

受理号：CSZ1900199

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：非衍生化氨基酸、肉碱、腺苷、溶血卵磷脂和琥珀酰丙酮测定试剂盒（串联质谱法）

产品管理类别：第三类

申请人名称：苏州新波生物技术有限公司

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

目 录

基本信息.....	3
一、申请人名称.....	3
二、申请人住所.....	3
三、生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、产品概述.....	4
二、临床前研究概述	10
三、临床评价概述.....	15
四、产品受益风险判定.....	20
综合评价意见.....	22

基本信息

一、申请人名称

苏州新波生物技术有限公司

二、申请人住所

江苏省太仓经济开发区太平北路 115 号

三、生产地址

江苏省太仓经济开发区太平北路 115 号

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

A 盒组分：内标准品、琥珀酰丙酮分析液、干血斑质控品滤纸卡、U 型底耐热微孔板、粘性微孔板封套、与批次匹配的质量控制证书、微孔板条码。

B 盒组分：流动相溶剂、萃取液。（具体内容详见说明书）

(二) 产品预期用途

试剂盒用于定量检测新生儿全血干血斑中的氨基酸、琥珀酰丙酮、游离肉碱，酰基肉碱，腺苷和溶血卵磷脂的浓度。通过对这些分析物（表 1）及其相互之间的关系进行定量分析，从而有助于评估新生儿遗传代谢性疾病。

表 1 试剂盒测定的具体分析物

分析物名称	缩略语
氨基酸	
丙氨酸	Ala
精氨酸	Arg
精氨琥珀酸	Asa
瓜氨酸	Cit
谷氨酰胺 赖氨酸 ¹	Gln Lys
谷氨酸	Glu
甘氨酸	Gly
亮氨酸 异亮氨酸 羟脯氨酸 ¹	Leu Ile Pro-OH
蛋氨酸	Met
鸟氨酸	Orn
苯丙氨酸	Phe
脯氨酸	Pro

¹ 这些分析物结构或分子量相同，无法通过串联质谱法进行区分

分析物名称	缩略语
酪氨酸	Tyr
缬氨酸	Val
肉碱	
游离肉碱	C0
乙酰肉碱	C2
丙酰基肉碱	C3
丙二酰肉碱\3-羟基丁酰肉碱 ¹	C3DC\ C4OH
丁酰肉碱	C4
丁二酰肉碱\3-羟基-异戊酰肉碱 1	C4DC\ C5OH
异戊酰肉碱	C5
异戊烯酰肉碱	C5:1
戊二酰肉碱\3-羟基己酰肉碱 1	C5DC\ C6OH
己酰肉碱	C6
己二酰肉碱	C6DC
辛酰肉碱	C8
辛烯酰肉碱	C8:1
癸酰肉碱	C10
癸烯酰肉碱	C10:1
癸二烯酰肉碱	C10:2
十二碳酰肉碱	C12
十二碳烯酰肉碱	C12:1
十四碳酰肉碱	C14
十四碳烯酰肉碱	C14:1
十四碳二烯酰肉碱	C14:2
3-羟基-十四碳酰肉碱	C14OH
十六碳酰肉碱	C16
十六碳烯酰肉碱	C16:1
3-羟基-十六碳酰肉碱	C16OH
3-羟基-十六碳烯酰肉碱\十七碳酰肉碱 1	C16:1OH\ C17
十八碳酰肉碱	C18
十八碳烯酰肉碱	C18:1
十八碳二烯酰肉碱	C18:2
3-羟基-十八碳酰肉碱	C18OH
3-羟基-十八碳烯酰肉碱	C18:1OH
3-羟基-十八碳二烯酰肉碱	C18:2OH
二十碳酰肉碱	C20
二十二碳酰肉碱	C22

分析物名称	缩略语
二十四碳酰肉碱	C24
二十六碳酰肉碱	C26
酮	
琥珀酰丙酮	SA
腺苷	
腺苷	ADO
2'-脱氧腺苷	D-ADO
溶血卵磷脂	
二十碳溶血卵磷脂	C20:0-LPC
二十二碳溶血卵磷脂	C22:0-LPC
二十四碳溶血卵磷脂	C24:0-LPC
三十六碳溶血卵磷脂	C26:0-LPC

该产品已经临床验证的疾病与其相关的分析物关系如下表。

疾病名称缩写	疾病全称	分析物
氨基酸 (AA) 代谢病		
HPA	高苯丙氨酸血症	Phe↑, Phe/Tyr↑
PKU	苯丙酮尿症	Phe↑, Phe/Tyr↑
ASA	精氨酰琥珀酸尿症	Cit↑, Asa↑, Cit/Phe↑, Cit/Arg↑
CIT I	瓜氨酸血症 I型	Cit↑, Cit/Phe↑, Cit/Arg↑, Gln↑
CIT II (CITRIN)	瓜氨酸血症 II型 (希特林蛋白缺乏症)	Cit↑, Cit/Phe↑
NICCD (CITRIN)	新生儿肝内胆汁淤积症 (希特林蛋白缺乏症)	Cit↑, Cit/Phe↑
MET	高甲硫氨酸血症	Met↑, Met/Phe↑, Met/Cit↑
MSUD	枫糖尿病	Leu↑, Val↑, Leu/Phe↑, Leu/Ala↑, Val/Phe↑
OTCD	鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症	Cit↓, Orn↑, Glu/Cit↑, Cit/Orn↓
TYR I	酪氨酸血症I症	Tyr↑, SA↑, Ala↑
TYR II	酪氨酸血症II症	Tyr↑, Phe/Tyr↓
TYR III	酪氨酸血症III症	Tyr↑, Phe/Tyr↓
ARG	精氨酸血症	Arg↑, Arg/Phe↑, Arg/Orn↑
BH4D	四氢生物蝶呤缺乏症	Phe↑, Phe/Tyr↑
HCY	同型半胱氨酸血症	Met↑, Met/Phe↑, Met/Cit↑
PRO	高脯氨酸血症	Pro↑, Pro/Phe↑

CPS 1	氨基酰磷酸合成酶 1 缺乏症	Cit↓, Cit/Phe↓, Cit/Orn↓, Cit/Cit↑
脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病		
PCD	原发性肉碱缺乏症	C0↓, C2↓, C3↓, C16↓, C18↓, C18:1↓
SCAD	短链酰基辅酶 A 脱 氢酶缺乏症	C4↑, C4/C2↑, C4/C3↑, C4/C8↑
MCAD	中链酰基辅酶 A 脱 氢酶缺乏症	C6↑, C8↑, C8:1↑, C10:1↑, C10:2↑, C10↑, C8/C2↑, C8/C10↑
VLCAD	极长链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C12-C24↑
CPT-I	肉碱棕榈酰转移酶 I 缺乏症	C0↑, C16↓, C18↓, C18:1↓, C18:2↓, C0/(C16+C18)↑
CA II	多种酰基辅酶 A 脱 氢酶缺乏症	C4-C24↑
TFP	三功能蛋白缺乏症	C16OH↑, C18OH↑, C16:1OH↑, C18:1OH↑, C14OH↑
有机酸 (OA) 代谢病		
MMA	甲基丙二酸血症	C3↑, C3/C2↑, C3/Met↑, C3/C0↑, C3/C16↑
MMA 合并 HCY	甲基丙二酸血症合 并同型半胱氨酸血 症	C3↑, C3/C2↑, C3/Met↑, C3/C0↑, C3/C16↑
PA	丙酸血症	C3↑, C3/C2↑, C3/C0↑, C3/C16↑, Gly↑
IBG	异丁酰基辅酶 A 脱 氢酶缺乏症	C4↑, C4/C2↑, C4/C3↑, C4/C8↑
IVA	异戊酸血症	C5↑, C5/C0↑, C5/C2↑, C5/C3↑

GA I	戊二酸血症 I型	C5DC↑, C5DC/C8↑, C5DC/C2↑, C5DC/C3↑, C5DC/C16↑
MCCD	3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶缺乏症	C5OH↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
βKT	β 酮基硫解酶缺乏症	C5OH↑, C4OH↑, C5:1↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
2MBG	2-甲基丁酰辅酶 A 水解酶缺乏症	C5↑, C5/C0↑, C5/C2↑, C5/C3↑
HMG	3-羟基-3-甲基戊二酸血症	C5OH↑, C6DC↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
MCD	全羧化酶合成酶缺乏症	C5OH↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
嘌呤代谢病		
ADA-SCID	腺苷脱氨酶缺陷重症联合免疫缺陷	ADO↑, DADO↑, DADO/(ADO+DADO)↑
过氧化物酶体病		
X-ALD	X-连锁肾上腺脑白质营养不良	C24↑, C26↑, C20:0-LPC↑, C22:0-LPC↑, C24:0-LPC↑, C26:0-LPC↑

(三) 产品包装规格

480 人份/盒、960 人份/盒。

(四) 产品检验原理

氨基酸、游离肉碱、酰基肉碱、琥珀酰丙酮、2 种腺苷以及溶血卵磷脂的测量过程包括使用含有内标准品的溶液对新生儿干血斑进行萃取并使用串联质谱 (MSMS) 系统进行分析。每种

分析物对其相应的内标准品的响应程度与该分析物的浓度成正比。

采用多反应监控模式同时对多种分析物进行数据获取,通过第一级四极杆质量分析器根据各自的质荷比对前体离子(即母离子)进行筛选,而后通过碰撞室碰撞裂解为更小的碎片离子,随后进入第二级四极杆质量分析器通过质荷比对产物离子(即子离子)进行筛选,最终到达检测器得到信号。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

产品的主要原材料包括:内标准品原料(各种非放射性同位素标记物)及干血斑质控品,均为外购方式获得。

申请人选择有资质的供应商提供的原材料,根据不同原料设置相关标准,制定了各主要原材料的技术要求和质量标准并经检验合格。

2. 企业参考品设置情况

申请人设计了完整的企业参考品,包括线性参考品,准确度参考品、精密性参考品和灵敏度参考品。

参考品组成如下:

线性参考品:通过将未标记的氨基酸、酰基肉碱、琥珀酰

丙酮、腺苷和溶血卵磷脂按一定量溶于 50%-55%的血细胞比容的人全血配制，点斑干燥而成，为共 6 个浓度的干血片。

企业准确度参考品、精密性参考品和灵敏度参考品：通过将未标记的氨基酸、酰基肉碱、琥珀酰丙酮、腺苷和溶血卵磷脂按一定量溶于 50%-55%的血细胞比容的人全血配制点斑干燥而成，含低和高两个水平。干血片分为三部分，分别作为准确度参考品、精密性参考品和灵敏度参考品使用。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳生产工艺。试剂盒反应体系的研究中，包含了内标浓度、干粉内标浓度和复溶体积、盐酸肼的浓度、上样体积及转移体积、萃取反应的温度和反应时间、衍生化反应放置时间、萃取液及流动相成分配比、萃取工作液稳定性等。申请人通过一系列研究，最终确定了最佳的反应体系。

（三）分析性能评估

该产品分析性能评估内容包括精密度、准确度、线性、灵敏度、干扰、残留、漂移等。申请人提交了有效运行的质量管理体系下生产的三批产品在适用机型 QSight 210MD 三重四极杆质谱系统、SCIEX 公司的 API 3200MDTM三重四极杆质谱仪、AB SCIEX Triple QuadTM 4500MD 液相色谱串联质谱检测系统、

Waters™ ACQUITY I-X 超高效液相色谱串联质谱系统、Waters™ Acuity 超高效液相色谱串联质谱系统上进行的性能评估资料。

1. 精密度

申请人采用三批次试剂盒分别进行了不同因素间的精密度研究。分别使用正常内源水平样本、医学决定水平样本和临床高值水平样本进行测试。结果显示所有分析物的 CV $\leq 25\%$ (内源浓度样本除外)。

2. 正确度 (回收试验)

申请人采用三批次试剂盒进行测试。采用回收实验方法进行正确度的评价。结果表明：分析物的回收率结果在可接受范围内 (80%-120%)。

3. 线性

申请人采用三批次试剂盒进行测试。使用正常人血作为基质，添加分析物以覆盖临床高值浓度的水平，梯度稀释后得到 12 个水平的线性样本，建立线性范围，所有分析物的线性回归系数 R 不低于 0.9900。使用企业线性参考品进行测试，所有分析物的线性回归系数 R 不低于 0.9900。

4. 灵敏度

申请人采用三批次试剂盒，通过检测系列稀释的内标准品的浓度来模拟进行研究检测限。将内标准品工作液进行 17 个连

续稀释，得到 18 个浓度的内标准品溶液，对高低质控品进行萃取并进行混合。对连续 4 个浓度内标准品萃取结果的线性和精密度进行计算。当线性 R 不低于 0.99 且 CV 不高于 25% 时，血样中最低内标的理论浓度即为对应分析物的灵敏度。所有质控品分析物功能灵敏度均不高于各分析物的典型内源浓度水平。

5. 干扰

申请人对潜在的内源性干扰物质以及外源干扰物在不同浓度下，比较干扰物添加前后内源水平 DBS 和医学决定水平 DBS 中各分析物浓度的偏差。结果表明：胆红素 (0.15g/L)，甘油三酯 (10g/L)，血红蛋白 (220g/L)，骨化二醇 (250nmol/L)，对乙酰氨基酚 (55mg/L)，L-谷氨酸 (3000 μ mol/L)，肌氨酸 (125 μ mol/L)，肌酸 (6000 μ mol/L)，L-天冬酰胺 (1500 μ mol/L)，L-赖氨酸 (2000 μ mol/L)，L-蛋氨酸砜 (500 μ mol/L)，白蛋白 (30g/L)，利多卡因 (38.4 μ mol/L)，D617 (2.23 μ mol/L)，L-鸟氨酸 (375 μ mol/L)，亚胺甲基谷氨酸 (37.1 μ mol/L)，0-乙酰基-L-丝氨酸 (1000 μ mol/L)，2,5-二羟基苯甲酸 (127 μ mol/L)，普萘洛尔 (7.74 μ mol/L)，4-氨基安替比林 (500 μ mol/L)，牛磺石胆酸 (30.5 μ mol/L)，D L-羟基丁二酸 (3000 μ mol/L)，6-氨基乙酸 (6.07 μ mol/L)，葡萄糖酸氯己定 (0.04%) 等在其验证最大浓度条件下对试剂盒分析物的检测不产生影响。试剂盒可

