



Wallac Oy  
Mustionkatu 6  
FI-20750 Turku, Finland

revvity.com

Phone +358 - (0)2 - 267 8111  
Fax +358 - (0)2 - 267 8357

### Statement on the company corp name and brand change

To whom it may concern

PerkinElmer, Inc., which is the wholly owner of Wallac Oy, has changed its name to Revvity, Inc.

Our manufacturing company as a legal entity is and will remain Wallac Oy, and its facilities will remain at the exact location at Mustionkatu 6, FI-20750 TURKU, FINLAND.

This company corp. name change which generates a new brand, is causing a change in our outer packaging, labeling, and instructions for use of our products with minor changes such as box color and change from the old PerkinElmer brand to Revvity.

Wallac Oy declares that the product itself has remained the same. Product safety, efficacy, functionality, and performance are not affected. As well as the name of the product and its manufacturer remains the same.

Sincerely

Petri Kallio  
Managing Director

Date: June 14<sup>th</sup>, 2023



PerkinElmer, Inc., que es propietario total de Wallac Oy, ha cambiado su nombre a Revvity, Inc.

Nuestra empresa fabricante como entidad legal es y seguirá siendo Wallac Oy, y sus instalaciones permanecen en la ubicación exacta en Mustionkatu 6, FI-20750 TURKU, FINLANDIA.

Esta empresa corp. cambio de nombre por lo tanto genera una nueva marca, esto está provocando un cambio en nuestro embalaje exterior, etiquetado e instrucciones de uso de nuestros productos, con cambios menores como color de la caja y cambio de la antigua marca PerkinElmer a Revvity. Wallac Oy. Declaramos que el producto en sí sigue siendo el mismo. La seguridad del producto, eficacia, la funcionalidad y el rendimiento no se ven afectados. Así como el nombre del producto y el fabricante sigue siendo el mismo.

**NP-1000**

**NP-4000**

# Neonatal Phenylalanine

Instrucciones de uso. Reactivos para 960 [4800] ensayos

Fabricante:  
**Wallac Oy,**  
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlandia  
[www.revvity.com](http://www.revvity.com)

**PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO***

## SÍMBOLOS



*In vitro* diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / *In-Vitro*-Diagnostikum / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* / Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik / Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik / Para uso diagnóstico in vitro / *In Vitro* Teşhis Tıbbi Cihazı



Batch code / Code du lot / Chargenbezeichnung / Código de lote / Codice del lotto / Código do lote / Lot nummer / Lotnummer / Número do lote / Parti kodu



Packing number / Numéro d'emballage / Packnummer / Número de envase / Numero confezioni / Número de embalagem / Förpackningsnummer / Emballagenummer / Número de embalagem / Ambalaj numarası



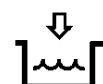
Catalog number / Référence du catalogue / Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo / Referência de catálogo / Katalognummer / Katalognummer / Código / Katalog numarası



Use by / Utiliser jusqu'au / Verwendbar bis / Fecha de caducidad / Utilizzare entro / Prazo de validade / Använd före / Holdbar til / Data limite de utilização / Son Kullanım



Temperature limitation / Limites de température / Temperaturbegrenzung / Limite de temperatura / Limiti di temperatura / Limites de temperatura / Temperaturbegränsning / Temperaturbegrænsning / Limite de temperatura / Isı limitleri



Add liquid / Ajout de liquide / Flüssigkeit zugeben / Añadir líquido / Aggiungi liquido / Adicionar líquido / Tillsätt vätska / Tilføj væske / Adicionar líquido / Sıvı ekleyin



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenido suficiente para <n> ensayos / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Indeholder tilstrækkeligt til "n" test / Conteúdo suficiente para <n> testes / <n> testleri için yeterli içerik



Consult instructions for use / Consulter les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte as instruções de utilização / Se bruksanvisningen / Se brugsanvisning / Consultar Instruções de uso / Kullanım için talimatlara başvurun



Manufacturer / Fabricant / Hersteller / Fabricante / Fabbricante / Fabricante / Tillverkare / Fabrikant / Fabricante / İmalatçı



Harmful/Irritant / Nocif/Irritant / Gesundheitsschädlich/Reizend /  
Nocivo/Irritante / Nocivo/Irritante / Nocivo/Irritante / Hälsoskadligt/Irriterande  
/ Sundhedsskadelig/Lokalirriterende / Nocivo/Irritante / Zararlı/Tahriş edici



Environmental hazard / Dangereux pour l'environnement / Umweltgefährlich  
/ Peligroso para el medio ambiente / Pericoloso per l'ambiente / Perigoso  
para o ambiente / Miljöfarligt / Miljøfarlig / Risco ambiental / Çevreye zararlı



Causes serious eye damage / Provoque des lésions oculaires graves /  
Verursacht schwere Augenschäden / Provoca lesiones oculares graves /  
Provoca gravi lesioni oculari / Provoca lesões oculares graves / Orsakar  
allvarliga ögonskador / Forårsager alvorlig øjenskade / Causa lesão ocular  
grave / Ciddi göz hasarına neden olur



This way up / Haut / Diese Seite oben / Este lado arriba / Questo lato in alto  
/ Este lado para cima / Denna sida upp / Denne side op / Este lado para  
cima / Oklar yukarıya bakacak şekilde yerleştirin



Recyclable / Recyclable / Recyclebar / Reciclable / Riciclabile / Reciclável /  
Återvinningsbart / Genanvendeligt / Reciclável / Geri dönüştürülebilir



## Neonatal Phenylalanine kit

### FINALIDAD DEL KIT

Este kit sirve para la determinación cuantitativa de la fenilalanina en muestras de sangre seca en papel de filtro, como ayuda para la detección de niveles elevados de fenilalanina sanguínea en el screening de recién nacidos.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La fenilcetonuria (PKU) es una enfermedad genética recesiva autosómica producida por una deficiencia de la actividad de la fenilalanina hidroxilasa hepática (PAH). En la población caucásica, aproximadamente una de cada 50 personas son portadoras, y una de cada 10.000 padece PKU (1).

Como resultado de la deficiencia de la enzima PAH, la fenilalanina no se convierte en el aminoácido tirosina. Esto produce que una cantidad excesiva de fenilalanina y metabolitos tóxicos se acumulen en todas las partes del cuerpo, incluido el cerebro, la sangre y la orina. Estos excesos crean un desequilibrio químico que se traduce en diferentes grados de retraso mental.

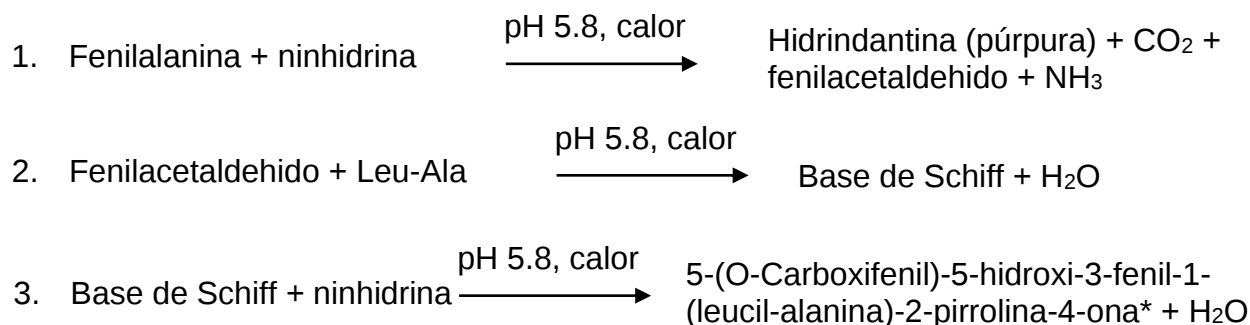
En algunos pacientes con PKU, los niveles de tirosina pueden ser anormalmente bajos, especialmente si es insuficiente la tirosina procedente de la dieta. Por consiguiente, se puede producir una deficiencia de los compuestos derivados de la tirosina, como el pigmento melanina, responsable del color de los ojos, la piel y el cabello; y los neurotransmisores dopamina, noradrenalina y adrenalina (2).

Los distintos grados de deficiencia mental que se producen en pacientes con PKU se pueden reducir a través de una dieta baja en fenilalanina (3).

Robert Guthrie desarrolló el primer ensayo que permitió el screening poblacional para PKU (4). Este ensayo, basado en una inhibición bacteriana, emplea medios para crecimiento de *Bacillus subtilis* en una cantidad proporcional a la concentración de fenilalanina en la mancha de sangre. El procedimiento ofrece únicamente resultados semicuantitativos, se inhibe mediante antibióticos y requiere un gran trabajo. Más recientemente se han desarrollado otros métodos para la medición de fenilalanina, como por ejemplo métodos fluorométricos.

### PRINCIPIOS DEL ENSAYO

Este kit Neonatal Phenylalanine utiliza un método fluorescente de ninhidrina. Este procedimiento constituye una modificación del procedimiento fluorométrico publicado por McCaman y Robins en 1962 (5). El ensayo está basado en el aumento de la fluorescencia del producto de reacción fenilalanina-ninhidrina por el dipéptido L-leucil-L-alanina. Además, se utiliza un tampón de succinato para optimizar la fluorescencia y aumentar la especificidad. El reactivo de cobre se utiliza para intensificar aún más la reacción, así como para reducir el fondo. Este método mide la fenilalanina de forma cuantitativa en presencia de otros aminoácidos. La fluorescencia se lee utilizando una longitud de onda de excitación de 390 nm y una longitud de onda de emisión de 486 nm.



\* Fluorescente

## CONTENIDO DEL KIT

Las figuras entre corchetes [ ] se refieren al kit de 4800 ensayos.

Cada kit Neonatal Phenylalanine contiene reactivos para 960 ensayos [4800 ensayos].

La fecha de caducidad del kit sin abrir viene indicada en una etiqueta exterior. Almacenar a +2–+8°C.

