

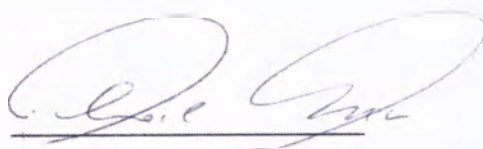
CHROMSYSTEMS

DIAGNOSTICS BY HPLC & LC-MS/MS

УТВЕРЖДАЮ» / “APPROVE”

Управляющий директор / Managing director

Михаэль Майер / Michael Meier



«16» ноября 2016/ Nov 16, 2016

«Подтверждаю точность, правильность и

I hereby certify accuracy, correctness and

достоверность прилагаемого документа

reliability of attached document

и его содержания, переведенного

and them content translated

на русский язык»

into Russian

Инструкция по применению

*MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и
ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты
исполнения: 55000, 55000/F*

Оглавление

1. Наименование и состав продукта, информация для заказа.....	- 4 -
2. Назначение.....	- 10 -
5. Характеристичные массы аналитов и внутренних стандартов.....	- 13 -
6 ЖХ-МС/МС система	- 16 -
6.1 Приборные и инструментальные параметры:	- 16 -
6.2. Масс-спектрометрия:	- 17 -
6.3. Запуск ЖХ-МС/МС системы:	- 18 -
6.4. Выключение:	- 18 -
7.1. Сбор и хранение образцов пациентов:.....	- 19 -
7.2. Растворение внутреннего стандарта (сухого):	- 20 -
7.3. Растворение MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I, уровень II:.....	- 20 -
7.4. Процедура пробоподготовки	- 22 -
7.4.1. Пробоподготовка без использования 96-местных фильтр – плашек (только для определения аминокислот и ацилкарнитинов)	- 22 -
7.4.2. Пробоподготовка с использованием 96-местных фильтр – плашек (только для определения аминокислот и ацилкарнитинов)(вариант исполнения 55000/F)	- 23 -
7.4.3. Пробоподготовка для определения сукцинилацетона	- 24 -
7.5 Хранение проб	- 25 -
7.6 Дополнительное оборудование, не входящее в набор реагентов.	- 25 -
8. Сбор и обработка данных	- 25 -
9. Контроль качества	- 27 -
10. Референсные интервалы/пограничные значения	- 28 -
11. Коэффициенты пересчета	- 30 -
12. Информация об опасных соединениях.....	- 31 -
12. Хранение и период годности реагентов	- 33 -
13. Утилизация	- 34 -
14. Примеры хроматограмм	- 35 -
14.1. Контрольный спектр аминокислот в пограничном диапазоне	- 35 -
14.2. Спектр образца пациента с фенилкетонурией (PKU).....	- 35 -
14.3. Контрольный спектр ацилкарнитинов в пограничном диапазоне	- 36 -
14.4. Спектр образца пациента с MCADD	- 36 -
14.5. Спектр образца пациента с VLCADD	- 37 -
14.6. Спектр образца пациента с глутаровой ацидезией типа I (GA I)	- 37 -
15. Валидация	- 38 -

15.1. Пробоподготовка без сукцинилацетона:.....	- 38 -
15.2. Пробоподготовка с сукцинилацетоном.....	- 42 -
16. Возможные аналитические интерференции.....	- 46 -
17. Устранение проблем	- 48 -

1. Наименование и состав продукта, информация для заказа.

Каталожный номер: 55000

Наименование: MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) вариант исполнения: 55000,

Состав набора:

1. Мобильная фаза (Mobile -phase) – (1*1000мл/уп.);
2. Внутренний стандарт (сухой) (internal standard (lyoph.)) – (4*50мл/уп.);
3. Внутренний стандарт для сукцинилацетона – (3*50мл/уп.);
4. Реагент для дериватизации (derivatisation reagent) – (1*30мл/уп.);
5. Восстанавливающий буфер (Reconstitution buffer) – (1*100мл/уп.);
6. Промывающий раствор (Rinsing solution) – (1*1000мл/уп.);
7. Экстрагирующий буфер (Extraction buffer) – (1*200мл/уп.);
8. 96-луночный планшет (96 Well-plates) – (1*10шт./уп.);
9. Защитные пленки для 96-луночных планшетов (Protective sheets for 96 well-plates) – (10шт./уп.);
10. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов двухуровневые (I + II) (Amino Acids, Acylcarnitines dried blood spot control, bi- level (I + II)) -(2*3 пятна).
11. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна);
12. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна);
13. Прокалываемый адгезивный уплотнитель для 96-луночных планшетов – (1*10шт./уп.)
14. Калибровочная смесь для сукцинилацетона (аналит и внутренний стандарт) – (1*1мл/уп.)
15. Калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты) – (1*2мл/уп.)
16. Инструкция по применению – 1 шт.
17. Упаковочный лист – 1 шт.

Каталожный номер: 55000/F

Наименование: MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) вариант исполнения: 55000/F

Состав набора:

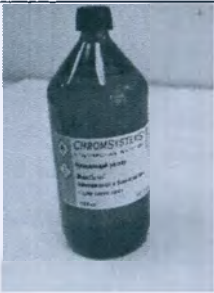
1. Мобильная фаза (Mobile phase) – (1*1000мл/уп.);
2. Внутренний стандарт (сухой) (internal standard (lyoph.)) – (4*50мл/уп.);
3. Внутренний стандарт для сукцинилацетона – (3*50мл/уп.);
4. Реагент для дериватизации (derivatisation reagent) – (1*30мл/уп.);
5. Восстанавливающий буфер (Reconstitution buffer) – (1*100мл/уп.);
6. Промывающий раствор (Rinsing solution) – (1*1000мл/уп.);
7. Экстрагирующий буфер (Extraction buffer) – (1*200мл/уп.);
8. 96-луночный планшет (96 Well-plates) – (1*10шт./уп.);
9. Защитные пленки для 96-луночных планшетов (Protective sheets for 96 well-plates) – (10шт./уп.);
10. 96-местные фильтр-плашки (96 Well filter plates) - (1*5шт./уп.);

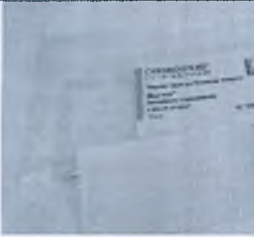
11. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов двухуровневые (I + II) (Amino Acids, Acylcarnitines dried blood spot control, bi-level (I + II)) - (2*3 пятна)
12. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна);
13. MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна);
14. Прокалываемый адгезивный уплотнитель для 96-луночных планшетов – (1*10шт./уп.)
15. Калибровочная смесь для сукцинилацетона (аналит и внутренний стандарт) – (1*1мл/уп.)
16. Калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты) – (1*2мл/уп.)
17. Инструкция по применению – 1шт.
18. Упаковочный лист – 1 шт.

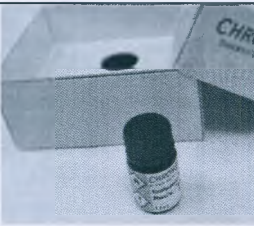
Описание составляющих набора.

№	Изображение	Наименование	Назначение	Материал изготовления	Хим. Состав на русском языке	Размер
1		Мобильная фаза (1x1000 мл/уп.) Mobile Phase (1/1000 ml) (55001)	Предназначена для проведения анализа на ВЭЖХ-системе	Прозрачная жидкость без ярко выраженного запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Ацетонитрил (50-100%)	Объем: 1000 мл длина, не более: 24 см радиус флакона, не более: 4 см радиус крышки, не более: 1,5 см

2		Внутренний стандарт сухой (4*50 мл/уп.) Internal Standard, lyophilized (4ps- 50 ml) 55004	Предназначен для количественного об­счета концентраций измеряемых веществ	Лиофилизи­рованная пудра в стеклян­но м флаконе с пластиково й крышкой	-	Объем: 50 мл длина, не более: 4,5 см радиус флакона, не более: 1,5см радиус крышки, не более:1 см размер коробки: высота, не более 8см длина, не более 17 см ширина, не более 10 см
3		Внутренний стандарт для сукцини­лацетона (3*50 мл/уп.) Internal Standard for Succinylacetone, lyophilized (3 ps – 50ml) 55044	Предназначен для количественного об­счета концентраций сукцини­лацетона	Лиофилизи­рованная пудра в стеклян­но м флаконе с пластиково й крышкой	-	Объем: 50 мл длина, не более: 8,5 см радиус флакона, не более: 2 см радиус крышки, не более: 1,5см размер коробки: высота, не более 12см длина, не более 18 см ширина, не более 12 см
4		Реагент для дериватизации, (1х30 мл/уп.) Derivatisation Reagent (1ps- 30ml) 55005	Предназначен для проведения реакции дериватизации в процессе пробоподготовки образцов для анализа	Прозрачная жидкость с ярко выраженным запахом в стеклян­но м флаконе с пластиково й крышкой	Бутанол 1-бутилацетат Хлороформ	Объем: 30 мл длина, не более: 7,5 см радиус флакона, не более: 1,8см радиус крышки, не

						более: 1,5см.
5		Восстанавливающий буфер (1x100мл/уп.) Reconstitution Buffer (1ps-100ml) 55006	Предназначен для проведения восстановления образцов после упаривания в процессе пробоподготовки	Прозрачная жидкость без ярко выраженного запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Бутанол (50-100%) п-бутилат (15-25%) Хлороформ (3-10%)	Объем: 100 мл длина, не более: 10,5см радиус флакона, не более: 2,8см радиус крышки, не более: 1,5см
6		Промывающий раствор (1x1000 мл/уп.) Rinsing Solution (1ps-1000ml) 55007	Предназначен для промывания иглы автосемплера хроматографа (ВЭЖХ-системы) между вколами образцов	Прозрачная жидкость без ярко выраженного запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Ацетонитрил (50-100%)	Объем: 1000 мл длина, не более: 24см радиус флакона, не более: 5 см радиус крышки, не более: 1,5 см
7		Экстрагирующий буфер (1x200 мл/уп.) Extraction Buffer (1ps-200ml) 55008	Предназначен для проведения экстракции образцов в процессе пробоподготовки	Прозрачная жидкость без ярко выраженного запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Метанол (50-100%)	Объем: 200 мл длина, не более: 14см радиус флакона, не более: 3,8см радиус крышки, не более: 1,5см
8		96-луночный планшет (1x10 шт./уп.) 96 Well plates 1package -10ps. 55010	Предназначен для процедуры пробоподготовки образцов	Планшет с 96 лунками из полупрозрачного пластика	-	размер планшета высота, не более 2 см длина, не более 14 см ширина, не более 10 см размер в упаковке высота, не более 23 см

						длина, не более 30 см ширина, не более 12 см
9		Защитные пленки для 96-луночных планшетов - (1x10 шт./уп.) Protective sheets for 96 well plates (1package -10ps) 55011	Предназначены для накрывания 96-луночных планшетов во избежание испарения реагентов в процессе пробоподготовки	Полиэтиленовые пленки	-	Размер пленки высота, не более 0,1 см длина, не более 15 см ширина, не более 10 см Размер упаковки высота, не более 1 см длина, не более 19 см ширина, не более 11 см
10		96-местные фильтр-плашки (1x5 шт./уп.) 96 Well filter plates (1package -10ps) 55057	Предназначены для процедуры пробоподготовки образцов, с возможностью фильтрации образцов	Планшет с 96 лунками из полупрозрачного пластика с бумажным и вставками-фильтрами	-	Размер плашки: высота, не более 2 см длина, не более 14 см ширина, не более 10 см Размер упаковки : высота, не более 14 см длина, не более 25 см ширина, не более 16 см
11		Прокалываемый адгезивный уплотнитель для 96-луночных планшетов – (1*10шт./уп.) Piercable adhesive seal for 96 well plates (1package -10ps) 55013	Предназначены для накрывания 96-луночных планшетов во избежание испарения готовых образцов в процессе анализа на хроматограф	Полиэтиленовые листы	-	Размер уплотнителя: высота, не более 0,2 см длина, не более 15 см ширина, не более 10 см Размер упаковки: высота, не

			е (в автосемплере)			более 1 см длина, не более 18 см ширина, не более 11 см
1 2		Калибровочная смесь для сукцинилацетона (аналит и внутренний стандарт) – (1*1мл/уп.)- Tuning Mix for Succinylacetone (1ps-1ml) 55098	Предназначена для калибровки масс-спектрометра для количественного определения сукцинилацетона	Прозрачная жидкость без яркого запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Ацетонитрил	Объем: 1 мл длина, не более: 4,5см радиус флакона, не более: 1,8см радиус крышки, не более: 1см размер коробки : высота, не более 5 см длина, не более 12 см ширина, не более 11 см
1 3		Калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты) – (1*2мл/уп.); Tuning Mix, incl. all analytes (1ps-2ml) 55099	Предназначена для калибровки масс-спектрометра для количественного определения всех определяемых веществ	Прозрачная жидкость без яркого запаха в стеклянном флаконе с пластиковой крышкой	Ацетонитрил	Объем: 2 мл длина, не более: 6см радиус флакона, не более: 1,3см радиус крышки, не более: 1,5см размер коробки : высота, не более 7 см длина, не более 12 см ширина, не более 11 см
1 4		MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов	Предназначены для мониторинга соответствия точности	Фильтровальная бумага с зонами (пятнами) высушенно	-	Упаковка: 25*16 см длина, не более 26 см ширина, не более 17 см

		двухуровневые (I + II)-(1*3 пятна). MassCheck Amino Acids, Acylcarnitines incl. Succinylacetone Dried Blood Spot Control Bi-Level (I+II) 0191	результатов анализов в нормальном и патологическом диапазоне	й крови		Упаковка индивидуальная длина, не более 20 см ширина, не более 15 см Бумага : длина, не более 11 см ширина, не более 10 см
--	---	--	---	----------------	--	--

Все компоненты набора имеют герметичную упаковку, предотвращающую протекание реагентов, растворов или намокание планшетов, пленок, уплотнителей и контрольных материалов.

2. Назначение

(Только для лабораторной In Vitro диагностики)

MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F (далее по тексту Набор реагентов MassChrom, MassChrom 55000 и MassChrom 55000/F) разработан для простого и быстрого полуколичественного определения аминокислот, ацилкарнитинов, их метаболитов и сукциниацетона в сухих пятнах крови для скрининга новорожденных на метаболические нарушения обмена аминокислот и жирных кислот методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС).

3. Сфера применения

MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F применяется с целью скрининга новорожденных для диагностики наследственных нарушений обмена веществ, прежде чем данные нарушения могут навредить здоровью и развитию ребенка в клинко-диагностических лабораториях. Данный Набор реагентов MassChrom позволяет проводить только полуколичественное определение аналитов, поэтому результаты этого скринингового метода не должны использоваться в качестве подтверждающего теста. Для постановки окончательного диагноза, результаты скрининга должны быть всегда подтверждены молекулярно-генетическими и иммуноферментными методами или с помощью анализа аминокислот.