满足常规检测的要求。

6. 残留

申请人采用企业线性参考品进行研究，考察高浓度样本残留对内源样本检测的影响。结果表明除 Val, Asa 有残留影响外，其余分析物对应的偏差均在 $\pm 1SD$ 范围内。Val 和 Asa 的影响程度在临床实际使用中，并不会影响对测试结果的判断。

7. 漂移

申请人采用连续运行 10 块测试板考察检测方法结果的稳定性。结果表明：内源浓度样本（除 SA 和 Asa 外）、阳性判断值附近浓度样本和高值样本的各个总 CV 均在 25% 以内。首、末板之间的漂移不会影响试剂盒的功能性检测。

（四）阳性判断值或参考区间研究

申请人使用本产品对 2075 例临床样本进行检测，以 0.5%-99.5% 为基础，建立参考范围。其中部分疾病根据已有资料或文献，对分析物下限或上限进行了调整（如 C0, ADO 等）。

同时，将本试剂盒检测结果与临床诊断结果进行了比较，验证了试剂阳性判断值设定的合理性。

在实际的临床应用中，除了分析物本身的浓度值外，不同分析物的比例值在某些情况下也具有一定的参考意义。对这些比例值，按百分位 0.5%-99.5% 统计了参考范围，可用于辅助判断

或分析。

（五）稳定性研究

申请人对该产品的实时稳定性、运输稳定性、开封稳定性以及样本稳定性进行研究，确定了在各种条件下该产品及样本的有效保存时间。

实时稳定性：选取三批试剂盒置于规定的储存环境中，A 盒在 2-8°C 条件下储存，B 盒在 2-30°C 条件下储存，分别于 0、3、6、9 和 13 个月时，对试剂盒准确度、重复性、线性、灵敏度进行考察。确定产品在规定的储存条件下，有效期为 12 个月。

此外，申请人对产品的运输稳定性、开封稳定性等分别进行了研究。结果显示，产品的性能均满足产品说明书的声称。

三、临床评价概述

申请人在浙江大学医学院附属儿童医院、上海市儿童医院、上海交通大学医学院附属新华医院、济南市妇幼保健院共 4 家临床试验机构完成了临床试验。

临床试验主要包括两部分内容：

第一部分，采用试验用体外诊断试剂与临床诊断结果进行比较研究，评价本产品的灵敏度、特异度、阴性预测值等指标。

临床试验前瞻性入组的 21082 例干血斑样本中，检出并经临床确诊阳性的疾病包括有苯丙酮尿症（PKU）、原发性肉碱缺

乏症 (PCD)、甲基丙二酸血症 (MMA) 等。

临床试验结果显示，对样本的检测结果以疾病的首要指标按照说明书参考范围判读分析，试验用体外诊断试剂针对氨基酸 (AA) 代谢病的检测灵敏度为 100.00%，特异度为 95.36%，假阳性率为 4.64%，假阴性率为 0，阳性似然比为 21.54，阴性似然比为 0，阳性预测值为 0.51%，阴性预测值为 100.00%；对脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病的检测灵敏度为 100.00%，特异度为 97.69%，假阳性率为 2.31%，假阴性率为 0，阳性似然比为 43.35，阴性似然比为 0，阳性预测值为 1.03%，阴性预测值为 100.00%；对有机酸 (OA) 代谢病的检测灵敏度为 100.00%，特异度为 96.89%，假阳性率为 3.11%，假阴性率为 0，阳性似然比为 32.17，阴性似然比为 0，阳性预测值为 1.22%，阴性预测值为 100.00%。

对样本的检测结果以临床应用结合次要指标判读分析，试验用体外诊断试剂对氨基酸 (AA) 代谢病的检测灵敏度为 100.00%，特异度为 98.93%，假阳性率为 1.07%，假阴性率为 0，阳性似然比为 93.08，阴性似然比为 0，阳性预测值为 2.18%，阴性预测值为 100.00%；对脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病的检测灵敏度为 100.00%，特异度为 99.62%，假阳性率为 0.38%，假阴性率为 0，阳性似然比为 263.54，阴性似然比为 0，阳性预测值为 5.95%，阴性预测值为 100.00%；对有机酸 (OA) 代谢病的检测灵敏度为

100.00%，特异度为 99.50%，假阳性率为 0.50%，假阴性率为 0，阳性似然比为 200.46，阴性似然比为 0，阳性预测值为 7.14%，阴性预测值为 100.00%。

临床试验回顾性入组的 226 例干血斑样本中，临床确诊阳性的疾病包括有高苯丙氨酸血症 (HPA)、苯丙酮尿症 (PKU)、四氢生物蝶呤缺乏症 (BH4D)、精氨酰琥珀酸尿症 (ASA)、瓜氨酸血症 I 型 (CIT I)、希特林蛋白缺乏症 (新生儿肝内胆汁淤积症/瓜氨酸血症 II 型) (CITRIN (NICCD/CIT II))、高甲硫氨酸血症 (MET)、枫糖尿病 (MSUD)、鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症 (OTCD)、酪氨酸血症 I 型 (TYR I)、酪氨酸血症 II 型 (TYR II)、酪氨酸血症 III 型 (TYR III)、精氨酸血症 (ARG)、同型半胱氨酸血症 (HCY)、高脯氨酸血症 (PRO)、氨甲酰磷酸合成酶 1 缺乏症 (CPS 1)、原发性肉碱缺乏症 (PCD)、短链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (SCAD)、中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (MCAD)、极长链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (VLCAD)、肉碱棕榈酰转移酶 I 缺乏症 (CPT-I)、多种酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (GA II)、三功能蛋白缺乏症 (TFP)、甲基丙二酸血症 (MMA)、甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症 (MMA 合并 HCY)、丙酸血症 (PA)、异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (IBG)、异戊酸血症 (IVA)、戊二酸血症 I 型 (GA I)、3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶缺乏症 (MCCD)、

β -酮基硫解酶缺乏症 (β KT)、2-甲基丁酰辅酶 A 水解酶缺乏症 (2MBG)、3-羟基-3-甲基戊二酸血症 (HMG)、全羧化酶合成酶缺乏症 (MCD)、腺苷脱氨酶缺陷重症联合免疫缺陷 (ADA-SCID)、X-连锁肾上腺脑白质营养不良 (X-ALD)。

回顾性试验结果显示，试验用体外诊断试剂对氨基酸 (AA) 代谢病、脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病、有机酸 (OA) 代谢病、嘌呤代谢病 ADA-SCID、过氧化物酶体病 X-ALD 的检测灵敏度均为 100.00%。

第二部分，采用试验用体外诊断试剂与已上市同类产品进行对比试验，验证本产品的临床准确性。

该部分临床试验共入组 2143 例干血斑样本，临床试验结果显示，对样本的检测结果以疾病的首要指标按申报产品与对比试剂各自参考范围判读分析，试验用体外诊断试剂与对比试剂针对氨基酸 (AA) 代谢病检测的阳性符合率为 78.87%，阴性符合率为 95.46%，总符合率为 94.91%；对脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病检测的阳性符合率为 95.56%，阴性符合率为 97.28%，总符合率为 97.25%；对有机酸 (OA) 代谢病检测的阳性符合率为 96.43%，阴性符合率为 97.13%，总符合率为 97.11%。进一步分析试验用体外诊断试剂与对比试剂针对氨基酸 (AA) 代谢病检测的阳性符合率较低的原因，主要是由于两者使用不同的参考

范围各自产生不同的假阳性结果，从而导致比较差异。继续对样本的检测结果以临床应用结合次要指标判读分析，试验用体外诊断试剂与对比试剂针对氨基酸（AA）代谢病检测的阳性符合率为 95.00%，阴性符合率为 99.00%，总符合率为 98.93%；对脂肪酸氧化（FAO）代谢病检测的阳性符合率为 94.29%，阴性符合率为 99.67%，总符合率为 99.58%；对有机酸（OA）代谢病检测的阳性符合率为 91.30%，阴性符合率为 99.62%，总符合率为 99.44%。

对两种方法检测结果进行线性回归分析，结果显示，对于疾病判读应用的主要分析物如 Phe、C3、C0 等分析物，相关系数 P 均 > 0.95 ，表明两种试剂盒相关性较好。

除对不同疾病类型进行分析外，还对每一种疾病和每一种分析物（分析物比值）分别进行了统计分析，结果显示，试验用体外诊断试剂各待测分析物（分析物比值）指标异常情况都通过相应的遗传代谢病得到验证，各分析物（分析物比值）统计得到的阴性预测值均为 100.00%。同时，其余相关性能指标也都符合临床应用要求。

综上所述，该产品临床试验资料对产品的临床性能进行了全面研究，临床试验结果基本符合临床应用要求。

四、产品受益风险判定

(一) 受益评估

该试剂盒用于定量检测新生儿全血干血斑中的氨基酸、琥珀酰丙酮、游离肉碱，酰基肉碱，腺苷和溶血卵磷脂的浓度。可同时对几十种疾病进行分析，包括氨基酸（AA）代谢病、脂肪酸氧化（FAO）代谢病、有机酸（OA）代谢病、嘌呤代谢病和过氧化物酶体病，其中嘌呤代谢病和过氧化物酶体病这两类疾病通过干血斑质谱法检测在国内尚无同类产品。

该产品临床应用的主要受益在于：在新生儿早期提示风险，使患者能及时诊断和治疗，从而受益。

经临床评价分析，本产品的临床灵敏度和特异度可满足临床检验要求。

(二) 风险评估

参照“YY/T 0316-2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用”标准，对该产品进行风险分析。

该产品主要的风险来自于检测存在的假阳性和假阴性情况。假阳性风险会导致被检测者需要进行复查复测，并可能需要通过基因检测进一步确认或排除。这会对被检测者产生一定的经济和时间影响。假阴性风险会导致患者未及时治疗，可能会导致患者生长发育受影响。从已有结果分析，鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺乏症因其X-连锁的特性，该产品在女性患者中无法

检出指标物异常，有较大的漏检风险。

除上述外，产品已知的检测局限性包括：对于 Asa 极高浓度的样本，可能会对下一个测试产生残留；Asa 和 Sa 的回收率较低，测试值不能代表其精确浓度。

此外，检测结果会受到如下条件的影响，包括：样品点并未被血均匀浸透，打冲样本时采样点太靠近血斑的边缘，样本收集或晾干过程中处置不当，样本受热受潮或降解，血斑滤纸受排泄物污染。使用者必须了解检测过程中可能存在的潜在风险及检测的局限性。

（三）风险受益评价结论

根据申请人提供的申报资料，经综合评价，在目前认知水平上，认为该产品能够较大幅度地满足医疗需求，预期为适用人群带来的受益大于风险。

为确保使用安全，基于对主要剩余风险的防控，在产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

综合评价意见

本申报项目为境内第三类医疗器械产品注册，属于优先审批项目（编号：20190009）。申请人的注册申报资料符合现行要求，依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第680号）、《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令2014年第5号）等相关医疗器械法规与配套规章，经系统评价后，建议准予注册。延续注册时补充提交至少十家临床机构、至少十万例新生儿新鲜干血斑样本的前瞻性临床试验资料，可不设对照组，但应由临床机构对诊断结果进行确认。对于本次新增的两种疾病（X-连锁肾上腺脑白质营养不良和腺苷脱氨酶缺陷重症联合免疫缺陷），应前瞻性的检出真阳性病例。在延续注册时，注册人应依据上市后的临床使用数据进一步修订说明书临床性能相关内容。

2022年3月23日

附件：产品说明书

非衍生化氨基酸、肉碱、腺苷、溶血卵磷脂和琥珀酰丙酮测定试剂盒 (串联质谱法) 说明书

【产品名称】

通用名称：非衍生化氨基酸、肉碱、腺苷、溶血卵磷脂和琥珀酰丙酮测定试剂盒（串联质谱法）

【包装规格】

480 人份/盒、960 人份/盒。

【预期用途】

本试剂盒用于定量检测新生儿全血干血斑中的氨基酸、琥珀酰丙酮、游离肉碱、酰基肉碱、腺苷和溶血卵磷脂的浓度。

通过对这些分析物（表 2）及其相互之间的关系进行定量分析，从而有助于评估新生儿遗传代谢性疾病。检测结果仅能初步提示某种遗传代谢病，其最终结果要由相应方法进行确认。

表 2 试剂盒测定的具体分析物

分析物名称	缩略语
氨基酸	
丙氨酸	Ala
精氨酸	Arg
精氨琥珀酸	Asa
瓜氨酸	Cit
谷氨酰胺\赖氨酸 ¹	Gln\Lys
谷氨酸	Glu
甘氨酸	Gly
亮氨酸\异亮氨酸\羟脯氨酸 ¹	Leu\Ile\Pro-OH
蛋氨酸	Met
鸟氨酸	Orn
苯丙氨酸	Phe
脯氨酸	Pro
酪氨酸	Tyr
缬氨酸	Val
肉碱	
游离肉碱	C0
乙酰肉碱	C2
丙酰基肉碱	C3
丙二酰肉碱\3-羟基丁酰肉碱 ¹	C3DC\ C4OH
丁酰肉碱	C4
丁二酰肉碱\3-羟基-异戊酰肉碱 ¹	C4DC\ C5OH
异戊酰肉碱	C5
异戊烯酰肉碱	C5:1

分析物名称	缩略语
戊二酰肉碱\3-羟基己酰肉碱 ¹	C5DC\ C6OH
己酰肉碱	C6
己二酰肉碱	C6DC
辛酰肉碱	C8
辛烯酰肉碱	C8:1
癸酰肉碱	C10
癸烯酰肉碱	C10:1
癸二烯酰肉碱	C10:2
十二碳酰肉碱	C12
十二碳烯酰肉碱	C12:1
十四碳酰肉碱	C14
十四碳烯酰肉碱	C14:1
十四碳二烯酰肉碱	C14:2
3-羟基-十四碳酰肉碱	C14OH
十六碳酰肉碱	C16
十六碳烯酰肉碱	C16:1
3-羟基-十六碳酰肉碱	C16OH
3-羟基-十六碳烯酰肉碱\十七碳酰肉碱 ²	C16:1OH\C17
十八碳酰肉碱	C18
十八碳烯酰肉碱	C18:1
十八碳二烯酰肉碱	C18:2
3-羟基-十八碳酰肉碱	C18OH
3-羟基-十八碳烯酰肉碱	C18:1OH
3-羟基-十八碳二烯酰肉碱	C18:2OH
二十碳酰肉碱	C20
二十二碳酰肉碱	C22
二十四碳酰肉碱	C24