## Reactivos

| Componente                                                                                | Cantidad                                                                                                                                | Almacenamiento y caducidad                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Phenylalanine calibrators<br>(Calibradores de fenilalanina)<br>(valores aprox. en sangre) | 1 [5] tarjeta[s] de papel de filtro (Whatman nº 903) con 5 juegos de manchas de sangre seca                                             | Almacenar en la bolsa original con el desecante en refrigeración y protegido de la humedad y la luz. Estable a +2–+8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Asegúrese de que la envoltura de plástico permanezca sellada durante el almacenamiento. |
| A 0.4 mg/dL (24 µmol/L)                                                                   | Las concentraciones exactas de fenilalanina se indican en el certificado de control de calidad específico del lote, incluido en el kit. |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| B 1.6 mg/dL (97 µmol/L)                                                                   |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| C 2.8 mg/dL (169 µmol/L)                                                                  |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| D 5.2 mg/dL (315 µmol/L)                                                                  |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| E 10.0 mg/dL (605 µmol/L)                                                                 |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| F 15.0 mg/dL (908 µmol/L)                                                                 |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                     |

|                                                                                     |                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Phenylalanine controls<br>(Controles de fenilalanina)<br>(valores aprox. en sangre) | 1 [5] tarjeta[s] de papel<br>de filtro (Whatman<br>nº 903) con 5 juegos<br>de manchas de sangre<br>seca | Almacenar en la bolsa<br>original con el desecante en<br>refrigeración y protegido de<br>la humedad y la luz. Estable<br>a +2–+8°C hasta la fecha<br>de caducidad indicada en la<br>etiqueta. Asegúrese de que<br>la envoltura de plástico<br>permanezca sellada durante<br>el almacenamiento. |
| Normal<br>1.3 mg/dL (79 µmol/L)                                                     |                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Patológico<br>5.2 mg/dL (315 µmol/L)                                                |                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

Los valores diana de los controles se indican en el certificado de control de calidad específico del lote, incluido en el kit.

Factor de conversión: 1 mg/dL = 60.5 µmol/L.

Los calibradores y controles se preparan en sangre lavada humana, con ProClin 300<sup>1</sup> como conservante. La concentración de hemoglobina es de aproximadamente 170 g/L antes de dispensarla en papel Whatman, nº 903. El nivel de hematocrito es del 50 al 55%, que es aproximadamente igual al de un recién nacido.

Los valores de fenilalanina se derivan de controles congelados. Los valores de los controles congelados se asignan de forma que sean coherentes con el método HPLC descrito por Atherton y Green (6). También se incluyen en el certificado de control de calidad específico incluido en el kit los valores alternativos para los calibradores y los controles, que cumplen con la segunda Preparación de referencia ISNS para la fenilalanina en manchas de sangre.

|                                                       |                                       |                                                                               |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Zinc Sulfate Reagent<br>(Reactivo de sulfato de zinc) | 1 frasco, 30 mL<br>[1 frasco, 118 mL] | +2–+8°C hasta la fecha de<br>caducidad indicada en la<br>etiqueta del frasco. |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|

El reactivo listo para usar contiene < 25% de sulfato de zinc.

**NOTA: El reactivo de sulfato de zinc causa lesiones oculares graves y es tóxico para los organismos acuáticos y puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático. No lo vacíe en desagües.**

<sup>1</sup> ProClin es una marca registrada de Rohm and Haas, Co.

|                                                                                                                                                                   |                                         |                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PKU Reagent<br>(Reactivo de PKU)                                                                                                                                  | 10 frascos, seco<br>[17 frascos, seco]  | +2–+8°C hasta la fecha de<br>caducidad indicada en la<br>etiqueta del frasco.                                    |
| <b>NOTA: El reactivo ninhidrina causa irritación grave en ojos y piel y además es nocivo por ingestión. Manipúlelo con cuidado y utilice guantes protectores.</b> |                                         |                                                                                                                  |
| El aspecto del reactivo PKU seco puede variar entre diferentes frascos de reactivo.                                                                               |                                         |                                                                                                                  |
| Copper Reagent<br>(Reactivo de cobre)                                                                                                                             | 1 frasco, 240 mL<br>[5 frascos, 240 mL] | +2–+8°C hasta la fecha de<br>caducidad indicada en la<br>etiqueta del frasco. Proteger<br>del calor y de la luz. |
| El reactivo listo para usar contiene carbonato sódico, tartrato sódico potásico, y < 0.05% de sulfato cúprico.                                                    |                                         |                                                                                                                  |
| PKU Reconstitution Buffer<br>(Tampón de reconstitución PKU)                                                                                                       | 1 frasco, 118 mL<br>[2 frascos, 237 mL] | +2–+8°C hasta la fecha de<br>caducidad indicada en la<br>etiqueta del frasco.                                    |
| El tampón listo para usar contiene tampón de succinato sódico, L-leucil-L-alanina, y ProClin 300.                                                                 |                                         |                                                                                                                  |
| White microplates<br>(Microplacas blancas)<br>(sin recubrimiento, 96 pocillos)                                                                                    | 10 placas<br>[50 placas]                | +2–+25°C                                                                                                         |
| Barcode labels for the plate<br>(Etiquetas de código de barras<br>para la placa)                                                                                  | 30 unidades<br>[150 unidades]           | Nota: los códigos de barras<br>son específicos del lote.                                                         |
| Lot-specific<br>quality control certificate<br>(Certificado de control de<br>calidad específico del lote)                                                         | 1 unidad                                |                                                                                                                  |

**MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT**

El kit Neonatal Phenylalanine requiere los siguientes componentes, que se pueden obtener de Wallac Oy o Revvity, Inc. y sus distribuidores.

1. Fluorímetro (por ej. 1420 VICTOR™ serie D) con impresora y ordenador
2. Taladro, con capacidad para perforar discos de papel de filtro con un diámetro de 3.2 mm (1/8 pulgadas) [por ej. el Wallac DBS Puncher (nº de ref. 1296-071), Panthera-Puncher™ 9 (nº de ref. 2081-0010) o un taladro manual (nº de ref. 10457593)]
3. Incubador capaz de mantener una temperatura de +37°C (por ej. TriNEST™<sup>2</sup> Microplate Incubator Shaker, nº de ref. 1296-0050)

Además del sistema, se necesita lo siguiente:

- pipetas de precisión de 8 canales para la dispensación de volúmenes de 5–50 µL y 30–300 µL o el procesador de muestras Apricot (MS-550XD)
- puntas de pipeta
- agitador/mezclador para mezclar el reactivo PKU
- pipetas o cilindros graduados para medir volúmenes de reactivos en mL
- recipientes de reactivo
- microplacas desechables, claras, con fondo en V truncado según lo especificado, DBS Microplate (3033-0010) o equivalente
- película adhesiva para placas de 96 pocillos (nº de ref. 4090-0010)
- etanol absoluto o etanol desnaturalizado
- tarjetas de muestras que utilicen un papel de filtro aprobado por la FDA

**TOMA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de sangre deben tomarse mediante una punción en el talón y colocarse directamente en el papel de filtro. La bilirrubina ( $\leq 40$  mg/dL;  $\leq 0.684$  mmol/L), el ácido ascórbico ( $\leq 3$  mg/dL;  $\leq 0.17$  mmol/L) y la D-glucosa ( $\leq 800$  mg/dL;  $\leq 44$  mmol/L) no interfieren. Concentraciones de hemoglobina de  $\geq 150$  g/L a  $\leq 200$  g/L no interfieren en el ensayo.

Los programas de cribaje neonatal difieren entre sí en el tipo de muestra requerida. En Estados Unidos, la recomendación es una mancha de sangre, de aproximadamente 12.7 mm (1/2 de pulgada) de diámetro, obtenida mediante una punción en el talón y recogida en papel de filtro. La punción de sangre neonatal en el talón se obtiene habitualmente de 2 a 6 días después del nacimiento, pero puede que en algunos programas de cribado los tiempos y el número de muestras sean distintos. Consulte las normativas de carácter local para conocer los tiempos y las tomas de muestras de cribado adecuados. Lo ideal es que las muestras se recojan en recién nacidos a término en un plazo de tiempo no inferior a 24 horas después de la primera toma (7). El dispositivo de toma de muestras debe cumplir las normativas nacionales. Los métodos basados en muestras de sangre seca requieren de una obtención, manipulación y transporte adecuados. El documento LA4-A5 (8) del CLSI describe la técnica de toma de muestra, cuyos principales puntos se exponen a continuación:

---

VICTOR es una marca comercial de Revvity, Inc.

Panthera-Puncher es una marca comercial de Revvity, Inc.

<sup>2</sup> TriNEST es una marca comercial de Revvity, Inc.

- Limpiar la piel con una gasa mojada en alcohol y dejar secar al aire.
- Realice una punción en el talón del recién nacido con una lanceta estéril o con un dispositivo de incisión en el talón hasta una profundidad de 1.0–2.0 mm. En los niños pequeños una punción realizada a mayor profundidad puede causar daños óseos.
- Limpiar la primera gota de sangre. Colocar suavemente el papel de filtro sobre una gota grande de sangre y, en un solo paso, dejar que se absorba una cantidad de sangre suficiente como para llenar completamente el círculo preimpreso en el papel de filtro. Examinar ambos lados del papel de filtro para comprobar que la sangre ha penetrado y ha impregnado el papel. Si se aprieta excesivamente el sitio de punción, podría causar hemólisis de la muestra o la mezcla de líquidos tisulares con la muestra. No colocar varias gotas sucesivas en el círculo (esto ocasiona la formación de capas).
- Dejar secar la muestra de sangre al aire en posición horizontal durante al menos 3 horas a temperatura ambiente (+18–+25°C), sin exponer a la luz directa. No caliente ni apile las muestras durante el proceso de secado.
- Comprobar que se ha rellenado la información necesaria en la tarjeta de toma de la muestra. La información preimpresa mínima necesaria sobre el dispositivo de toma de muestras incluye:
  - apellido (y nombre si está disponible), sexo, fecha de nacimiento (opcional: hora de nacimiento), peso al nacer y edad; (indicar si tiene menos de 24 h), y número de identificación del paciente
  - nombre y apellido de la madre
  - fecha de toma de la muestra (opcional: hora de toma de la muestra)
  - nombre y dirección del remitente (opcional: centro en el que ha nacido)
  - nombre y número de teléfono del médico (profesional de atención sanitaria)
  - nombre y dirección del programa de cribado de neonatos
  - cada tarjeta debe tener un número de serie único y una fecha de caducidad
- Antes de colocar las muestras en un contenedor para transporte, las manchas de sangre seca de las tarjetas de toma de muestras deben separarse mediante una barrera física o girarse 180° con respecto a las tarjetas que están inmediatamente encima o debajo. También se pueden proteger las muestras de sangre colocando un papel o cartón doblado que las cubra o bien papel cristal entre las mismas.
- Para el embalaje y transporte de la muestra siga las normativas locales de correo y transporte. Las muestras no deben colocarse en recipientes sellados herméticamente (por ejemplo, bolsas de plástico o aluminio). Si es necesario, deben incluirse bolsas desecantes en número suficiente. La humedad y el vapor son perjudiciales para la muestra de sangre seca.
- Envíe por correo u otro medio de transporte la muestra al laboratorio antes de que transcurran 24 horas desde que se tomó, a no ser que el laboratorio de cribado lo determine de otra forma.

