

XÁC NHẬN PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC 6 BỆNH RỐI LOẠN DỰ TRỮ THỂ TIÊU BÀO TRÊN HỆ THỐNG QSIGHT 210MD CỦA PERKIN ELMER

Vũ Thị Tú Uyên^{1✉}, Trần Thị Chi Mai^{1,2}, Nguyễn Thị Huệ¹

¹Bệnh viện Nhi Trung ương

²Trường Đại học Y Hà Nội

Xác nhận phương pháp là việc làm bắt buộc để đưa ra một kết quả xét nghiệm đáng tin cậy. Đề tài được tiến hành với mục tiêu xác nhận quy trình kỹ thuật sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào bằng phương pháp đo hoạt độ 6 enzyme trong giọt máu thấm khô trên hệ thống QSight 210MD của Perkin Elmer. Nghiên cứu sử dụng vật liệu nội kiểm và kit NeoLSD™ MSMS của hãng Perkin Elmer để tiến hành thực nghiệm đánh giá độ chụm và độ đúng, tiêu chuẩn chấp nhận áp dụng theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI. Kết quả: Độ đúng, độ chụm của xét nghiệm đều nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất, giá trị trung bình quan sát nằm trong khoảng xác nhận. Độ chụm và độ đúng của xét nghiệm đo hoạt độ 6 enzyme trong điều kiện Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương được xác nhận phù hợp theo công bố của nhà sản xuất, xét nghiệm đảm bảo độ tin cậy, có thể sử dụng cung cấp dịch vụ sàng lọc sơ sinh.

Từ khóa: LSDs, ABG, ASM, GAA, GALC, GAL, IDUA, xác nhận phương pháp, EP15-A3.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào (LSDs) là một nhóm bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh gây ra bởi sự tích tụ glycolipid, oligosaccharide, mucopolysaccharide, sphingolipid và các cơ chất sinh học khác do khiếm khuyết của các enzyme lysosome gây ra.¹⁻³ Đến nay, đã có 70 bệnh LSDs được mô tả, trong đó các khiếm khuyết về enzyme chiếm gần 70% và phần còn lại là các khiếm khuyết về chất kích hoạt enzyme hoặc các protein liên quan.⁴ Khi được xem xét đơn lẻ, các bệnh LSDs rất hiếm gặp, tuy nhiên tỷ lệ mắc bệnh tổng hợp là từ 1/5000 đến 1/8000 trẻ sinh sống.⁵ Phương pháp điều trị các bệnh LSDs đã được nghiên cứu và mang lại hiệu quả tốt bao gồm: Liệu pháp thay thế enzyme, ghép tế bào gốc tạo máu, liệu pháp giảm chất nền... Để xác định cá nhân mắc

LSDs trong giai đoạn tiền triệu chứng, sàng lọc sơ sinh LSDs đã được thực hiện.⁶⁻⁸ Đo hoạt độ enzyme acid- β -glucocerebrosidase (ABG hoặc GBA), acid-sphingomyelinase (ASM), acid- α -glucosidase (GAA), β -galactocerebrosidase (GALC), α -galactosidase A (GLA) và α -L-iduronidase (IDUA) từ mẫu máu khô của trẻ sơ sinh giúp sàng lọc phát hiện các bệnh rối loạn chuyển hóa tương ứng Gaucher, Niemann-Pick A/B, Pompe, Krabbe, Fabry và MPS I đã thu hút nhiều sự quan tâm và ngày càng có nhiều bằng chứng chỉ ra rằng sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS) có thể vượt trội so với các thử nghiệm được thực hiện trước đó đối với LSDs.⁶

Hệ thống sàng lọc QSight 210MD của ung Perkin Elmer là dòng máy chuyên ung cho sàng lọc sơ sinh, có năng suất cao và tiết kiệm chi phí cho phòng xét nghiệm. Kit sàng lọc NeoLSD™ MSMS có thể sàng lọc đồng thời 6 bệnh LSDs khác nhau. Việc áp dụng triển khai kỹ thuật sàng lọc 6 bệnh LSDs tại Việt Nam là nhu cầu cần thiết. Để có thể triển khai kỹ thuật này cần

