



IFU-MPK03-SE
Издање 10
Последња ревизија: 2022/05

MucoRAP-F

Папа тест комплет за неонатални скрининг на цистичну фиброзу

INSERM патент

Флуороимуноесеј са временским решењима
Упутство за употребу и реагенси за 96 тестова

Направио:
DYNABIO S.A.
Luminy Biotech Entreprises
Case 922 – 163, avenue de Luminy
13288 Marseille cedex 9
France
Tel : +33 (0)4 86 94 85 04
www.dynabio.com

REF MPK03

IVD

CE

СИМБОЛИ



За дијагностичку употребу *ин витро*



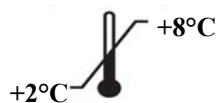
Број серије



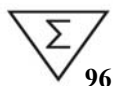
Каталошки број



Датум истека (гггг /мм/ дд)



Чувати између +2°C и +8°C



Садржи реагенсе за 96 тестова



Напомена: прочитајте упутство за употребу



Макер

РЕЗИМЕ

УВОД.....	4
ПРИНЦИП ДОЗИРАЊА	4
ОПРЕМА И ПОТРЕБНИ ПРОИЗВОДИ НИСУ ПРЕДВИЂЕНИ ЗА ДОЗИРАЊЕ	4
КИТ ЦОМПОСИТИОН	5
ОПИС РЕАГЕНСА.....	6
ПРИКУПЉАЊЕ И ОБРАДА УЗОРАКА	6
УПОЗОРЕЊА И МЕРЕ ПРЕДОСТРОЖНОСТИ.....	7
ПРЕПОРУКЕ ЗА УПОТРЕБУ.....	7
ПРИПРЕМА УЗОРАКА И СТАНДАРДА	8
ПРИПРЕМА РЕАГЕНСА.....	8
ИЗВОЂЕЊЕ ТЕСТА	9
ПРОРАЧУН РЕЗУЛТАТА	10
калибрација	10
Контрола квалитета	10
Анализа резултата узорака новорођенчади.....	10
ОГРАНИЧЕЊА ДОЗЕ	11
ИНТЕРПРЕТАЦИЈА РЕЗУЛТАТА	11
ПЕРФОРМАНСЕ.....	11
АНАЛИТИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ	11
ГАРАНЦИЈА	13
РЕФЕРЕНЦЕ	13
САЖЕТАК АССАИ.....	14

УВОД

Протеин повезан са панкреатитисом (ПАП, који се такође назива Рег3А) синтетички панкреас током поремећаја панкреаса. У случају цистичне фиброзе, панкреас је већ захваћен *ин утеро* и производи ПАП. Неколико студија је показало да је концентрација ПАП повишена у крви оболеле новорођенчади (1, 2, 3, 4, 5).

ПАП тест на калибрисаним картицама за скрининг стога омогућава идентификацију новорођенчади која ће вероватно бити погођена цистичном фиброзом.

ПРИНЦИП ДОЗИРАЊА

МисоРАР-Ф комплет је намењен за квантитативно одређивање ПАП-а у узорцима крви новорођенчади депонованих на калибрисаним скрининг картицама одобреним од надлежних органа. То је имунотест типа сендвич који користи технику флуоресценције са временском резолуцијом (ТРФ). Референтни опсег теста као и интерне контроле су представљени у облику мрља крви депонованих на калибрисаним скрининг картицама, баш као и узорци који се анализирају.

Јамице микротитарске плоче су обложене анти-ПАП антителима. Елуати крвних мрља се депонују у бунарчићима и ПАП који садрже везује се за специфична антитела. Протеини који нису фиксирани се елиминишу прањем. Анти-ПАП антитела обележена биотином се затим депонују у јажице и везују за имобилизовани ПАП. Након испирања, комплекс антиген-антитело се детектује комплексом стрептавидин - еуропијум. Након новог корака испирања, додавање раствора за развијање флуоресценције изазива прекид везе између стрептавидина и европијума, а затим се ослобођени европијум хвата у високо флуоресцентне хелате. Ови хелати емитују на 620 nm након екситације на 337 nm. Интензитет емитоване флуоресценције је пропорционалан количини ПАП садржаног у почетном елуату .