Algunos laboratorios de cribado pueden solicitar información adicional en la tarjeta, por ejemplo si el bebé fue anterior o posterior al término y, en este caso, en qué grado, si fue un parto gemelar, información acerca de la alimentación y posibles antibióticos, y si se

realizó alguna transfusión de sangre. Consulte las normativas de carácter local y las políticas institucionales para conocer las desviaciones con respecto a la información mínima necesaria sobre el dispositivo de toma de muestras.

Se ha informado de que la fenilalanina en muestras de sangre seca es estable a temperatura ambiente durante al menos 7 días (9,10), 11 semanas (11) y hasta 2 años (12) sin pérdida de fenilalanina. Para mejorar la estabilidad, almacenar a +4°C y -20°C en condiciones desecantes (9,10,13,14,15).

## **CUIDADOS Y PRECAUCIONES**

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

Sólo el personal técnico cualificado podrá realizar las tareas de reparación de todo el equipo necesario para este kit.

Este kit contiene reactivos fabricados a partir de componentes de sangre humana. El material de origen ha sido sometido a inmunoensayos para detectar el antígeno de superficie de la hepatitis B y los anticuerpos anti-hepatitis C y anti-VIH 1 y 2, y se han obtenido resultados negativos. No obstante, deben seguirse todas las precauciones recomendadas para la manipulación de derivados sanguíneos. Consultar la publicación "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" del U.S. Department of Health and Human Services o las normas locales o nacionales.

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.

Peligro: El reactivo de sulfato de zinc provoca lesiones oculares graves y es tóxico para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos. No verter en sumideros, vías fluviales ni en la tierra.

Atención: La ninhidrina (PKU Reagent) causa irritación grave en ojos y piel y además es nocivo por ingestión. Manipúlelo con cuidado y utilice guantes protectores.

Todas las demás soluciones pueden ser irritantes.

Siga la normativa local para la manipulación de soluciones etanólicas.

Todos los residuos se deben eliminar siguiendo la normativa en vigor.

## **PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO**

Realizar cada determinación por duplicado para los calibradores y los controles. Para cada placa debe realizarse una curva de calibración. Las muestras pueden procesarse en simple. Antes de usarlos, se debe dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (+20—+25°C). Esto es especialmente importante para el reactivo de cobre, ya que con el frío pueden formarse precipitados.

## 1. Preparación de los reactivos

Estabilidad una vez reconstituídos

Reactivo de PKU

7 días entre +2 y +8°C,  
72 horas a temperatura ambiente.

Para el kit de 10 placas añada 6.5 mL de tampón de reconstitución PKU a un vial de reactivo de PKU desecado (suficiente para una placa); para el kit de 50 placas, añada 20 mL (suficiente para 3 placas). Mezcle hasta que se disuelva completamente (suele ocurrir a los 30 a 60 minutos, siendo a veces necesario agitar enérgicamente).

Solución de extracción

7 días entre +20 y +25°C.  
Manténgalo bien cerrado cuando no se utilice.

Prepare la solución de extracción mezclando tres partes de reactivo de sulfato de zinc con dos partes de etanol absoluto, por ejemplo, añada 24 mL de reactivo de sulfato de zinc a 16 mL de etanol absoluto.

2. Taladrar los discos de papel de filtro en los pocillos de una microplaca clara con fondo en V truncado utilizando un taladro automático o manual. El diámetro de los discos debe ser de aproximadamente 3.2 mm (1/8 de pulgada). Incluya los calibradores y los controles por duplicado en cada placa. El siguiente mapa de placas se muestra como ejemplo. Cada laboratorio puede decidir acerca de la mejor colocación de los controles y de las muestras.

| 1         | 2         | 3          | 4          | 5         | 6         | 7         | 8        | 9        | 10       | 11       | 12       | Tira      |
|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| Cal<br>A  | Cal<br>A  | Cal<br>B   | Cal<br>B   | Cal<br>C  | Cal<br>C  | Cal<br>D  | Cal<br>D | Cal<br>E | Cal<br>E | Cal<br>F | Cal<br>F | A         |
| Ctrl<br>I | Ctrl<br>I | Ctrl<br>II | Ctrl<br>II | 1º<br>Des | 2º<br>Des | 3º<br>Des | etc.     |          |          |          |          | B         |
|           |           |            |            |           |           |           |          |          |          |          |          | C<br>etc. |

3. Añada 15 µL de solución de extracción a cada pocillo que contenga un disco de papel de filtro. Dé suaves golpecitos a la placa para asegurar que todos los discos se han humedecido con la solución de extracción. Las placas deben taparse durante la fase de extracción.
4. Incubar a temperatura ambiente durante 30–60 minutos sin agitar. De forma alternativa, una placa tapada puede mantenerse 18 horas a +2–+8°C.

5. Añada 40  $\mu$ L de agua desionizada a cada pocillo que contenga un disco. Dé suaves golpecitos a la placa para mezclar el contenido de los pocillos. De forma alternativa, el contenido de cada pocillo puede pipetearse hacia arriba y hacia abajo tres veces (llenando y expulsando a la placa clara) antes de transferirlo a la placa blanca (véase el paso siguiente).
6. Transfiera 25  $\mu$ L del contenido de cada pocillo al pocillo correspondiente de una microplaca blanca. Ello debería de ocurrir en el transcurso de una hora después de añadir agua a la muestra. **NOTA: Cambie las puntas de pipeta entre transferencia y transferencia para evitar la contaminación de las muestras.**
7. Añada 50  $\mu$ L de reactivo de PKU reconstituido a cada pocillo de la microplaca blanca. Evite el contacto de la pipeta con el contenido de la placa. Esto debería de hacerse en el plazo de una hora después de realizar la transferencia del eluato en la placa blanca. Dé suaves golpecitos a la placa para mezclar el contenido de los pocillos.
8. Incube la placa en un incubador precalentado durante 30–40 minutos a +60°C sin agitación. De forma alternativa coloque la placa en un incubador precalentado a +37°C durante 120–140 minutos.
9. Si es necesario, agite el frasco de reactivo de cobre y vierta 21 mL por placa en un recipiente de reactivo. Esto debería de medirse para prevenir que se desperdicie. Añada 200  $\mu$ L a cada pocillo. Dé suaves golpecitos a la placa para mezclar el contenido de los pocillos.
10. Incube durante 30–90 minutos a temperatura ambiente sin agitar.

Mida la fluorescencia en el fluorómetro VICTOR™ D. Empezar la medición a partir de "Start Wizard", seleccione "PKUS" o "PKU" de "Protocols/Kits" del panel "Neonatal USA" o "Neonatal Europe" y defina la cantidad de placas y de muestras.

Comprobar el protocolo MultiCalc® <sup>3</sup> "84 PKUS" o "85 PKU". Si cambia el número de repeticiones para muestras desconocidas, cambie también el protocolo convenientemente (para editar los parámetros, ver el manual del MultiCalc):

---

<sup>3</sup> MultiCalc es una marca registrada de Revvity, Inc.

|                    |                         |                        |
|--------------------|-------------------------|------------------------|
| ASSAY TYPE IS IFMA |                         |                        |
| 01                 | DUAL ASSAY              | = NO                   |
| 03                 | MEASURING PARAMETERS    | = Eu                   |
| 20                 | X-AXIS (CONCENTRATION)  | = LIN                  |
| 21                 | Y-AXIS (RESPONSE)       | = MEAS                 |
| 22                 | FITTING ALGORITHM       | = REGR UNWEIGHT LINEAR |
| 25                 | STANDARD CURVE          | = NEW                  |
| 26                 | STANDARDS ON 2.. PLATES | = NEW                  |

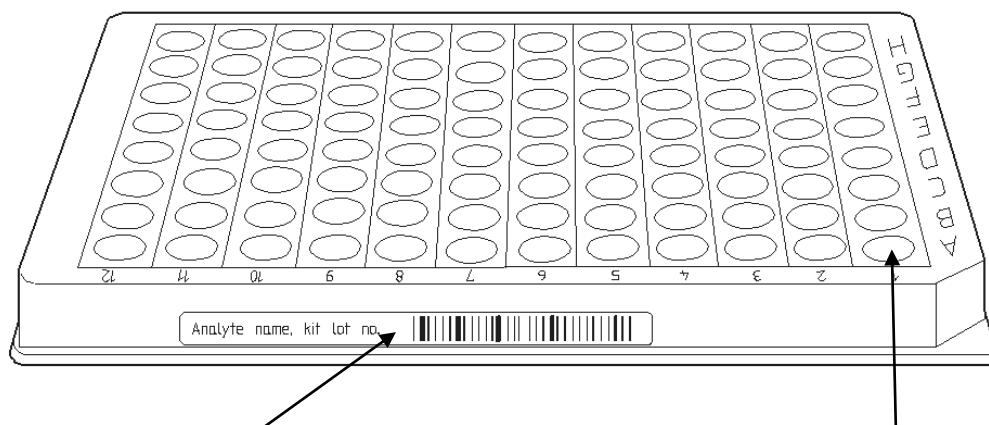
#### CODING

|   |      |   |   |                                                                                                                                                                                                                                 |
|---|------|---|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2 | STD  | = | A | <b>(Comprobar si las concentraciones de los calibradores de fenilalanina corresponden a las indicadas en el certificado de control de calidad específico del lote. Si no fuera así, introducir las concentraciones nuevas.)</b> |
| 2 | STD  | = | B |                                                                                                                                                                                                                                 |
| 2 | STD  | = | C |                                                                                                                                                                                                                                 |
| 2 | STD  | = | D |                                                                                                                                                                                                                                 |
| 2 | STD  | = | E |                                                                                                                                                                                                                                 |
| 2 | STD  | = | F |                                                                                                                                                                                                                                 |
| 1 | UNKN |   |   |                                                                                                                                                                                                                                 |

END

## UTILIZACIÓN DE ETIQUETAS DE CÓDIGOS DE BARRAS

Si usa el 1420 VICTOR™ D con un lector de código de barras, pegue una etiqueta adhesiva de código de barras que incluye el kit en la parte larga numerada de la placa blanca de modo que el borde biselado quede a la derecha. Asegúrese de que la etiqueta adhesiva está derecha y que la parte del código de barras de la etiqueta queda centrada entre los pocillos cinco y ocho de la parte larga.