К наследственным нарушениям, которые могут быть диагностированы методом tandemной масс-спектрометрией относятся: нарушения метаболизма аминокислот (фенилкетонурия и болезнь кленового сиропа), нарушения метаболизма жирных кислот (например, средних и длинноцепочечных ацил-СоАдегидрогеназы), а также органоацидемий. Эти заболевания вызваны наследственными дефектами ферментов, приводящими к снижению или подавлению ферментативной активности. Впоследствии, нерасщепленные вещества

накапливаются в организме. Это может привести к накоплению токсических метаболитов, которые могут вызывать дефекты органов и развитие системных заболеваний (амино-и органоацидемий). Эти нарушения обмена веществ вызывают серьезные необратимые повреждения у детей уже в течение нескольких дней после рождения. В случае фенилкетонурии (ФКУ), это ведет к физической и умственной задержке развития. Зачастую, поскольку эти дефекты наследственные, болезни не излечимы и терапия ограничивается симптоматическим лечением. Тем не менее, если болезнь была диагностирована на раннем этапе развития, т.е. в первые несколько дней жизни, дети, страдающие фенилкетонурией, в состоянии жить нормальной жизнью при соблюдении диеты. Тирозинемия 1 типа ведет к накоплению токсических метаболитов (особенно сукцинилацетона), что обуславливает развитие тяжелой болезни печени в раннем детстве.

Лабораторный диагноз этих болезней ставится по значительно увеличенным или сниженным значениям маркеров в крови новорожденного. Для этой цели берется кровь из пятки на фильтровальную бумагу, высушивается и посылается в клинично-диагностическую лабораторию.

На данный момент, с развитием метода тандемной масс-спектрометрии, возможно отслеживать широкий спектр метаболических нарушений за одно исследование. Этот метод позволяет надежно и быстро определять широкий спектр целевых соединений и их концентраций. Из-за высокой селективности, для анализа не требуется ВЭЖХ-колонка, что значительно сокращает время анализа (2 мин). Важно использовать меченые внутренние стандарты во избежание ионных эффектов и для улучшения количественного расчета концентраций полученных аналитов.

В зависимости от типа фильтровальной бумаги и гематокрита пробы, объем крови на сухом пятне крови, предназначенном непосредственно для анализа (диск 3 мм в диаметре) колеблется между 2,2-3,3 мкл крови. Это позволяет проводить только полуколичественное определение аналитов, поэтому результаты этого скринингового метода не должны использоваться в качестве подтверждающего теста. Для постановки окончательного диагноза, результаты скрининга должны быть всегда подтверждены молекулярно-генетическими и иммуноферментными методами или с помощью анализа аминокислот.

4. Принцип действия

При помощи Набора реагентов MassChrom выполняется полуколичественное определение следующих аминокислот, их метаболитов и ацилкарнитинов:

Аминокислоты и метаболиты тирозина:

Аланин (Ala), аргинин (Arg), аспарагиновая кислота (Asp), цитруллин (Cit), глутаминовая кислота (Glu), глицин (Gly), лейцин (Leu), метионин (Met), орнитин (Orn), фенилаланин (Phe), пролин (Pro), тирозин (Tyr), валин (Val), сукцинилацетон (SUCA)

Свободный карнитин и ацилкарнитины:

Свободный карнитин (C0), ацетилкарнитин (C2), пропионилкарнитин (C3), бутирилкарнитин (C4), изовалерилкарнитин (C5), глутарилкарнитин (C5DC), гексаноилкарнитин (C6), октаноилкарнитин (C8), деканоилкарнитин (C10), додеканоилкарнитин (C12), тетрадеканоилкарнитин (C14), гексадеканоилкарнитин (C16), октадеканоилкарнитин (C18).

Данный Набор реагентов MassChrom разработан для простого и быстрого полуколичественного определения аминокислот, ацилкарнитинов, их метаболитов и

сукциниацетона в сухих пятнах крови для скрининга новорожденных на метаболические нарушения обмена аминокислот и жирных кислот методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС).

Принцип действия представлен на рис. 1 - 3

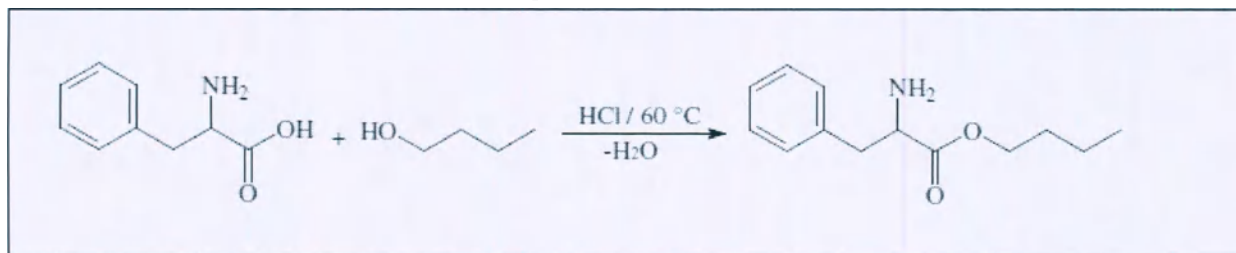


Рис.1 Дериватизация фенилаланина до бутилового эфира фенилаланина

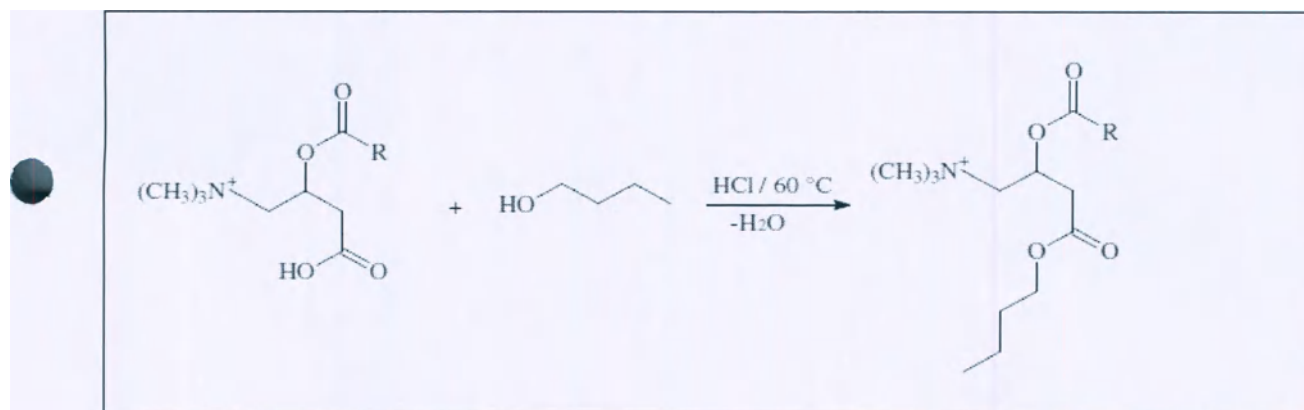


Рис.2 Дериватизация ацилкарнитинов до бутилового эфира ацилкарнитина
R = алкильная цепь (например, R = CH₃ для ацетилкарнитина).

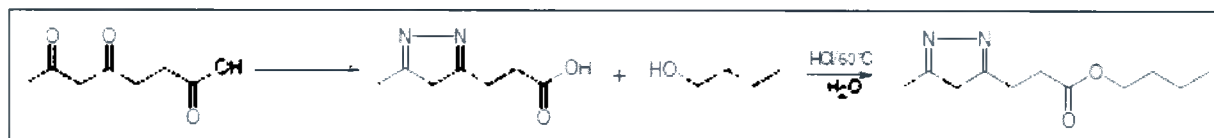


Рис. 3 Дериватизация сукциниацетона до гидразонасукциниацетона с образованием соответствующего бутилового эфира.

Набор реагентов MassChrom применяется только для *in vitro* диагностики.

ЗАПОМНИТЕ! Это **скрининговый метод**; результаты могут варьироваться в зависимости от МС/МС системы, и должны сопоставляться одновременно с другими лабораторными данными. Медицинская интерпретация результатов, полученных с использованием данного диагностического набора, должна быть выполнена только подготовленным персоналом или экспертом по метаболическим нарушениям. Нет никаких систематических клинических исследований по частоте ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

5. Характеристичные массы аналитов и внутренних стандартов

Следующая таблица показывает рекомендуемые переходы массы и методы измерения для дериватизированных аналитов и изотопно-меченных внутренних стандартов.

Предупреждение: При использовании набора реагентов MassChrom учитывайте, пожалуйста, рекомендательную информацию в главе 10 о вредных соединениях.

Аминокислоты и метаболиты тирозина (SUCA):

Вещество	Метод измерения	Изменение массы
Аланин	NLS 102	146>44
Аланин-D4	NLS 102	150>48
Аспарагиновая кислота	NLS 102	246>144
Аспарагиновая кислота-D3	NLS 102	249>147
Глутаминовая кислота	NLS 102	260>158
Глутаминовая кислота-D5	NLS 102	265>163
Лейцин	NLS 102	188>86
Лейцин-D3	NLS 102	191>89
Метионин	NLS 102	206>104
Метионин-D3	NLS 102	209>107
Фенилаланин	NLS 102	222>120
Фенилаланин-D5	NLS 102	227>125
Тирозин	NLS 102	238>136
Тирозин-D4	NLS 102	242>140
Валин	NLS 102	174>72
Валин-D8	NLS 102	182>80
Аргинин	MRM	231>70
Аргинин-D7	MRM	238>77
Цитруллин	MRM	232>113
Цитруллин-D2	MRM	234>115
Глицин	MRM	132>76
Глицин- ¹³ C ₂ ¹⁵ N	MRM	135>79
Орнитин	MRM	189>70
Орнитин-D6	MRM	195>76
Пролин	MRM	172>116
Пролин-D7	MRM	179>123
Сукцинилацетон	MRM	211>109
Сукцинилацетон- ¹³ C ₅	MRM	216>114

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Вещество	Метод измерения	Изменение массы
Карнитин	PIS85	218>85
Карнитин-D9	PIS 85	227>85
C2-Карнитин	PIS 85	260>85
C2-Карнитин-D3	PIS 85	263>85
C3-Карнитин	PIS 85	274>85
C3-Карнитин-D3	PIS 85	277>85
C4-Карнитин	PIS 85	288>85
C4-Карнитин-D3	PIS 85	291>85
C5-Карнитин	PIS 85	302>85
C5-Карнитин-D9	PIS 85	311>85
C5DC-Карнитин	PIS 85	388>85
C5DC-Карнитин-D6	PIS 85	394>85
C6-Карнитин	PIS 85	316>85
C6-Карнитин-D3	PIS 85	319>85
C8-Карнитин	PIS 85	344>85
C8-Карнитин-D3	PIS 85	347>85
C10-Карнитин	PIS 85	372>85
C10-Карнитин-D3	PIS 85	375>85
C12-Карнитин	PIS 85	400>85
C12-Карнитин-D3	PIS 85	403>85
C14-Карнитин	PIS 85	428>85
C14-Карнитин-D3	PIS 85	431>85
C16-Карнитин	PIS 85	456>85
C16-Карнитин-D3	PIS 85	459>85
C18-Карнитин	PIS 85	484>85
C18-Карнитин-D3	PIS 85	487>85

Представленные массы являются стартовой точкой для оптимизаций. Точное положение максимального сигнала может незначительно отличаться в зависимости от системы MS и определяется точно по настройке системы (по меньшей мере, одна позиция после десятичной точки). Для этого, можно использовать калибровочную смесь (Каталожный номер 55099 и 55098), содержащую все аналиты и внутренние стандарты.

Определение аналитов происходит по сравнению интенсивностей сигналов меченных. Определение концентраций аналитов, выполняется путем сравнения интенсивности сигнала с соответствующим изотопно-меченным внутренним стандартом. Несколько диагностически интересных ацилкарнитинов, для которых еще нет доступных изотопно-меченных внутренних стандартов, также можно измерить при помощи данного набора реагентов. Ацилкарнитины с равной длиной цепи показывают приблизительно одинаковый фактор отклика. Рекомендуется выполнять количественную оценку данных маркеров заболеваний при помощи дейтерированных стандартов, содержащих одинаковую длину цепи. Тем не менее, Набор реагентов MassChrom проверен только для аналитов с доступными дейтерированными внутренними стандартами, представленных в таблице выше.

В следующей таблице представлены дополнительные ацилкарнитины, их переходы массы и рекомендуемые изотопно-меченные внутренние стандарты. Данная информация носит только рекомендательный характер, представляя данные текущей практики многих скрининговых лабораторий. **Набор реагентов MassChrom не валидирован для данных аналитов!**

Ацилкарнитины без меченых стандартов:

Вещество	Метод измерения	Изменение массы
C3DC-Карнитин	360>85	C3-Карнитин-D3
C4OH-Карнитин	304>85	C4-Карнитин-D3
C4DC-Карнитин	374>85	C4-Карнитин-D3
C5:1-Карнитин	300>85	C5-Карнитин-D9
C5OH-Карнитин	318>85	C5-Карнитин-D9
C8:1-Карнитин	342>85	C8-Карнитин-D3
C10:1-Карнитин	370>85	C10-Карнитин-D3
C14:2-Карнитин	424>85	C14-Карнитин-D3
C14:1-Карнитин	426>85	C14-Карнитин-D3
C14OH-Карнитин	444>85	C14-Карнитин-D3
C16:1-Карнитин	454>85	C16-Карнитин-D3
C16:1OH-Карнитин	470>85	C16-Карнитин-D3
C16OH-Карнитин	472>85	C16-Карнитин-D3
C18:1-Карнитин	482>85	C18-Карнитин-D3
C18:2OH-Карнитин	496>85	C18-Карнитин-D3
C18:1OH-Карнитин	498>85	C18-Карнитин-D3
C18OH-Карнитин	500>85	C18-Карнитин-D3

6 ЖХ-МС/МС система

6.1 Приборные и инструментальные параметры:

Анализ на аминокислоты, ацилкарнитины требует наличие системы с насосом для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-насосом), инжектором и tandemным масс-спектрометром подходящей чувствительности. Для предотвращения изменения состава мобильной фазы (кат. No. 55001), ее следует держать закрытой, даже во время проведения процедуры. В качестве раствора для промывки иглы инжектора, используют промывающий раствор (кат. No 55007). Для выполнения процедуры не требуется ни колонка для высокоэффективной жидкостной хроматографии, ни термостат колонки. Для подсоединения системы высокоэффективной жидкостной хроматографии к системе tandemного масс-спектрометра следует использовать капиллярное дроссельное устройство с фильтром предварительной очистки из полиэфирэфиркетона.