ОПРЕМА И ПОТРЕБНИ ПРОИЗВОДИ НИСУ ПРЕДВИЂЕНИ ЗА ДОЗИРАЊЕ

Материјал :

- Вртложни миксер
- Шејкер за плоче (орбитално / 300 о/ мин = ротације у минути)
- Машина за прање плоча (аутоматска или полуаутоматска)
- Спектрофлуориметар за микроплоче, опремљен филтером од 337 nm за екситацију и филтером од 620 nm за емисију
- Рачунар повезан са читачем ради анализе резултата
- Једно- и вишеканадне аутоматске микропипете
- Контејнер од 1 литра (за пуфер за прање)
- Ручни или аутоматски резач колачића за сечење дискова филтер папира пречника 3 mm
- Два литра дестиловане воде

Материјал за једнократну употребу :

- Плоча са 96 бунарчића са округлим дном (за елуирање крвних мрља)
- Савети за микропипете
- Пластичне пипете од 10 mL
- Четири резервоара реагенса за једнократну употребу за означавање (један по реагенсу): ПБС, биотинилована антитела , стрептавидин -еуропијум и раствор за развијање
- Мрље од крви новорођенчета на картицама за скрининг калибриране и одобрене од стране надлежних органа

КИТ ЦОМПОСИТИОН

Сваки комплет садржи реагенсе за 96 тестова. Датум истека је написан на свим етикетама комплета.

Презентација плоче за микротитрацију у облику трака које се могу уклонити омогућава прилагођавање теста броју узорака који се анализирају. Међутим, сваки тест треба да садржи референтни опсег и интерне контроле.

РЕАГЕНСИ	КОНЗЕРВАЦИЈА ПРЕ ОТВАРАЊА	КАРАКТЕРИСТИКЕ УПОТРЕБЕ	КОНЗЕРВАЦИЈА НАКОН ОТВАРАЊА
Микротитарска плоча (96 бунара у хоризонталним тракама од 8 к 12 бунара)	Чувати даље од светлости у оригиналном паковању. између +2°C и +8°C до истека рока употребе.	Обложен анти-ПАП антителима. Спремни за употребу.	Чувати на температури од +2°C до +8°C, у кесицама са за то предвиђеним средством за сушење, максимално 30 дана.
Референтни ПАП опсег		Мрље крви на калибрисаном филтер папиру које се пробијају и елуирају у 150 µL ПБС преко ноћи (16h) између +2°C до +8°C.	
Унутрашње контроле			
Биотинилована анти-ПАП антитета	Стабилан на +2°C до +8°C до истека рока употребе.	Лиофилизат да се нежно потопи у 11 mL дестиловане воде, директно у боцу.	Чувати на -20°C до 30 дана.
Пуфер за разблаживање коњугата		15 mL. Користи се за разблаживање коњугата стрептавидин - еуропијум до 1/1000.	Чувати између +2°C и +8°C највише 30 дана.
Стрептавидин -еуропијум коњугат		Разблажите 1/1000 у пуферу за разблаживање коњугата. Екстремно припремите неопходну запремину.	Не чувајте разблажење 1/1000 направљено у пуферу за разблаживање.
Раствор за развијање флуоресценције (решење откровења)		2 бочице од 11 mL свака. Спремни за употребу.	Чувати између +2°C и +8°C највише 30 дана.
ПБС таблета		Растворити у 1 L дестиловане воде. Резервишите 20 mL за елуирање крвних тачака.	Чувајте припремљени пуфер за прање на -20°C до 30 дана.
Tween 20 Солутион		Додајте у преосталих 980 mL ПБС-а да бисте добили пуфер за испирање.	

Под овим условима, комплет се може користити у року од 30 дана од отварања.

Као што је испоручио Dynabio S.A., комплет за анализу MucopAP-F није аутоматизован.