Pegue el código de barras en el centro del lado largo

Coloque la etiqueta adhesiva de código de barras en la placa, de manera que el pocillo A1 quede en este lado

## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. Para el buen uso del kit neonatal es esencial leer y entender bien todas estas instrucciones. Los reactivos suministrados con este kit están pensados para utilizarlos como una sola unidad. No mezclar reactivos de dos kits con distinto número de lote, aunque sean idénticos. No usar los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo.
2. Cualquier desviación del procedimiento de ensayo puede afectar a los resultados.
3. Fuentes exógenas tales como fibras o polvo pueden causar fluorescencia.
4. Los valores de fluorescencia pueden variar con el tiempo. No obstante, al utilizar calibradores en cada placa, las concentraciones calculadas permanecen constantes.
5. Antes de usarlos, se debe dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (+20–+25°C).
6. Utilice el pipeteado inverso en todos los pasos con excepción de la transferencia (paso 6). El pipeteado inverso es, en general, más preciso cuando se dispensan volúmenes pequeños. No obstante, en el caso de la transferencia, la mancha de sangre sigue en el pocillo y puede ocasionar que entren burbujas de aire en el interior de la pipeta.
7. Compruebe que todos los pocillos tengan un disco tras el proceso de taladro.
8. Una vez finalizado el ensayo compruebe que no haya pocillos amarillos o de color púrpura. Si se diera el caso vuelva a analizar dichas muestras.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

El sistema incorpora programas para el proceso de datos, y los resultados se obtienen impresos con una curva de calibración, concentraciones de las muestras, etc. (ver información más detallada en el manual del instrumento de VICTOR o en el manual del MultiCalc).

### Calibración

En cada placa debe realizarse una curva de calibración completa. El coeficiente de correlación ( $r$ ) de la curva de calibración que MultiCalc genera debería ser  $\geq 0.95$  ( $r^2 \geq 0.90$ ).

### Control de calidad

Se recomienda el uso de muestras de control para cerciorarse de la validez de los resultados día a día. Los controles deben procesarse de la misma manera que las muestras. El kit incluye controles a dos niveles distintos. Estos controles deben procesarse en cada ensayo; si el ensayo incluye más de una placa, procesar controles en cada placa. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo y valor medio

aceptables. La media establecida debe estar en  $\pm 2$  desviaciones estándar de los valores indicados en el certificado de control de calidad. Se recomienda que los laboratorios establezcan sus propios controles a diferentes niveles, además de los controles incluidos en el kit. Sólo se deben notificar los resultados de las muestras si los resultados de los controles del ensayo cumplen los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio (16).

Asimismo, se recomienda la participación en programas de control de calidad externos.

## **LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Al igual que con cualquier otra prueba de análisis *in vitro*, los datos obtenidos con el kit Neonatal Phenylalanine deben utilizarse únicamente como una ayuda a otros procedimientos médicos establecidos, y sus resultados deben interpretarse en conjunción con otros datos clínicos de los que disponga el facultativo. Deberá utilizarse un procedimiento de diagnóstico para confirmar un diagnóstico de fenilcetonuria (PKU).

Se reconocen los siguientes factores como causantes de resultados anormales en el ensayo analítico:

- muestras de manchas que no estén impregnadas de sangre uniformemente
- muestras de manchas taladradas demasiado cerca del borde de la mancha de sangre
- muestras obtenidas o secadas incorrectamente
- manchas de sangre que no se eluyen debido al deterioro de la muestra, causado por la exposición al calor y a la humedad
- contaminación del papel de filtro de la mancha de sangre con materia fecal

Estados nutricionales que pueden afectar a los resultados:

- las muestras de sangre extraídas de niños que no hayan ingerido proteínas suficientes pueden producir falsos negativos
- las muestras extraídas de niños que reciban nutrición totalmente parenteral pueden producir falsos positivos

Los valores de la fenilalanina pueden ser altos en las muestras recogidas de pacientes que tienen tirosinemia hereditaria o transitoria.

Variables como el hematocrito, el tipo de prematuro y la edad del niño pueden afectar la interpretación de los valores de fenilalanina obtenidos (7,17).

Concentraciones de hemoglobina de  $\geq 150$  g/L a  $\leq 200$  g/L no interfieren en el ensayo.

Ver también la sección "NOTAS DE PROCEDIMIENTO".

## **VALORES ESPERADOS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

La determinación de resultados aparentemente positivos de fenilcetonuria se basa en un valor de corte que permite distinguir entre resultados aparentemente positivos y aparentemente negativos. Se utiliza una zona de ambigüedad para reflejar la imprecisión del ensayo. Los resultados del ensayo pueden variar en función de la edad del niño en el momento de la extracción de sangre (17) así como por otras causas. Tenga en cuenta que los valores mencionados en esta sección sólo son orientativos, ya que cada

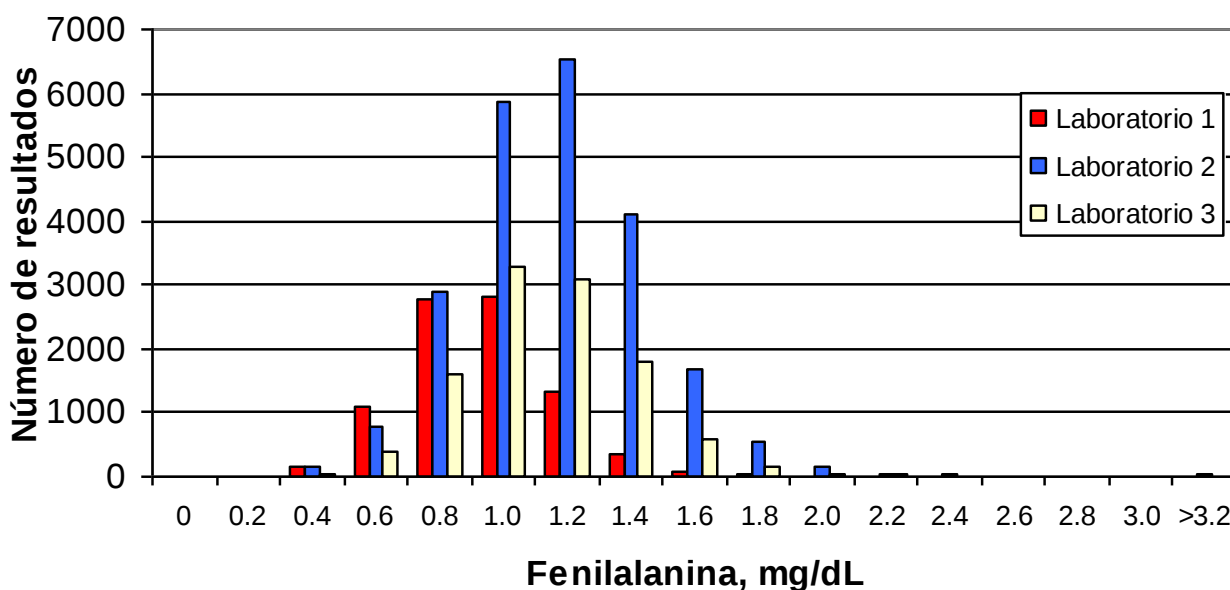
laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia y valores de corte. Debe realizarse la confirmación mediante un procedimiento de análisis diagnóstico para confirmar el diagnóstico de PKU.

Cuando se lanzó el kit, se proporcionaron las siguientes pautas basadas en un estudio con muestras de un laboratorio de screening de rutina en Estados Unidos:

|                                  | Phe en sangre |         |
|----------------------------------|---------------|---------|
|                                  | mg/dL         | μmol/L  |
| Resultado aparentemente negativo | < 2.1         | < 127   |
| Zona de ambigüedad               | 2.1–3.0       | 127–182 |
| Resultado aparentemente positivo | > 3.0         | > 182   |

Basándose en la experiencia adquirida con la utilización de programas de screening rutinarios durante varios años y en la bibliografía (18,19), se puede considerar que estos valores han sido corroborados. Con los valores de corte sugeridos se pueden detectar todos los casos de PKU, con un índice de repetición de análisis aceptable.

En la siguiente figura se muestra la distribución de los resultados de muestras de análisis de screening de tres laboratorios estadounidenses:

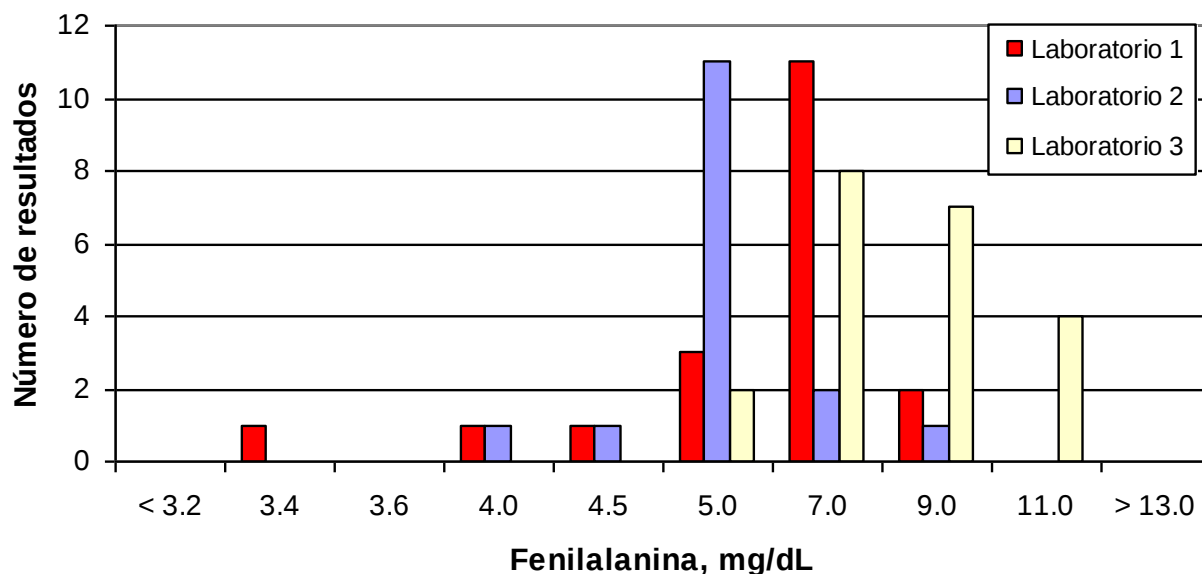


La siguiente tabla contiene las estadísticas de los datos anteriores.

| Labora-<br>torio | n     | Media |        | Mediana |        | Desv. est. |        |
|------------------|-------|-------|--------|---------|--------|------------|--------|
|                  |       | mg/dL | μmol/L | mg/dL   | μmol/L | mg/dL      | μmol/L |
| 1                | 8682  | 0.84  | 50.8   | 0.82    | 49.6   | 0.25       | 15.1   |
| 2                | 22943 | 1.07  | 64.7   | 1.05    | 63.5   | 0.37       | 22.4   |
| 3                | 10994 | 1.04  | 62.9   | 1.02    | 61.7   | 0.40       | 24.2   |

Recuerde que estos datos incluyen todos los resultados, también los posibles casos de PKU.

