. AWMF 027-006 2018.
- 3MCC prevalence. <https://www.babysfirsttest.org/newborn-screening/conditions/3-methylcrotonyl-coa-carboxylase-deficiency>, accessed October 28, 2024.
- AADC Deficiency. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK595821/>, accessed October 28, 2024.
- ASA prevalence. <https://www.babysfirsttest.org/newborn-screening/conditions/argininosuccinic-aciduria>, accessed October 28, 2024.
- CPTI prevalence. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214426923000782>, accessed October 28, 2024.
- CPT II and CACT prevalence. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1253/>, accessed October 28, 2024.
- CUD prevalence. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/158?name=158&mode=orpha>, accessed October 28, 2024.
- GA1 prevalence. [https://register.awmf.org/assets/guidelines/027\\_D\\_Ges\\_fuer\\_Kinderheilkunde\\_und\\_Jugendmedizin/027-018eng\\_S3\\_Glutaric-Aciduria\\_Type\\_I\\_2019-09.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/027_D_Ges_fuer_Kinderheilkunde_und_Jugendmedizin/027-018eng_S3_Glutaric-Aciduria_Type_I_2019-09.pdf), accessed October 28, 2024.
- GA2 prevalence. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8913008/>, accessed October 28, 2024.
- LCHAD and TFP prevalence. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583531/>, accessed October 28, 2024.
- MCAD prevalence. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/42?name=42&mode=orpha>, accessed October 28, 2024.
- orpha.net: ORPHA:511 Maple syrup urine disease. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/511?name=MSUD&mode=name>, accessed April 9, 2025.
- PA/PROP prevalence. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/35?name=35&mode=orpha>, accessed October 28, 2024.

- 28 PKU and H-PHE prevalence. <https://www.egms.de/static/de/meetings/dkvf2019/19dkvf502.shtml#ref1>, accessed October 28, 2024.
- 29 TYR I prevalence. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1515/>, accessed October 28, 2024.
- 30 TYR II prevalence. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK608431/>, accessed October 28, 2024.
- 31 TYR III prevalence. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/69723?name=ORPHA:69723&mode=orpha>, accessed October 28, 2024.
- 32 VLCAD prevalence. <https://www.orpha.net/en/disease/detail/26793?name=ORPHA:26793&mode=orpha>, accessed October 28, 2024.

### 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
	Perigo
	Marcação CE de conformidade com a legislação aplicável da UE (com afixação 0123 - para o organismo notificado: TÜV Süd Product Service GmbH)

**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: 10350840489**  
**SAC: sac@biosys.com.br - 0800 015 1414 / (21) 3907-2534**  
**www.biosys.com.br**