Инструментальные настройки:

Автосемплер:	объем вкола 10 мкл
Время анализа:	1,7 мин
Градиент потока:	от 20 до 600 мкл/мин
Промывная жидкость для иглы инжектора:	промывающий раствор(кат. No 55007)

Градиентный профиль:

Ввиду разного свободного объема отдельных хроматографических систем, профиль градиента возможно придется изменить. Показанный профиль градиента необходим, как основа для оптимизации. Окно времени сканирования системы tandemного масс-спектрометра должно быть установлено на период времени, когда интенсивность сигналов достигает своего максимального плато (приблизительно 0,25 - 1,25 мин).

Время, мин	0	0,24	0,25	1,24	1,25	1,50	1,51
Поток, мкл/мин	200	200	20	20	600	200	200

Если система высокоэффективной жидкостной хроматографии не справляется с постоянной скоростью потока, равной 20 мкл/мин, метод может быть запущен альтернативно, с изократическим потоком, со скоростью 100 - 150 мкл/мин.

Примечание : изократический метод снижает чувствительность.

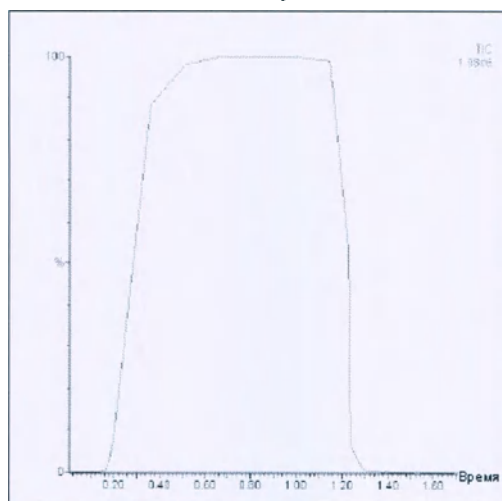


Рис.4: Хроматограмма с градиентом потока.

6.2. Масс-спектрометрия:

Основы метода:

Масс-спектрометр определяет массу молекулы, измеряя отношение массы к заряду (m/z) ее иона. С этой целью молекулы должны быть ионизированы. В технологии ЖХ-МС/МС, ионизация электрораспылением считается легким способом создания ионов молекул.

Тандемный масс-спектрометр состоит из двух масс-спектрометров, соединенных последовательно. В первом масс-спектрометре (МС 1) ионы разделяются по своему отношению массы к заряду. Далее ионы достигают реакционной ячейки, где после столкновения с инертным газом (аргоном или азотом), они распадаются на фрагменты. После этого второй масс-спектрометр (МС 2) анализирует характерные фрагменты распада снова по отношению массы к заряду.

Было доказано, что различные методы измерения в технологии тандемной масс-спектрометрии, надежны для различных моделей фрагментации:

Сканирование потерь нейтральных частиц (NLS):

Многие бутилированные аминокислоты фрагментируются в реакционной ячейке, путем выделения масляного эфира муравьиной кислоты с массой 102 дальтон. При определении аминокислот в режиме сканирования потери нейтральных частиц, расстояние сканирования первого и второго спектрометра составляет 102 единицы массы. Это генерирует селективный масс-спектр для многих природных и кислых аминокислот.

Тем не менее, в данном режиме детектируются не все аминокислоты. Например, цитруллин и орнитин, кроме масляного эфира муравьиной кислоты выделяют аммиак, поэтому такие аминокислоты должны детектироваться сканированием потери нейтральных частиц, с расстоянием 119 ($102 + 17$). С другой стороны, глицин следует определять в режиме сканирования потери нейтральных частиц, с расстоянием 56, аргинин режиме сканирования потери нейтральных частиц, с расстоянием 161.

Производителем рекомендуется выполнять количественное определение всех аминокислот, которые не детектируются при сканировании нейтральных частиц на расстоянии 102, в режиме мониторинга множественных реакций.

Мониторинг множественных реакций (MRM):

В режиме MRM оба масс-спектрометра статически настроены на определенную массу. МС 1 выбирает молекулярный ион; выводятся ионы с разными массами. После фрагментации в реакционной ячейке, МС 2 детектирует характеристики фрагмента молекулярного иона. Режим MRM гарантирует высокую селективность и высокую чувствительность обоих МС.

В основном, все аналиты можно детектировать в режиме MRM. Недостатком данного метода измерения является длительная оптимизация системы тандемного масс-спектрометра для каждого отдельного перехода массы.

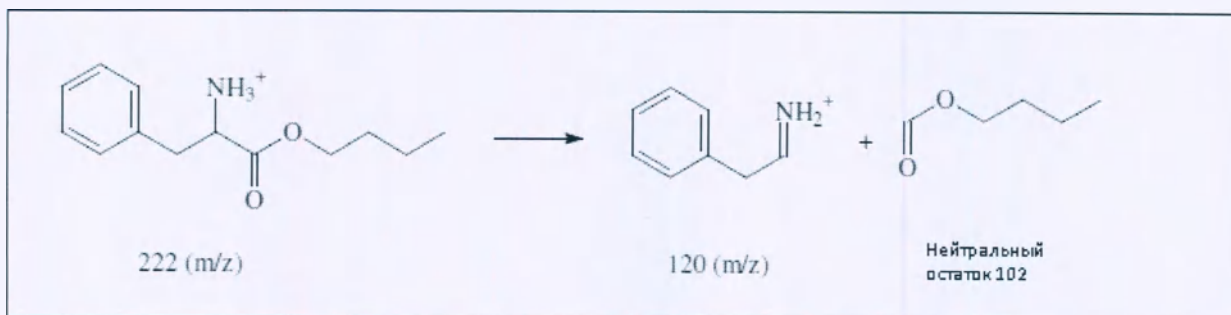


Рис. 5: Фрагментация иона бутилового эфира фенилаланина при отщеплении бутилового эфира муравьиной кислоты (нейтральный остаток 102).

Сканирование материнского иона (PIS):

Бутилированные ацилкарнитины образуют характерный фрагментарный ион с $m/z = 85$ в реакционной ячейке. При определении ацилкарнитинов и свободного карнитина во время сканирования иона-предшественника, МС 2 статически установлен на $m/z=85$, в то время, как МС 1 сканирует на молекулярные ионы. Это генерирует селективный масс-спектр для дериватизированных ацилкарнитинов и свободного карнитина.

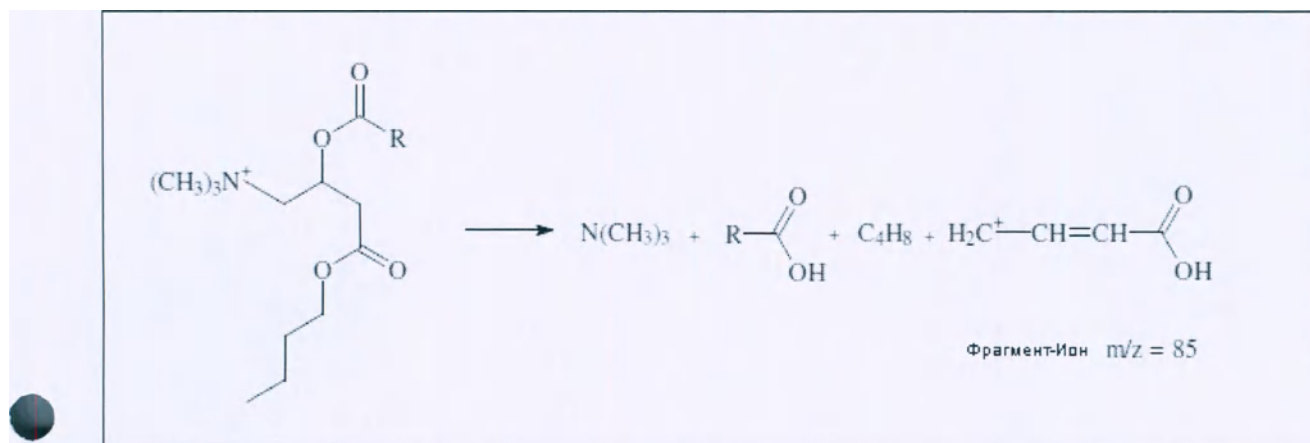


Рис. 6: Фрагментация иона бутильных ацилкарнитинов при отщеплении характеристического иона $m/z=85$
 R =алкил (например, $R=CH_3$ для ацетилкарнитина).

6.3. Запуск ЖХ-МС/МС системы:

- до начала аналитической серии вакуумные насосы ЖХ-МС/МС системы должны проработать хотя бы 8 ч.
- промойте систему 10 мл мобильной фазы при скорости потока 200 мкл/мин.
- вводите приготовленные контроли несколько раз, пока не появятся две одинаковые концентрации и интенсивности сигнала.
- теперь можно начинать анализ.

Для правильного обращения с ЖХ-МС/МС системой прочтите Руководство по эксплуатации системы. **При необходимости пройдите обучающий курс с представителем компании!**

6.4. Выключение:

Когда система не используется, насос высокоэффективной жидкостной хроматографии можно отключить, подвижная фаза может оставаться в хроматографической системе. Нет риска образования солей на уплотнениях насоса. Вакуумные насосы системы тандемного масс-спектрометра должны работать все время. Чтобы продлить срок службы источника ионизации и мультипликатора, система тандемного масс-спектрометра должна быть переведена в режим ожидания.

7. Пробоподготовка

Предупреждение: При использовании набора реагентов MassChrom учитывайте, пожалуйста, рекомендательную информацию в главе 10 о вредных соединениях.

7.1. Сбор и хранение образцов пациентов:

Забор крови у новорожденных должен быть между 48 и 72 ч после рождения. Кровь капают на фильтровальную бумагу и высушивают. Кровь необходимо брать из пятки младенца.

В зависимости от типа фильтровальной бумаги и гематокрита пробы, объем крови на сухом пятне крови, предназначенном непосредственно для анализа (3 мм в диаметре) колеблется между 2,2-3,3 мкл крови.

Срок хранения сухих пятен крови составляет 21 день при комнатной температуре (+20...+25⁰С) или в прохладном месте (+2...+8⁰С).

Для более длительного хранения до 6 месяцев защитите образцы от влаги и заморозьте ниже температуры -18⁰С.

Избегайте температуры выше 37⁰С. Это может привести к занижению концентрации некоторых аминокислот.

Нельзя использовать ЭДТА- или кровь с гепарином, поскольку можно получить ложный результат!

При заборе крови обязательно используйте защитные перчатки.

Краткое описание сбора проб крови:

1. Протрите часть пятки для забора крови антисептиком. Осушите пятку стерильным тампоном.
2. Проколите пятку младенца стерильным скарификатором. Кончик скарификатора должен быть меньше 2 мм, более глубокие проколы могут повредить кость. Прокалывание осуществлять в соответствии с инструкцией по применению применяемого скарификатора.
3. Сотрите первую каплю крови стерильным тампоном.
4. Капните следующую большую каплю крови на фильтровальную бумагу. Подождите, пока кровь не пропитает бумагу полностью и не заполнит отмеченный кружок. Не прикасайтесь к одному и тому же месту фильтровальной бумаги два раза. Это изменит объем крови на участок и может привести к ложнопатологическим результатам.
5. Заполните каждый из следующих кругов каплями крови. Процедура должна быть выполнена в соответствии с правилами лечебного учреждения.
6. Осушите пятна крови в течение 4 ч на сухой, горизонтальной и не абсорбирующей поверхности при комнатной температуре.
7. Отправьте сухие фильтровальные бумаги в лабораторию в течение 24 ч.

Рекомендуется использовать фильтровальную бумагу FDA и ей эквивалентную (например, Whatman 903).

7.2. Растворение внутреннего стандарта (сухого):

Внутренний стандарт (сухой) (каталожный номер 55004) используется как калибровочный стандарт для каждого образца и готовится на основе меченых соединений, полученных от сертифицированного поставщика. После растворения определенное количество внутреннего стандарта добавляется к пробе и проводится полная пробоподготовка.

Лиофилизированный внутренний стандарт растворяется в 50 мл экстрагирующего буфера (Каталожный номер 55008). Для этого, откройте бутылку внутреннего стандарта, долейте 5 мл экстрагирующего буфера. Оставьте стоять при комнатной температуре 5 мин, изредка мешайте. Перенесите содержимое бутылки в 50 мл мерную колбу. Смойте внутренний стандарт 2 раза по 5 мл экстрагирующим буфером с бутылки и перенесите в колбу. Долейте в колбу экстрагирующий буфер до 50 мл и тщательно перемешайте. **Избегайте попадания прямых солнечных лучей!**

Фактические концентрации зависят от партии и записаны в сопровождающем стандарт информационном листке.

Предупреждение: Внутренний стандарт (сухой) был изготовлен из объединенной цельной крови человека, при тестировании всей крови получен отрицательный результат на антитела к ВИЧ 1+2, ДНК вирусов ВИЧ, HCV и HBV (ПЦР-исследования), поверхностный антиген гепатита В (HBs), антитела к HBs, антитела к вирусу гепатита С и сифилису (РПГА, ТРНА). В связи с тем, что не существует ни одного метода тестирования, который даст абсолютную гарантию того, что продукты, содержащие материалы полученные от человека, не будут содержать возбудителей инфекционных заболеваний, такую потенциальную опасность заражения следует принимать во внимание. Данный продукт также может содержать неизвестные возбудители или другие патогены, для которых не существует утвержденных исследований. Все продукты, содержащие материалы полученные от человека, считаются содержащими потенциальных возбудителей инфекций. Соответственно, при работе с данным продуктом следует применять те же меры, как при работе с потенциально инфицированными образцами пациентов.

Срок хранения растворенного внутреннего стандарта:

Растворенный внутренний стандарт можно хранить до 3 недель, при соблюдении следующих условий: плотно закрытым, в защищенном от воздействия солнечных лучей месте и в охлажденном состоянии (при температуре от +2 до +8°C).

7.3. Растворение MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I, уровень II:

Из MassCheck контролей пятен высушенной крови уровня I (Каталожный номер 0192) и уровня II (Каталожный номер 0193), готовят образцы, аналогичные образцам пациента. Приготовленные контроли включают в каждую аналитическую серию для мониторинга правильности и точности системы.

В сумке для хранения на молнии содержится MassCheck контроли пятен высушенной крови уровня I и уровня II, пакетики с осушителем, индикатор влаги. Каждый контроль находится в своей сумке для хранения на молнии.

Состояние индикатора влаги необходимо проверять каждый раз при открытии сумки. Если цвет индикатора влаги изменился с синего на розовый на 50 %, пакетики с осушителем необходимо регенерировать, высушив их в печи при температуре 60 °C в течение 4 часов.