En la siguiente figura se muestra la distribución de las concentraciones de fenilalanina en la primera muestra de screening de los 56 casos de PKU diagnosticada. El caso de PKU más bajo detectado en este grupo de datos tenía un valor de 3.4 mg/dL (206  $\mu$ mol/L) en la primera muestra analizada.



Se incluye una zona de ambigüedad que refleja la variación del ensayo. Se deben volver a analizar con este kit las muestras cuyos resultados estén en la zona de ambigüedad. Si siguen estando en la zona de ambigüedad o dan un resultado más elevado, deben considerarse como aparentemente positivos.

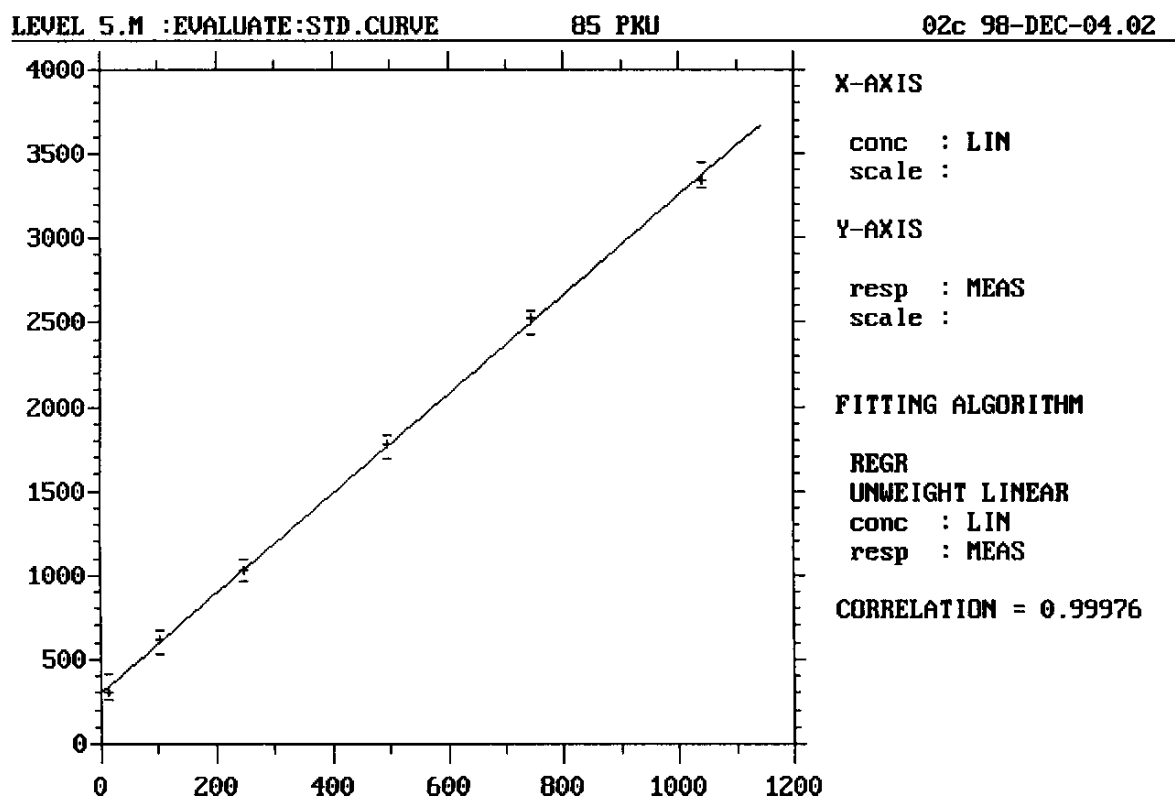
### Notificación de resultados

Se recomienda informar las muestras con valores por debajo de 24  $\mu$ mol/L (0.4 mg/dL) o "OUT" como "< 24  $\mu$ mol/L" o "< 0.4 mg/dL".

Las concentraciones de la muestra por encima del calibrador más alto no deben considerarse exactas, pero estas muestras sí deben considerarse aparentemente positivas.

## CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL ENSAYO

A continuación se presenta una curva de calibración típica (n = 6) obtenida con el kit Neonatal Phenylalanine:



**Precisión<sup>4</sup>:** Se determinó la precisión utilizando 3 controles CDC, los controles del kit y una muestra de sangre total sobrecargada con fenilalanina. Todas las muestras fueron analizadas por 3 técnicos distintos dos veces al día durante 20 días. Los resultados se muestran en la tabla siguiente:

| Muestra    | Valor total medio |        | Variación intra-<br>ensayo (% CV) | Variación entre<br>ensayos (% CV) | Variación total<br>(% CV) |
|------------|-------------------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
|            | mg/dL             | μmol/L |                                   |                                   |                           |
| CDC 1      | 4.1               | 248    | 11.1                              | 8.7                               | 14.1                      |
| CDC 2      | 8.3               | 502    | 6.3                               | 8.0                               | 10.2                      |
| CDC 3      | 12.1              | 732    | 8.5                               | 5.1                               | 9.9                       |
| Normal     | 1.2               | 73     | 22.9                              | 23.9                              | 33.2                      |
| Patológica | 5.7               | 345    | 12.2                              | 7.4                               | 14.3                      |
| Muestra 1  | 2.8               | 169    | 18.7                              | 16.3                              | 24.8                      |

<sup>4</sup> Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

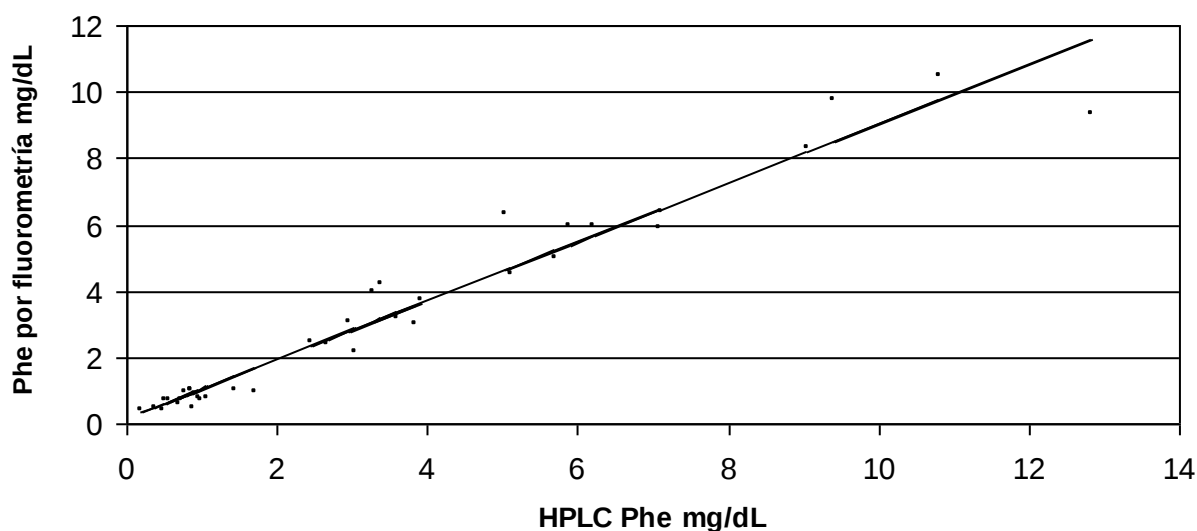
**Sensibilidad analítica:** Tan bajo como el calibrador más bajo.

**Recuperación:** Se calculó la recuperación con los datos del control de calidad CDC de los años 1998–2003 utilizando los resultados medios de todos los laboratorios que usaron el kit de Revvity. Los controles se sobrecargaron a tres niveles y durante este tiempo había 15 muestras distintas de cada nivel. En la siguiente tabla se muestra un resumen de los resultados:

| Sobrecarga |        | % de recuperación media | % de recuperación intervalo |
|------------|--------|-------------------------|-----------------------------|
| mg/dL      | μmol/L |                         |                             |
| 3          | 182    | 90.7                    | 83.3–100                    |
| 7          | 424    | 90.0                    | 80.0–98.6                   |
| 11         | 666    | 91.5                    | 85.5–100                    |

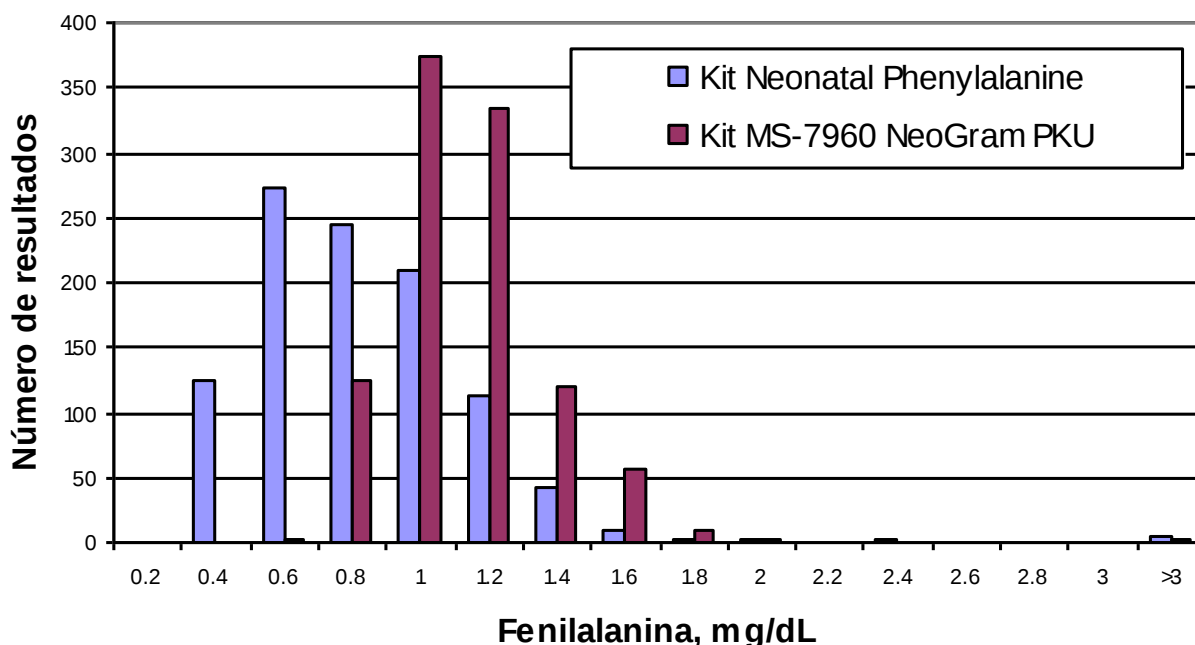
**Comparación de los métodos<sup>5</sup>:** Se realizó un estudio comparativo entre el kit Neonatal Phenylalanine (y) y el método HPLC (x) (6) con 37 muestras de sangre seca formadas por muestras de neonatos, muestras CDC y muestras sobrecargadas. La correlación fue:

$$y = 0.89x + 0.18; \quad r = 0.98$$



<sup>5</sup> Estudio realizado en Revvity Inc., Norton, OH, EE.UU.