Tác giả liên hệ: Vũ Thị Tú Uyên

Bệnh viện Nhi Trung ương

Email: vu.tu.uyen.2008@gmail.com

Ngày nhận: 26/10/2023

Ngày được chấp nhận: 22/11/2023

phải xác nhận phương pháp trước khi đưa vào sử dụng. Vì vậy, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: Xác nhận quy trình kỹ thuật sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào bằng phương pháp đo hoạt độ 6 enzym trong giọt máu thấm khô bằng kit NeoLSD™ MSMS trên hệ thống QSight 210MD của Perkin Elmer.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chất liệu nghiên cứu: vật liệu kiểm tra chất lượng của hãng Perkin Elmer với 2 mức nồng độ khác nhau.

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Hệ thống sàng lọc QSight™ 210 MD Screening System (bao gồm một đầu dò tam tứ cực bán tự động giúp xác định các hợp chất trong mẫu bằng phương pháp ion hóa các chất và phân tách các ion thu được dựa trên tỉ lệ khối lượng điện tích và từ trường) và kit NeoLSD™ MSMS của hãng Perkin Elmer.

Địa điểm và thời gian: Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 1/2022 đến tháng 5/2022.

2. Phương pháp

Phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm.

Nguyên lý kỹ thuật: Hoạt độ enzym được đánh giá bằng cách đo sản phẩm tạo ra khi enzym phản ứng với cơ chất để tạo ra sản phẩm đặc hiệu. Sản phẩm của các chất chuẩn nội và enzyme được đo bởi phân tích dòng chảy - phép đo khối phổ (Flow Injection Analysis - Tandem Mass Spectrometry: FIA-MSMS) sử dụng MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Quy trình đo hoạt độ enzyme: Mẫu máu thấm khô được tách chiết và đo hoạt độ enzyme bằng kit hóa chất NeoLSD™ MSMS theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Quá trình chiết tách mẫu máu khô và phản ứng enzym diễn ra trong dung dịch ủ Cocktail.

Dung dịch nội chuẩn được pha theo hướng dẫn của nhà sản xuất và thêm vào dung dịch ủ Cocktail. Mẫu máu thấm khô (DBS) được cắt hình tròn đường kính 3,2mm vào các giếng tương ứng trên khay đáy chữ U. Thêm 30uL dung dịch Cocktail (chứa các nội chuẩn) vào mỗi giếng, ủ 18 ± 2 h ở nhiệt độ phòng trên máy lắc với tốc độ 400 vòng/phút. Thêm 100μL dung dịch Quench vào mỗi giếng, trộn đều. Chuyển tất cả chất lỏng từ mỗi giếng đáy chữ U vào giếng đáy chữ V. Thêm 400μL dung dịch dung dịch chiết xuất NeoLSD và 200μL nước (CLRW, CLSI) vào trộn đều, để hỗn hợp tách thành lớp nước và lớp hữu cơ. Sau đó chuyển 50μL lớp hữu cơ vào mỗi giếng khay đáy chữ U, làm khô. Thêm 100μL Flow Solvent vào mỗi giếng. Đặt khay bằng tấm nhôm để tránh bay hơi. Đưa khay đã được sấy khô vào vào hệ thống sàng lọc MSMS. Chạy phân tích MSMS theo chương trình PerkinElmer thiết lập.

Các dữ liệu trên máy QSight™ 210 MD Screening System được thu thập qua chế độ Multiple Reaction Monitoring (MRM) sử dụng phần mềm Simplicity™. Hoạt độ của enzym được tính bằng cách chia cường độ của sản phẩm enzym đo được cho cường độ của chất chuẩn nội trong mẫu theo công thức:

$$Ae = \{RRF * (P/IS) * [IS] * V\} / (3,1 * Ti)$$

Trong đó: P/IS là tỷ số giữa cường độ của mẫu cần đo/nội chuẩn, [IS] là nồng độ của chất chuẩn nội (μmol), V là thể tích mẫu (μl), Ti là thời gian ủ mẫu (h), RRF: là hệ số được giả định bằng 1.0.