Извлекать контрольный материал из сумки для хранения (температура - 18 °C) следует с осторожностью. Во избежание конденсации пакетов, необходимо, чтобы перед открытием, они согрелись до комнатной температуры (20-25 °C).

Сразу после использования, поместите соответствующий контроль обратно в сумку для хранения с молнией, плотно закройте и выполните глубокую заморозку до температуры ниже - 18°C. Полоска с записью температуры крепится на сумку для хранения. Постепенное изменение цвета от белого к черному указывает на то, что на индикаторе достигнута соответствующая температура.

Избегайте температур выше 37°C. Возможно снижение концентрации аналита (аминокислот). **Избегать воздействия прямых солнечных лучей! Все процедуры производить в защитных перчатках.**

Фактические концентрации зависят от партии и записаны в сопровождающем контроли информационном листке.

Предупреждение: *MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I, уровень II: был изготовлен из объединенной цельной крови человека, при тестировании всей крови получен отрицательный результат на антитела к ВИЧ 1+2, ДНК вирусов ВИЧ, HCV и HBV (ПЦР-исследования), поверхностный антиген гепатита В (HBs), антитела к HBs, антитела к вирусу гепатита С и сифилису (РПГА, ТРНА). В связи с тем, что не существует ни одного метода тестирования, который даст абсолютную гарантию того, что продукты, содержащие материалы полученные от человека, не будут содержать возбудителей инфекционных заболеваний, такую потенциальную опасность заражения следует принимать во внимание. Данный продукт также может содержать неизвестные возбудители или другие патогены, для которых не существует утвержденных исследований. Все продукты, содержащие материалы полученные от человека, считаются содержащими потенциальных возбудителей инфекций. Соответственно, при работе с данным продуктом следует применять те же меры, как при работе с потенциально инфицированными образцами пациентов.*

7.4. Процедура пробоподготовки

7.4.1. Пробоподготовка без использования 96-местных фильтр – плашек (только для определения аминокислот и ацилкарнитинов)

1. *Подготовка образца:*
Выдавите 3 мм диск сухого пятна крови в ячейку 96-луночного планшета.
2. *Экстракция:*
Добавьте 200 мкл растворенного внутреннего стандарта (см.гл.5.2.). Закройте 96-луночный планшет защитной пленкой и перемешайте при 600 об/мин в течение 20 минут при комнатной температуре.
3. *Перенос/упаривание:*
Удалите защитную пленку с планшета. Перенесите супернатант в новую ячейку планшета. Упаривайте при 60⁰С и 600 об/мин досуха в потоке воздуха.
Важно: Плашка должна быть сухой. Влага помешает дериватизации!
4. *Дериватизация:*
Добавьте 60 мкл реагента для дериватизации (каталожный номер 55005). Закройте плашку защитной пленкой и инкубируйте при 60⁰С и 600 об/мин в течение 15 минут.
5. *Упаривание:*
Удалите пленку с планшета. Упаривайте при 60⁰С и 600 об/мин в потоке воздуха досуха.
Внимание: В процессе упаривания испаряется дериватизирующий реагент. Всегда работайте в вытяжном шкафу!
6. *Растворение элюата:*
Добавьте 100 мкл восстанавливающего буфера. Перемешайте при 600 об/мин 1 минуту.
7. *Ввод пробы:*
Введите 10 мкл элюата в ЖХ-МС/МС систему.
8. *Контроль качества:*
Правильность и точность анализов должна быть отслежена постановкой дополнительных материалов, а именно: MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна) (кат. № 0192) и MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна).- кат. № 0193).

7.4.2.Пробоподготовка с использованием 96-местных фильтр – плашек (только для определения аминокислот и ацилкарнитинов)вариант исполнения 55000/F

1. Подготовка образца:

Положите фильтровальную бумагу на 96-луночный планшет. Выдавите 3 мм диск сухого пятна крови в ячейку 96-луночного планшета.

2. Экстракция:

Добавьте 200 мкл растворенного внутреннего стандарта (см.гл.5.2). Закройте планшет пленкой и перемешайте при 600 об/мин в течение 20 минут при комнатной температуре.

3. Центрифугирование/упаривание:

Удалите защитную пленку с планшета. Перенесите супернатант в новую ячейку 96-луночного планшета центрифугированием при 4000 об/мин в течение 2 минут. Упарьте при 60⁰С и 600 об/мин досуха под током воздуха.

Важно: Плашка должна быть сухой. Влага помешает дериватизации!

4. Дериватизация:

Добавьте 60 мкл реагента для дериватизации. Закройте планшет защитной пленкой и инкубируйте при 60⁰С и 600 об/мин в течение 15 минут.

5. Упаривание:

Удалите пленку с планшета. Упаривайте при 60⁰С и 600 об/мин в токе воздуха досуха.

Внимание: В процессе упаривания испаряется дериватизирующий реагент. Всегда работайте в вытяжном шкафу!

6. Растворение элюата:

Добавьте 100 мкл восстанавливающего буфера. Перемешайте при 600 об/мин в течение 1 минуты.

7. Ввод пробы:

Введите 10 мкл элюата в ЖХ-МС/МС систему.

8. Контроль качества:

Правильность и точность анализов должна быть отслежена постановкой контрольных материалов, а именно: MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна) (кат. No 0192) и MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна).- кат. № 0193).

7.4.3.Пробоподготовка для определения сукцинилацетона

1. *Подготовка образца:*

Выдавите 3 мм диск сухого пятна крови в ячейку 96-луночного планшета.

2. *Экстракция аминокислот и ацилкарнитинов:*

Добавьте 200 мкл растворенного внутреннего стандарта (см.гл.5.2.). Закройте планшет пленкой и перемешайте при 600 об/мин в течение 20 минут при комнатной температуре.

3. *Перенос:*

Удалите защитную пленку с планшета. Перенесите супернатант в новую ячейку планшета.

4. *Экстракция сукцинилацетона:*

Добавьте 150 мкл внутреннего стандарта для сукцинилацетона (Каталожный номер 55044) к оставшимся пятнам крови. Закройте планшет защитной пленкой и перемешайте при 600 об/мин при 60⁰С в течение 30 мин.

Примечание: Супернатант из пункта 3 может быть инкубирован без защитной пленки, что сократит время упаривания.

Важно: Следите за температурой во время инкубации (60⁰С).

5. *Перенос/упаривание:*

Удалите защитную пленку с планшета. Перенесите супернатант в новую ячейку планшета. Упаривайте при 60⁰С и 600 об/мин в токе воздуха досуха.

Важно: Плашка должна быть сухой. Влага помешает дериватизации!

6. *Дериватизация:*

Добавьте 60 мкл реагента для дериватизации. Закройте плашку защитной пленкой и инкубируйте при 60⁰С и 600 об/мин в течение 15 минут.

7. *Упаривание:*

Упаривайте при 60⁰С и 600 об/мин в токе воздуха досуха.

Важно: Будьте осторожны и не пересушите пробы во избежание потерь!

Внимание: В процессе упаривания испаряется дериватизирующий реагент. Всегда работайте в вытяжном шкафу!

8. *Растворение элюата:*

9. Добавьте 100 мкл восстанавливающего буфера. Перемешайте при 600 об/мин в течение 1 минуты.

10. *Ввод пробы:*

Введите 10 мкл элюата в ЖХ-МС/МС систему.

11. *Контроль качества:*

Правильность и точность анализов должна быть отслежена постановкой контрольных материалов, а именно: MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна) (кат. № 0192) и MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна).- кат. № 0193).

Важно: Используйте только соответствующие реагенты, планшеты и защитные пленки для пробоподготовки. Вариации в пробоподготовке могут сказаться на качестве результатов анализа.

7.5 Хранение проб

Элюаты/пробы могут храниться при комнатной температуре (+20...+25°C) 7 дней или охлажденными (при температуре +2...+8°C) 14 дней (в стеклянных светозащитных виалах). Для более длительного хранения заморозьте при температуре -18°C пробу. Растаявшие после заморозки пробы необходимо хорошо перемешать перед вводом.

7.6 Дополнительное оборудование, не входящее в набор реагентов.

MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови для скрининга новорожденных требует дополнительного оборудования, не входящего в состав набора:

- тандемный масс-спектрометр с программным обеспечением (Shimadzu LCMS-8040 или аналог);
- ВЭЖХ-система с насосом, инжектором и автосэмплером (Shimadzu LC30 или аналог);
- ручной или автоматический компостер (панчер), 3 мм в диаметре;
- шейкер с термостатом для экстракции и дериватизации проб, например ThermoShaker PST-60HL-4, компания lab4you;
- горячий воздух для выпаривания проб;
- дозатор или многоканальный дозатор, 60-200 мкл (Biohit или аналог);
- вытяжной шкаф;
- мерная колба вместимостью 50 мл.

8.Сбор и обработка данных

Внутренний стандарт используется как индивидуальный калибратор для каждой пробы, поэтому матричные эффекты снижены до минимума. Для этой цели проба (контроль, образец) смешивается с определенным количеством внутреннего стандарта (фактические концентрации зависят от партии и записаны в сопровождающем стандарт информационном листке).

Точный объем крови необходим для успешного количественного обсчета проб. Объем крови на проколоте круге зависит от диаметра круга, гематокрита образца и материала фильтровальной бумаги. При прокалывании 3 мм, гематокрите 0,35-0,45 и фильтровальной бумаги Whatman 903 средний объем крови 3,1 мкл.

При использовании других диаметров кругов (объемов проб) концентрации внутреннего стандарта должны быть скорректированы.

До начала полуколичественного анализа образца пациента рекомендуется провести несколько тестовых анализов. Для этого введите приготовленный контроль несколько раз, пока два последовательных масс-спектра не покажут почти идентичные значения концентрации и интенсивности сигналов (для независимости от условий ЖХ-МС/МС, приготовленные контроли должны вводиться в ходе всей аналитической серии проб и в конце тоже). После этого можно начинать аналитическую процедуру.

Аминокислоты и метаболит тирозина (SUCA):

Внутренний стандарт	Концентрация мкг/л (мкмоль/л)	Соотношение концентраций в образце (мкмоль/л): 200 мкл внутреннего стандарта/3.1 мкл крови
Аланин-D4	0,57 (6,08)	392
Аргинин-D7	0,28 (1,57)	101
Аспарагиновая кислота-D3	0,91 (6,71)	433
Цитруллин-D2	0,28 (1,59)	102
Глутаминовая кислота-D5	0,96 (6,29)	406
Глицин $^{13}\text{C}_2\text{-}^{15}\text{N}$	0,85 (10,9)	702
Лейцин-D3	0,83 (6,21)	400
Метионин-D3	0,37 (2,41)	155
Орнитин-D6	0,55 (3,99)	257
Фенилаланин-D5	0,53 (3,21)	202
Пролин-D7	0,53 (3,12)	278
Тирозин-D4	0,86 (4,66)	301
Валин-D8	0,060 (0,355)	301

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Внутренний стандарт	Концентрация мкг/л (мкмоль/л)	Соотношение концентраций в образце (мкмоль/л): 200 мкл внутреннего стандарта/3.1 мкл крови
C0-Карнитин-D9	0,060 (0,355)	22,9
C2-Карнитин-D3	0,037 (0,179)	11,5
C3-Карнитин-D3	0,010 (0,046)	2,98
C4-Карнитин-D3	0,005 (0,022)	1,43
C5-Карнитин-D9	0,006 (0,022)	1,42
C5DC-Карнитин-D6	0,005 (0,019)	1,20
C6-Карнитин-D3	0,006 (0,022)	1,41
C8-Карнитин-D3	0,006 (0,022)	1,42
C10-Карнитин-D3	0,007 (0,023)	1,46
C12-Карнитин-D3	0,008 (0,022)	1,43
C14-Карнитин-D3	0,008 (0,021)	1,39
C16-Карнитин-D3	0,017 (0,042)	2,73
C18-Карнитин-D3	0,016 (0,037)	2,36

Метаболит тирозина (SucA):

Внутренний стандарт	Концентрация мкг/л (мкмоль/л)	Соотношение концентраций в образце (мкмоль/л): 150 мкл внутреннего стандарта/3.1 мкл крови
Сукцинилацетон- $^{13}\text{C}_5$	0,020 (0,124)	5,98

При использовании других диаметров кругов (объемов проб) концентрации внутреннего стандарта должны быть скорректированы.

Для независимости от условий ЖХ-МС/МС приготовленные контроли должны вводиться в ходе всей аналитической серии проб и в конце тоже.

Для правильного обращения с приборами обратитесь к производителю данных приборов.

Концентрации аналитов в пробах рассчитываются в соответствии со следующим принципом:

- Интенсивность сигнала вещества А в спектре образца = $A_{\text{образец}}$
- Интенсивность сигнала внутреннего стандарта в спектре образца = $IS_{\text{образец}}$
- Концентрация С внутреннего стандарта = $C_{\text{стандарт}}$

Концентрация $C_{\text{аналит, образец}}$ в образце рассчитывается как:

$$C_{\text{аналит, образец}} (\text{мкмоль/л}) = \frac{A_{\text{образец}}}{IS_{\text{образец}}} \times C_{\text{стандарт}}$$

9. Контроль качества

Точность и правильность анализов может быть отслежена путем включения в каждый аналитический цикл контролей, а именно MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов двухуровневые (I + II)-(2*3 пятна); MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна); MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна) (далее по тексту Контроли MassCheck, Контроль MassCheck уровень I, Контроли MassCheck уровень II, Контроли MassCheck двухуровневые).

Каталожные номера соответственно 0191, 0192, 0193.

Данные контроли MassCheck для измерения аминокислот, ацилкарнитинов разработаны для мониторинга правильности и точности аналитических процедур для полуколичественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови.

Контроли MassCheck сделан на основе цельной крови человека и должен рутинно использоваться в соответствии с руководством по применению, описанные в данной инструкции, а также на информационном листе, которые идет вместе с контролями MassCheck.

При работе с данными контролями MassCheck следует применять те же меры безопасности, как при работе с потенциально инфицированными образцами пациентов.

В обязательном порядке используйте защитные перчатки. Использовать только обученными работниками.

Условия хранения

Контроли MassCheck хранятся при температуре ниже -18°C до срока годности, указанного на упаковке. Срок годности составляет 2 года с даты производства.

Контроли MassCheck упаковываются в zip-пакеты на молнии вместе с пакетиками с Осушителем и индикатором влаги. Состояние индикатора влаги необходимо проверять каждый раз при открытии сумки. Если цвет индикатора влаги изменился с синего на розовый на 50 %, пакетики с осушителем необходимо регенерировать, высушив их в печи при температуре 60°C в течение 4 часов.

Извлечение контролей MassCheck из zip-пакетов при - 18 °С следует выполнять с осторожностью. Во избежание конденсации zip-пакетов, необходимо, чтобы перед открытием zip-пакеты согрелись до комнатной температуры.