**Correlación<sup>6</sup>:** En otro estudio, se comparó el kit Neonatal Phenylalanine con el kit NeoGram<sup>®</sup> <sup>7</sup> PKU para espectrometría de masas en tándem de Revvity (MS-7960) utilizando 1029 muestras de screening rutinarias de recién nacidos. El valor medio de las muestras fue de 0.80 mg/dL (48.4  $\mu$ mol/L) con el kit Neonatal Phenylalanine y de 1.0 mg/dL (60.5  $\mu$ mol/L) con el kit NeoGram PKU. Las distribuciones se muestran en la figura siguiente:



**Linealidad<sup>8</sup>:** La linealidad se extiende al calibrador más alto, que es aproximadamente 908  $\mu$ mol/L (15 mg/dL).

**Reacción cruzada<sup>9</sup>:** La reacción cruzada se analizó añadiendo la sustancia a sangre total con 2.5 o 3 mg/dL (151 o 182  $\mu$ mol/L) de fenilalanina y analizando la fenilalanina en las manchas de sangre. La mezcla de aminoácidos contiene 20 mg/dL (1324  $\mu$ mol/L) de L-metionina, 20 mg/dL (1288  $\mu$ mol/L) de L-histidina, 20 mg/dL (1514  $\mu$ mol/L) de L-ornitina, 20 mg/dL (1738  $\mu$ mol/L) de L-prolina, 20 mg/dL (1368  $\mu$ mol/L) de glutamina y 20 mg/dL (1524  $\mu$ mol/L) de L-isoleucina.

<sup>6</sup> Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

<sup>7</sup> NeoGram es una marca registrada de Revvity, Inc.

<sup>8</sup> Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

<sup>9</sup> ver arriba

| Sustancia             | Concentración analizada |                         | Aumento aparente en la fenilalanina medida |        | Cambio estadísticamente significativo |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------------|--------|---------------------------------------|
|                       | mg/dL                   | μmol/L                  | mg/dL                                      | μmol/L |                                       |
| Tirosina (D y L)      | 50                      | 2760                    | 1.25                                       | 75.6   | S                                     |
|                       | 30                      | 1657                    | 0.71                                       | 43.0   | S                                     |
|                       | 10                      | 552                     | 0.26                                       | 15.8   | S                                     |
|                       | 5                       | 276                     | 0.17                                       | 10.3   | S                                     |
| Leucina               | 20                      | 1528                    | 0.50                                       | 30.3   | S                                     |
|                       | 15                      | 1145                    | 0.37                                       | 22.4   | S                                     |
|                       | 5                       | 382                     | n.m.*                                      | n.m.*  | N                                     |
| Arginina              | 20                      | 1148                    | 0.16                                       | 9.7    | N                                     |
| Mezcla de aminoácidos | véase el texto anterior | véase el texto anterior | 0.10                                       | 6.1    | N                                     |

\* Cambio no medible

1 mg/dL de tirosina producen un aumento aparente en la concentración de fenilalanina del orden de 0.02 mg/dL. Una cantidad normal de tirosina (2 mg/dL; 120 μmol/L) no produciría ningún efecto medible. Un paciente con tirosinemia que presenta 20 mg/dL (1100 μmol/L) de L-tirosina tendría un aumento en los niveles de fenilalanina de alrededor de 0.4 mg/dL (24 μmol/L) en relación a una muestra normal. Esto estaría dentro de la variación experimental esperada del ensayo en el nivel normal. De forma parecida, 1 mg/dL de leucina produce un aumento aparente de 0.03 mg/dL de fenilalanina, lo que no tiene ninguna importancia a niveles normales de leucina (alrededor de 4 mg/dL; 305 μmol/L). Con concentraciones mayores de leucina, el efecto producido estaría dentro de la variación experimental.

**Interferencia<sup>10</sup>:** Se analizaron las interferencias añadiendo la sustancia a sangre total sobrecargada con 2.5 o 3 mg/dL (151 o 182 μmol/L) de fenilalanina.

| Sustancia       | Concentración analizada |        | Aumento aparente en la fenilalanina medida |        | Cambio estadísticamente significativo |
|-----------------|-------------------------|--------|--------------------------------------------|--------|---------------------------------------|
|                 | mg/dL                   | mmol/L | mg/dL                                      | μmol/L |                                       |
| Bilirrubina     | 40                      | 0.684  | -0.12                                      | -7.3   | N                                     |
| Ácido ascórbico | 3                       | 0.17   | 0.28                                       | 17     | N                                     |
| BSA             | 12000                   | n.a.   | -0.17                                      | 10     | N                                     |
| D-glucosa       | 800                     | 44     | n.m.*                                      | n.m.*  | N                                     |

\* Cambio no medible

**Efecto de la hemoglobina<sup>11</sup>:** Concentraciones de hemoglobina de  $\geq 150$  g/L a  $\leq 200$  g/L no interfieren en el ensayo.

<sup>10</sup> Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

<sup>11</sup> ver arriba

**GARANTÍA**

Los resultados aquí presentados se han obtenido por el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por el fabricante puede afectar a los resultados, en cuyo caso Wallac Oy y sus filiales declinan cualquier responsabilidad y garantía otorgada, expresa o tácita, sobre la comercialización del producto y su uso.

En tal caso, Wallac Oy, sus filiales y sus distribuidores autorizados no asumen ninguna responsabilidad por los daños o perjuicios directos o indirectos.

**REFERENCIAS**

1. Chang, P.L., Lewis, S., Heathcote, J. and Whelan, D.T. (1991): Molecular diagnosis of phenylketonuria. *JIFCC* **3** (2), 58–65.
2. Koch, R. and de la Cruz, F. (1991): The danger of birth defects in the children of women with phenylketonuria. *J NIH Research* **3**, 61–63.
3. Okano, Y., Eisensmith, R.C., Guttler, F. et al. (1991): Molecular basis of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria. *New Engl J Med* **7**, 1232–1237.
4. Guthrie, R. and Whitney, S. (1965): Phenylketonuria. Detection in the newborn infant as a routine hospital procedure. U.S. Dept. of HEW, Children's Bureau Publ. No. **419**. Washington DC: U.S. Govt. Printing Office.
5. McCaman, M.W. and Robins, E. (1962): Fluorometric method for determination of phenylalanine in serum. *J Lab Clin Med* **59**, 885–890.
6. Atherton, N.D. and Green, A. (1988): HPLC Measurement of Phenylalanine in Plasma. *Clin. Chem.* **34**, 2241–2244.
7. Naruse, H. and Levy, H.L. (1994): Early discharge from the newborn screening nursery. A potential threat to effective newborn screening (Editorial). *Screening* **3**, 45–48.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (2007): Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Fifth Edition; CLSI Document LA4-A5. CLSI, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.
9. Madira, W.M., Xavier, F., Stern, J., Wilcox, A.H., and Barron, J.L. (1992): Determination and assessment of the stability of phenylalanine and tyrosine in blood spots by HPLC. *Clin. Chem.* **38**, 2162–2163.
10. Lundsjö, A., Hagelberg, S., Palmér, K., and Lindblad, B.S. (1990): Amino acid profiles by HPLC after filter paper sampling: 'appropriate technology' for monitoring of nutritional status. *Clin. Chim. Acta* **191**, 201–210.
11. Hill, J.B., Summer, G.K., and Hill, H.D. (1967): Modifications of the automated procedure for blood phenylalanine. *Clin. Chem.* **13**, 77–80.
12. Levy, H.L., Simmons, J.R., and MacCready, A. (1985): Stability of amino acids and galactose in the newborn screening filter paper blood specimen. *J. Pediatr.* **107**, 757–760.
13. Searle, B., Mijuskovic, M.B., Widelock, D., Davidow, B. (1967): A manual fluorometric paper disc method for detecting phenylketonuria. *Clin. Chem.* **13**, 621–625.
14. Spierto, F.W., Hearn, T.L., Gardner, F.H, and Hannon, W.H. (1985): Phenylalanine analyses of blood-spot control materials: Preparation of samples and evaluation of interlaboratory performance. *Clin. Chem.* **31** (2), 235–238.

15. Chase, D.H., Adam, B.W. Smith, S.J., Alexander, J.R., Hillman, S.L., and Hannon, W.H. (1999): Validation of accuracy-based amino acid reference materials in dried-blood spots by tandem mass spectrometry for newborn screening assays. *Clin. Chem.* **45**, 1269–1277.
16. Westgard, J.O. et al. (1981): A multi-rule chart for quality control. *Clin. Chem.* **27**, 493–501.
17. McCabe, E.B.B., McCabe, L., Mosher, G. and Allen, R.J. (1983): Newborn screening for phenylketonuria: Predictive validity as a function of age. *Pediatr.* **72**, 390–398.
18. Wang, S.T, Pizzolatao, S. and Demshar, H.P. (1997): Receiver operating characteristic plots to evaluate Guthrie, Wallac, and Isolab phenylalanine kit performance for newborn phenylketonuria screening. *Clin.Chem.* **43**, 1838–1842.
19. Chace, D.H., Sherwin, J.E., Hillman, S.L., Lorey, F. and Cunningham, G.C. (1998): Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours. *Clin. Chem.* **44**, 2405–2409.