¹ 这些分析物结构或分子量相同，无法通过串联质谱法进行区分

分析物名称	缩略语
二十六碳酰肉碱	C26
酮	
琥珀酰丙酮	SA
腺苷	
腺苷	ADO
2'-脱氧腺苷	D-ADO
溶血卵磷脂	
二十碳溶血卵磷脂	C20:0-LPC
二十二碳溶血卵磷脂	C22:0-LPC
二十四碳溶血卵磷脂	C24:0-LPC
二十六碳溶血卵磷脂	C26:0-LPC

在本产品临床试验中，已经临床验证的疾病与其相关的分析物关系如下表：

表 3 临床试验中已验证的新生儿遗传代谢疾病与分析物之间的关系

疾病名称缩写	疾病全称	分析物
氨基酸 (AA) 代谢病		
HPA	高苯丙氨酸血症	Phe↑, Phe/Tyr↑
PKU	苯丙酮尿症	Phe↑, Phe/Tyr↑
ASA	精氨酰琥珀酸尿症	Cit↑, Asa↑, Cit/Phe↑, Cit/Arg↑
CIT I	瓜氨酸血症 I 型	Cit↑, Cit/Phe↑, Cit/Arg↑, Gln↑
CIT II (CITRIN)	瓜氨酸血症 II 型 (希特林蛋白缺乏症)	Cit↑, Cit/Phe↑
NICCD (CITRIN)	新生儿肝内胆汁淤积症 (希特林蛋白缺乏症)	Cit↑, Cit/Phe↑
MET	高甲硫氨酸血症	Met↑, Met/Phe↑, Met/Cit↑
MSUD	枫糖尿病	Leu↑, Val↑, Leu/Phe↑, Leu/Ala↑, Val/Phe↑
OTCD	鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症	Cit↓, Orn↑, Glu/Cit↑, Cit/Orn↓
TYR I	酪氨酸血症 I 症	Tyr↑, SA↑, Ala↑
TYR II	酪氨酸血症 II 症	Tyr↑, Phe/Tyr↓
TYR III	酪氨酸血症 III 症	Tyr↑, Phe/Tyr↓
ARG	精氨酸血症	Arg↑, Arg/Phe↑, Arg/Orn↑
BH4D	四氢生物蝶呤缺乏症	Phe↑, Phe/Tyr↑
HCY	同型半胱氨酸血症	Met↑, Met/Phe↑, Met/Cit↑
PRO	高脯氨酸血症	Pro↑, Pro/Phe↑
CPS 1	氨基甲酰磷酸合成酶 I 缺乏症	Cit↓, Cit/Phe↓, Cit/Orn↓, Glu/Cit↑
脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病		
PCD	原发性肉碱缺乏症	C0↓, C2↓, C3↓, C16↓, C18↓, C18:1↓

SCAD	短链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C4↑, C4/C2↑, C4/C3↑, C4/C8↑
MCAD	中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C6↑, C8↑, C8:1↑, C10:1↑, C10:2↑, C10↑, C8/C2↑, C8/C10↑
VLCAD	极长链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C12-C24↑
CPT-I	肉碱棕榈酰转移酶 I 缺乏症	C0↑, C16↓, C18↓, C18:1↓, C18:2↓, C0/(C16+C18)↑
GA II	多种酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C4-C24↑
TFP	三功能蛋白缺乏症	C16OH↑, C18OH↑, C16:1OH↑, C18:1OH↑, C14OH↑
有机酸 (OA) 代谢病		
MMA	甲基丙二酸血症	C3↑, C3/C2↑, C3/Met↑, C3/C0↑, C3/C16↑
MMA 合并 HCY	甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症	C3↑, C3/C2↑, C3/Met↑, C3/C0↑, C3/C16↑
PA	丙酸血症	C3↑, C3/C2↑, C3/C0↑, C3/C16↑, Gly↑
IBG	异丁酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	C4↑, C4/C2↑, C4/C3↑, C4/C8↑
IVA	异戊酸血症	C5↑, C5/C0↑, C5/C2↑, C5/C3↑
GA I	戊二酸血症 I 型	C5DC↑, C5DC/C8↑, C5DC/C2↑, C5DC/C3↑, C5DC/C16↑
MCCD	3-甲基巴豆酰基辅酶 A 羧化酶缺乏症	C5OH↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
βKT	β 酮基硫解酶缺乏症	C5OH↑, C4OH↑, C5:1↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
2MBG	2-甲基丁酰基辅酶 A 水解酶缺乏症	C5↑, C5/C0↑, C5/C2↑, C5/C3↑
HMG	3-羟基-3-甲基戊二酸血症	C5OH↑, C6DC↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
MCD	全羧化酶合成酶缺乏症	C5OH↑, C5OH/C0↑, C5OH/C3↑, C5OH/C8↑
嘌呤代谢病		
ADA-SCID	腺苷脱氨酶缺陷重症联合免疫缺陷	ADO↑, DADO↑, DADO/(ADO+DADO)↑
过氧化物酶体病		
X-ALD	X-连锁肾上腺脑白质营养不良	C24↑, C26↑, C20:0-LPC↑, C22:0-LPC↑, C24:0-LPC↑, C26:0-LPC↑

氨基酸 (AA) 代谢病

氨基酸代谢疾病患者体内某些氨基酸代谢所必需的酶完全缺失或其活性降低。这就造成体内受影响的氨基酸和其它代谢物（例如琥珀酰丙酮）⁽¹³⁻¹⁴⁾浓度的升高或者降低。浓度过高时会严重地损害健康，甚至导致死亡。几种已被广泛研究的氨基酸代谢病如下：

苯丙酮酸尿症 (PKU) 是一种芳香族氨基酸的代谢性疾病，病人体内的苯丙氨酸无法转化为酪氨酸。如果不进行治疗，此病会导致不同程度的智力迟钝。高苯丙氨酸血症会导致智力迟钝与肌强直。胱氨酸尿症会引起血栓性疾病、骨质疏松、同型半胱氨酸与蛋氨酸（甲硫氨酸）的积聚及不同类型的发育迟缓。枫糖尿病 (MSUD) 是由于支链氨基酸的代谢异常，从而造成血液中亮氨酸、异亮氨酸与缬氨酸水平的升高。如果不予治疗，会出现进行性嗜睡直至昏迷、发育迟缓和惊厥。酪氨酸血症 I 型⁽¹⁾会导致急性肝功能衰竭或慢性肝硬化与肝癌。瓜氨酸血症会导致惊厥、厌食、呕吐与嗜睡，进而迅速出现可能致死的昏迷⁽¹⁻¹⁵⁾。

高氨血症或尿素循环障碍是由于缺乏尿素循环中的某个酶引起的。严重的高氨血症导致氨和其前体代谢物在体内积累，并且可能导致昏迷，癫痫发作和最终死亡。在鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺乏症 (OTCD) 中，鸟氨酸转氨甲酰酶缺乏导致血液中谷氨酰胺和乳清酸水平升高。在精氨基琥珀酸裂解酶缺乏症 (ASA-LD) 中，缺乏将精氨基琥珀酸裂解为精氨酸和富马酸的酶，因此导致血液中的精氨基琥珀酸水平升高⁽¹⁸⁾。

脂肪酸氧化 (FAO) 代谢病

患脂肪酸氧化代谢病时，脂肪酸裂解所必需的酶出现缺失或活性降低。当葡萄糖处于低水平时，产生能量就需要脂肪酸的裂解或氧化。缺乏这种供能途径，某些患者会反复出现低血糖症状。患者不进食时（常由于耳部感染或流感等疾病造成），就可能出现代谢危机。此病患者可能会有呕吐、腹泻、嗜睡、癫痫发作或昏迷症状。如果脂肪酸氧化障碍不能被及时诊断，可能造成脂肪在肝脏、心脏与肾脏的过度沉积，从而引起多种症状，包括肝功能衰竭、脑病、心脏与眼部的并发症及肌肉发育常见问题。这些临床症状中有多种可导致死亡。有许多例脂肪酸氧化代谢异常造成的死亡被误诊为婴儿猝死综合症 (SIDS) 或瑞氏综合症⁽¹⁻¹²⁾。

有机酸 (OA) 代谢病

有机酸代谢病患者的有机酸代谢途径出现异常，因此出现有机酸在血液与尿液中的积聚，从而改变了人体的酸碱平衡。这种失衡会导致身体对中介代谢途径进行调整或适应，可能引起多种临床症状，包括代谢酸中毒、酮症、高氨血症、生长迟缓、败血症或昏迷⁽¹⁻¹²⁾。

嘌呤代谢病

腺苷脱氨酶缺陷重症联合免疫缺陷 (ADA-SCID) 是一种遗传性的嘌呤代谢疾病。由于缺乏酶腺苷脱氨酶，使得腺苷和 2'-脱氧腺苷在血液中积累。ADA-SCID 会损害免疫系统，导致慢性免疫功能恶化，在极端情况下，如果未经妥善治疗，可能导致死亡⁽¹⁹⁻²⁰⁾。

过氧化物酶体病

在 X-连锁肾上腺脑白质营养不良 (X-ALD) 中，极长链的脂肪酸的 β -氧化受损，导致它们在血浆和组织中积累。根据累积的程度不同，X-ALD 可以导致轻度硬化到严重的脑损伤⁽²¹⁻²²⁾。

测试简介和说明

如表 2 所示，本试剂盒可以同时检测 57 种分析物（包括 14 种氨基酸、36 种肉碱、2 种腺苷、琥珀酰丙酮和 4 种溶血卵磷脂）。实际上，试剂盒提供了 30 个质控品和 30 个内标准品。这是因为有些

分析物具有相近的链长或是相似的化学结构，它们在串联质谱中也有近似的特征。所以对于这些分析物，我们只需要使用其中一种内标准品（或质控）即可。比如 C18, C18:1, C18:2, C18OH, C18:10H, C18:20H 具有类似的性能特性，就可以用 C18 内标准品来估计上述几种分析物的浓度。使用替代内标的检测方法不会影响结果的精确性，但可能与真实浓度间存在恒定比例的偏差。并且，由于使用了相同的替代内标，因此可以使用未标记的 C18 作为外部质控品的替代物用于整个 C18 酰基肉碱系列。在实际检测过程中，只要所选的用来定量测量某一特定分析物的内标准品与外部质控品替代物在病人样本分析中保持恒定，就可以区分推测正常和推测升高样本。

类似地，对于长链肉碱 C20-C26 以及溶血卵磷脂（LPC），由于极其相似的结构与特性，可以把其最长链的 C26 与 C26:0-LPC 与它们对应的标记物作为这两组分析物的内标准品。同样地，精氨酸（Arg）内标可同时用于测试精氨酸和精氨琥珀酸，即便它们有着各自不同的质控分析物。分析物与内标、质控品的关系错误！未找到引用源。。

表 4 试剂盒测量的分析物与其对应的内标准品和质控品

分析物	内标准品	质控品
Ala	² H ₃ -Ala	Ala
Arg	² H ₄ , ¹³ C-Arg	Arg
Asa ¹	² H ₄ , ¹³ C-Arg	Asa
Cit	² H ₂ -Cit	Cit
Gln\Lys	¹³ C ₅ -Gln	Gln
Glu	¹³ C ₅ -Gln	Gln
Gly	¹⁵ N, 2- ¹³ C-Gly	Gly
Leu\Ile\Pro-OH	² H ₃ -Leu	Leu
Met	² H ₃ -Met	Met
Orn	² H ₆ -Orn	Orn
Phe	¹³ C ₆ -Phe	Phe
Pro	¹³ C ₅ -Pro	Pro
Tyr	¹³ C ₆ -Tyr	Tyr
Val	¹⁵ N- ¹³ C ₅ -Val	Val
SA	¹³ C ₅ -MPP ²	SA
ADO	¹³ C ₅ -ADO	ADO
D-ADO	¹³ C ₅ -D-ADO	ADO
C0	² H ₉ -C0	C0
C2	² H ₃ -C2	C2
C3	² H ₃ -C3	C3
C3DC\ C4OH	² H ₃ -C4	C4
C4	² H ₃ -C4	C4
C4DC\ C5OH	² H ₃ -C5	C5
C5	² H ₃ -C5	C5
C5:1	² H ₃ -C5	C5
C5DC\ C6OH	² H ₆ -C5DC	C5DC
C6	² H ₃ -C6	C6
C6DC	² H ₆ -C5DC	C5DC
C8	² H ₃ -C8	C8
C8:1	² H ₃ -C8	C8

¹ Asa-Total，包含 Asa 及其酸酐

² MPP 为 SA 的衍生物甲基吡唑丙酸

分析物	内标准品	质控品
C10	${}^2\text{H}_3\text{-C10}$	C10
C10:1	${}^2\text{H}_3\text{-C10}$	C10
C10:2	${}^2\text{H}_3\text{-C10}$	C10
C12	${}^2\text{H}_3\text{-C12}$	C12
C12:1	${}^2\text{H}_3\text{-C12}$	C12
C14	${}^2\text{H}_3\text{-C14}$	C14
C14:1	${}^2\text{H}_3\text{-C14}$	C14
C14:2	${}^2\text{H}_3\text{-C14}$	C14
C14OH	${}^2\text{H}_3\text{-C14}$	C14
C16	${}^2\text{H}_3\text{-C16}$	C16
C16:1	${}^2\text{H}_3\text{-C16}$	C16
C16OH	${}^2\text{H}_3\text{-C16}$	C16
C16:1OH\C17	${}^2\text{H}_3\text{-C16}$	C16
C18	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C18:1	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C18:2	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C18OH	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C18:1OH	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C18:2OH	${}^2\text{H}_3\text{-C18}$	C18
C20	${}^2\text{H}_3\text{-C26}$	C26
C22	${}^2\text{H}_3\text{-C26}$	C26
C24	${}^2\text{H}_3\text{-C26}$	C26
C26	${}^2\text{H}_3\text{-C26}$	C26
C20:0-LPC	${}^2\text{H}_4\text{-C26:0-LPC}$	C26:0-LPC
C22:0-LPC	${}^2\text{H}_4\text{-C26:0-LPC}$	C26:0-LPC
C24:0-LPC	${}^2\text{H}_4\text{-C26:0-LPC}$	C26:0-LPC
C26:0-LPC	${}^2\text{H}_4\text{-C26:0-LPC}$	C26:0-LPC