Các thực nghiệm xác nhận phương pháp dựa theo hướng dẫn của CLSI-EP15A3.⁹

Nghiên cứu này sử dụng cùng 1 thực nghiệm để đánh giá độ chụm và độ đúng của phương pháp xét nghiệm theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI. Phân tích lặp lại trong mỗi ngày 5 lần hai mức vật liệu kiểm tra chất lượng (QC), tiến hành trong 5 ngày liên tiếp.

Xử lý số liệu

Sử dụng các thuật toán trong ANOVA và Excel.

Đánh giá độ chụm: Tính toán độ chụm ngắn hạn (S_R) và Độ chụm dài hạn (S_{WL}), so sánh với công bố của nhà sản xuất (σ_R , σ_{WL} , tương ứng). Tiêu chuẩn chất nhận: $S_R \leq \sigma_R$, $S_{WL} \leq \sigma_{WL}$. Trường hợp $S_R > \sigma_R$ hoặc $S_{WL} > \sigma_{WL}$ cần tính giới hạn xác minh trên cho độ tập trung ngắn hạn và độ tập trung dài hạn (UVL_R và UVL_{WL} , tương ứng). Tiêu chuẩn: $S_R \leq UVL_R$, $S_{WL} \leq UVL_{WL}$.

Đánh giá độ đúng: Tính toán thống kê để đưa ra khoảng giá trị tin cậy (khoảng giá trị xác nhận) của phương pháp. Nếu giá trị trung bình của vật liệu kiểm tra chất lượng nằm trong khoảng tin cậy hoặc khoảng xác nhận thì độ đúng của phòng xét nghiệm được xác nhận phù hợp với công bố của nhà sản xuất. Đánh giá độ chính xác: Tính toán giá trị trung bình (X), và khoảng xác nhận (VI). Tiêu chuẩn chấp nhận: X nằm trong khoảng xác nhận.

3. Đạo đức nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là mẫu QC, không phải là mẫu bệnh phẩm.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả đánh giá độ chụm của các xét nghiệm

Trong nghiên cứu, chúng tôi đã sử dụng phân tích ANOVA một chiều để tìm ra các ước tính độ chụm của các xét nghiệm trong lần chạy và giữa các lần chạy. Phân tích ANOVA một chiều được chuẩn bị bằng phần mềm tính toán ANOVA tự động. Độ chụm ngắn hạn và độ chụm dài hạn của các xét nghiệm đều nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất trừ độ chụm dài hạn của ASM và GAA lớn hơn công bố của nhà sản xuất (Bảng 1, 2).

2. Kết quả đánh giá độ đúng

Bước 1: Tính sai số chuẩn của trung bình

(se_x):

$$se_x = \sqrt{\frac{1}{nRun} \left[s_{WL}^2 - \left(\frac{nRep - 1}{nRep} \right) s_R^2 \right]}$$

Trong đó: $nRun = 5$, $nRep = 5$.

Bước 2: Sai số chuẩn của giá trị đích (se_{RM}) giả định là 0 khi vật liệu sử dụng là QC.

Bước 3: Tính sai số chuẩn kế thợp (se_c):

$$se_{RM} = 0 \text{ nên } se_c = se_x.$$

Bước 4: Tính bậc tự do kết hợp (df_c).

$$df_x = nRun - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$df_c = df_x = 4 \text{ (vì } se_c = se_x)$$

Bước 5: Cài đặt hệ số nhân với $\alpha = 0,05$ và 4 bậc tự do.

$$t_{1-\alpha/2, nSam, df_c} = t_{1-\alpha/4, 4} = t_{0,9875, 4} = 3,5$$

Bước 6: Tính khoảng xác nhận (VI – Verification interval):

$$VI = \text{Giá trị đích} \pm (3,5 \times se_c)$$

Kết quả đánh giá độ đúng có trong bảng 3.