ОПИС РЕАГЕНСА

РЕАГЕНСИ	ОПИС	КОНЦЕНТРАЦИЈА АКТИВНОГ САСТОЈКА
Микротитарска плоча (96 бунара у хоризонталним тракама од 8 к 12 бунара)	Бунари обложени мишјим моноклонским антителима усмереним специфично против ПАП	4 µg/mL
Референтни ПАП опсег	Филтер папир који садржи 2 серије од по 6 тачака осушене крви допуњене ПАП-ом	0 µg ПАП/Л крви 0,39 µg ПАП/Л крви 0,78 µg ПАП/Л крви 1,56 µg ПАП/Л крви 3,13 µg ПАП/Л крви 6,25 µg ПАП/Л крви
Унутрашње контроле	Филтер папир који садржи 2 серије од по 3 тачке осушене крви допуњене ПАП-ом	Low: 1 µg ПАП/Л крви Medium: 2 µg ПАП/Л крви High: 3 µg ПАП/Л крви
Биотинилована анти-ПАП антитела	Моноклонска антитела миша специфична за ПАП, у комбинацији са биотином, у фосфатном пуферу који садрже заштитна средства	0,25 µg/mL
Пуфер за разблаживање коњугата	Слани раствор на бази Трис - ХЦл пуфера који садржи говеђе протеине, детерџент и антибактеријско средство	/
Стрептавидин -еуропијум коњугат	европијум- стрептавидин , у трис-ХЦл пуферисаном физиолошком раствору који садржи заштитна и антибактеријска средства	0,1 mg/mL
Раствор за развијање флуоресценције	Раствор који садржи сирћетну киселину, детерџент и хелаторе	2-НТА 15 µM ТОПО 50 µM
ПБС таблета	Фосфатни пуфер	/
Tween 20	Концентровани раствор детерџента	10%

ПРИКУПЉАЊЕ И ОБРАДА УЗОРАКА

Узорке крви треба узети убодом пете и директно на одобрени филтер папир (златни стандард). Ако се узорак не може директно нанети на филтер папир, немојте користити крв сакупљену у присуству антикоагулантних реагенса (ЕДТА, цитрат) који хелатирају еуропијум, што ће утицати на резултате теста.

Метода и комплетан уређај за узимање узорака морају бити у складу са прописима.

Препоручљиво је консултовати прописе у вези са врстом потребног узорка и одговарајућим периодом узимања узорака према важећем програму скрининга новорођенчади. Ово последње такође дефинише колико брзо ПАП тест треба да се уради након узимања узорка.

Резултати анализе засноване на узорцима осушене крви директно зависе од бриге при прикупљању узорака, руковању, преносу и складиштењу. Документација (6) прецизно описује методе прикупљања узорака и прихватљиве технике за доношење капи или аликвота крви на стандардизовани филтер папир. Такође даје упутства о правилном руковању, транспорту и складиштењу узорака како би се обезбедили квалитетни резултати за скрининг новорођенчади.

УПОЗОРЕЊА И МЕРЕ ПРЕДОСТРОЖНОСТИ

Овај комплет треба користити само у дијагностичке сврхе *in vitro*, од стране посебно обученог особља са адекватном заштитном опремом.

Осушене крвне мрље пацијената, распон и контрола, као и биотинилована антитела садрже крвне елементе људског или животињског порекла: морају се сматрати потенцијално заразним и са њима се поступа уз предузимање неопходних мера предострожности за заштиту корисника. .

У вези са његовим одлагањем погледајте безбедносни лист уређаја. Отпад се мора одлагати у складу са прописима који су на снази у земљи употребе.

Немојте пипетирати на уста.

Немојте јести, пити или пушити током руковања.

Следећи реагенси могу бити токсични или иритирајући: ПБС, пуфер за разблаживање, коњугат стрептавидин-европијум и раствор за развијање флуоресценције. Избегавајте контакт са кожом, очима и слузокожом. У случају случајног контакта, темељно исперите водом.

Сваки озбиљан инцидент који се догоди у вези са уређајем мора бити обавештен произвођачу и надлежном органу државе чланице у којој је корисник и/или пацијент регистрован.

ПРЕПОРУКЕ ЗА УПОТРЕБУ

Успоставити дијаграм плоча који треба пажљиво пратити, дефинишући редослед депоновања у бунарима са тачкама домета, слепим узорцима, контролама и узорцима новорођенчади, како би се избегло инвертовање удараца.

Избегавајте било какву биолошку или хемијску контаминацију узорака.

Не користите реагенсе којима је истекао рок трајања.

Не мешајте реагенсе из различитих серија.

Уравнотежите све реагенсе на собној температури (+19°C до +22°C) и промућкајте пре употребе.

Избегавајте унакрсну контаминацију између различитих реагенаса: користите различите резервоаре за сваки реагенс (резервоари нису испоручени).

Строго поштујте време инкубације назначено за сваки корак.

Прање треба пажљиво обављати како би се избегло повећање позадинске буке.

Никада не дозволите да се плоча осуши, што би утицало на квалитет резултата.

биотиниловано антитело мора бити припремљено најмање 10 минута унапред како би његово растварање било потпуно и реагенс хомоген.