【检验原理】

氨基酸、游离肉碱、酰基肉碱、琥珀酰丙酮、2种腺苷以及溶血卵磷脂的测量过程包括使用含有内标准品的溶液对新生儿干血斑进行萃取并使用串联质谱 (MSMS) 系统进行分析。每种分析物对其相应的内标准品的响应程度与该分析物的浓度成正比⁽²⁻²⁴⁾。

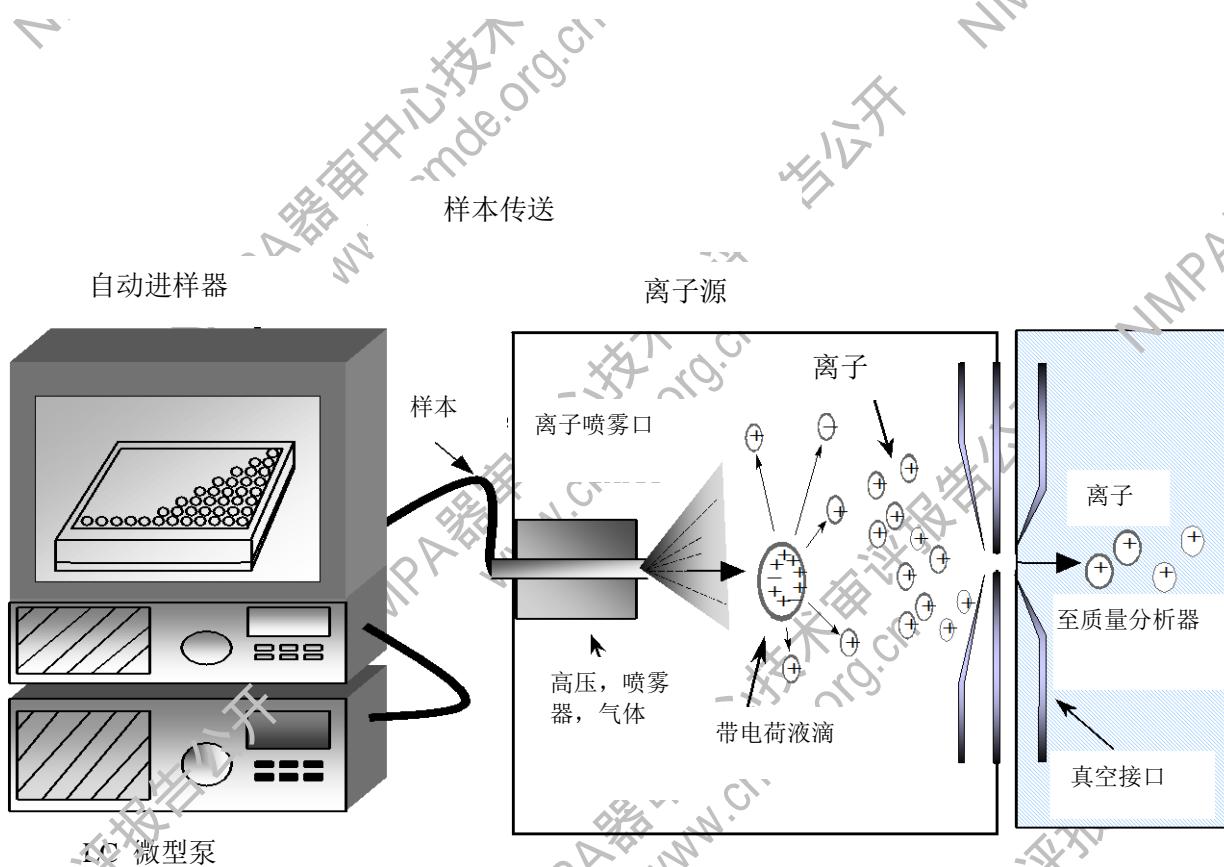
本试剂盒中，数据获取方式为多反应监控 (MRM) 模式。在这一扫描模式中，每种分析物碰撞诱导后的产物在设定的时间段内被测量，数据采集与处理由系统内的软件执行。

用于测量的三重四极杆质谱仪是由计算机控制的设备，可根据离子的质荷(m/z)比对其进行分离与定量测定。每个四极杆都是由四个水平方位的金属杆组成质量过滤器。通过调节所用的射频 (RF) 电压可控制这些金属杆周围的磁场，这样就可以根据离子的质荷比来对离子进行过滤。由自动进样器、微型泵与溶剂真空除气装置组成的液相色谱 (LC) 系统将萃取的样本传递到质谱仪的离子源。离子源能够形成由带电液滴组成的均匀喷雾，离子在溶剂蒸发后从中形成。这些离子被导入质量分析仪中(图1)。

在串联质谱系统中，离子穿过一个真空界面。该界面可排除不带电荷的物质并辅助溶剂分子与离子分离。离子穿过界面后就会进入仪器的质量过滤与分析部分。不带电荷的分子由真空系统泵走，聚焦的离子束则被引入第一级四极杆质量过滤器，Q1。在 Q1 里，离子按照各自的质荷比而分离，并进入碰撞室 (非质量过滤设备)。带有微量气压的气体被导入碰撞室。穿过碰撞室的离子与气体分子碰撞后，

裂解为更小的离子。该过程称为碰撞活化解离 (CAD)。较小的子代离子随后被导入第二级的质量分析仪内 (Q3) 并根据质荷比进行分离，最终送到检测器内得到信号。

图 1



在 MRM 获取模式中，Q1 被用以选择特定的母离子。选择 Q1 之后，母离子被导入发生碰撞激活性角离 (CAD) 的碰撞室。母离子碎片化之后，只有指明的产物离子才被允许通过 Q3 进入检测器。所有未指明的产物离子均被过滤除去。这样，该 MSMS MRM 质谱检测系统所报告的就是产生需要产物的前体物离子的质荷比，如图 2 所示。图 3 显示了 2'-脱氧腺苷 (251.2g/mol) 在 MRM 模式中的前体离子 ($m/z 252.2$) 和产物离子 ($m/z 136.1$)。

图2

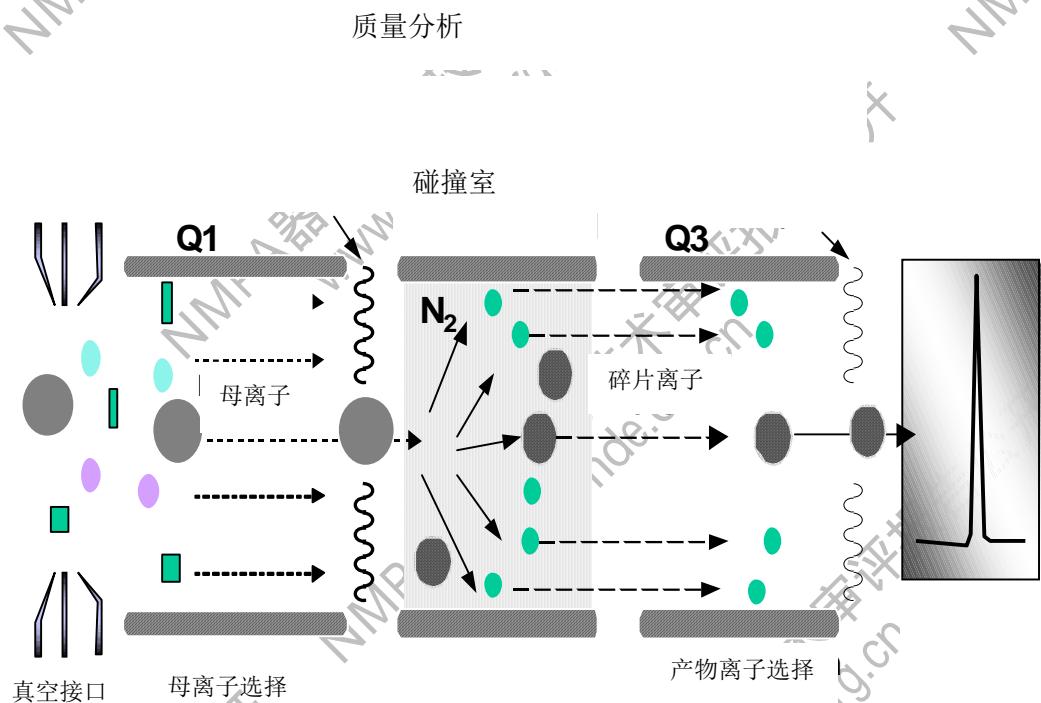
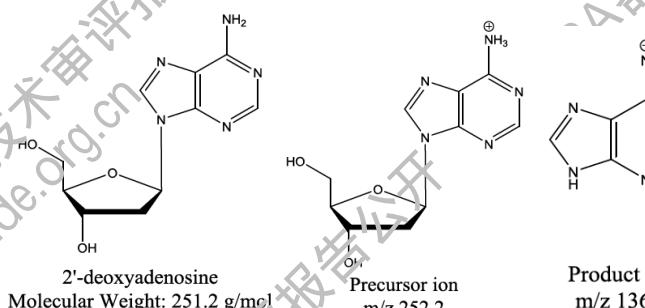


图3



使用本试剂盒测试氨基酸、肉碱、腺苷和溶血卵磷脂时，只要在孵育过程中使用含有相应内标准品的萃取工作液萃取样品即可。但是琥珀酰丙酮的萃取和测量要求在孵育过程中进行特定的衍生反应。通过向含有内标准品的萃取混合物中添加一份琥珀酰丙酮分析液（含盐酸肼），琥珀酰丙酮的萃取和测量将与其它分析物的萃取同时进行。

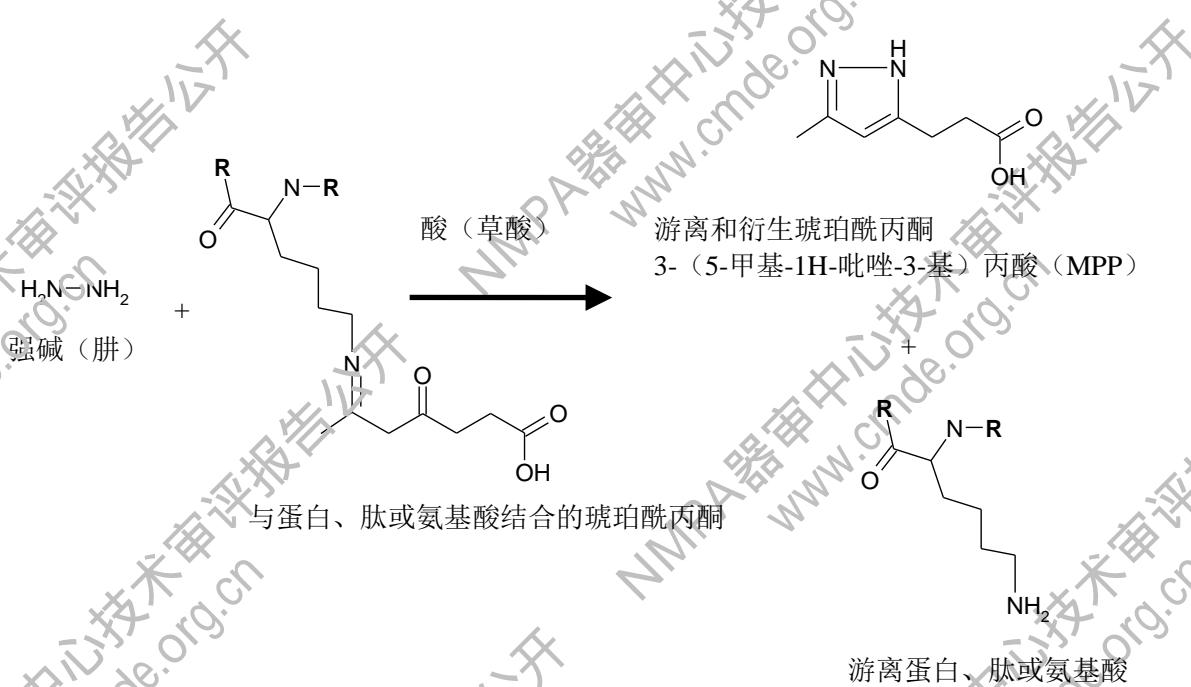
琥珀酰丙酮是反应二酮（图4）。由此，该分析物易于同血液中的多肽和蛋白质的氨基酸残基的氨基发生反应。因此，琥珀酰丙酮通常和样品中的蛋白质结合在一起（图4）。在本试剂盒测试中通过琥珀酰丙酮与盐酸肼（比氨基酸残基更强的碱）发生反应来萃取琥珀酰丙酮。该反应产生非常稳定的类吡唑产品，该产品和测试中所测量的其它分析物一起被萃取。接着在串联质谱测试中测量琥珀酰丙酮，其中指定衍生 3-(5-甲基-1,2-吡唑-3-基)丙酸，缩写为 MPP（图5）。最后，通过在萃取溶液中添加 MPP 类似物作为内标准品来完成对琥珀酰丙酮的定量测量。

精氨琥珀酸 (Asa) 在结构上有着与琥珀酰丙酮 (SA) 相似的一部分，其中 Asa 连接琥珀酸的 α -碳，SA 则是取代羧基中的羟基。经验证，盐酸肼对于 Asa 基本没有影响。

图4 琥珀酰丙酮的游离型和蛋白结合型



图5 使用可选的琥珀酰丙酮分析液对琥珀酰丙酮进行衍生和萃取



【主要组成成分】

A 盒组分（保存于 2-8 °C）	数量 (480 人份/盒)	数量 (960 人份/盒)
内标准品	0.7 mL × 1 瓶，干粉	0.7 mL × 2 瓶，干粉
琥珀酰丙酮分析液	2.8 mL × 1 瓶，溶液	2.8 mL × 2 瓶，溶液
干血斑质控品滤纸卡	2 张，含高低质控	3 张，含高低质控
U 型底耐热微孔板	10 块	20 块
粘性微孔板封套	15 张	30 张
与批次匹配的质量控制证书	1 份	1 份
微孔板条码	1 份	1 份