IV. BÀN LUẬN

Xác nhận phương pháp xét nghiệm là việc cần phải tiến hành trước khi đưa các máy xét nghiệm vào sử dụng thường quy, sau khi có bất kì chỉnh sửa/cải tiến từ nhà sản xuất hoặc di chuyển thiết bị và tại các khoảng thời gian nhất định nhằm mục đích xác nhận các thông số kỹ thuật của phương pháp mà nhà sản xuất công bố là phù hợp với điều kiện thực tế của phòng xét nghiệm.⁹ Kết quả xét nghiệm phải đảm bảo chính xác, tin cậy để phục vụ cho công tác lâm sàng được tốt nhất, do vậy việc xác nhận phương pháp trở nên rất thiết yếu. Nghiên cứu này tiến hành nhằm xác nhận phương pháp xét nghiệm đo hoạt độ các enzym ABG, ASM, GAA, GALC, GAL và IDUA trong sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào trên hệ thống sàng lọc QSight 210MD. Các thử nghiệm đánh giá độ chụm và độ đúng được thực hiện nghiêm ngặt tuân thủ đúng theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI đảm bảo tính tin cậy của kết quả nghiên cứu. Thử nghiệm đánh giá độ chụm được thực hiện bằng việc phân tích mẫu nội kiểm 2

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ chụm của xét nghiệm

Xét nghiệm	Chất chứng	n	X	V _B	V _w	S _R	S _{wL}	CV _R	CV _{wL}	σ _R	σ _{wL}	Kết luận
ABG	QC1	25	2,33	0,084	0,0321	0,18	0,34	7,69	14,63	13	17,2	ĐẠT
	QC2	25	4,166	0,082	0,0361	0,19	0,34	4,56	8,26	10,8	14,4	
ASM	QC1	25	1,793	0,0312	0,0076	0,0869	0,1969	4,849	10,98	8,1	10,4	KHÔNG ĐẠT
	QC2	25	2,98	0,007	0,0152	0,1235	0,1492	4,143	5,008	6,9	8,1	
GAA	QC1	25	3,625	0	0,0773	0,278	0,278	7,669	7,669	7,8	8,7	ĐẠT
	QC2	25	5,718	0,2186	0,0508	0,2254	0,519	3,943	9,078	6,9	7,3	
GALC	QC1	25	1,44	0,0048	0,0026	0,0506	0,086	3,511	5,973	8,3	13,1	ĐẠT
	QC2	25	2,226	0,0171	0,0088	0,0941	0,1612	4,224	7,241	7,1	7,4	
GLA	QC1	25	3,59	0,061	0,0496	0,2228	0,3327	6,21	9,274	7,5	10,5	ĐẠT
	QC2	25	5,7	0,0231	0,0279	0,1671	0,2259	2,933	3,965	7,6	9,9	
IDUA	QC1	25	4,506	0,0469	0,0353	0,188	0,2867	4,172	6,362	7,2	9,7	ĐẠT
	QC2	25	7,033	0,1703	0,0754	0,2746	0,4956	3,904	7,048	7	8,9	

Trong đó: n: số lần chạy, X: giá trị trung bình của số liệu thu được, V_w: phương sai lặp lại (trong lần chạy), V_B: phương sai giữa các lần chạy, MS: bình phương của trung bình, n là số lần chạy, S_R: độ lệch chuẩn trong lần chạy, S_B: độ lệch chuẩn giữa các lần chạy, S_{wL}: độ lệch chuẩn của phòng xét nghiệm, CV_{wL}: hệ số biến thiên của phòng xét nghiệm; σ_R, σ_{wL}: độ chụm lặp lại và tái lập nhà sản xuất công bố, n_o = 5