Раствор за развијање флуоресценције је термолабилни реагенс и мора се чувати између +2°C и +8°C.

У случају оштећења комплета током транспорта (превртнуте и/или сломљене бочице, надуване алуминијумске кесице), молимо контактирајте Dynabio S.A. путем е-поште на info@dynabio.com или телефоном на +33 (0)4 86 94 85 04.

ПРИПРЕМА УЗОРАКА И СТАНДАРДА

Дан пре дозе :

Растворите приложу ПБС таблету у 1 L дестиловане воде. Након потпуне хомогенизације, користите 20 mL за елуирање крвних мрља: преосталих 980 mL се чува између +2°C и +8°C до следећег дана, на дан анализе, да би се припремио пуфер за испирање.

Узорци за дозирање: Изрезати из кутија куглица пречника 3 mm, императивно на периферији мрље од крви, у пределу где је крв потпуно импрегнирала картон, без преоптерећења или двоструког таложења. Ставите пелет у бунар плоче са округлим дном са 96 бунарчића (није приложено у комплекту). Да бисте добили дупликат дозе, ударите на 2 одвојена места на истој тачки крви. Додајте 150 µL ПБС пуфера у сваки бунар. Елуирати најмање 16h (једна ноћ) између +2 °C и +8 °C.

Референтни опсег: Баш као и узорци за анализу, изрежите пелет пречника 3 mm из кутија за опсег , императивно на периферији тачке. шест тачака домета треба да се удари дупло. Ставите сваку пелету у бунар плоче са округлим дном са 96 бунарчића (није приложено у комплекту). Додати 150 µL ПБС пуфера по бунарчићу. Елуирати најмање 16h (једна ноћ) између +2°C и +8°C. Затим добијамо шест тачака опсега: 6,25 / 3,13 / 1,56 / 0,78 / 0,39 и 0 µg/L .

Унутрашње контроле: Као и опсег, три унутрашње контроле треба да се избуше у дупликату из калибрисаног картона који се налази у комплекту, императивно на периферији мрље (дискови пречника 3 mm). Ставите сваку пелету у бунар плоче са округлим дном са 96 бунарчића (није приложено у комплекту). Додати 150 µL ПБС пуфера по бунарчићу. Елуирати најмање 16h (једна ноћ) између +2°C и +8°C. Концентрација ПАП-а у три контроле је 1 µg/L (Low Control), 2 µg/L (Medium Control) и 3 µg/L (High Control).

ПРИПРЕМА РЕАГЕНСА

Дан анализе : После ове инкубације преко ноћи, сви елуати морају бити хомогенизовани усисавањем и пражњењем када се узима 100 µL за анализу. Врхови микропипета морају императивно да се мењају између сваког депозита хомогенизованог узорка опсега, контроле или крви новорођенчади.

дозирање: Плоча, под вакуумом, мора да се уравнотежи на собну температуру пре него што је извуче из алуминијумског паковања. Након отварања, корисник мора да идентификује плочу како је не би помешао са другом плочом третираном истог дана. Све траке сваке плоче такође морају бити идентификоване (од А до Х) како би се избегло њихово превртање у случају да се одвоје од свог оквира током корака прања.

Пуфер за прање (ПБС-0,1% Tween): Додајте садржај боце Tween 20 (10%) који је испоручен у остатак ПБС раствореног дан раније (980 mL) и добро хомогенизујте смешу.

Биотинилована антитела : Лиофилизат се нежно потопи у 11 mL дестиловане воде, директно у боцу. Спреман је за употребу након потпуног растварања и хомогенизације.

разблаживање коњугата: након хомогенизације, овај пуфер се користи за припрему 1/1000 разблажења коњугата стрептавидин -еуропијум (види доле).

Коњугат стрептавидин- еуропијум (0,1 mg/mL): разблажите овај коњугат 1/1000 у пуферу за разблаживање да бисте добили концентрацију од 0,1 mg/mL. Количина разблаженог коњугата који треба да се припреми зависи од броја удубљења употребљених истог дана. Ово разблаживање мора бити припремљено екстемпорарно, током инкубације биотинилованог антитела у базенчићима.

Развојно решење: спремно за употребу након хомогенизације.

ИЗВОЂЕЊЕ ТЕСТА

Опсег ПАП се добија након елуирања, у ПБС, од шест стандардних концентрација датих у комплекту. Укључује растворе концентрације 6,25 / 3,13 / 1,56 / 0,78 / 0,39 и 0 $\mu\text{g/L}$, добијене у дупликату.