B 盒组分（保存于 2-30 °C）	数量 (480 人份/盒)	数量 (960 人份/盒)
流动相溶剂	400 mL × 1 瓶，含乙腈、水和甲酸	400 mL × 2 瓶，含乙腈、水和甲酸
萃取液	90 mL × 1 瓶，含甲醇、水和草酸	90 mL × 2 瓶，含甲醇、水和草酸

试剂盒中有与试剂盒批号匹配的质量控制证书，证书上注明了标记氨基酸、琥珀酰丙酮、游离肉碱、酰基肉碱、腺苷和溶血卵磷脂内标准品的浓度以及在样本制备完成后它们在每个样本板孔中的浓度。

内标准品中每小瓶近似含量 (μmol)

分析物	近似含量
d ₉ -游离肉碱 (d ₉ -C0)	0.015
d ₃ -乙酰肉碱 (d ₃ -C2)	0.005
d ₃ -丙酰肉碱 (d ₃ -C3)	0.002
d ₃ -丁酰肉碱 (d ₃ -C4)	0.002
d ₉ -异戊酰肉碱 (d ₉ -C5)	0.002
d ₆ -戊二酰肉碱 (d ₆ -C5DC)	0.002
d ₃ -己酰肉碱 (d ₃ -C6)	0.001
d ₃ -辛酰肉碱 (d ₃ -C8)	0.001
d ₃ -癸酰肉碱 (d ₃ -C10)	0.001
d ₃ -十二碳酰肉碱 (d ₃ -C12)	0.001
d ₃ -十四碳酰肉碱 (d ₃ -C14)	0.001
d ₃ -十六碳酰肉碱 (d ₃ -C16)	0.001
d ₃ -十八碳酰肉碱 (d ₃ -C18)	0.001
d ₃ -二十六碳酰肉碱 (d ₃ -C26)	0.001
¹⁵ N,2- ¹³ C-甘氨酸	0.5
² H ₃ -丙氨酸	0.2
¹³ C ₅ -谷氨酰胺	0.1
¹⁵ N, ¹³ C ₅ -缬氨酸	0.1
² H ₃ -亮氨酸	0.1
² H ₃ -蛋氨酸	0.1
¹³ C ₆ -苯丙氨酸	0.1
¹³ C ₆ -酪氨酸	0.2
² H ₆ -鸟氨酸	0.2
² H ₂ -瓜氨酸	0.1
² H ₄ , ¹³ C-精氨酸	0.1
¹³ C ₅ -脯氨酸	0.1
¹³ C ₅ -MPP	0.1
¹³ C ₅ -腺苷	0.01
¹³ C ₅ -2'-脱氧腺苷	0.01
² H ₄ -二十六碳溶血卵磷脂	0.005

质控品中含有的分析物和近似平均浓度值 ($\mu\text{mol/L}$)

分析物	低水平质控品	高水平质控品
游离肉碱 (C0)	35	140
乙酰肉碱 (C2)	30	90
丙酰肉碱 (C3)	4	12
丁酰肉碱 (C4)	0.8	3
异戊酰肉碱 (C5)	0.8	3
戊二酰肉碱 (C5DC)	0.4	2
己酰肉碱 (C6)	0.3	1.5
辛酰肉碱 (C8)	0.6	3
癸酰肉碱 (C10)	0.3	2
十二碳酰肉碱 (C12)	0.3	1.5

十四碳酰肉碱 (C14)	0.4	2
十六碳肉碱 (C16)	2.1	11
十八碳酰肉碱 (C18)	1.3	4.5
二十六碳酰肉碱 (C26)	0.6	1.5
丙氨酸	450	1000
精氨酸	25	140
精氨琥珀酸	3	40
瓜氨酸	50	200
谷氨酰胺	650	1400
甘氨酸	420	1200
鸟氨酸	180	600
亮氨酸	230	900
蛋氨酸	40	200
苯丙氨酸	90	300
脯氨酸	250	800
酪氨酸	150	600
缬氨酸	220	500
琥珀酰丙酮	2.6	10
腺苷	1.2	5
二十六碳溶血卵磷脂	1	3

试剂盒内与批次匹配的质量控制证书上标有每一个分析物的浓度赋值（平均值和标准差）。质控品由人全血制备。血红蛋白浓度在浸润滤纸之前约为 170g/L。血细胞比容水平为 50%-55%，大约等于新生儿的血细胞比容水平。

试剂盒没有提供的其它必需品

本试剂盒是由新生儿检测试剂和仪器组成的完整系统的一部分。该系统需要的下述推荐仪器或附件。

1. 串联质谱系统
2. 自动打孔仪 —Wallac 血斑打孔仪 DBS Puncher(产品号 1296-071), Panthera-Puncher™ 9 打孔仪 (产品号 2081-0010) , 或用于切割直径为 3.2 mm (1/8 英寸) 的滤纸血片手动打孔器
3. TriNest™ 摆育振荡器 (产品号 1296-0050)
4. 超声仪

除了本系统外，还需要其它材料：

- 手动或自动移液器 (30~300 μ L)
- 移液吸头
- 用于测量 mL 容量试剂的移液器或带刻度量筒
- 试剂容器
- 混匀内标的滚轴混匀器或其他同类产品
- 微孔板热封套

Panthera-Puncher 是 PerkinElmer, Inc. 公司的商标。

TriNest 是 PerkinElmer, Inc. 公司的商标。

- 化学通风橱
- 使用符合当地法规的滤纸血片的样本卡
- LCMS 级别的乙腈
- LCMS 级别的甲醇
- 一级水

注意：

- 本器械与试剂盒内的质控品和内标准品配合使用。其他来源的标准品和质控品材料与本器械一起使用的情况尚未得到验证。
- 附加的 QC 材料可能需要符合当地 QC 检测的指导原则。

建议洗液：

- MSMS 系统清洗液

清洗液使用乙腈和纯水以 84:16 的近似体积比混合。MSMS 系统在样本之间预留了清洗过程，确保运行前至少有 500 mL 清洗液。

- UPLC 清洗液

清洗液使用乙腈和纯水以 10:90 的体积比混合。确保运行前至少有 500 mL 清洗液。

【储存条件及有效期】

试剂盒 A 盒在 2-8 °C 条件下储存，B 盒在 2-30 °C 条件下储存，有效期为 12 个月。生产日期及失效日期见产品外包装。

按照测试步骤中的要求使用，开封后试剂组分最多稳定 4 周。

试剂盒中的质控品未开封时置于 2-8 °C（或-20 °C）时可保存 12 个月，开封后在 2-8 °C（或-20 °C）并保持干燥时，可在 4 周内重复使用。

声称的试剂盒有效期是基于试剂盒中各组分都是最新生产时的设定。试剂盒中各组分都能达到中文说明书中声称的有效期。在试剂盒实际生产中，试剂盒中各组分是在不同时间分别生产的，试剂盒失效日期定义为最早失效的试剂盒组分的失效日期。因此，试剂盒外包装标签上的失效日期可能早于由生产日期加上声称的有效期计算得来的失效期。

【适用仪器】

QSight 210MD 三重四极杆质谱系统；SCIEX 公司的 API 3200MD™三重四极杆质谱仪、AB SCIEX Triple Quad™ 4500MD 液相色谱串联质谱检测系统；Waters™ ACQUITY I-X 超高效液相色谱串联质谱系统、Waters™ Acquity 超高效液相色谱串联质谱系统。

【样本要求】

请查询当地法规有关采样时间和采集检测用样本方面的要求。样本采集卡及器械必须符合国家规定。采集干血样本需要熟练的采集、处理及运输技术。建议采集步骤如下：

- (一) 血片采集人员清洗双手并佩戴无菌、无滑石粉的手套。
- (二) 按摩或热敷新生儿足跟，并用 75% 乙醇消毒皮肤。

(三) 待乙醇完全挥发后, 使用一次性采血针刺足跟内侧或外侧, 深度小于 3 毫米, 用干棉球拭去第 1 滴血, 从第 2 滴血开始取样。

(四) 将滤纸片接触血滴, 切勿触及足跟皮肤, 使血液自然渗透至滤纸背面, 避免重复滴血, 至少采集 3 个血斑 (直径需大于 8 毫米)。

(五) 手持消毒干棉球轻压采血部位止血。

(六) 将血片悬空平置, 自然晾干呈深褐色。避免阳光及紫外线照射、烘烤、挥发性化学物质等污染。

(七) 及时将检查合格的滤纸干血片置于密封袋内, 密闭保存在 2-8°C 冰箱中, 有条件者可 0°C 以下保存。

(八) 所有血片应当按照血源性传染病标本对待, 对特殊传染病标本, 如艾滋病等应当作标识并单独包装。

要注意的是, 做长期储存标本的回顾性分析时, 由于一些分析物的潜在不稳定性, 可能产生假阴性结果。

样本的稳定性

样本在室温 (18-25°C) 或冷藏 (2-8°C) 条件下可保存 21 天。如果干血标本的储存温度为 2-8°C 且防潮避光保存, 大多数的氨基酸和酰基肉碱据知都非常稳定^[16]。

其中稳定性相对较差的如 Met, Gln, Asa, SA, C2, C3 等分析物, 它们在保存条件不够理想时测值可能产生一定下降; 与之相对的是 C0, ADO, D-ADO 等分析物在样本保存过程中, 可能会产生测值上升的情况, 特别是对于 C0 分析物, 测值上升可能导致 PCD 检测的假阴性。

在样本保存过程中, 应注意温度和湿度的恒定, 若条件产生变化 (如经常取存、冰箱温度超出限制等), 可能导致分析物稳定性不及预期。

【检验方法】

1. 制备内标准品和萃取工作液,

- 使用 0.7 mL 的萃取溶液复溶小瓶内的内标准品干粉, 将液体彻底混匀, 直到完全溶解为止 (通常需要 60-70 分钟, 如果仍无法彻底溶解, 可以使用超声波混匀约 3 分钟)。复溶液于 2-8 °C 条件下, 可在小瓶内密封稳定存放 4 周。
- 确保在制备萃取工作液之前, 所需的已复溶内标准品和萃取液均已经恢复至室温(18-25 °C)。
- 根据错误!未找到引用源。混合琥珀酰丙酮分析液和已复溶内标准品至萃取液中。这就是含有氨基酸、(游离/酰基) 肉碱、腺苷以及溶血卵磷脂内标准品的萃取工作液。

表 5 萃取工作液的制备方法

萃取液 (μL)	琥珀酰丙酮分析液 (μL)	已复溶的内标准品 (μL)	最后容量 (mL)
12610	260	130	13

25220	520	260	26
37830	780	390	39
50440	1040	520	52
63050	1300	650	65

d) 制备的萃取工作液如置于玻璃瓶内，在 2-8 °C 条件下避光保存，可稳定 2 周。

2. 使用自动或手动打孔器从干血斑上打孔出滤纸血片，并将滤纸血片移入提供的 U 型底耐热微孔板的板孔内。滤纸血片的直径应约为 3.2mm (1/8 英寸)。每个板孔只加入一个滤纸血片。建议将每个微孔板中设置 2 个板孔用于空白 (仅添加含内标准品的萃取工作液)，从而使液相色谱系统与质谱仪实现同步运行。详见表 5 萃取工作液的制备方法。
3. 使用反向加液，给每个含有滤纸血片的板孔内添加 125 μL 的萃取工作液。用粘性微孔板封套覆盖微孔板，确保密封良好，将挥发量降低到最小。
4. 封盖后，立即将微孔板置于孵育/振荡器内，在 45±5 °C 条件下振荡 30±2 分钟。微孔板振荡的速度范围为 650–750rpm。
5. 从孵育器/振荡器上小心取下微孔板，避免泼洒。
6. 从每个板孔中转移 100 μL 溶液至新的微孔板中，注意位置需一一对应。
7. 再次用粘性微孔板封套覆盖微孔板，确保密封良好，将挥发量降低到最小。
8. 如果用于测试琥珀酰丙酮，转移溶液后在第 1 次测量之间必须留足至少 1 小时，以使得琥珀酰丙酮完全衍生化。仪器的日常维护和运行设置可在此期间进行。如不测试琥珀酰丙酮，则可省略该步骤。
9. 将微孔板置入自动进样器中。
10. 启动系统控制软件，创建工作列表，并使用合适的数据采集方法运行测试。详情参见软件包用户手册。
11. 布板推荐采用以下方式进行。

表 6 推荐的布板方式

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	EWS	LC	HC	EWS	SPL1	SPL2	SPL3	SPL4	SPL5	SPL6	SPL7	SPL8
B	SPL9	SPL10	SPL11	SPL12	SPL13	SPL14	SPL15	SPL16	SPL17	SPL18	SPL19	SPL20
C	SPL21	SPL22	SPL23	SPL24	SPL25	SPL26	SPL27	SPL28	SPL29	SPL30	SPL31	SPL32
D	SPL33	SPL34	SPL35	SPL36	SPL37	SPL38	SPL39	SPL40	SPL41	SPL42	SPL43	SPL44
E	SPL45	SPL46	SPL47	SPL48	SPL49	SPL50	SPL51	SPL52	SPL53	SPL54	SPL55	SPL56
F	SPL57	SPL58	SPL59	SPL60	SPL61	SPL62	SPL63	SPL64	SPL65	SPL66	SPL67	SPL68

G	SPL69	SPL70	SPL71	SPL72	SPL73	SPL74	SPL75	SPL76	SPL77	SPL78	SPL79	SPL80
H	SPL81	SPL82	SPL83	SPL84	SPL85	SPL86	SPL87	SPL88	SPL89	SPL90	J.C	HC