Bảng 2. Kết quả giới hạn xác nhận của xét nghiệm ASM và GAA

Xét nghiệm	Chất chứng	n	k	S _R	S _{WL}	df _R	F _R	UVL _R	p	df _{WL}	F _{WL}	UVL _{WL}	Kết luận
ASM	QC1	25	5	0,0869	0,1969	20	1,31	10,61	1,284	13	1,38	14,35	ĐẠT
	QC2	25	5	0,1235	0,1492	20	1,31	9,039	1,174	17	1,33	10,77	
GAA	QC1	25	5	0,278	0,278	20	1,31	10,22	1,115	19	1,31	11,4	ĐẠT
	QC2	25	5	0,2254	0,519	20	1,31	9,039	1,058	22	1,29	9,417	

Trong đó: $n_0 = 5$ khi $N = 25$, $n_0 = 4,792$ khi $N = 24$, $n_0 = 4,565$ khi $N = 23$, $df_R = N - K = 25 - 5 = 20$, $df_R = N - K = 24 - 5 = 19$. N : số lần lặp lại, $K = n_0$: số lần chạy, σ_R , σ_{WR} : độ chụm lặp lại và tái lập nhà sản xuất công bố. Hệ số UVL (F) cho lặp lại được tính toán theo df_R dựa trên bảng 7 trong hướng dẫn của EP15 A3, $UVL_R = F \times CV_{NSX} (\%)$, $UVL_{WL} = F \times CV_{NSX} (\%)$

Bảng 3. Bảng kết quả đánh giá độ đúng

	ABG		ASM		GAA		GALC		GLA		IDUA	
	QC1	QC2	QC1	QC2	QC1	QC2	QC1	QC2	QC1	QC2	QC1	QC2
Sai số chuẩn của TB (se_x)	0,135	0,21	0,08	0,1	0,056	0,214	0,033	0,062	0,119	0,076	0,104	0,193
Sai số chuẩn của giá trị đích (se_{RM})	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sai số chuẩn kết hợp (se_c)	0,135	0,21	0,08	0,1	0,056	0,214	0,033	0,062	0,119	0,076	0,104	0,193
Bậc tự do kết hợp (df_c)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Hệ số nhân	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Khoảng xác nhận	2,24	4,16	1,66	2,95	3,32	4,81	1,43	2,15	3,27	5,56	4,47	6,85
	- 3,18	- 5,63	- 2,22	- 3,65	- 3,7	- 6,31	- 1,65	- 2,59	- 4,11	- 6,10	- 5,19	- 8,19
Trung bình số liệu thực nghiệm PXN	2,33	4,166	1,79	2,98	3,625	5,718	1,44	2,226	3,587	5,697	4,506	7,033
Đánh giá	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt

mức nồng độ lặp lại 5 lần trong 5 ngày. Tính toán giá trị trung bình, phương sai của kết quả thu được, từ đó tính toán Độ chụm ngắn hạn và Độ chụm dài hạn sau đó so sánh với công bố của nhà sản xuất. Tiêu chuẩn chấp nhận là độ chụm ngắn hạn và độ chụm dài hạn của phòng xét nghiệm thấp hơn công bố của nhà sản xuất, trường hợp vượt quá công bố của nhà sản xuất cần ước tính và so sánh với giới hạn xác minh trên của phương pháp. Kết quả Bảng 1 cho thấy các xét nghiệm có độ chụm ngắn hạn và dài hạn đều nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất trừ xét nghiệm ASM ở mức QC1 ($10,98 > 10,4$) và GAA ở mức QC2 ($9,078 > 7,3$). Với hai xét nghiệm này chúng tôi tiếp tục thực hiện phần hai của thử nghiệm, độ chụm ngắn hạn và độ chụm dài hạn của xét nghiệm này đều nhỏ hơn giá trị xác minh trên của hai mức QC. Như vậy, độ chụm của tất cả các thông số được đánh giá đều đạt tiêu chuẩn cho phép. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của tác giả Mashima và cộng sự khi đánh giá độ chụm của xét nghiệm đo hoạt độ 6 enzym bằng QC do CDC cung cấp trên hệ thống LC-MS/MS và cột BEH C18 là thấp hơn 25%.⁸

Thực nghiệm đánh giá độ đúng sử dụng kết quả thu được của chính thực nghiệm đánh giá độ chụm: phân tích mẫu QC hai mức nồng độ lặp lại 5 lần trong mỗi lần chạy cho ít nhất 5 lần chạy với mỗi mức. Độ đúng được đánh giá qua giá trị trung bình quan sát, khoảng xác nhận. Theo hướng dẫn EP15 - A3 của CLSI, nếu giá trị trung bình nằm trong khoảng xác nhận thì độ đúng được xác nhận (hay độ lệch được chấp nhận). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả các giá trị trung bình của các mức nồng độ QC đều nằm trong khoảng xác nhận tương ứng (Bảng 3).