Индикатор с записью температуры крепится на zip-пакеты. Постепенное изменение цвета от белого к черному указывает на то, что на индикаторе достигнута соответствующая температура.

Избегайте прямых солнечных лучей и продолжительного воздействия высоких температур!

Используемые контроли MassCheck храните хорошо закрытыми и сухими при температуре ниже – 18 °С до даты, указанной на этикетке.

Спецификация

Объем цельной крови, приходящийся на пятно диаметром 3мм составляет 3.1мкл±10%

Присваивание ожидаемых диапазонов

Средние значения, представленные в приложении 1, определены при помощи контролей MassCheck уровень 1 и уровень 2. Референтные значения представляют собой средние значения – утроенное стандартное отклонение. Эти данные специфичны для данных контролей MassCheck (определенный уровень лота). Каждая лаборатория должна установить собственные референтные значения используемого метода с помощью анализа полученных данных.

Предупреждение

Данный продукт изготовлен из объединенной цельной крови человека, при тестировании всей крови получен отрицательный результат на антитела к ВИЧ 1+2, ДНК вирусов ВИЧ, HCV и HBV (ПЦР-исследования), поверхностный антиген гепатита В (HBs), антитела к HBs, антитела к вирусу гепатита С и сифилису (РПГА, ТРНА).

В связи с тем, что не существует ни одного метода тестирования, который даст абсолютную гарантию того, что продукты, содержащие материалы полученные от человека, не будут содержать возбудителей инфекционных заболеваний, такую потенциальную опасность заражения следует принимать во внимание.

Мы рекомендуем рассматривать любой материал, полученный от человека, считать как потенциально опасный. Соответственно, при работе с данным продуктом следует применять те же меры, как при работе с потенциально инфицированными образцами пациентов.

10.Референсные интервалы/пограничные значения

*Пограничные значения (99,5% перцентили), указанные в таблице ниже, были определены в рамках экспериментального исследования 1500 новорожденных, в скрининг-центре госпиталя университета Лейпцигана MassChrom на Наборе реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000.

**Пограничные значения (99,5% перцентили), указанные в таблице ниже, были определены в рамках экспериментального исследования 2500 новорожденных, в медицинском университете Вены, на факультете педиатрии и подростковой медицины на Наборе реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000.

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA):

Аналит	Пограничное значение (мкмоль/л)*	Пограничное значение (мкмоль/л)**
Аланин-D4	743	561
Аргинин-D7	35	47
Аспарагиновая кислота-D3	270	147
Цитруллин-D2	33	34
Глутаминовая кислота-D5	710	800
Глицин-13C2, 15N	717	834
Лейцин -D3	270	226
Метионин-D3	22	45
Орнитин-D6	350	258
Фенилаланин-D5	92	92
Пролин-D7	-	441
Тирозин-D4	225	197
Валин-D8	198	191
Сукцинилацетон-13C5	-	1.16

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Пограничное значение (мкмоль/л)*	Пограничное значение (мкмоль/л)**
C0-Карнитин-D9	60.3	49.8
C0, нижнее значение	5.2	8.0
C2-Карнитин-D3	47.8	57.3
C3-Карнитин-D3	4.72	4.88
C4-Карнитин-D3	0.81	0.62
C5-Карнитин-D9	0.45	0.46
C5DC-Карнитин-D6	0.34	0.22
C6-Карнитин-D3	0.16	0.13
C8-Карнитин-D3	0.19	0.11
C10-Карнитин-D3	0.26	0.21
C12-Карнитин-D3	0.41	0.56
C14-Карнитин-D3	0.43	0.38
C16-Карнитин-D3	5.06	5.81
C18-Карнитин-D3	2.59	1.58

Эти пограничные значения только ориентировочные и могут изменяться в зависимости от группы пациентов и используемой МС/МС системы. Каждая скрининговая лаборатория должна определять свои собственные пограничные значения в экспериментальном исследовании в консультации с экспертом по обмену веществ.

11. Коэффициенты пересчета

В следующей таблице представлены факторы пересчета между массовыми и молярными концентрациями.

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA):

Аналит	мг/л в мкмоль/л	мкмоль/л в мг/л
Аланин-D4	×11.223	×0.0891
Аргинин-D7	×5.7405	×0.1742
Аспарагиновая кислота-D3	×7.5126	×0.1331
Цитруллин-D2	×5.7081	×0.1752
Глутаминовая кислота-D5	×6.7967	×0.1471
Глицин-13C2, 15N	×13.321	×0.0751
Лейцин -D3	×7.6237	×0.1312
Метионин-D3	×6.7020	×0.1492
Орнитин-D6	×7.5666	×0.1322
Фенилаланин-D5	×6.0536	×0.1652
Пролин-D7	×8.6858	×0.1151
Тирозин-D4	×5.5191	×0.1812
Валин-D8	×8.5361	×0.1172
Сукцинилацетон-13C5	×6.3231	×0.1581

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	мг/л в мкмоль/л	мкмоль/л в мг/л
C0-Карнитин-D9	×6.2019	×0.1612
C2-Карнитин-D3	×4.9203	×0.2032
C3-Карнитин-D3	×4.6032	×0.2172
C4-Карнитин-D3	×4.3245	×0.2312
C5-Карнитин-D9	×4.0776	×0.2452
C5DC-Карнитин-D6	×3.6319	×0.2753
C6-Карнитин-D3	×3.8559	×0.2593
C8-Карнитин-D3	×3.4789	×0.2874
C10-Карнитин-D3	×3.1701	×0.3154
C12-Карнитин-D3	×2.9109	×0.3435
C14-Карнитин-D3	×2.6915	×0.3715
C16-Карнитин-D3	×2.5023	×0.3996
C18-Карнитин-D3	×2.3384	×0.4276

12. Информация об опасных соединениях

Необходимо учесть следующую информацию и принять соответствующие меры безопасности. Подробную информацию можно получить в листках данных по безопасности, которые доступны для заказа или их можно загрузить на сайте www.chromsystems.de.

Обозначение опасного вещества	Возможный вред и скорая помощь
Мобильная фаза (Каталожный номер 55001, 55002)	
 Xn(Вредно для здоровья)	R11-20/21/22-36 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Раздражает глаза.
 F(Горюче)	S16-36/37 Беречь от источников возгорания- Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки.
Реагент для дериватизации (Каталожный номер 55005)	
 Xn(Вредно для здоровья)	R10-22-37/38-41-67 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Раздражает глаза. Пары могут вызвать тошноту и рвоту.
	S7/9-13-26-37/39-46 Храните бутылку плотно закрытой. Беречь от попадания в продукты, напитки для животных. В случае попадания в глаза немедленно промойте их большим количеством воды и обратитесь к врачу. Надевайте защитные одежду и перчатки. При несчастном случае, или если Вы почувствуете себя плохо, обратитесь к врачу незамедлительно (покажите ярлык при необходимости).
Восстанавливающий буфер (Каталожный номер 55006)	
 Xn(Вредно для здоровья)	R11-20/21/22-36 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Раздражает глаза.
 F(Горюче)	S16-36/37 Беречь от источников возгорания - Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки.
Промывающий раствор (Каталожный номер 55007)	
	R11-20/21/22-36 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей

Xn(Вредно для здоровья)  F(Горюче)	при проглатывании. Раздражает глаза. S16-36/37 Беречь от источников возгорания-Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки.
Экстрагирующий буфер (Каталожный номер 55008)	
 T(Токсично)	R11-23/24/25-39/23/24/25 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Токсичен: существует опасность очень серьезных необратимых последствий при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании.
 F(Горюче)	S7-16-36/37-45 Храните бутылку плотно закрытой. Беречь от источников возгорания-Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки. При несчастном случае, или если Вы почувствуете себя плохо, обратитесь к врачу незамедлительно (покажите ярлык при необходимости).
Внутренний стандарт для сукцинилацетона (Каталожный номер 55044)	
 Xn(Вредно для здоровья)	R11-20/21/22-36 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Раздражает глаза.
 F(Горюче)	S16-36/37 Беречь от источников возгорания-Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки.
Калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты) - (Каталожный номер 55099) и калибровочная смесь для сукцинилацетона аналит и внутренний стандарт)– (Каталожный номер 55098)	
 Xn(Вредно для здоровья)	R11-20/21/22-36 Легковоспламеняющийся. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Раздражает глаза.
 F(Горюче)	S16-36/37 Беречь от источников возгорания-Не курить! Надевайте защитные одежду и перчатки.
Следующие компоненты не классифицируются как опасные согласно законодательству Европейского союза: Внутренний стандарт (сухой) (заказ № 55004) MassCheck® Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов(заказ № 0191, 0192, 0193)	

12. Хранение и период годности реагентов

Неоткрытые реагенты могут храниться до истечения срока годности, указанного на этикетке, при условии, что соблюдены указанные условия хранения.

Условия хранения комплектующих MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F:

Принадлежности	Температура хранения	Относительная влажность хранения	Срок годности
Мобильная фаза	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Промывающий раствор	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Экстрагирующий буфер	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Реагент для дериватизации	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Восстанавливающий буфер	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
96-местные фильтр-плашки	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
96-луночный планшет	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Защитные пленки для 96-луночных планшетов	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Прокальываемый адгезивный уплотнитель для 96-луночных планшетов	Комнатная температура (20-25 °C)	от 10% до 85%.	2 года
Калибровочная смесь для сукцинилацетона (аналит и внутренний стандарт)	+2...+8 °C	от 10% до 85%.	2 года
Калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты)	+2...+8 °C	от 10% до 85%.	2 года
Внутренний стандарт (сухой)	<-18 °C		2 года
Внутренний стандарт для сукцинилацетона	<-18 °C		2 года
MassCheck Пятна высушенной крови Контроли	<-18 °C		2 года

для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень I - (1*3 пятна)			
MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов уровень II - (1*3 пятна)	<-18 ⁰ С		2 года
MassCheck Пятна высушенной крови Контроли для измерения аминокислот, ацилкарнитинов двухуровневые (I + II)-(2*3 пятна)	<-18 ⁰ С		2 года

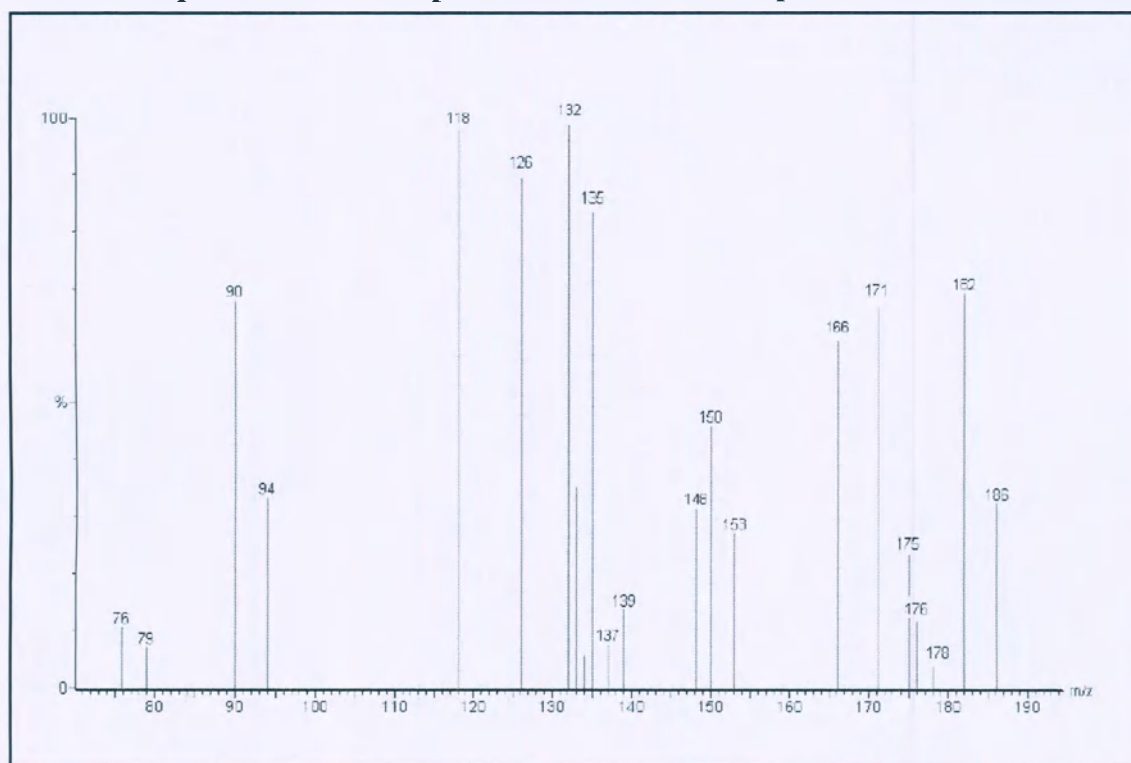
Реагенты должны быть тщательно закрыты и оставлены на хранение сразу после использования. При правильном хранении продукт можно использовать до года со дня открытия, но не после истечения срока годности. Для калибровочного раствора и контролей см. главы 5.2 и 5.3.