EWS-萃取工作液

SPL-样本

LC-低水平质控

HC-高水平质控

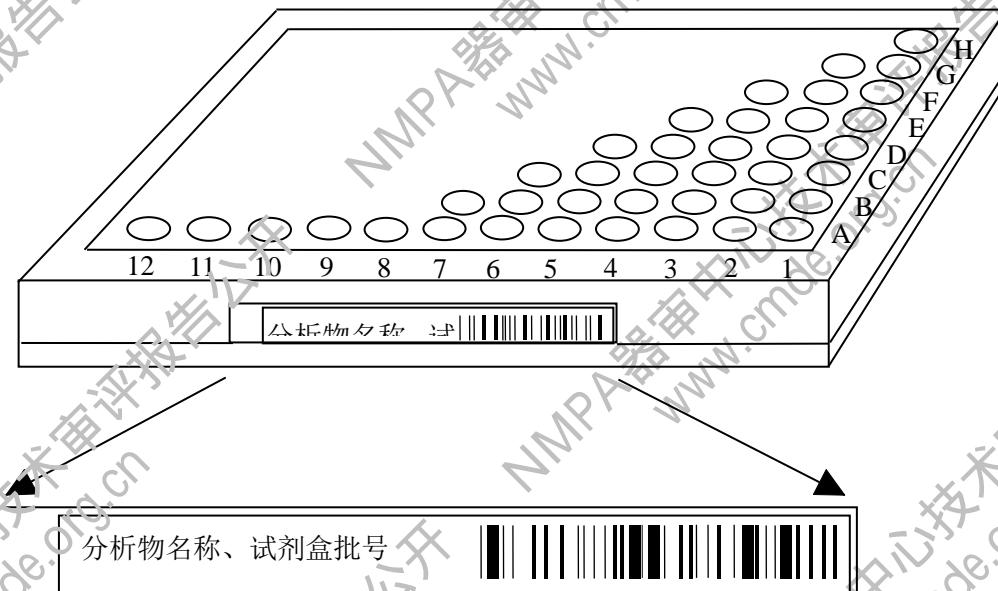
注意：

- 运行检验前，应由具资质人员对用户所用仪器进行优化并完成方法安装。
- 对于内标准品，仅使用特定批号质量控制证书中显示的浓度。
- 当 MSMS 进样时，建议定期观察 TIC 曲线和内标准品响应强度，以辨别检测系统是否正常。
- 只有具有资质的人员才能调整数据采集文件。

条形码标签的使用

通过扫描试剂盒内的条形码标签，就能将工作列表与相应的微孔板对应起来。条形码标签可以贴附在微孔板的任意一侧（图 6）。

图 6



操作注意事项

1. 应充分理解本说明书以便顺利使用本试剂盒。试剂盒内的试剂作为一个整体使用。请不要将不同批号的试剂混用。超过试剂盒标签上的有效期之后，不要使用试剂。

2. 任何与测试步骤相悖的操作都可能影响测试结果。
3. 在运行试验前，由 PerkinElmer 技术工程师校准设备和建立安装方法。
4. 使用试剂盒外的塑料制容器时必须特别小心，因为塑料中的可塑剂会溶解到样品混合物中。所以推荐使用玻璃容器制备工作溶液。如果使用塑料器具（如移液吸头和试管）进行测试，必须确保它们可以和乙腈、甲醇一起使用，而不会影响试剂盒检测。检测时应使用随试剂盒一同提供的特定微孔版和孔板封套，不应使用任何其它物品。
5. 封盖微孔板的粘性塑料封套必须贴紧在微孔板的表面，从而将挥发降低到最小。为了避免样品溢出，从微孔板上移除粘性塑料封套时必须非常小心。
6. 溢出试剂瓶的溶液不可再次使用。
7. 样本打冲后，检查确定每个微孔板孔中都有一个滤纸片。
8. 干血斑打孔时应佩戴手套，推荐用丁腈手套。
9. 数据采集文件只能由技术工程师校准。

结果计算

PerkinElmer LC-MS/MS 测试系统集成的程度既可以计算个别氨基酸、琥珀酰丙酮、游离肉碱、多种酰基肉碱、腺苷和溶血卵磷脂的浓度程度，也可以计算其浓度比。这些数值通过对比测得的分析物信号强度与萃取工作液中对应的内标准品信号强度得出。将这些数值打印输出便可得到结果（请参阅软件包用户手册）。

质量控制

试剂盒中的低水平和高水平血斑质控品应在每一个微孔板进行复孔运行。质控品应该和样品在同样条件下运行。质量控制证书上标有每个质控品内的每个分析物的平均值和一个标准方差（SD）。每个实验室都应建立自己的平均值和允许误差范围。实验室建立的均值和试剂盒中质量控制证书上提供的数值误差范围应在 $\pm 3\text{SD}$ 范围之内。除了提供的质控品之外，很有必要运行包括几个不同批号试剂盒的外部质控样品。请确保符合当地和国家的相关要求。

我们建议实验室参加外部的质量评估计划。

注意：质控品的平均值通过使用试剂盒运行复孔测量得出。通过取所有测试的平均值来赋值。

【参考区间】¹

¹ 不同实验条件、技术水平及受检人群、受检时间所获得的参考值会存在差异，建议各实验室根据自身情况建立自己的参考范围或临界值

使用正常新生儿样本，以 0.5%~99.5% 百分位为基准，同时参考相关文献和资料，建立参考范围如下：

表 7 试剂盒各检测物的参考范围

分析物	缩写	参考范围 ($\mu\text{mol/L}$)
氨基酸		
丙氨酸	Ala	136.41~532.58
精氨酸	Arg	1.33~45.51
精氨琥珀酸	Asa	0.01~0.54
瓜氨酸	Cit	6.45~27.04
谷氨酰胺	Gln	129.46~1048.37
谷氨酸	Glu	114.14~546.99
甘氨酸	Gly	191.89~800.76
亮氨酸\异亮氨酸 羟脯氨酸	Leu\Ile Pro-OH	69.03~264.16
蛋氨酸	Met	6.28~34.33
鸟氨酸	Orn	41.82~243.68
苯丙氨酸	Phe	23.98~79.49
脯氨酸	Pro	81.37~290.44
酪氨酸	Tyr	30.54~214.45
缬氨酸	Val	65.59~233.32
肉碱		
游离肉碱	C0	10 ¹ ~48.94 ¹
乙酰肉碱	C2	4.53~40.71
丙酰基肉碱	C3	0.41~4.75
丙二酰肉碱 3-羟基丁酰肉碱	C3DC C4OH	0.03~0.33
丁酰肉碱	C4	0.07~0.38
丁二酰肉碱 3-羟基-异戊酰肉碱	C4DC C5OH	0.1~0.5
异戊酰肉碱	C5	0.03~0.27
异戊烯酰肉碱	C5:1	0~0.02
戊二酰肉碱 3-羟基己酰肉碱	C5DC C6OH	0.02~0.13

¹ C0 的下限参照相关文献和临床试验数据，调整为 10 $\mu\text{mol/L}$

分析物	缩写	参考范围 ($\mu\text{mol/L}$)
己酰肉碱	C6	0.01~0.09
己二酰肉碱	C6DC	0.01~0.11
辛酰肉碱	C8	0.02~0.12
辛烯酰肉碱	C8:1	0.02~0.25
癸酰肉碱	C10	0.02~0.2
癸烯酰肉碱	C10:1	0.01~0.14
癸二烯酰肉碱	C10:2	0~0.03
十二碳酰肉碱	C12	0.02~0.22
十二碳烯酰肉碱	C12:1	0.01~0.16
十四碳酰肉碱	C14	0.05~0.32
十四碳烯酰肉碱	C14:1	0.02~0.21
十四碳二烯酰肉碱	C14:2	0.01~0.04
3-羟基-十四碳酰肉碱	C14OH	0~0.03
十六碳酰肉碱	C16	0.76~6.05
十六碳烯酰肉碱	C16:1	0.03~0.37
3-羟基-十六碳酰肉碱	C16OH	0~0.04
3-羟基-十六碳烯酰肉碱	C16:1OH	0.01~0.06
十八碳酰肉碱	C18	0.27~1.52
十八碳烯酰肉碱	C18:1	0.6~2.55
十八碳二烯酰肉碱	C18:2	0.06~0.68
3-羟基-十八碳酰肉碱	C18OH	0~0.02
3-羟基-十八碳烯酰肉碱	C18:1OH	0.01~0.04
3-羟基-十八碳二烯酰肉碱	C18:2OH	0~0.03
二十碳酰肉碱	C20	0.01~0.06
二十二碳酰肉碱	C22	0~0.02
二十四碳酰肉碱	C24	0~0.04
二十六碳酰肉碱	C26	0~0.02

分析物	缩写	参考范围 ($\mu\text{mol/L}$)
酮		
琥珀酰丙酮	SA	0.00~0.71
腺苷		
腺苷	ADO	0.15~1.55
2'-脱氧腺苷	D-ADO	0.00~0.02
溶血卵磷脂		

分析物	缩写	参考范围 ($\mu\text{mol/L}$)
二十碳溶血卵磷脂	C20:0-LPC	0.05~0.43
二十二碳溶血卵磷脂	C22:0-LPC	0.02~0.32
二十四碳溶血卵磷脂	C24:0-LPC	0.12~0.73
二十六碳溶血卵磷脂	C26:0-LPC	0.05~0.4

在实际的临床应用中，除了分析物本身的浓度值外，不同分析物的比例值在某些情况下也具有一定的参考意义。下表按百分位 0.5%~99.5% 统计了相关比例值的参考范围，可用于辅助判断或分析。

表 8 试剂盒检测物比值的参考范围

分析物比值	参考范围	
百分位	0.5%	99.5%
Phe/Tyr	0.21	1.38
Cit/Phe	0.12	0.60
Cit/Arg	0.26	7.34
Cit/Orn	0.05	0.28
Met/Phe	0.16	0.73
Met/Cit	0.49	3.35
Leu/Phe	1.65	5.04
Leu/Ala	0.28	0.96
Val/Phe	1.61	4.46
Arg/Phe	0.03	1.13
Arg/Orn	0.01	0.49
Pro/Phe	1.71	6.93
Glu/Cit	7.69	60.91
C4/C2	0.00	0.03
C4/C3	0.04	0.30
C4/C8	1.25	8.06
C8/C2	0.00	0.01

分析物比值	参考范围	
C8/C10	0.46	1.50
C14:1/C16	0.01	0.07
C0/(C16+C18)	2.45	22.45
C3/C2	0.04	0.25
C3/Met	0.03	0.31
C3/C0	0.02	0.22
C3/C16	0.21	2.06
C5/C0	0.00	0.01
C5/C2	0.00	0.02
C5/C3	0.02	0.21
C5DC/C8	0.38	2.67
C5DC/C2	0.00	0.01
C5DC/C3	0.01	0.11
C5DC/C16	0.01	0.06
C5OH/C0	0.00	0.03
C5OH/C3	0.05	0.47
C5OH/C8	1.50	13.50
DADO/(ADO+DA DO)	0.00	0.08

【检验结果的解释】

每一个实验室应该进行试验性研究，从而确定其调查各自人群的每一种分析物的浓度分布。推荐参阅

CLSI 文件 C28-A3 来决定试验研究调查人群的数量。应根据统计学测量值（例如百分比、平均值和标准差）并咨询代谢性疾病专家，他们能够根据疾病的发生率、疾病严重程度以及已知阳性病人的常规情况提供附加指导。应使用试剂盒进行试验性研究从而首先预定 cutoff 值，再根据该 cutoff 值来确定推断各项分析物的浓度分布。如有可能，应检测已知患病病人的样本（真阳性），从而为确定保守的异常 cutoff 值和边界 cutoff 值提供辅助指导。由于每个实验室获得的样本和经确认的推断阳性结果的数目很大，建议定期依据这些信息重新评估 cutoff 值。

推断阳性和推断阴性结果以及重复测试

推断阳性：

异常 cutoff 值以上（取下限时为低于 cutoff 值）的结果应视为推断阳性。样本检测结果表明一种或多种疾病或分析物为推断阳性时，建议使用原有方法对原有样本进行重新测试。处理及报告推断阳性结果时，请遵守当地规定和指导方针。

重复测试：

初次测试结果为推断阳性，如果重新测试的结果高于异常 cutoff 值时（取下限时为低于 cutoff 值），那么结果应视为推断阳性。处理及报告推断阳性结果时，请遵守当地规定和指导方针。如果重新测试的结果低于（取下限时为高于）异常 cutoff 值时，报告结果时应综合考虑获得的所有数据（初次测试与重新测试的结果）并且应根据本地规定与指导方针报告结果。

推断阴性：

如果标本的全部初次结果都低于（取 cutoff 值下限时为高于）所有异常 cutoff 值时，可将结果视为推断阴性（或低风险）并做出相应报告。

【检验方法的局限性】

已知的可能导致测试结果异常的条件包括：

- 样品点并未被血均匀浸透
- 打冲样本时采样点太靠近血斑的边缘
- 样本收集或晾干过程中处置不当
- 由于样本受热受潮，不能洗脱血斑
- 血斑降解
- 血斑滤纸受排泄物污染

已知的检测方法局限性包括：

- 对于 Asa 极高浓度的样本，可能对下一测试产生残留影响（如试剂盒中的高水平质控）。
- Asa 和 SA 在本试剂盒中的回收率较低，测值不能代表其精确浓度。但由于它们的精密性良好，且临床应用时各机构应根据建立相关的参考范围，对临床检测及判定影响较小。
- 鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺乏症 (OTCD) 是一种 X-连锁疾病，本产品中的分析物指标只适用于男性 OTCD 患儿的检测，并不适用于女性患者（或有较大风险漏检）。

【产品性能指标¹】

本节内出现的数据为本试剂盒研制过程中获得的典型性能。其中各适用仪器在表格中使用如下简称：

Waters TM ACQUITY I-X 超高效液相色谱串联质谱系统 ²	Xevo
QSight 210MD 三重四极杆质谱系统	210MD
API 3200MD TM 三重四极杆质谱仪	3200MD
AB SCIEX Triple Quad TM 4500MD 液相色谱串联质谱检测系统	4500MD
Waters TM Acquity TQD 超高效液相色谱串联质谱系统	TQD

线性³

在各分析物的线性范围内，所有分析物的线性回归系数 (R) 不低于 0.99。

表 9 各分析物线性范围 ($\mu\text{mol/L}$)