Última revisión 10 de mayo de 2023

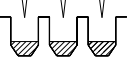
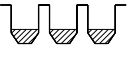
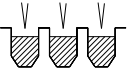
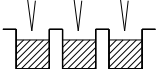
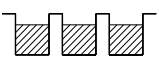
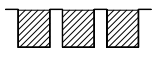
## Neonatal Phenylalanine kit NP-1000 / NP-4000

### Protocolo resumido

#### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

|                              |                                                                                   |                                                                                                                     |                                |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Reconstituir reactivo de PKU |  | 6.5 mL [20 mL para el kit de 50 placas] de tampón de reconstitución PKU. <b>Mezclar bien hasta que se disuelva.</b> |                                |
| Solución de extracción       |  | Sulfato de zinc<br>3 partes                                                                                         | Etanol<br>absoluto<br>2 partes |

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

|                                                               |                                                                                     |                                                                         |  |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--|
| Taladrar calibradores, controles y muestras                   |    | Utilizar una microplaca clara con fondo en V para la fase de extracción |  |
| Añadir solución de extracción                                 |   | 15 µL,<br>dé suaves golpecitos a la placa para mezclar los contenidos   |  |
| Incubar                                                       |  | 30–60 min. a T.A. o<br>18 h a +2–+8°C                                   |  |
| Añadir agua desionizada                                       |  | 40 µL,<br>dé suaves golpecitos a la placa para mezclar los contenidos   |  |
| Transferir al pocillo correspondiente de la microplaca blanca |  | 25 µL del contenido del pocillo                                         |  |
| Añadir reactivo de PKU                                        |  | 50 µL,<br>dé suaves golpecitos a la placa para mezclar los contenidos   |  |
| Incubar                                                       |  | Incubador precalentado:<br>30–40 min. a +60°C o<br>120–140 min. a +37°C |  |
| Añadir reactivo de cobre                                      |  | 200 µL,<br>dé suaves golpecitos a la placa para mezclar los contenidos  |  |
| Incubar                                                       |  | 30–90 min. a T.A.                                                       |  |
| Medir                                                         |  | KIT 84 o 85<br>(390 nm excitación,<br>486 nm emisión)                   |  |

## Kit de fenilalanina neonatal NP-1000

### Etiquetado de dispositivos

## Etiquetado del contenedor exterior

### 1 Etiqueta del kit

Dimensiones de la etiqueta 185 × 107,9 mm (N.º de artículo NP-1000-500)

| Neonatal Phenylalanine kit                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |          | NP-1000 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------|
| <p>For the quantitative determination of phenylalanine in dried blood / Pour la mesure quantitative de la phénylalanine dans le sang séché / Zur quantitativen Bestimmung von Phenylalanin in getrocknetem Blut / Para la determinación cuantitativa de fenilalanina en sangre seca / Per la quantizzazione della fenilalanina in sangue essiccato / Para a determinação quantitativa de fenilalanina em sangue seco / För kvantitativ bestämning av fenylalanin i torkad blodprov / Til kvantitativ bestemmelse af phenylalanin på blodspot / Для количественного определения фенилаланина в сухих пятнах крови</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |          | 14      |
| <p><b>Phenylalanine Calibrators</b> (dried human blood): concentrations on QC certificate, 1 card / Calibres de phénylalanine (sang humain séché): concentrations sur le certificat QC, 1 carte / Phenylalanin-Kalibratoren (getrocknetes Humanblut): Konzentrationen auf dem QC-Zertifikat, 1 Karte / Calibradores de fenilalanina (sangre humana seca): concentraciones en el certificado de CC, 1 tarjeta / Calibratori fenilalanina (sangue umano essiccato): concentrazioni sul certificato QC, 1 scheda / Calibradores de fenilalanina (sangre seco humano): concentrações no certificado QC, 1 cartão / Fenylalaninkalibratorer (intorkat humant blod): koncentrationer på kvalitetskontrollcertifikatet, 1 kort / Phenylalaninkalibratorer (tørret humant blod): koncentrationer på kvalitetskontrolattesten, 1 kort / Калибраторы фенилаланина (высушенная человеческая кровь): Концентрации в сертификате контроля качества, 1 карта</p> |          |         |
| <p><b>Phenylalanine Controls</b> (dried human blood): concentrations on QC certificate, 1 card / Contrôles de phénylalanine (sang humain séché): concentrations sur le certificat QC, 1 carte / Phenylalanin-Kontrollen (getrocknetes Humanblut): Konzentrationen auf dem QC-Zertifikat, 1 Karte / Controles de fenilalaninas (sangre humana seca): concentraciones en el certificado de CC, 1 tarjeta / Controlli fenilalanina (sangue umano essiccato): concentrazioni sul certificato QC, 1 scheda / Controlos de fenilalaninas (sangre seco humano): concentrações no certificado QC, 1 cartão / Fenylalaninkontroller (intorkat humant blod): koncentrationer på kvalitetskontrollcertifikatet, 1 kort / Phenylalaninkontroller (tørret humant blod): koncentrationer på kvalitetskontrolattesten, 1 kort / Фенилаланиновые контроли (высушенная человеческая кровь): Концентрации в сертификате контроля качества, 1 карта</p>               |          |         |
| <b>Zinc Sulfate Reagent</b> , 1 bottle / Réactif au sulfate de zinc, 1 bouteille / Zinksulfat-Reagenz, 1 Flasche / Reactivo de sulfato de zinc, 1 frasco / Reagente al solfato di zinco, 1 bottiglia / Reagente de sulfato de zinco, 1 frasco / Zinksulfatreagens, 1 flaska / Zinksulfatreagens, 1 flaske / Сульфат цинка реагент, 1 флакон                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 30 mL    |         |
| <b>PKU Reagent</b> , dry, 10 vials / Réactif PKU, sec, 10 flacons / PKU-Reagenz, trocken, 10 Fläschchen / Reactivo de PKU, seco, 10 viales / Reagente PKU, secco, 10 flaconi / Reagente PKU, seco, 10 frascos / PKU-reagens, torr, 10 flaskor / PKU-reagens, tor, 10 glas / Реагент для диагностики фенилкетонурии, сухой, 10 пробирок                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 0.0325 g |         |
| <b>Copper Reagent</b> , 1 bottle / Réactif au cuivre, 1 bouteille / Kupfer-Reagenz, 1 Flasche / Reactivo de cobre, 1 frasco / Reagente al rame, 1 bottiglia / Reagente de cobre, 1 frasco / Kopperreagens, 1 flaska / Kobberreagens, 1 flaske / Медный реагент, 1 флакон                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 240 mL   |         |
| <b>PKU Reconstitution Buffer</b> , 1 bottle / Tampon de reconstitution PKU, 1 bouteille / PKU-Rekonstitutionspuffer, 1 Flasche / Tampón de reconstitución PKU, 1 frasco / Tampone di ricostituzione PKU, 1 bottiglia / Tampão de reconstituição do reagente PKU, 1 frasco / PKU-rekonstitutionsbuffert, 1 flaska / PKU-genopløsningsbuffer, 1 flaske / Буфер восстановитель для диагностики фенилкетонурии, 1 флакон                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 118 mL   |         |
| <p><b>White Microplate</b>, 96 wells, 2 x 5 plates / Microplaque blanche, 96 puits, 2 x 5 plaques / Weiße Mikroplatte, 96 Wells, 2 x 5 Platten / Microplaca blanca, 96 pocillos, 2 x 5 placas / Micropiastro bianca, 96 pozzetti, 2 x 5 piastre / Microplaca branca, 96 poços, 2 x 5 placas / Vit mikroplatta, 96 brunnar, 2 x 5 plattor / Hvid mikroplade, 96 brønde, 2 x 5 plader / Белые микропланшеты, 96 ячеек, 2 x 5 микропланшет</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |          |         |
| <p>CE0537 IVD <math>\Sigma</math>960  2°C  8°C Reg MS (Brasil): 10298910054 Resp. Técnica: Silvia Claudia A. Bello, CRF-SP 15578 Фенилаланин Неонатал РУ №ФСЗ 2009/05841 от 30.12.2009 г. Для диагностики IN VITRO    WARNING, DANGER</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |          |         |

## 2 Etiqueta específica del lote del kit adherida al paquete del kit

La información específica del lote se imprime durante el proceso de embalaje.

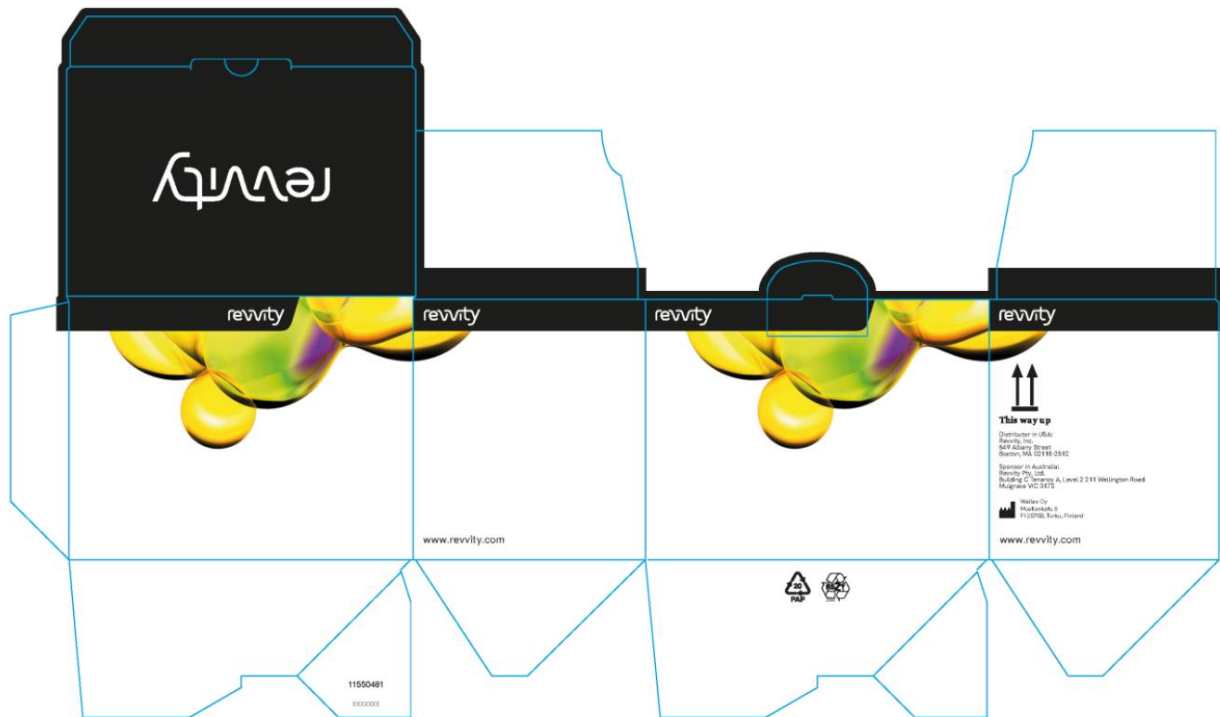
- Numero de lote
- Fecha de caducidad (AAAA-MM-DD)
- Número de embalaje
- Versión de inserción del kit
- Código de identificador de dispositivo único (UDI)