Về đánh giá độ đúng trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mẫu QC làm vật liệu nghiên cứu, với đại lượng tính toán là khoảng xác nhận

đối với từng mức QC khác nhau. Việc sử dụng giá trị trung bình của các mẫu QC mà nhà sản xuất cung cấp để tính toán khoảng xác nhận là hạn chế của nghiên cứu. Sử dụng các vật liệu tham chiếu là lý tưởng nhất cho đánh giá độ chính xác tuy nhiên việc tiếp cận các vật liệu tham chiếu không phải dễ dàng với các phòng xét nghiệm lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Kỹ thuật đo hoạt độ enzym sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào bằng bộ kit NeoLSD™ MSMS trên hệ thống QSight 210MD của Perkin Elmer được xác nhận trong điều kiện phòng xét nghiệm của Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Boustany R M N. Lysosomal storage diseases - the horizon expands. *Nature Reviews Neurology*. 2013;9(10):583-598.
2. Chamoles N A, Blanco M B, Gaggioli D, Casentini C. Hurler-like phenotype: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clinical chemistry*. 2001;47(12):2098-2102.
3. Platt F M, Boland B, van der Spoel A C. Lysosomal storage disorders: The cellular impact of lysosomal dysfunction. *The Journal of Cell Biology*. 2012;199(5):723-734.
4. Rajkumar V, Dumpa V. Lysosomal storage disease. *StatPearls*. 2020.
5. Schultz M L, Tecedor L, Chang M, et al. Clarifying lysosomal storage diseases. *Trends in Neurosciences*. 2011;34(8):401-410.
6. Gelb M H, Scott C R, Turecek F. Newborn Screening for Lysosomal Storage Diseases. *Clinical Chemistry*. 2014;61(2):335-346.
7. Hwu W L, Chien Y H, Lee N C, et al. Newborn screening for Fabry disease in Taiwan reveals a high incidence of the later-onset GLA mutation c.936+919G>A (IVS4+919G>A). *Human Mutation*. 2009;30(10):1397-1405.

8. Mashima R, Sakai E, Kosuga M, et al. Levels of enzyme activities in six lysosomal storage diseases in Japanese neonates determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecular Genetics and*

Metabolism Reports. 2016;9:6-11.

9. Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification for precision and trueness. Approved guideline - 3rd (ed). *CLSI document EP15 - A3*. 2014;34(12).

Summary

VERIFICATION OF SCREENING METHOD FOR 6-PLEX LYSOSOMAL STORAGE DISEASES USING PERKIN ELMER QSIGHT 210 MD SYSTEM

Method verification is a mandatory process to provide reliable test results. This study was conducted with the aim of confirming the technical procedure for screening 6 lysosomal storage disorders by measuring the activity of 6 enzymes in dried blood spots using the Perkin Elmer QSight 210MD system. The research utilized internal control materials and NeoLSDTM MSMS kits from Perkin Elmer to perform an evaluation experiment for precision and accuracy, following the EP15A3 guidelines of the CLSI. Results: The precision and accuracy of the test are both lower than the manufacturer's specifications, with the observed average values falling within the acceptable range. The precision and accuracy of the enzyme activity measurements under the conditions of the Department of Biochemistry, National Children's Hospital, are confirmed to be in accordance with the manufacturer's specifications. The test ensures reliability and can be used to provide newborn screening services.

Keywords: LSDs, ABG, ASM, GAA, GALC, GAL, IDUA, verification of screening method, EP15-A3.