13. Утилизация

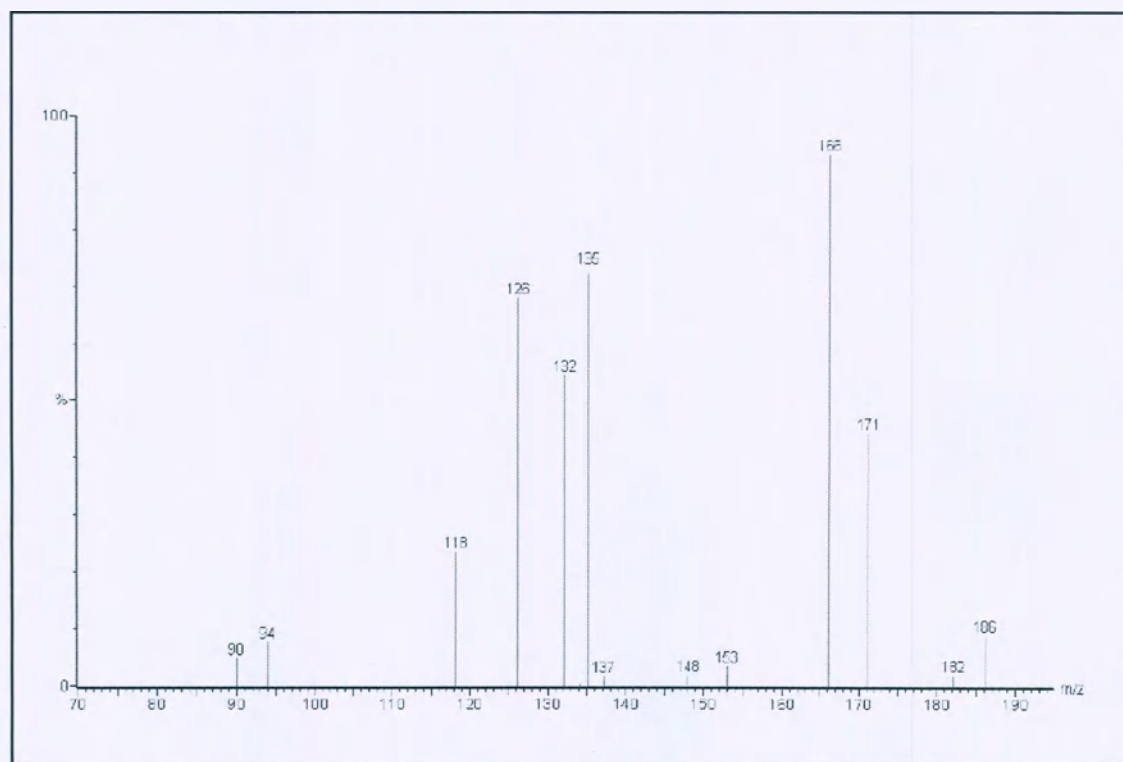
Мобильная фаза, промывающий раствор, экстрагирующий буфер, внутренний стандарт для сукцинилацетона, реагент для дериватизации, восстанавливающий буфер, калибровочная смесь для сукцинилацетона (все аналиты) и остатки проб содержат органические растворители и должны быть утилизированы в соответствии с местным предписывающим документом, согласно утилизации медицинских отходов класса Г.

14. Примеры хроматограмм

14.1. Контрольный спектр аминокислот в пограничном диапазоне

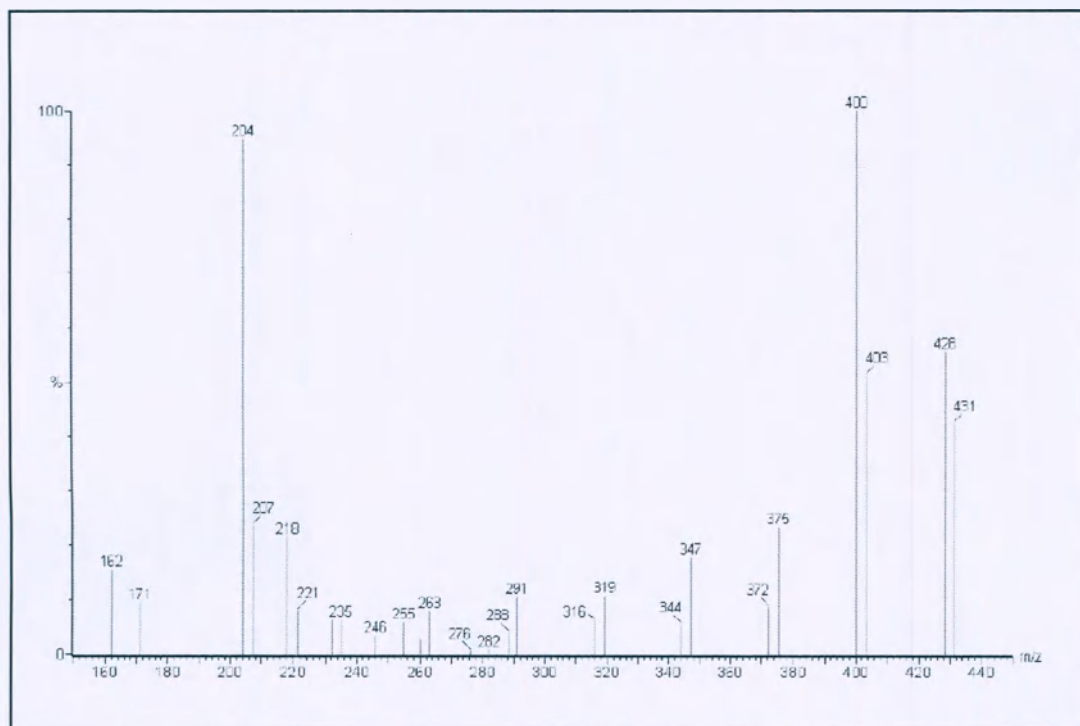


14.2. Спектр образца пациента с фенилкетонурией (PKU)

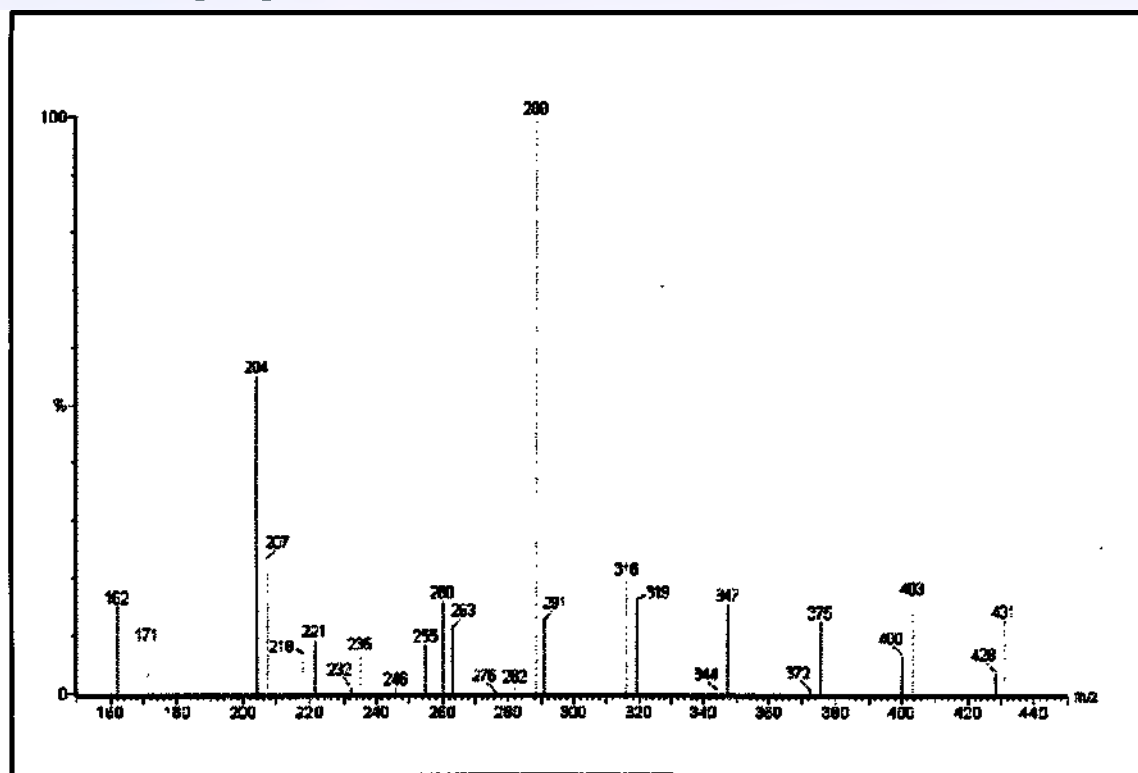


Фенилкетонурия: 871 мкмоль/л фенилаланин ($m/z=222$)

14.3. Контрольный спектр ацилкарнитинов в пограничном диапазоне

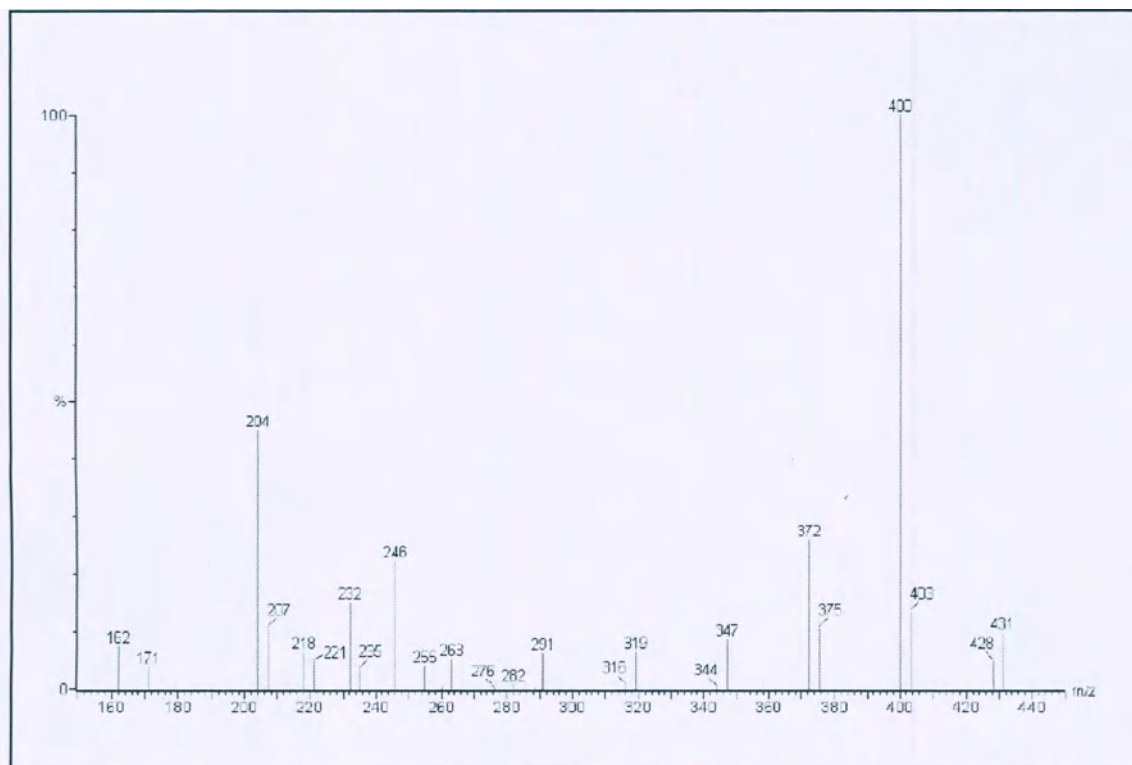


14.4. Спектр образца пациента с MCADD



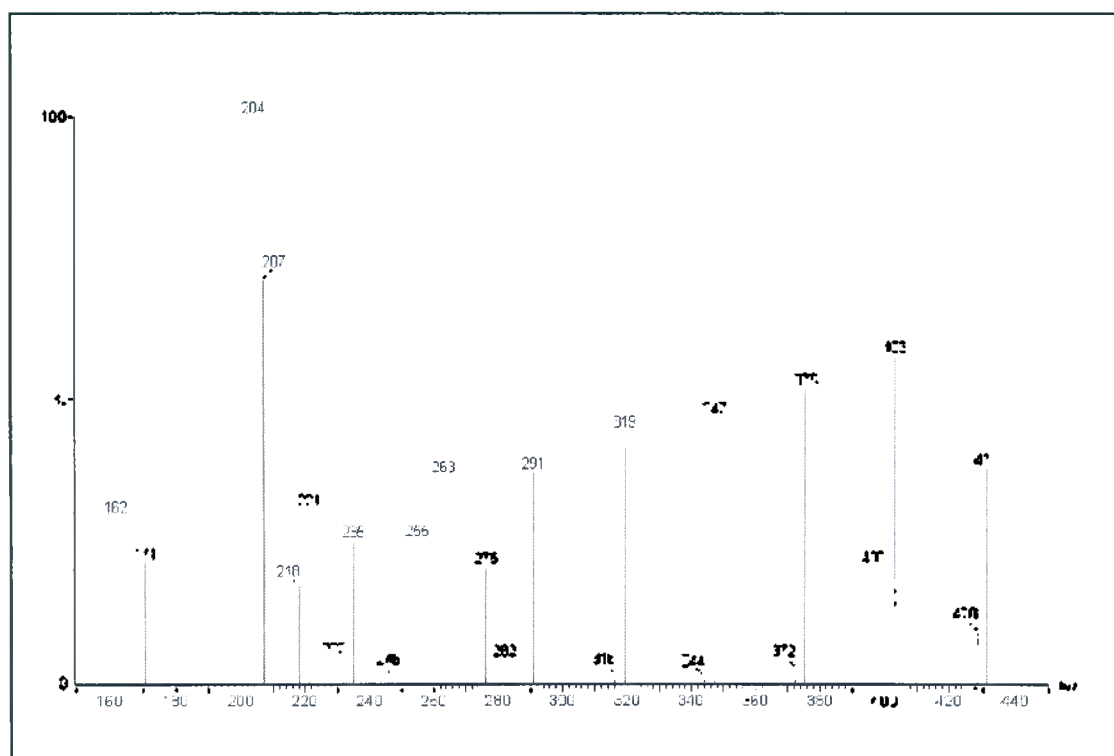
MCADD: 6,63 мкмоль/л C8-карнитин (m/z=344)

14.5. Спектр образца пациента с VLCADD



VLCADD: 2,61 мкмоль/л C14-карнитин; 6,84 мкмоль/л C16карнитин; 3,56 мкмоль/л C18 карнитин

14.6. Спектр образца пациента с глутаровойацидемией типа I (GA I)



GA I: 1,15 мкмоль/л C5DC-(m/z=388)

15. Валидация

Для проверки линейности и контроля метода в образцы крови были добавлены точные количества аминокислот и ацилкарнитинов. Несколько аликвот, из приготовленных таким образом проб, подвергали процедуре пробоподготовки.

15.1. Пробоподготовка без сукцинилацетона:

Анализ этих данных был выполнен на WatersMicromassQuattroMicro API.

Извлечение:

Степень извлечения определялась из угла наклона калибровочной кривой введенных образцов и разбавленных растворов стандарта.

Аминокислоты:

Аналит	Извлечение, (%)
Аланин-D4	85
Аргинин-D7	67
Аспарагиновая кислота-D3	77
Цитруллин-D2	89
Глутаминовая кислота-D5	72
Глицин-13C2, 15N	82
Лейцин-D3	77
Метионин-D3	90
Орнитин-D6	69
Фенилаланин-D5	86
Пролин-D7	81
Тирозин-D4	88
Валин-D8	79

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Извлечение (%)
C0-Карнитин-D9	88
C2-Карнитин-D3	84
C3-Карнитин-D3	81
C4-Карнитин-D3	83
C5-Карнитин-D9	88
C5DC-Карнитин-D6	82
C6-Карнитин-D3	86
C8-Карнитин-D3	94
C10-Карнитин-D3	87
C12-Карнитин-D3	97
C14-Карнитин-D3	88
C16-Карнитин-D3	90
C18-Карнитин-D3	93

Информация об аналитической специфичности приведена в разделе 16 «Возможные аналитические интерференции».