Свака тачка опсега, елуирана у дупликату, депонује се, након хомогенизације, у плочу за испитивање (100 μL /бунарићу). Врхови микропипета се морају обавезно мењати између сваког депозита хомогенизоване тачке опсега. Два отвора која ће примити 100 μL од тачке на 0 $\mu\text{g/L}$ омогућиће процену позадинске буке теста.

Елуати мрља из узорака новорођенчади, као и елуати интерних контрола, депонују се, у дупликату, након хомогенизације, на плочи за испитивање (100 μL /бунарићу). Врхови микропипета морају се обавезно мењати између сваког депозита контролне тачке или узорка хомогенизоване новорођенчади.

Ове наслаге се инкубирају 3 сата на температури околине (+19°C до +22°C), уз мешање (орбитално на 300 рпм), при чему је плоча претходно прекривена лепком.

Бунари се затим исперу 5 пута на следећи начин, користећи претходно припремљени 0,1% ПБС/Tween пуфер за прање:

- Аспирирајте садржај бунара,
- Напуните сваки бунар са ~300 μL пуфера за прање
- Поновите ова прва два корака 4 пута,
- Након последњег прања, уклоните преосталу течност тако што ћете снажно преокренути плочу (у судоперу или контејнеру за течни отпад), а затим је тапкати на папирни пешкир.

Напомена: препоручује се употреба аутоматске или полуаутоматске машине за прање.

биотинилованих антитела се одмах депонује (100 μL /бунарићу) и инкубира 30 минута на собној температури, уз мешање (орбитално на 300 рпм), при чему је плоча прекривена лепком.

Плоча се опере 5 пута као што је горе описано.

коњугата стрептавидин -еуропијум разблажен до 0,1 $\mu\text{g/mL}$ у пуферу за разблаживање се одмах додаје (100 μL /бажирић) и инкубира 30 минута на собној температури уз мешање (орбитално на 300 рпм), а плоча је прекривена лепком.

Плоча се опере 5 пута као што је горе описано.

Затим се додаје раствор за откривање (**200 μL /бунарићу**). Немојте покривати плочу лепком јер ће то искључити сигнал.

После најмање 30 минута инкубације уз мешање (орбитална при 300 рпм), флуоресценција се читава помоћу спектрофлуориметра, ексцитацијом на таласној дужини од 337 nm и мерењем емисије на 620 nm. Гаранција стабилног и прецизног сигнала може се обезбедити само ако се плоча прочита најмање 30 минута након додавања раствора за развијање.

Напомена: минимално време инкубације раствора за откривање предложеног у овом протоколу одређено је на читачу Флуостар Омега (BMG Labtech): погледајте детаље о конфигурацији овог уређаја у „АНАЛИТИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ“

ПРОРАЧУН РЕЗУЛТАТА

калибрација

Сваки извршени тест мора одговарати стандардној кривој. Ако дневна доза укључује неколико плоча, опсег мора бити постављен на сваку плочу.

Да би се добила ова крива, прво је потребно израчунати позадински шум теста који одговара просеку вредности добијених за бланко (тачка на 0 µg/L), а затим је одузети од сирових резултата добијених за све тачке домета.

Ову позадину такође треба одузети од сигнала сваке контроле и реплика узорка пре него што се израчуна просек за две реплике .

Пример резултата добијених за референтни опсег са просечном позадинском буком од 4125 бројева (дато као индикација):

ПАП (µg/L)	Флуоресценција				
	Реплика 1	Реплика 2	Реплика 1 - просечна позадинска бука	Реплика 2 - просечна позадинска бука	Значити
0	4200	4050			
0,39	10617	11169	6492	7044	6768
0,78	20409	16023	16284	11898	14091
1.56	33079	32551	28954	28426	28690
3.13	58947	63764	54822	59639	57231
6.25	118902	116993	114777	112868	113823

Стандардна крива је конструисана према функцији [ПАП] = ф(просечан интензитет флуоресценције), усклађивањем просечне флуоресценције сваке тачке опсега са њеном теоретском концентрацијом и применом линеарне регресије. Препоручује се коришћење рачунарског програма за израчунавање ове функције из вредности референтног опсега . Концентрација ПАП у елуатима тачака (контроле и узорци) се израчунава коришћењем једначине криве која је тако конструисана .