分析物	线性范围 ⁴	线性回归 $R \geq 0.99$				
		Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TQD
丙氨酸 (Ala)	335~1108	0.9983	0.9945	0.9989	0.9991	0.9996
精氨酸 (Arg)	8.5~393	0.9999	0.9998	0.9995	0.9999	0.9995
精氨琥珀酸 (Asa)	0.15~42.8	0.9998	0.9995	0.9986	0.9994	0.9997
瓜氨酸 (Cit)	21.7~579	0.9999	0.9976	0.9984	0.9996	0.9965
谷氨酰胺 (Gln)	515~2418	0.9998	0.9963	0.9984	0.9993	0.9995
甘氨酸 (Gly)	371~2915	0.9996	0.9976	0.9984	0.9998	0.9997
亮氨酸 (Leu)	180~935	0.9998	0.9976	0.9987	0.9992	0.9995
蛋氨酸 (Met)	15.4~724	0.9999	0.9985	0.9993	0.9998	0.9995
鸟氨酸 (Orn)	112~945	0.9998	0.9984	0.9991	0.9998	0.999
苯丙氨酸 (Phe)	63.7~1140	0.9999	0.9987	0.9989	0.998	0.9993
脯氨酸 (Pro)	56.0~1455	0.9999	0.9993	0.9994	0.9998	0.9996
酪氨酸 (Tyr)	196~1404	0.9999	0.9972	0.9989	0.9996	0.9994
缬氨酸 (Val)	180~935	0.9998	0.9976	0.9987	0.9992	0.9995
游离肉碱 (C0)	21.3~382	0.9999	0.9983	0.9986	0.9998	0.9965
乙酰肉碱 (C2)	12.4~85.0	0.9997	0.9986	0.9989	0.9995	0.9999
丙酰肉碱 (C3)	1.18~60.2	0.9998	0.9981	0.9992	0.9998	0.9998
丁酰肉碱 (C4)	0.14~9.72	0.9998	0.9988	0.9989	0.9999	0.9999
异戊酰肉碱 (C5)	0.08~20.2	1.0000	0.9991	0.9994	0.9998	0.9985
戊二酰肉碱 (C5DC)	0.05~7.88	0.9997	0.9976	0.9989	0.9999	0.9995
己酰肉碱 (C6)	0.04~7.38	0.9999	0.9987	0.9994	0.9999	0.9995

¹ 分析性能中所展现的具体数据来源于一次典型实验结果

² 该机型为主机型，部分性能仅在主机型上验证

³ 使用企业线性参考品（5个浓度）进行验证测试

⁴ 此表中的线性下限为测试所用批次企业线性参考品的内源浓度水平，不同批次或临床样本的内源水平会有一定波动

分析物	线性范围 ⁴	线性回归 R≥0.99				
		Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TQD
辛酰肉碱 (C8)	0.06~15.1	0.9999	0.9992	0.9994	0.9999	0.9995
癸酰肉碱 (C10)	0.08~7.36	0.9998	0.998	0.9997	0.9999	0.9992
十二碳酰肉碱 (C12)	0.03~6.27	0.9999	0.9982	0.9987	0.9998	0.9999
十四碳酰肉碱 (C14)	0.10~8.62	0.9999	0.9989	0.9993	0.9998	1.0000
十六碳酰肉碱 (C16)	1.21~61.45	0.9996	0.9951	0.9976	0.9978	0.9997
十八碳酰肉碱 (C18)	0.60~12.0	0.9999	0.9981	0.9991	0.9996	0.9994
二十六碳酰肉碱 (C26)	0.02~2.10	0.9997	0.9995	0.9994	0.9999	0.9998
琥珀酰丙酮 (SA)	0.12~51.6	0.9994	0.9993	0.9997	0.9999	0.9998
腺苷 (ADO)	0.35~17.3	0.9998	0.9998	0.9996	0.9993	0.9993
二十六碳溶血卵磷脂 (C26:0-LPC)	0.23~3.02	0.9995	0.9937	0.9989	0.9998	0.9992

灵敏度¹

使用内标品及其 17 组稀释液对灵敏度样本进行萃取测试，对于每一个浓度内标液（或稀释液），当其 CV 和连续 4 组浓度的线性均符合要求时，取最大稀释梯度的内标工作液浓度作为功能灵敏度。每种待测分析物的功能灵敏度应不高于表 10 中相应的分析物典型内源浓度水平²。

表 10 典型内源浓度水平和功能灵敏度 (μmol/L)

分析物	典型内源水平 (μmol/L)	功能灵敏度≤典型内源水平 (μmol/L)				
		Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TQD
丙氨酸 (Ala)	332	0.0028	0.0446	0.0007	0.0007	0.0223
精氨酸 (Arg)	16.6	0.0124	0.0031	0.0015	0.0015	0.0248
精氨琥珀酸 (Asa)	0.14	0.0124	0.0031	0.0008	0.0008	0.0248
瓜氨酸 (Cit)	17.0	0.0077	0.0154	0.0308	0.0308	0.0308
谷氨酰胺 (Gln)	617	0.0048	0.0773	0.0012	0.0012	0.0193
甘氨酸 (Gly)	505	0.1028	0.2055	0.0514	0.0514	0.1028
亮氨酸 (Leu)	142	0.0012	0.0750	0.0003	0.0003	0.0188
蛋氨酸 (Met)	31.7	0.0188	0.0750	0.0047	0.0047	0.0094
鸟氨酸 (Orn)	88.9	0.0405	0.1620	0.0405	0.0405	0.0203
苯丙氨酸 (Phe)	91.0	0.0008	0.0267	0.0001	0.0001	0.0008
脯氨酸 (Pro)	140	0.0020	0.0644	0.0005	0.0005	0.0040
酪氨酸 (Tyr)	107	0.0053	0.0026	0.0013	0.0013	0.0053
缬氨酸 (Val)	123	0.0025	0.0203	0.0001	0.0001	0.0051
游离肉碱 (Co)	40.5	0.0042	0.0042	0.0001	0.0001	0.0042
乙酰肉碱 (C2)	19.1	0.0000	0.0002	0.0000	0.0000	0.0001
丙酰肉碱 (C3)	3.12	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
丁酰肉碱 (C4)	0.58	0.0002	0.0002	0.0001	0.0001	0.0000

¹ 此处灵敏度为功能灵敏度

² 测试结果在不高于典型内源浓度的范围内，可能因实验环境不同而存在偏差

分析物	典型内源水平 ($\mu\text{mol/L}$)	功能灵敏度≤典型内源水平 ($\mu\text{mol/L}$)				
		Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TQD
异戊酰肉碱 (C5)	0.31	0.0001	0.0001	0.0000	0.0000	0.0011
戊二酰肉碱 (C5DC)	0.10	0.0003	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
己酰肉碱 (C6)	0.19	0.0002	0.0009	0.0001	0.0001	0.0009
辛酰肉碱 (C8)	0.23	0.0002	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001
癸酰肉碱 (C10)	0.17	0.0001	0.0001	0.0000	0.0000	0.0001
十二碳酰肉碱 (C12)	0.41	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
十四碳酰肉碱 (C14)	0.34	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001
十六碳酰肉碱 (C16)	3.46	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
十八碳酰肉碱 (C18)	0.99	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
二十六碳酰肉碱 (C26)	0.01	0.0000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0000
琥珀酰丙酮 (SA)	0.47	0.0029	0.0116	0.0007	0.0007	0.0058
腺苷 (ADO)	0.36	0.0010	0.0005	0.0001	0.0001	0.0005
二十六碳溶血卵磷脂 (C26:0-LPC)	0.15	0.0002	0.0036	0.0009	0.0009	0.0036

准确度（回收率）

通过在基质样本中加入已知高浓度样本计算回收率，所有质控类分析物的回收率如下表所示：

表 11 各分析物的回收率

分析物	回收率				
	Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TQD
丙氨酸 (Ala)	109%	78%	99%	77%	71%
精氨酸 (Arg)	103%	85%	103%	80%	101%
游离肉碱 (C0)	108%	94%	124%	103%	87%
精氨琥珀酸 (Asa)	14%	13%	18%	13%	12%
瓜氨酸 (Cit)	101%	98%	110%	89%	94%
谷氨酰胺 (Gln)	114%	120%	115%	88%	107%
甘氨酸 (Gly)	96%	109%	128%	95%	107%
亮氨酸 (Leu)	95%	93%	104%	83%	99%
蛋氨酸 (Met)	102%	101%	104%	85%	92%
鸟氨酸 (Orn)	86%	85%	92%	74%	87%
苯丙氨酸 (Phe)	98%	87%	106%	84%	96%
酪氨酸 (Tyr)	95%	86%	106%	87%	102%
缬氨酸 (Val)	109%	99%	109%	84%	108%
丙酰肉碱 (C3)	112%	132%	146%	129%	108%

分析物	回收率				
	Xevo	210MD	3200MD	4500MD	TCD
丁酰肉碱 (C4)	104%	118%	112%	93%	95%
异戊酰肉碱 (C5)	97%	104%	103%	86%	82%
戊二酰肉碱 (C5DC)	83%	103%	91%	91%	79%
己酰肉碱 (C6)	109%	118%	115%	97%	102%
辛酰肉碱 (C8)	116%	118%	118%	97%	102%
癸酰肉碱 (C10)	96%	109%	124%	102%	88%
十二碳酰肉碱 (C12)	103%	115%	113%	92%	93%
十四碳酰肉碱 (C14)	109%	117%	116%	93%	98%
十六碳酰肉碱 (C16)	107%	127%	132%	107%	107%
十八碳酰肉碱 (C18)	103%	119%	121%	96%	94%
二十六碳酰肉碱 (C26)	92%	95%	124%	109%	99%
琥珀酰丙酮 (SA)	44%	50%	56%	43%	46%
腺苷 (ADO)	116%	104%	112%	77%	96%
脯氨酸 (Pro)	97%	86%	98%	78%	88%
乙酰肉碱 (C2)	109%	144%	125%	106%	102%
二十六碳溶血卵磷脂 (C26:0-LPC)	107%	97%	132%	88%	112%

以主机型为例，除 Asa 和 SA 外，其他质控分析物的回收率应在 80%~120% 之间，SA 回收率 44%，而 Asa 回收率 14%。这是因为 SA 经过了盐酸肼衍生处理，Asa 因在计算时包含了精氨琥珀酸及其酸酐，使得两者的回收率不准确。

虽然 Asa 和 SA 的回收率较低，但由于使用了稳定浓度的内标，且质控品同步参与样本前处理过程，因此在各实验室进行测量质量控制及建立相应参考范围的情况下，仍可区分推断正常和推断异常样本。

精密度

使用正常内源水平样本、医学决定水平样本和临床高值水平样本进行测试。测试结果表明，除 Asa, SA 和 C26:0-LPC 的内源水平样本之外，其他所有分析物的各浓度水平的 CV 均不超过 25%。

Asa, SA 和 C26:0-LPC 因其内源水平很低，导致测试变异较大。对这些分析物，因其高浓度结果对临床诊断才有意义，而其医学决定水平和高值水平的样本精密性均满足要求，故不影响其临床应用。

样品残留

非衍生串联质谱测试的样品残留通过运行一系列试验定性，试验中首先测量高浓度水平样品，随后紧接着测量低浓度水平样品或内源水平样品。

测试表明，除 Asa, Val 之外，其他分析物的低浓度水平样品均能返回到正常内源水平。

Asa 极高浓度样本会对下一样本的测试产生影响，因此在测试过程中应使用推荐的布板方式，以避免高水平质控品对测试样本的影响。

对于临床样本，若出现 Asa 测值极高的情况，应观察是否对后一测试产生影响。根据已有的临床评价数据，Asa 出现极高浓度的情况几乎不可能出现，因此样本残留导致假阳性的风险极低。

Val 与 Asa 类似，但其残留的影响更小，因样本残留导致假阳性的风险同样是极低的。

经综合评估，样本残留不会对试剂盒的临床应用产生影响。

漂移

试剂盒的漂移评估通过分析若干个微孔板，包含内源水平、高低水平质控样本，在经历最长约 36 小时之后，不同浓度样本的总精密度均在 25% 以内，质控品测试均在靶值的 $\pm 3\text{SD}$ 范围内，说明第一块板和最后一块板之间的漂移不会影响试剂盒的功能性检测。

干扰

对以下潜在干扰物质研究结果如下：

序号	内外源干扰物质	干扰物性质来源	被干扰分析物	验证浓度
1	非结合胆红素	内源丰度	/	0.150 g/L
2	甘油三酯	内源丰度	/	10 g/L
3	血红蛋白	内源丰度	/	120-220 g/L
4	骨化二醇	食物添加剂	/	250 nmol/L
5	对乙酰氨基酚	儿童药物	/	55 mg/L
6	L-谷氨酸	非必须氨基酸	Gln	3000 $\mu\text{mol}/\text{L}$
7	肌氨酸	代谢产物	Ala	125 $\mu\text{mol}/\text{L}$
8	肌酸	代谢产物	Leu	6000 $\mu\text{mol}/\text{L}$
9	L-天冬酰胺	非必须氨基酸	Orn	1500 $\mu\text{mol}/\text{L}$
10	L-赖氨酸	非必须氨基酸	Gln	2000 $\mu\text{mol}/\text{L}$
11	L-蛋氨酸砜	代谢产物	Tyr	500 $\mu\text{mol}/\text{L}$
12	白蛋白	内源丰度	ADO	30 g/L
13	利多卡因	儿童药物	C4	38.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$
14	D617 (维拉帕米代谢物)	儿童药物	Asa	2.23 $\mu\text{mol}/\text{L}$
15	γ-氨基丁酸	内源丰度	Pro	375 $\mu\text{mol}/\text{L}$
16	亚胺甲基谷氨酸	代谢产物	/	37.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$
17	O-乙酰基-L-丝氨酸	食物来源	/	1000 $\mu\text{mol}/\text{L}$
18	2,5-二羟基苯甲酸	儿童药物	/	127 $\mu\text{mol}/\text{L}$
19	普萘洛尔	儿童药物	/	7.74 $\mu\text{mol}/\text{L}$
20	4-氨酰安替比林	儿童药物	/	500 $\mu\text{mol}/\text{L}$
21	牛磺石胆酸	内源丰度	/	30.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$
22	DL-羟基丁二酸	常用食物添加剂	/	3000 $\mu\text{mol}/\text{L}$
23	6-氨基己酸	儿童药物	/	6.07 $\mu\text{mol}/\text{L}$
24	葡萄糖酸氯己定	消毒剂		0.04%

说明：

肌氨酸在高于 125 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时 会对 Ala 造成干扰，正常新生儿中肌氨酸的浓度基本为 0，只有肌氨酸血症的新生儿才有高浓度的水平，故新生儿检测中肌氨酸对 Ala 的影响较小。

天冬酰胺浓度高于 1500 $\mu\text{mol/L}$ 可能会导致 Orn 的假阳性结果。新生儿 0~1 个月时天冬酰胺的参考血浆水平为 29-132 $\mu\text{mol/L}$ ，因此，该浓度的天冬酰胺不影响常规检测。