Диагностическая специфичность была определена в результате проведенных в 2011 году клинических испытаний в г. Вена (Австрия). Специфичность была определена как $4683/(4683+8)*100=99,8\%$, где 4683 – общее количество детей участвовавших в исследовании, 8 – число детей, с подтвержденными диагнозами наследственного нарушения обмена аминокислот и ацилкарнитинов.

Линейность/предел обнаружения:

Предел обнаружения и линейности был установлен путем разбавления элюата приготовленного образца крови с внутренним стандартом. Метод является линейным начиная с назначенного предела обнаружения до, по меньшей мере, установленного верхнего предела.

Аминокислоты:

Аналит	Предел обнаружения (мкмоль/л)**	Линейный диапазон до (мкмоль/л)
Аланин-D4	15,6	2000
Аргинин-D7	2	2000
Аспарагиновая кислота-D3	15,6	2000
Цитруллин-D2	2	2000
Глутаминовая кислота-D5	15,6	2000
Глицин-13C2, 15N	15,6	2000
Лейцин -D3	15,6	2000
Метионин-D3	2	2000
Орнитин-D6	2	2000
Фенилаланин-D5	2	2000
Пролин-D7	4,8	2400
Тирозин-D4	15,6	2000
Валин-D8	15,6	2000

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Предел обнаружения (мкмоль/л)**	Линейный диапазон до (мкмоль/л)
C0-Карнитин-D9	1,6	200
C2-Карнитин-D3	1,6	200
C3-Карнитин-D3	0,2	50
C4-Карнитин-D3	0,2	25
C5-Карнитин-D9	0,2	25
C5DC-Карнитин-D6	0,2	25
C6-Карнитин-D3	0,2	25
C8-Карнитин-D3	0,2	25
C10-Карнитин-D3	0,2	25
C12-Карнитин-D3	0,2	25
C14-Карнитин-D3	0,1	25
C16-Карнитин-D3	0,1	33
C18-Карнитин-D3	0,1	33

**предел обнаружения зависит от ЖХ-МС/МС системы.

Воспроизводимость внутрисерийная:

Проверка точности внутрисерийного анализа была проведена для двух концентраций путем многократного анализа (n=10) одного и того же образца:

Аминокислоты:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=10 (концентрация мкмоль/л)	
Аланин-D4	3,4(495)	5,2(806)
Аргинин-D7	4,9(44)	5,6(204)
Аспарагиновая кислота-D3	8,1(85)	5,5(241)
Цитруллин-D2	5,8(61)	4,1(232)
Глутаминовая кислота-D5	4,9(439)	5,6(761)
Глицин-13C2, 15N	3,4(411)	6,6(1120)
Лейцин -D3	3,7(246)	5,4(511)
Метионин-D3	7,1(55)	7,0(201)
Орнитин-D6	6,4(214)	4,6(445)
Фенилаланин-D5	4,3(120)	4,6(464)
Пролин-D7	4,9(418)	4,5(615)
Тирозин-D4	8,6(178)	6,4(500)
Валин-D8	6,9(293)	6,8(515)

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=10 (концентрация мкмоль/л)	
C0-Карнитин-D9	6,8(53,5)	5,9(110)
C2-Карнитин-D3	5,2(29,0)	6,3(65,7)
C3-Карнитин-D3	10,4(5,57)	8,6(12,3)
C4-Карнитин-D3	14,8(1,01)	10,9(3,77)
C5-Карнитин-D9	12,8(0,66)	15,0(2,36)
C5DC-Карнитин-D6	13,1(0,57)	14,7(2,14)
C6-Карнитин-D3	13,8(0,46)	6,3(1,75)
C8-Карнитин-D3	15,6(0,51)	6,5(1,87)
C10-Карнитин-D3	14,8(0,62)	10,4(2,00)
C12-Карнитин-D3	13,0(0,58)	10,4(2,26)
C14-Карнитин-D3	13,2(0,54)	11,0(2,14)
C16-Карнитин-D3	4,8(4,75)	5,5(10,9)
C18-Карнитин-D3	9,4(2,52)	11,8(7,44)

Воспроизводимость межсерийная:

Проверка точности межсерийного анализа была проведена путем многократного анализа образцов и определения двух концентраций в десяти разных сериях:

Аминокислоты:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=100 (концентрация мкмоль/л)	
Аланин-D4	6,5(493)	6,9(820)
Аргинин-D7	9,4 (41)	8,8(201)
Аспарагиновая кислота-D3	9,9(80)	8,8(233)
Цитруллин-D2	7,9(58)	7,5(233)
Глутаминовая кислота-D5	7,9(423)	8,2(750)
Глицин-13C2, 15N	7,1 (404)	7,5(1126)
Лейцин -D3	7,0(239)	6,8(513)
Метионин-D3	9,6(54)	9,0(204)
Орнитин-D6	8,9(508)	8,4(449)
Фенилаланин-D5	7,7(117)	7,3(466)
Пролин-D7*	10,4(446)	11,0(685)
Тирозин-D4	8,4(171)	7,5(494)
Валин-D8	9,3(278)	8,1(526)

*определение этих данных было выполнено на AB Sciex API 4000.

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=100 (концентрация мкмоль/л)	
C0-Карнитин-D9	8,8(53,9)	9,6(112)
C2-Карнитин-D3	7,8(27,6)	7,2(64,7)
C3-Карнитин-D3	9,8(5,41)	10,7(12,5)
C4-Карнитин-D3	14,0(0,97)	11,9(3,71)
C5-Карнитин-D9	18,0(0,60)	13,6(2,31)
C5DC-Карнитин-D6	20,3(0,57)	15,5(2,19)
C6-Карнитин-D3	16,1(0,45)	10,8(1,82)
C8-Карнитин-D3	15,7(0,49)	12,3(1,89)
C10-Карнитин-D3	15,1(0,59)	10,8(2,13)
C12-Карнитин-D3	14,6(0,61)	12,0(2,26)
C14-Карнитин-D3	13,5(0,54)	11,9(2,11)
C16-Карнитин-D3	8,9(4,42)	10,0(10,5)
C18-Карнитин-D3	11,3(2,34)	12,0(7,36)

15.2. Пробоподготовка с сукцинилацетоном

Определение следующих данных было выполнено на AB Sciex API 4000.

Извлечение:

Степень извлечения определялась из угла наклона калибровочной кривой введенных образцов и разбавленных растворов стандарта.

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA): Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Извлечение, (%)
Аланин	86
Аргинин	65
Аспарагиновая кислота	79
Цитруллин	90
Глутаминовая кислота	85
Глицин	71
Лейцин	81
Метионин	87
Орнитин	63
Фенилаланин	94
Пролин	81
Тирозин	91
Валин	92
Сукцинилацетон	51

Аналит	Извлечение, (%)
C0-Карнитин-D9	76
C2-Карнитин-D3	72
C3-Карнитин-D3	71
C4-Карнитин-D3	70
C5-Карнитин-D9	75
C5DC-Карнитин-D6	62
C6-Карнитин-D3	66
C8-Карнитин-D3	71
C10-Карнитин-D3	77
C12-Карнитин-D3	73
C14-Карнитин-D3	64
C16-Карнитин-D3	77
C18-Карнитин-D3	89

Линейность/предел обнаружения

Предел обнаружения и линейности был установлен путем разбавления элюата приготовленного образца крови с внутренним стандартом. Метод является линейным начиная с назначенного предела обнаружения до, по меньшей мере, установленного верхнего предела.

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA):

Аналит	Предел обнаружения (мкмоль/л)**	Линейный диапазон до (мкмоль/л)
Аланин-D4	4	2100
Аргинин-D7	4	2100
Аспарагиновая кислота-D3	4	2000
Цитруллин-D2	4	2000
Глутаминовая кислота-D5	4	2200
Глицин-13C2, 15N	4	2100
Лейцин -D3	4	2500
Метионин-D3	4	2000
Орнитин-D6	4	1050
Фенилаланин-D5	4	2000
Пролин-D7	5	2400
Тирозин-D4	4	2000
Валин-D8	4	2500
Сукцинилацетон 13C5	0,5	250

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Предел обнаружения (мкмоль/л)**	Линейный диапазон до (мкмоль/л)
C0-Карнитин-D9	0,47	240
C2-Карнитин-D3	0,40	100
C3-Карнитин-D3	0,08	40
C4-Карнитин-D3	0,07	17
C5-Карнитин-D9	0,05	27
C5DC-Карнитин-D6	0,05	11
C6-Карнитин-D3	0,05	24
C8-Карнитин-D3	0,08	39
C10-Карнитин-D3	0,07	38
C12-Карнитин-D3	0,06	16
C14-Карнитин-D3	0,04	21
C16-Карнитин-D3	0,10	50
C18-Карнитин-D3	0,11	57

**предел обнаружения зависит от ЖХ-МС/МС системы.

Воспроизводимость внутрисерийная:

Проверка точности внутрисерийного анализа была проведена для двух концентраций путем многократной очистки (n=10) одного и того же образца:

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA):

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=10 (концентрация мкмоль/л)	
Аланин-D4	6,3(892)	7,3(972)
Аргинин-D7	5,4(44)	6,2(136)
Аспарагиновая кислота-D3	4,6(258)	8,4(329)
Цитруллин-D2	4,5(45)	6,0(212)
Глутаминовая кислота-D5	5,7(1025)	6,9(1237)
Глицин-13C2, 15N	4,3(936)	4,5(1235)
Лейцин-D3	4,5(400)	5,8(607)
Метионин-D3	4,7(55)	6,9(186)
Орнитин-D6	4,8(526)	5,9(863)
Фенилаланин-D5	4,7(226)	5,3(418)
Пролин-D7	6,2(507)	6,6(780)
Тирозин-D4	5,8(311)	6,3(543)
Валин-D8	9,9(286)	6,4(450)
Сукцинилацетон 13C5	6,8(2,2)	8,3(6,2)

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=10 (концентрация мкмоль/л)	
C0-Карнитин-D9	4,9(70,3)	8,4(98,7)
C2-Карнитин-D3	7,1(49,5)	6,5(64,8)
C3-Карнитин-D3	11,0(5,08)	8,4(12,1)
C4-Карнитин-D3	15,2(0,97)	14,0(3,11)
C5-Карнитин-D9	12,9(0,79)	15,7(1,66)
C5DC-Карнитин-D6	13,7(0,47)	1,41(1,41)
C6-Карнитин-D3	18,0(0,53)	9,8(1,22)
C8-Карнитин-D3	14,2(0,45)	8,0(1,20)
C10-Карнитин-D3	6,4(0,44)	11,7(1,47)
C12-Карнитин-D3	7,2(0,41)	14,0(1,67)
C14-Карнитин-D3	15,5(0,40)	18,3(1,35)
C16-Карнитин-D3	8,8(3,20)	9,1(6,84)
C18-Карнитин-D3	9,9(1,71)	10,3(3,93)

Воспроизводимость межсерийная:

Проверка точности межсерийного анализа была проведена путем многократной очистки образцов и определения двух концентраций в десяти разных сериях:

Аминокислоты и метаболит тирозина (SucA):

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=100 (концентрация мкмоль/л)	
Аланин-D4	7,0(892)	9,0(107)
Аргинин-D7	6,6(41)	7,7(152)
Аспарагиновая кислота-D3	7,3(257)	8,3(335)
Цитруллин-D2	6,4(45)	7,4(206)
Глутаминовая кислота-D5	7,6(987)	8,3(1243)
Глицин-13C2, 15N	5,8(923)	8,9(1348)
Лейцин-D3	6,9(385)	9,2(616)
Метионин-D3	7,7(51)	8,7(183)
Орнитин-D6	7,3(483)	6,4(828)
Фенилаланин-D5	6,8(221)	8,6(437)
Пролин-D7	7,0(500)	8,8(882)
Тирозин-D4	6,3(295)	8,2(536)
Валин-D8	7,8(278)	8,0(448)
Сукцинилацетон 13C5	7,6(2,2)	7,4(12,9)

Ацилкарнитины и свободный карнитин:

Аналит	Коэффициент вариации (%), n=100 (концентрация мкмоль/л)	
C0-Карнитин-D9	9,0(64,9)	9,7(128)
C2-Карнитин-D3	8,9(48,2)	10,3(39,1)
C3-Карнитин-D3	13,6(4,99)	13,1(7,60)
C4-Карнитин-D3	16,9(0,89)	14,9(2,73)
C5-Карнитин-D9	17,2(0,74)	13,5(1,61)
C5DC-Карнитин-D6	25,2(0,45)	18,0(1,07)
C6-Карнитин-D3	22,0(0,48)	19,0(1,07)
C8-Карнитин-D3	18,6(0,44)	16,5(1,24)
C10-Карнитин-D3	16,4(0,46)	16,4(1,13)
C12-Карнитин-D3	22,0(0,42)	14,8(2,48)
C14-Карнитин-D3	17,9(0,38)	28,1(0,14)
C16-Карнитин-D3	12,8(3,00)	13,2(6,20)
C18-Карнитин-D3	10,9(1,61)	12,3(3,61)

16. Возможные аналитические интерференции

1. Изолейцин перекрывается с лейцином. Измеренная концентрация в пробе — это сумма обеих аминокислот.
2. Гидроксипролин перекрывается с лейцином. Стандартное значение гидроксипролина пренебрежительно мало по сравнению с лейцином. Гидроксипролин не должен искажать концентрацию лейцина в процессе рутинного анализа.
3. Метионинсульфон перекрывается с тирозином. Метионинсульфон является продуктом распада метионина. Стандартная концентрация метионина у младенцев составляет прим. 20 мкмоль/л. Максимальная концентрация метионинсульфона не превышает этого значения. Патологический уровень тирозина составляет примерно 300 мкмоль/л. Метионинсульфон не должен искажать концентрацию тирозина в процессе рутинного анализа
4. Метионинсульфоксид перекрывается с метионином. Метионинсульфоксид является продуктом окисления метионина. *In vivo* метионинсульфоксид восстанавливается белком метионинсульфоксид-редуктазой до метионина. В условиях *in vivo* не должно быть патологических концентраций метионина, вызванных высокими концентрациями метионинсульфоксида.
5. Аспарагин перекрывается с орнитином. Максимальная концентрация аспарагина у младенцев 140 мкмоль/л. только концентрации аспарагина выше 300 мкмоль/л приводят к увеличенному орниту на 20 %. Аспарагин не должен вызывать ложно-увеличенных концентраций орнитина в течение рутинных измерений
6. Из-за образования дибутилового эфира глутаминовая кислота перекрывается с C2-карнитином. Однако, стандартные значения глутаминовой кислоты в младенцах не приводят к значительным повешениям концентраций C2-карнитина. Глутаминовая кислота не должна вызывать ложно-увеличенных концентраций C2-карнитина в течение рутинных измерений.
7. Примеси в пластиковых материалах (96-луночный планшет, защитные пленки), используемых в пробоподготовке, могут мешать некоторым ацилкарнитинам, приводя к завышенным результатам. Данный MassChrom® Набор реагентов содержит все требуемые реагенты и материалы, которые не дают помех при анализе.
8. У пациентов с парентеральным питанием с заменой тирозина ацетилтирозином концентрация тирозина может быть низкой. Возросший показатель Phe/Tyr может ложно показать на фенилкетонурию, даже если концентрация фенилаланина в норме.
9. У пациентов, принимающих пивалиновую кислоту как антибиотик, может быть завышен C5-карнитин, поскольку образуется пивалилкарнитин (изомер изовалерилкарнитина). Даже если не существует никакой метаболической болезни, может быть ложно выявлена изовалериановая ацидемия (IVA).