Контрола квалитета

Препоручује се употреба интерних контрола како би се осигурала валидност резултата. Контроле треба третирати исто као и узорке. Три контроле које одговарају растућим концентрацијама ПАП (Low , средња, High) су обезбеђене у комплекту. Ове контроле морају бити укључене у сваки тест: ако данашњи тест укључује више плоча, контроле треба ставити на сваку плочу.

Препоручује се да контроле не одступају +/-20% од своје теоријске концентрације:

Контрола - Теоријска концентрација	Лимит ниско	Висока граница
Low - 1 µg/L	0,8 µg/L	1,2 µg/L
Medium – 2 µg/L	1,6 µg/L	2,4 µg/L
High – 3 µg/L	2,4 µg/L	3,6 µg/L

Резултати узорка треба да буду валидирани само ако резултати контроле за тај тест испуњавају критеријуме прихватљивости.

У случају понављајућег проблема или промене перформанси теста, контактирајте Dynabio S.A. путем е-поште на info@dynabio.com или телефоном на +33 (0)4 86 94 85 04.

Анализа резултата узорка новорођенчади

Прорачун концентрације ПАП у крви новорођенчади: ако се стриктно поштује горе описани протокол и ако узорци потичу са калибрираних скрининг картица, избушених пречника 3 mm, концентрација ПАП у крви за свако новорођенче се директно добија помоћу једначина криве опсега [ПАП] = ф(средњи интензитет флуоресценције).

ОГРАНИЧЕЊА ДОЗЕ

Информације о ПАП тесту добијене коришћењем комплета МисоРАР-Ф треба да се користе као допуна другим тестовима и анализама (пример: ИРТ тест) које се спроводе као део скрининга на цистичну фиброзу. Треба га тумачити заједно са другим доступним клиничким информацијама.

Услови који могу изазвати абнормалне аналитичке резултате:

- картон за скрининг није равномерно засићен крвљу,
- узорак је исечен преблизу ивици области узорковања,
- узорак је исечен у центру мрље уместо на њеној периферији,
- узорак је неправилно сакупљен или непрописно осушен,
- узорак је био изложен топлоти или влази,
- картон је контаминиран фекалним материјама.

Узорак крви не би требало да садржи ЕДТА или цитрат који су хелатори европијума.

Такође погледајте одељке „Упозорења и мере предострожности“ и „Препоруке за употребу“.

ИНТЕРПРЕТАЦИЈА РЕЗУЛТАТА

Процена концентрације ПАП-а у мрљама крви се користи за идентификацију популације новорођенчади са високим ризиком од цистичне фиброзе. Стратегије које се тренутно примењују углавном се одвијају у три фазе. У првом, имунореактивни трипсиноген (ТИР) се мери код свих новорођенчади. У другом, ПАП се мери код новорођенчади са високим ТИР-ом. Код новорођенчади са високим ТИР и ПАП, трећи корак се састоји или од дијагностичког теста, теста знојења, или од тражења мутација у ЦФТР гену, након чега може да следи тест знојења код новорођенчади рођене која носи ове мутације.

Исцрпни преглед учинка стратегија које се тренутно користе извршио је Хауте Ауторите де Санте и објавио га је 2015. Доступан је под насловом „*Place de la stratégie couplant les dosages de la TIR et de la PAP dans le dépistage systématique de la mucoviscidose en France*” на следећој адреси:

http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1739994/fr/.

Препоручује се да се упутите на ову анализу пре спровођења неонаталног скрининга на цистичну фиброзу који укључује ПАП тест.