由于 Lys（赖氨酸）是 Gln（谷氨酰胺）的同分异构体，且与谷氨酸（Glu）分子量相近，它是 Gln 和 Glu 的潜在干扰物。2000 $\mu\text{mol/L}$ 以下浓度的赖氨酸对 Glu 没有干扰，不影响 Glu 的常规检测；500 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的赖氨酸对 Gln 有明显干扰，故试剂盒不能区分 Gln 和 Lys，且将 Gln 和 Lys 合并在一起进行检测。

氨基酸衍生物 L-蛋氨酸砜会干扰 Tyr 浓度的测定。500 $\mu\text{mol/L}$ 的 L-蛋氨酸砜浓度并未导致 Tyr 的假阳性筛选结果。由于蛋氨酸砜是蛋氨酸亚砜的氧化产物，而蛋氨酸亚砜是蛋氨酸（Met）的产物，因此最高浓度的蛋氨酸砜不应超过 0~1 岁婴儿中 Met 的正常水平（10-60 $\mu\text{mol/L}$ ）。

白蛋白在低于 30 g/L 时，不干扰医学决定水平浓度附近样本中 ADO 浓度的测定。新生儿白蛋白在血清或血浆的浓度是 28-47 g/L，对应全血中白蛋白的浓度为 14-24 g/L，该浓度的白蛋白不影响常规检测。

利多卡因在浓度高于 38.4 $\mu\text{mol/L}$ 时可能引起 C4 筛检假阴性结果。利多卡因是一种用于麻醉组织的药物。如果消毒剂标本采集时用含利多卡因擦拭新生儿脚跟，有少量利多卡因有可能被携带到标本中。但是，这种化合物在皮肤处理后的残留量只是有限的一小部分，干扰水平越低，干扰的可能性越小。血浆中利多卡因的治疗浓度范围为 5.1-25.6 $\mu\text{mol/L}$ 。浓度超过 25.6 $\mu\text{mol/L}$ 被报告为毒性。因此，该浓度的利多卡因不影响常规检测。

D617 是钙通道阻滞剂维拉帕米的代谢物。结果表明，2.23 $\mu\text{mol/L}$ 的 D617 浓度可能导致 Asa 的筛检结果假阳性。维拉帕米的血浆治疗浓度范围为 0.11-1.32 $\mu\text{mol/L}$ 。D617 经研究发现大约 20% 的口服剂量排泄到尿液中^[43]，即血液中 D617 整体水平上不会超过 2.23 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度。因此该浓度的维拉帕米代谢物 D617 不影响 Asa 的常规检测。然而，在怀孕补给或母乳喂养时添加维拉帕米代谢物，新生儿可能会检出 Asa 阳性。

Orn 浓度在高于 375 $\mu\text{mol/L}$ 时对内源水平样本中的 Pro 产生干扰。Orn 和 Pro 的参考值上限浓度分别为 243.68 $\mu\text{mol/L}$ 和 290.44 $\mu\text{mol/L}$ ，Orn 在 243.68 $\mu\text{mol/L}$ 时，并未对内源水平和医学决定水平浓度附近样本中的 Pro 产生干扰，故该浓度的 Orn 并不影响 Pro 的常规检测。

临床评价

本产品已在国内 4 家机构进行了 21082 例前瞻性和回顾性样本的研究，结果覆盖了产品所涉及的 5 大类疾病。下表展现了使用试剂盒参考区间，根据各疾病首要指标进行判定后相对于临床诊断结果的对比情况：

疾病类别	AA	FAO	OA	ADA-SCID	X-ALD
灵敏度	100%	100%	100%	/	/
特异度	95.36%	97.69%	96.89%	99.96%	100%
假阳性率	4.64%	2.31%	3.11%	0.04%	0

假阴性率	0	0	0	/	/
阳性似然比	21.54	43.35	32.17	/	/
阴性似然比	0	0	0	/	/
阳性预测值	0.51%	1.03%	1.22%	0	0
阴性预测值	100%	100%	100%	100%	100%

在本产品实际应用中，各机构不仅会根据首要指标对应的参考范围，同时也会兼顾参考次要指标、相关分析物的比值情况以及疾病的临床发病率等临床应用情况，以此将样本分为推断异常或推断正常。

下表展现了前瞻性样本以此方式进行判定后相对于临床诊断结果的对比情况：

性能指标	AA	FAO	OA	ADA-SCID	X-ALD
灵敏度	100%	100%	100%	/	/
特异度	98.93%	99.62%	99.50%	100%	100%
假阳性率	1.07%	0.38%	0.50%	0	0
假阴性率	0	0	0	/	/
阳性似然比	93.08	263.94	200.46	/	/
阴性似然比	0	0	0	/	/
阳性预测值	2.18%	5.95%	7.14%	0	0
阴性预测值	100%	100%	100%	100%	100%

从以上结果可以看出，本试剂盒与临床诊断结果相比，具有较好的检测性能。各研究机构在已有参考范围基础上，结合相关指标将有助于提高结果的准确性。

【注意事项】

本试剂盒应该由经过充分培训的操作人员使用。

本公司提供有关检测方法及所需设备方面的培训课程。我们强烈建议用户在实验室开始此项检测前参加这个课程。

与本试剂盒配套使用的所有设备的维护工作必须由专业技术人员进行。

请将所有病人标本作为潜在传染源处理。

处理试剂时，即流动相溶剂和萃取溶液，应遵守当地规则。

戴上适当的眼睛防护装置、防护性服装及可防处理中的化学品的手套。溶剂处理过程中，要使用化学通风橱，并保证按照仪器生产商的规则正确排放来自质谱系统的废气。同时保证实验室内有适当的通风。绝对不能将来自质谱系统的废气直接释放到房间中。

【标识的解释】

IVD	体外诊断试剂	REF	品号
	小心轻放	LOT	批号
ORIG HUM HUMAN ORIGIN	人源物料		生产商
	防潮		生产日期
	保存温度		失效日期
	参见说明书		产品规格 (人份)
	向上摆放		可回收
	避光		避光避热保存
	避光		复溶 (体积)
	腐蚀性		危害性
	易燃性		有毒性

【参考文献】

1. Nyhan, W.L. and Ozand, P.T. (1998): Atlas of Metabolic Diseases, 1st ed. Chapman & Hall, UK.f
2. Naylor, E.W. and Chace, D.H. (1999): Automated Tandem Mass Spectrometry for Mass Newborn Screening for Disorders in Fatty Acid, Organic Acid, and Amino Acid Metabolism. J. Child Neurol., 14 Suppl. 1, S4–8.
3. Chace, D.H., DiPerna, J.C., and Naylor, E.W. (1999): Laboratory integration and utilization of tandem mass spectrometry in neonatal screening: a model for clinical mass spectrometry in the next millennium. Acta Paediatr. 88 (432), 45–47.
4. Hannon, W.H., Grosse, S.D. (2001): Using tandem mass spectrometry for metabolic disease screening among newborns. A report of a workgroup, MMWR, 50, RR-3, April 13, 2001.
5. Rashed, M.S., Bucknall, M.P., Little, D., Awad, A., Jacob, M., Almouadi, M., Alwattar, M., and Ozand, P.T. (1997): Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles. Clin. Chem. 43 (7), 1129–1141.

6. Hardy, D.T. (1999): Technological developments: development of tandem mass spectrometry for neonatal screening. West Midlands regional laboratory for neonatal screening and inherited metabolic disorders, The Birmingham Children's Hospital, NHS Trust, Steelhouse Lane, Birmingham, England B4 6NH.
7. Rashed, M.S. (2001): Clinical applications of tandem mass spectrometry: ten years of diagnosis and screening for inherited metabolic diseases. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 758 (1), 27–48.
8. Chace, D.H., Kalas, T.A., and Naylor, E.W. (2002): The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 3, 17–45.
9. Jones, P.M. and Bennett, M.J. (2002): The changing face of newborn screening: diagnosis of inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta* 324 (1–2), 121–128.
10. Wilcken, B., Wiley, V., Hammond, J., and Carpenter, K. (2003): Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *The New Eng. J. Med.* 348 (23), 2304–2312.
11. Chace, D.C. and Kalas, T.A. (2004): A biochemical perspective on the use of tandem mass spectrometry for newborn screening and clinical testing. *Clin. Biochem.* 38 (4), 296–309.
12. James, P.M. and Levy, H.L. (2006): The clinical aspects of newborn screening: importance of newborn screening follow-up. *Ment. Retard. Dev. Disabil.* 12 (4), 246–254.
13. Allard, P., Grenier, A., Korson, M.S., and Ztykovicz, T.H. (2004): Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia by tandem mass spectrometry: analysis of succinylacetone extracted from dried blood spots. *Clin. Biochem.* 37 (11), 1010–1015.
14. Magera, M.J., Gunawardena, N.D., Hahn, S.H., Tortorelli, S., Mitchell, G.A., Goodman, S.I., Rinaldo, P., and Materi, D. (2006): Quantitative determination of succinylacetone in dried blood spots for newborn screening of tyrosinemia type I. *Mol. Genet. Metab.* 88 (1), 16–21.
15. Chace, D.H., Millington, D.S., Terada, N., Kahler, S.G., Roe, C.R., and Hofmann, L.F. (1993): Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis of phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 39, 66–71.
16. Trinh, M.-U., Blake, J., Harrison, J.R., Gerace, R., Ranieri, E., Flether, J.M. and Johnson, D.W. (2003): Quantification of glutamine in dried blood spots and plasma by tandem mass spectrometry for the biochemical diagnosis and monitoring of ornithine transcarbamylase deficiency. *Clin. Chem.* 49 (4), 681–684.
17. Cavicchi, C., Malvagia, S., la Marca, G., Gasperini, S., Donati, M.A., Zammarchi, E., Guerrini, R., Morrone, A. And Pasquini, E. (2009): Hypocitrullinemia in expanded newborn screening by LC–MS/MS is not a reliable marker for ornithine transcarbamylase deficiency. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 49, 1292–1295.
18. De Biase, I., Liu, A., Yuzyuk, T., Longo, N. and Pasquali, M. (2015): Quantitative amino acid analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Implications for the diagnosis of argininosuccinic aciduria. *Clinica Chimica Acta* 442, 73–74.
19. Azzari, C., la Marca, G. and Resti, M. (2011): Neonatal screening for severe combined immunodeficiency caused by an adenosine deaminase defect: A reliable and inexpensive method using tandem mass spectrometry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127 (6), 1394–1399.
20. la Marca, G., Canessa, C., Giocaliere, E., Romano, F., Duse, M., Malvagia, S., Lippi, F., Funghini, S., Bianchi, L., Della Bona, M.L., Valleriani, C., Ombrone, D., Moriondo, M., Villanelli, F., Speckmann, C., Adams, S., Gaspari, B.H., Hershfield, M., Santisteban, I., Fairbanks, L., Ragusa, G., Resti, M., de

- Martino, M., Guerrini, R. and Azzari, C. (2013): Tandem mass spectrometry, but not T-cell receptor excision circle analysis, identifies newborns with late-onset adenosine deaminase deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.* 131 (6), 1604–1610.
21. Turgeon, C.T., Moser, A.B., Mørkrid, L., Magera, M.J., Gavrilov, D.K., Oglesbee, D., Raymond, K., Rinaldo, P., Matern, S. and Tortorelli, S. (2015): Streamlined determination of lysophosphatidylcholines in dried blood spots for newborn screening of X-linked adrenoleukodystrophy. *Mol. Genet. Metab.* 114 (1), 46–50.
22. Theda, C., Gibbons, K., DeFor, T.E., Donohue, P.K., Golden, W.C., Kline, A.D., Gulamali-Majid, F., Panny, S.R., Hubbard, W.C., Jones, R.O., Liu, A.K., Moser, A.B. and Raymod, G.V. (2014): Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy: Further evidence high throughput screening is feasible. *Mol. Genet. Metab.* 111 (1), 55–57.
23. Chace, D.H., Hillman, S.L., Van Hove, J.L.K., and Naylor, E.W. (1997): Rapid Diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 43 (11), 2106–2113.
24. Van Hove, J.L.K., Kahler, S.G., Feezor, M.D., Ramakrishna, J.P., Hart, P., Treem, W.R., Shen, J.J., Matern, D., and Millington, D.S. (2000): Acylcarnitines in plasma and blood spots of patients with long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* 23, 571–582.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (2013): Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Sixth Edition; CLSI Document NBS01-A6. CLSI, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.
26. Strnadová K.A., Holub, M., Mühl, A., Heinze, G., Ratschmann, R., Mascher, H., Stöckler-Ipsiroglu, S., Waldhauser, F., Votava, F., Lebl, J., and Bodamer, O.A. (2007): Long-Term Stability of Amino Acids and Acylcarnitines in Dried Blood Spots. *Clin. Chem.* 53, 717–722.
27. Schulze, A., Linder, M., Kohlmuller, D., Olgemoller, K., Mayatepek, E., Hoffmann, G.F. (2003): Expanded Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism By Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry: Results, Outcome, and Implications. *Pediatrics* 111, 1399–1406.
28. Zytkovicz, T.H., Fitzgerald, E.F., Marsden, D., Larson, C.A., Shih, V.E., Johnson, D.M., Strauss, A.W., Comeau, A.M., Eaton, R.B. and Grady, G.F. (2001): Tandem Mass Spectrometric Analysis for Amino, Organic, and Fatty Acid Disorders in Newborn Dried Blood Spots: A Two-Year Summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin. Chem.* 47 (11), 1945–1955.
29. Soldin, S. J. et al. (2011). Pediatric Reference Intervals, 7th edition, AACC Press, Washington DC, USA.
30. Carducci, C. et al. (2006): Quantitative determination of guanidinoacetate and creatine in dried blood spot by flow injection analysis-electrospray tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta* 364, 180–187.
31. Lee, S.-Y. et al. (2006): A Report of Two Families with Sarcosinaemia in Hong Kong and Revisiting the Pathogenetic Potential of Hypersarcosinaemia. *Ann. Acad. Med. Singapore* 35, 582–584.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：苏州新波生物技术有限公司
住 所：江苏省太仓经济开发区太平北路 115 号
联系方式：
售后服务单位名称：
联系方式：

传真号码:

网 址:

生产地址:江苏省太仓经济开发区太平北路 115 号

生产许可证编号:

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】