Гарантии производителя.

Технические характеристики набора реагентов гарантируются при условии соблюдения рекомендаций по хранению, и при использовании надлежащим образом, в соответствии с инструкцией по применению.

При возникновении гарантийного случая и по вопросам технической поддержки обращаться к производителю на горячую линию в Мюнхене (тел.: +(49) 89 18930-0, факс: +(49) 89 18930-199; e-mail: "mailbox@chromsystems.de")или уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации (тел. тел.: +7 (495) 510-43-51, chromolab@gmail.com)

17. Устранение проблем

Проблема	Возможная причина	Мера
Градиентный профиль не генерируется	1. ВЭЖХ насос 2. Воздух в системе 3. Поток не стабилен	1. Проверьте насос (воздух, течь) 2. Дегазируйте ВЭЖХ-систему 3. Проверьте насос
Перекрывающиеся пики	1. Инжектор загрязнен 2. Вials автосамплера загрязнены 3. Уплотнители вials	1. Почистите метанолом или введите 10 раз мобильную фазу 2. Используйте новые вials или очистите вали метанолом 3. Используйте другие уплотнители
Нет сигнала	1. Инжектор поврежден 2. Насос поврежден 3. МС/МС-система не готова	1. Проверьте инжектор 2. Проверьте насос 3. Проверьте МС/МС-систему
Низкая чувствительность	1. Загрязнен ионный источник 2. Загрязнен масс-спектрометр 3. Утечка клапана инжектора 4. Умножитель не работает	1. Почистите ионный источник 2. Почистите масс-спектрометр 3. Проверьте инжектор 4. Замените умножитель
Низкая интенсивность сигнала	1. Условия дериватизации не оптимальные 2. Стадия выпаривания не окончена	1. Проверьте время и температуру дериватизации 2. Осушите пробу
Нет вакуума	1. Вакуумный насос поврежден 2. Утечка вакуумной системы	1. Проверьте все вакуумные насосы 2. Проверьте вакуумные соединения и переходы
Нет газоснабжения	1. Поврежден генератор азота 2. Поврежден компрессор 3. Газовый баллон пустой 4. Давление газа недостаточно	1. Проверьте генератор азота 2. Проверьте компрессор 3. Замените газовый баллон 4. Настройте давление газа



Urkundenrolle UR III 972 / 2016

Notariat III Albstadt-Ebingen* Tel. 07431/1342754*Fax 07431/1342755

UZ III 992 /
2016

Notarielle Beglaubigung

Vorstehende, vor mir vollzogene Unterschrift von

Herr Michael Meier, geboren am 31.05.1956,
wohnhaft in 82166 Gräfelfing, Maria-Eich-Str. 93a,

- ausgewiesen durch Personalausweis -

beglaubige ich hiermit öffentlich.

Albstadt-Ebingen, den 21.11.2016

Notarin

(Breitsprecher)



[Перевод с английского и немецкого языков на русский язык]

[Перевод надписи, подписи, нотариального удостоверения и печати на документе «Инструкция по применению. MassChrom Набор реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F», представленном на русском языке]

[На бланке компании «Хромсистемс Инструментс унд Кемикалс ГмбХ»]

«ХРОМСИСТЕМС»

Диагностика методом ВЭЖХ и ЖХ-МС/МС

/подпись/

Номер в нотариальном реестре: UR III 972 / 2016

Нотариальная контора III Альбштадт-Эбинген*Тел. 07431/1342754*Факс 07431/1342755

UZ III 992 /
2016

Нотариальное удостоверение

Я настоящим официально удостоверяю подпись, поставленную выше в моем присутствии

г-ном Михаэлем Майером, 31 мая 1956 г.р.,
зарегистрированным по адресу: 82166 Гrefельфинг, Мария-Айх-Штр. 93а,

- личность которого установлена на основании удостоверения личности.

Альбштадт-Эбинген, 21 ноября 2016 г.

Нотариус

/подпись/

(Брайтшпрехер)

[Печать нотариуса]

Перевод данного текста с английского и немецкого языков на русский язык сделан мной, переводчиком Гайворонским Александром Александровичем, верность перевода подтверждаю.

Гайворонский Александр Александрович

Российская Федерация

Город Москва

Второго апреля две тысячи восемнадцатого года.

Я, Гришко Михаил Александрович, временно исполняющий обязанности нотариуса города Москвы Кузнецова Вячеслава Николаевича, свидетельствую подлинность подписи переводчика Гайворонского Александра Александровича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность его установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 53/137-н/77-2018- 12-32-22

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 200 руб.



М.А. Гришко

Всего пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью 50 лист(а)(ов)

ВРИО нотариуса

Гришко Михаил Александрович



КОПИЯ

CHROMSYSTEMS

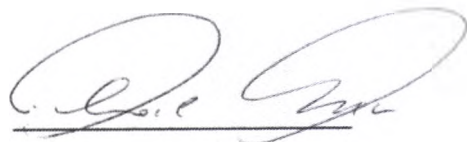
ИН-ВИТРО ДИАГНОСТИКА МЕТОДОМ ЖХ-МС/МС

Информация только для регистрационных целей
КОНФИДЕНЦИАЛЬНО

УТВЕРЖДАЮ» / “APPROVE”

Управляющий директор / Managing director

Михаэль Майер / Michael Meier



«06» июня 2018/ June 06, 2018

«Подтверждаю точность, правильность и

I hereby certify accuracy, correctness and

достоверность прилагаемого документа

reliability of attached document

и его содержания, переведенного

and them content translated

на русский язык»

into Russian

ПЕРЕВОД ПАСПОРТОВ К КОНТРОЛЬНЫМ МАТЕРИАЛАМ

Mass Check Dried Blood Spot Control Level I, Level II

для

MassChrom Набора реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов
в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F

Концентрации

MassCheck Аминокислоты, ацилкарнитины, включая Сукцинилацетон

Сухое пятно крови Уровень I

Номер: 0192

Лот номер: 2517

Срок годности: 2019-12

Субстанция	Метод анализа	Единицы измерения	Целевое значение	Диапазон
Сукцинилацетон	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	1,66	1,01-2,31
Аланин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	371	170 – 571
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		399	183 – 615
Аргинин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	97	81 – 122
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		86	72-140
Аспарагиновая кислота	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	114	87 – 162
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		118	76 - 160
Цитруллин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	122	94 – 150
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		132	101 - 163
Глутаминовая кислота	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	447	287 – 607
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		499	321 – 677
Глицин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	833	614 – 951
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		866	639 - 994
Лейцин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	269	148 – 420
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		286	157 - 430
Метионин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	80	25 – 135
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		78	24 - 132
Орнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	260	153 – 367
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		277	163 - 390
Фенилаланин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	124	89 – 196
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		113	82 - 194
Пролин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	293	216 – 371
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		316	232 - 399
Тирозин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	182	123 – 241
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		206	139 - 273
Валин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	556	360 – 651
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		481	376 - 686

Дата: 16.08.2017

Субстанция	Метод анализа	Единицы измерения	Целевое значение	Диапазон
С0-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	50,7	28,3 – 73,0
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		52,8	29,5 – 76,2
С 2-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	32,7	25,6 – 49,9
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		34,3	26,7 – 52,0
С 3-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	5,8	4,41 – 9,41
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		6,13	3,96 – 9,3
С 4-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	1,87	1,4 – 2,34
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		1,92	1,43 – 2,41
С 5-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,84	0,52 – 1,05
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,75	0,58 – 1,12
С5DC-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,64	0,16 – 1,12
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,71	0,17 – 1,25
С 6-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,82	0,52 – 0,95
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,86	0,53 – 0,97
С 8-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,78	0,52 – 0,9
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,75	0,54 – 0,96
С 10-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,78	0,59 – 0,94
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,73	0,52 – 0,97
С 12-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,98	0,48 – 1,21
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,95	0,51 – 1,23
С 14-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	0,97	0,48 – 1,42
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		0,99	0,6 – 1,56
С 16-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	5,81	4,65 – 7,09
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		5,66	5,14 – 7,22
С 18-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	3,48	2,27 – 4,29
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		3,77	2,54 – 5,0

Концентрации

MassCheck Аминокислоты, ацилкарнитины, включая Сукцинилацетон

Сухое пятно крови Уровень II

Номер: 0193

Лот номер: 2517

Срок годности: 2019-12

Субстанция	Метод анализа	Единицы измерения	Целевое значение	Диапазон
Сукцинилацетон	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	2,63	3,95 – 8,51
Аланин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	523	229 – 817
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		562	247 - 878
Аргинин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	273	189 – 457
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		354	230 - 578
Аспарагиновая кислота	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	605	335 – 875
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		622	347 - 897
Цитруллин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	323	238 – 408
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		357	289 - 435
Глутаминовая кислота	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	881	606 – 1156
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		972	645 - 1239
Глицин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	942	662 – 1222
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		991	696 - 1286
Лейцин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	517	344 – 690
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		482	321 - 643
Метионин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	193	77 – 309
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		297	111 - 527
Орнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	539	338 – 740
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		569	357 - 781
Фенилаланин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	258	121 – 395
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		283	136 - 430
Пролин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	654	401 – 907
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		713	437 - 989
Тирозин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	532	364 – 700
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		548	375 - 721
Валин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	1369	942 - 1596
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		1405	888 - 1592

Дата: 16.08.2017

Субстанция	Метод анализа	Единицы измерения	Целевое значение	Диапазон
C0-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	152	137 – 191
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		152	134 - 191
C 2-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	65	45,3 – 87,5
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		68	42,1 – 93,9
C 3-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	12,3	7,97 – 16,6
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		12,9	8,33 – 17,4
C 4-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	3,25	1,9 – 4,6
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		3,46	2,02 – 4,9
C 5-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	3,04	2,15 – 4,93
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		3,1	2,19 – 5,02
C5DC-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	2,02	0,93 – 3,11
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		2,3	1,06 – 3,54
C 6-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	2,82	2,16 – 3,48
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		3,17	2,38 – 3,96
C 8-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	2,04	1,25 – 2,83
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		2,19	2,31 – 3,65
C 10-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	1,32	0,73 – 1,91
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		1,39	0,77 – 2,01
C 12-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	1,94	1,27 – 2,61
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		2,19	1,3 – 2,95
C 14-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	2,0	1,19 – 2,81
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		2,19	1,3 – 3,08
C 16-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	11,4	6,98 – 15,8
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		12,9	7,87 – 17,8
C 18-карнитин	ВЭЖХ/МС/МС, с дериватизацией	мкмоль/л	17,46	14,03 – 22,9
	ВЭЖХ/МС/МС, с Сукцинилацетоном		18,49	14,59 – 22,4



Urkundenrolle UR III 247 / 2018

Notariat III Albstadt-Ebingen* Tel. 07431/1342754*Fax 07431/1342755

UZ III 247/
2018

Notarielle Beglaubigung

Vorstehende, vor mir vollzogene Unterschrift von

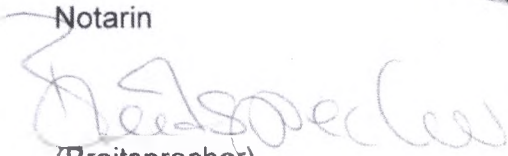
Herr Michael Meier, geboren am 31.05.1956,
wohnhaft in 82166 Gräfelfing, Maria-Eich-Str. 93a,

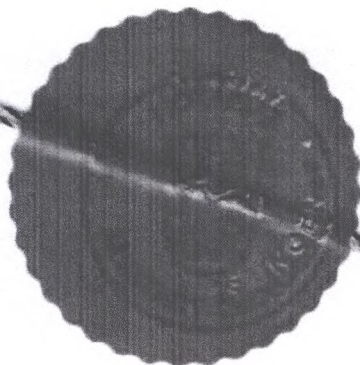
- ausgewiesen durch Personalausweis -

beglaubige ich hiermit öffentlich.

Albstadt-Ebingen, den 07.06.2018

Notarin


(Breitsprecher)



[Перевод с английского и немецкого языков на русский язык]

[Перевод надписи, подписи, нотариального удостоверения и печати на документе «Перевод паспортов к контрольным материалам Mass Check Dried Blood Spot Control Level I, Level II для MassChrom Набора реагентов для ЖХ-МС/МС анализа аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови (состав на 960 анализов) варианты исполнения: 55000, 55000/F», представленном на русском языке]

«ХРОМСИСТЕМС»

Ин витро Диагностика методом ЖХ-МС/МС

/подпись/

Номер в нотариальном реестре: UR III 247/ 2018

Нотариальная контора III Альбштадт-Эбинген*Тел. 07431/1342754*Факс 07431/1342755

UZ III 247 /
2018

Нотариальное удостоверение

Я настоящим официально удостоверяю подпись, поставленную выше в моем присутствии

г-ном Михаэлем Майером, 31 мая 1956 г.р.,
зарегистрированным по адресу: 82166 Грефельфинг, Мария-Айх-Штр. 93а,

- личность которого установлена на основании удостоверения личности.

Альбштадт-Эбинген, 07 июня 2018 г.

Нотариус

/подпись/

(Брайтшпрехер)

[Печать нотариуса]



Российская Федерация

Город Москва

Пятнадцатого июня две тысячи восемнадцатого года

Я, Степанова Мария Михайловна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Король Виктории Алексеевны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Виеру Дарьи Алексеевны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: №08/82-н/77-2018-

8-4908

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 200 руб. 00 коп.

ПОДПИСЬ

М.М. Степанова

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью 5 лист(-а,-ов)
М.М. Степанова

Гербовая печать
нотариуса

ПОДПИСЬ

Гербовая печать
нотариуса

Российская Федерация

Город Москва

Пятнадцатого июня две тысячи восемнадцатого года

Я, Степанова Мария Михайловна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Король Виктор Алексеевич, свидетельствую верность копии с представленного мне документа. 08/82-н/77-2018-

Зарегистрировано в реестре: N

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 60 руб.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 300 руб.

М.М. Степанова



Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью (лист(а)-ов)