ПЕРФОРМАНСЕ

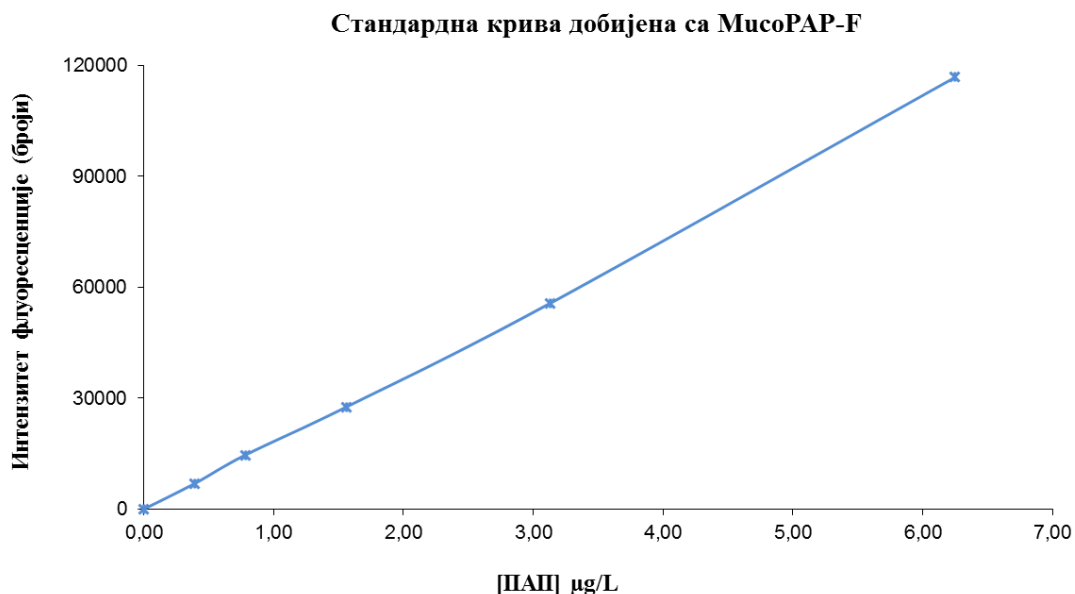
Код новорођенчади са високом ТИР вредношћу ($> 50 \mu\text{g/L}$), сва деца са цистичном фиброзом имају ПАП $> 1,75 \mu\text{g/L}$ (са изузетком сирових облика и беба са илеусом меконијум). Погођена новорођенчад представља приближно 25% новорођенчади са високом ТИР вредношћу и ПАП $> 1,75 \mu\text{g/L}$. Незахваћена новорођенчад у овој групи укључује превремено рођене бебе, оне са Дауновим синдромом и бебе са тешким инфекцијама дигестивног система (4, 7).

АНАЛИТИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

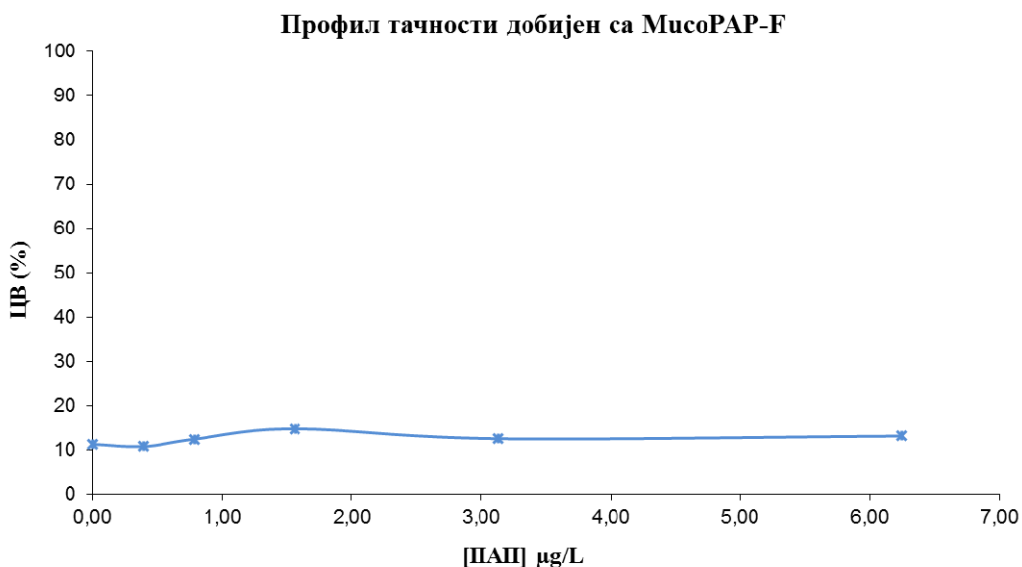
Сви доле наведени подаци добијени су са уређајем BMG Labtech марке Флуостар Омега, чије су карактеристике:

- Режим читања: ТРФ (временски решена флуоресценција)
- Бити преосетљив,
- Филтер ексцитације: 337 nm / Емисиони филтер: 620 nm
- Интеграција : 60 μs
- Трајање: 400 μs
- Време паузе пре почетка репродукције: 0,2 секунде
- Број бљескова по бунарчићу: 200

Стандардна крива : Типична стандардна крива за МисоРАР-Ф уређај је приказана на графикону испод. Дефинисано је коришћењем четири различите серије и пробијањем шест тачака опсега девет пута у свакој серији.



