

S-Metylmalonat (LC-MS/MS)**S-Metylmalonat (LC-MS/MS) (NPU 02780)****Bakgrund, indikation och tolkning**

Vid brist på kobalaminer (vitamin B12) stiger koncentrationen av metylmalonat i serum. Metylmalonat kan därför användas diagnostiskt för att påvisa kobalaminbrist (1).

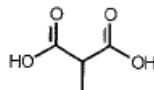
L-Metylmalonyl-CoA är en mellanprodukt i omvandlingen av propionyl-CoA till succinyl-CoA. Propionyl-CoA bildas från isoleucin, valin, threonin, methionin, kolesterol och fettsyror med udda antal kolatomer. 5'-Deoxyadenosylkobalamin är en essentiell kofaktor i den enzymatiska omvandlingen av L-metylmalonyl-CoA till succinyl-CoA och vid brist på denna bryts metylmalonat inte ned (2).

Brist på kobalaminer kan ge upphov till svårdiagnostiserade tillstånd med bl.a. neuropsykiatriska symtom (3). Standarddiagnostiken har byggt på bestämning av kobalaminer i serum. Dock förekommer att patienter med kobalaminbrist har normala nivåer av kobalaminer i serum. Samtidigt finns patienter som inte har brist men som uppvisar sänkta serumnivåer. Metylmalonat i serum är en specifik markör för kobalaminbrist och uppvisar få tillstånd med falskt förhöjda serumnivåer. Det är framförallt vid njurinsufficiens som förhöjda nivåer kan noteras (1).

Analys av metylmalonat är indicerat vid utredning av misstänkt kobalaminbrist, t.ex. vid oklara neuropsykiatriska symtom eller megaloblastanemi, särskilt om serumnivåerna av kobalaminer är i referensintervallets nedre del (<200 pmol/L).

Analysprincip

Metylmalonat (MMA) föreligger fritt i serum utan starka bindningar till proteiner.



Metylmalonat är en syra med två pKa (2.83 resp 5.57) och föreligger i serum i joniserad form. Genom att utföra provuppbearbetning med en stark anjonbytare (Isolute SAX, Biotage) kan metylmalonat bindas upp till jonbytare och icke joniska hydrofoba föreningar (som fosfolipider) passerar jonbytare.

I LC-MS/MS systemet separeras MMA från bärnstensyra (som är en isobar till MMA) och andra organiska syror i LC-delen. Därefter går provet vidare till MS/MS för jonisation i elektroprayjonkällan (ESI) innan inträde i masspektrometern. MMA ($m/z=117$, negativ mode) fragmenteras i kollisionscellen till unika mindre fragment. Fragmentet $m/z=72$ mäts av detektorn. Internstandarderna (deuterat MMA, MMA-D3, $m/z=120$) genomgår samtidigt samma analysprincip och massfragmentet $m/z=75$ analyseras också av detektorn. Internstandarderna används för att minimera introduktion av analysfel t.ex. pga. pipetteringsfel (4).

Referensintervall

< 0,28 $\mu\text{mol/L}$ för < 50 år

< 0,36 $\mu\text{mol/L}$ för \geq 50 år

Se referens 5.

Metodbeskrivning

S-Metylmalonat (LC-MS/MS)

Gäller för
Klinisk kemi

LU

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor

Inga kända

Mätområde

0,10 – 5,0 µmol/L
Provet kan spädas 1:400

Detektionsgräns

0,01 µmol/L

Mätosäkerhet

Mätosäkerheten är baserad på 2021 års statistik av interna kontroller.

8 % vid 0,19 µmol/L
5 % vid 0,80 µmol/L

Spårbarhet

Kalibratorer som används kommer från Chromsystems som i sin tur har spårbarhet till NIST referens.

Ackreditering

Metoden är ackrediterad.

Referenser

1. Theodorsson E, Berggren Söderlund M red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur 2018, 10:e upplagan.
2. Hannibal L, Lysne V, Bjorke-Monsen AL, Behringer S, Grunert S, Spiekerkoetter U et al. (2017) Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Front Mol Biosci.* 27;3:27.
3. Green R. (2017) Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing haematologist. *Blood.* 129:2603-2611.
4. Nelson D, Xu N, Carlson J. (2012) Semi-automated quantification of methylmalonic acid in human serum by LC-MS/MS. *Scand J Clin Lab Invest.* 72:441-6.
5. Vogiatzoglou A, Oulhaj A, Smith D, Nurk E, Drevon C, Ueland P et al. (2009) Determinants of plasma methylmalonic acid in a large population: Implications for assessment of vitamin B12 status. *Clinical Chemistry.* 55:2198-2206.
6. Mineva E M, Zhang M, Rabinowitz D J, Phinney K W, Pfeiffer C M (2015), An LC-MS/MS method for serum methylmalonic acid suitable for monitoring vitamin B12 status in population surveys. *Anal Bioanal Chem* 407:2955-2964