Dimensiones de la etiqueta 80 × 35 mm



### 3 Paquete de dispositivo

Dimensiones interiores (ancho × largo × alto) 203 × 136 × 150 mm (n.º de artículo 11550481)



La siguiente información del distribuidor y del fabricante está preimpresa en el paquete del kit:

Distributor in USA:  
Revvity, Inc.  
549 Albany Street  
Boston, MA 02118-2512

Sponsor in Australia:  
Revvity Pty. Ltd.  
Building C Tenancy A, Level 2 211 Wellington Road  
Mulgrave VIC 3170

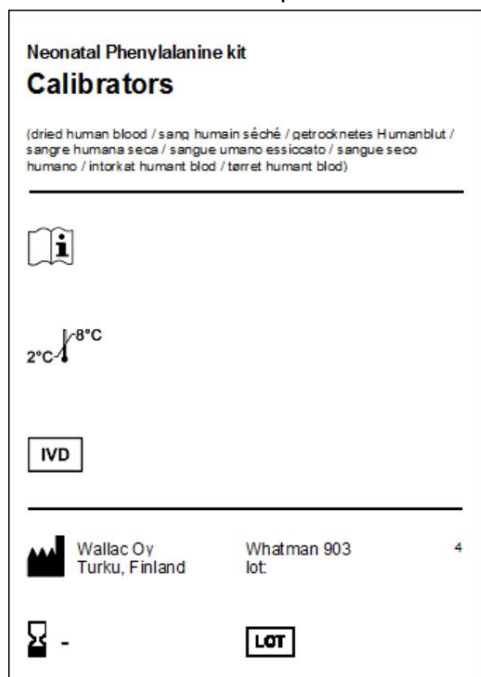


Wallac Oy  
Mustionkatu 6  
FI-20750, Turku, Finland

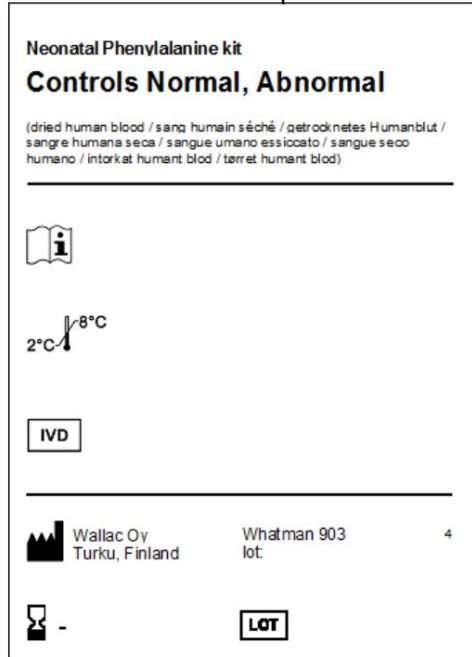
## Etiquetas de contenedores inmediatas

La información específica del lote (número de lote y fecha de vencimiento) se imprime durante el proceso de fabricación.

Dimensiones de la etiqueta 60 x 85 mm (n.º de artículo 13405223)



Dimensiones de la etiqueta 60 x 85 mm (n.º de artículo 13405224)



Dimensiones de la etiqueta 160 x 158 mm (n.º de artículo 13405213)

|     |   |   |   |   |   |   |
|-----|---|---|---|---|---|---|
| PKU | A | B | C | D | E | F |
| PKU | A | B | C | D | E | F |
| PKU | A | B | C | D | E | F |
| PKU | A | B | C | D | E | F |
| PKU | A | B | C | D | E | F |

**Neonatal Phenylalanine kit**

3

IVD



2°C

8°C



Wallac Oy,

Turku, Finland

LOT



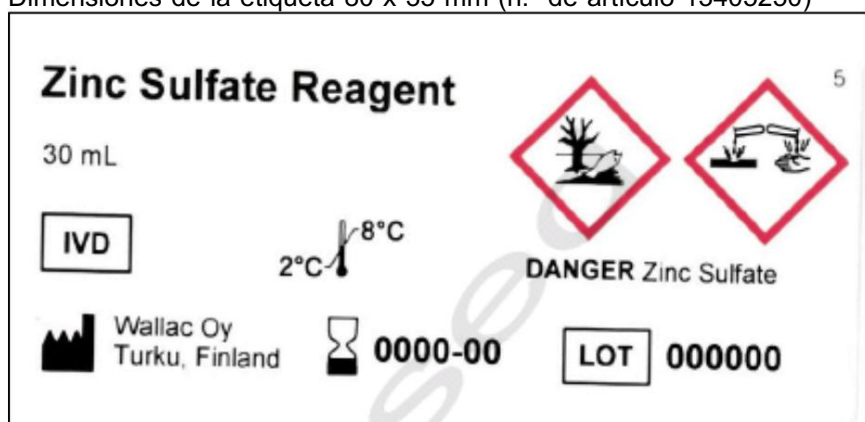
Dimensiones de la etiqueta 50 x 158 mm (n.º de artículo 13405214)

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| N                                                                                              | Ab |
| N                                                                                              | Ab |
| N                                                                                              | Ab |
| N                                                                                              | Ab |
| N                                                                                              | Ab |
| <b>Neonatal Phenylalanine kit</b>                                                              |    |
| <b>Controls</b>                                                                                | 2  |
| <div>LOT</div>                                                                                 |    |
| <div></div> |    |

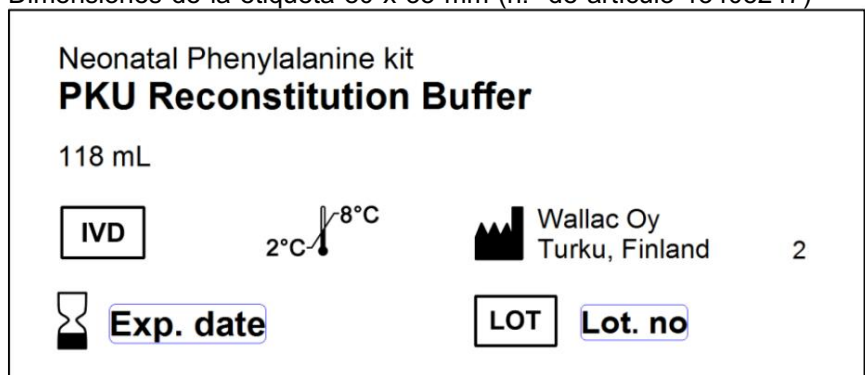
Dimensiones de la etiqueta 50 x 19 mm (n.º de artículo 13405245)



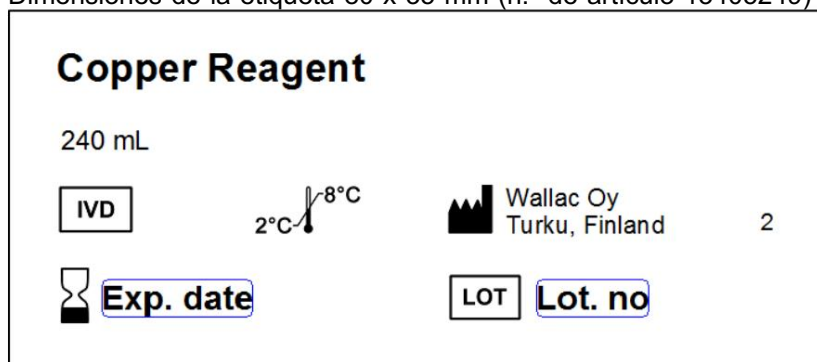
Dimensiones de la etiqueta 80 x 35 mm (n.º de artículo 13405250)



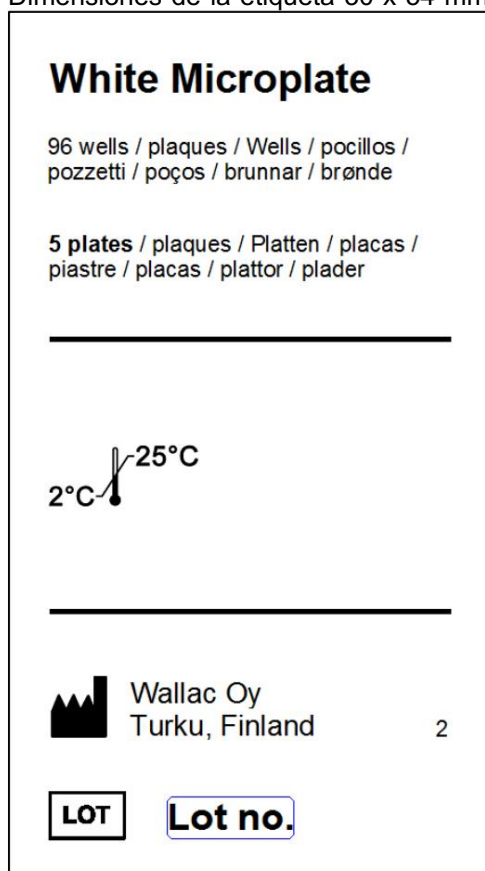
Dimensiones de la etiqueta 80 x 35 mm (n.º de artículo 13405247)



Dimensiones de la etiqueta 80 x 35 mm (n.º de artículo 13405249)



Dimensiones de la etiqueta 30 x 54 mm (n.º de artículo 13405485)



*Los números de artículo (Nº de artículo) entre paréntesis se muestran para la trazabilidad dentro de la empresa.*

*La información presentada aquí es confidencial y puede usarse únicamente con fines regulatorios.*