Профил тачности: Профил тачности уређаја МисоРАР-Ф одређен је коришћењем четири различита серија и пробијањем шест тачака опсега девет пута у свакој серији. То је приказано на графикону испод.



Поновљивост и репродуктивност : Поновљивост и репродуктивност МисоРАР-Ф уређаја су одређене коришћењем пет различитих серија комплета и пробијањем сваке од три интерне контроле обезбеђене у сваком комплету једанаест пута. Поновљивост представља варијацију унутар серије (n = 11) и поновљивост варијација између серија (n = 5).

Очекивана контролна вредност (µg/L)	Добијена вредност (µg/L)	Поновљивост (ЦВ у %)	Репродуцибилност (ЦВ у %)
1	0.990	11.5	13.9
2	2,100	9.8	9.7
3	3,150	8.0	10.2

Границе детекције и квантификације : Границе детекције и квантификације МисоРАР-Ф теста (изражене у микрограмима ПАП по литру крви) су 0,24 µg/L односно 0,32 µg/L с обзиром на то:

- граница детекције је дефинисана као 3 стандардне девијације изнад средње вредности нултог стандардног мерења

- граница квантификације је дефинисана као 10 стандардних девијација изнад средње вредности мерења нултог стандарда.

реакција: Није добијена унакрсна реакција у МисоРАР-Ф тесту са ИЛ2, ИЛ6, ИФН γ , ТНФ α, протеинима *Есцхериџиа цоли* .

Ефекат куке: Одсуство ефекта куке до концентрације ПАП-а од 1000 µg/L, изражено у микрограмима ПАП-а по литру крви.

ГАРАНЦИЈА

Све промене или модификације процедуре које препоручује произвођач могу утицати на резултате. У овом случају, Dynabio S.A. се одриче сваке одговорности изражене, подразумеване или утврђене законом, укључујући одговорност која се подразумева продајом или транспортом за његово коришћење. У овом случају, Dynabio S.A. се не може сматрати одговорним за било какву директну или индиректну штету насталу из тога.

РЕФЕРЕНЦЕ

1. Iovanna *et al.* C R Acad Sci III. 1994;7:561-4.
2. Sarles *et al.* Arch Dis Child 1999;80:F118-22.
3. Barthellemy *et al.* Arch. Pédiatr 2001;8:275-281.
4. Sarles *et al.* J Pediatr 2005;147:302-305.
5. Sarles *et al.* J Cyst Fibros 2014;13:384-90.
6. Dried Blood Spot Specimen Collection for Newborn Screening - Approved Standards (reference NBS01-Ed7, 7th edition, 2021). Clinical and Laboratory Standards Institute.
7. Weidler *et al.* J. Cystic Fibrosis 2016;15:752-758.

САЖЕТАК АССАИ

Не заборавите да припремите елуате крвне мрље у 150 μ L ПБС/бунарићу дан пре теста у плочици са округлим дном (не испоручује се у комплекту)

1. Доведите плоче за анализу и елуирање на собну температуру.
2. Након еквилибрације на собној температури, извадите плочу за анализу из кутије и ставите у њу, након хомогенизације, елуате са тачака опсега, три контроле и узорке (100 μ L/бунарићу).
3. Инкубирајте 3 сата на собној температури уз мућкање (орбитално на 300 рпм).
4. Завршите са припремом пуфера за прање (додавање Tween-а у ПБС припремљен дан раније).
5. На крају инкубације од 3 сата, извршите 5 прања ПБС/Tween, испразните плочу, осушите.
6. биотиниловано антитело (100 μ L/бунарићу).
7. Инкубирајте 30 минута на собној температури уз мућкање (орбитално на 300 рпм).
8. Извршите 5 прања ПБС/Tween, испразните плочу, осушите.
9. Дистрибуирајте коњугат стрептавидин -еуропијум (100 μ L/бунарићу).
10. Инкубирајте 30 минута на собној температури уз мућкање (орбитално на 300 рпм).
11. Извршите 5 прања ПБС/Tween, испразните плочу, осушите.
12. Дистрибуирајте раствор за откривање (200 μ L/бунарићу).
13. Инкубирајте 30 минута на собној температури уз мућкање (орбитално на 300 рпм).
14. Очитајте флуоресценцију на 620 nm након ексцитације на 337 nm.

НАПОМЕНЕ