



OSTASE IRMA KIT

REF A44176

TABLE OF CONTENTS

English	2	Čeština	23
Français	5	Slovenčina	26
Deutsch	8	Türkçe	29
Italiano	11	Русский	32
Español	14	APPENDIX	35
Português (Portugal)	17		
Ελληνικά	20		

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF BONE ALKALINE PHOSPHATASE (BAP) IN HUMAN SERUM For *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE

The immunoradiometric assay of bone alkaline phosphatase (BAP) is a "sandwich" type assay. In the kit, mouse monoclonal antibodies directed against two different epitopes of BAP and hence not competing are used.

Serum samples, controls and calibrators are incubated in tubes coated with the first monoclonal antibody in the presence of the second monoclonal antibody which is labeled with iodine 125. After incubation, the content of tubes is rinsed so as to remove unbound 125I-labeled antibody. The bound radioactivity is then determined in a gamma counter. The BAP concentrations in the samples are obtained by interpolation from the standard curve. The concentration of BAP in the samples is directly proportional to the radioactivity.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be included with each assay.
- The size of the assay should be limited so as all the samples can be pipetted within 20 minutes.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use.

Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipetting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide can react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Materials of human origin

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HbsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All serum samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Wash solution (20x) DANGER



H360	May damage fertility or the unborn child.
P201	Obtain special instructions before use.
P280	Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
P308+P313	IF exposed or concerned: Get medical advice/attention. Boric Acid 0.1-0.3% Sodium Borate Decahydrate 0.1-0.3%



Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Collect blood in dry tubes.
- Separate serum from cells by centrifugation.
- Serum samples may be stored at 2-8 °C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage keep frozen (<-20 °C, maximum 2 months) after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.
- If samples have concentrations greater than the highest calibrator, they must be diluted in the zero calibrator.

MATERIALS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8 °C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Procedure.

Anti- BAP monoclonal antibody coated tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

¹²⁵I-labeled monoclonal anti- BAP antibody: one 11 mL vial (ready-to-use)

The vial contains 650 kBq, at the date of manufacture, of 125I-labeled immunoglobulins in buffer with bovine and horse proteins and sodium azide (<0.1 %) and a dye.

Note: Occasional presence of clotted particles in the tracer does not affect assay performance.

Calibrators: five 1 mL vials and one 6 mL "zero calibrator" vial (ready-to-use)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 120 µg/L of BAP in buffer with bovine serum albumin and sodium azide (<0.1 %). The exact concentration is indicated on each vial label. The calibrators are verified to an internal reference standard.

Control sera: two vials (ready-to-use)

The vials contain BAP in buffer with bovine serum albumin and sodium azide (<0.1 %). The expected values are in the concentration range indicated on a supplement.

Wash solution (20x): one 50 mL vial

Concentrated solution has to be diluted before use.

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- Precision micropipette (100 µL).
- Repeating pipettes (100 µL and 2 mL).
- Refrigerator or cold room (2-8 °C).
- Vortex-type mixer.
- Aspiration system.

- Gamma counter set for ¹²⁵I.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of BAP concentrations in samples assayed at the same time as the calibrators.

Standard curve

The results in the package insert were calculated using a log-log curve fit (weighted quadratic regression) with determined radioactivity ($\text{cpm}_{\text{cal}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$) on vertical axis and the BAP concentration of the calibrators on the horizontal axis ($\mu\text{g/L}$). Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 225,220 cpm				
Calibrators	BAP ($\mu\text{g/L}$)	cpm (n=3)	B/T (%)	$\text{cpm}_{\text{cal}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$
0	0	196	0.09	-
1	7.5	2,481	1.10	2,285
2	15	5,122	2.27	4,926
3	30	9,448	4.20	9,252
4	60	18,208	8.08	18,012
5	120	32,125	14.3	31,929

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

For each sample or control, locate the ($\text{cpm}_{\text{sample}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$) value on the vertical axis and read off the corresponding BAP concentration on the horizontal axis. The concentrations of diluted samples must be corrected by the dilution factor.

Enzymatic activity 100 U/L of BAP corresponds approximately to 38.4 $\mu\text{g/L}$.

EXPECTED VALUES

We recommend each laboratory to establish its own reference values. The below presented values obtained with healthy subjects are indicative only.

A multicenter clinical trial was conducted to test the effectiveness of BAP as an aid in the management of postmenopausal osteoporosis and Paget's disease. Although the BAP results in this trial were generated with the Tandem®-R OSTASE assay, the Immunotech OSTASE IRMA kit assay has been developed using the same monoclonal antibodies employed in the Tandem-R OSTASE assay and has been standardized to provide the same clinical performance.

Assays measuring BAP using other monoclonal antibodies or other methods may not provide similar clinical performance.

Study results are provided in the following table.

	n	Mean ($\mu\text{g/L}$)	SD ($\mu\text{g/L}$)	Median ($\mu\text{g/L}$)	95 th Percentile ($\mu\text{g/L}$)
Males	217	12.3	4.3	11.6	20.1
Premenopausal Females	228	8.7	2.9	8.5	14.3
Postmenopausal Females	529	13.2	4.7	12.5	22.4

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly in the same way as the assay samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PROCEDURE

Preparation and storage of reagents

Let all the reagents come to room temperature.

Preparation of the wash solution

Pour the content of the vial into 950 mL of distilled water and homogenize. The diluted solution may be stored at 2-8 °C until the expiry date of the kit.

Assay procedure (see table below)

Bring all reagents to room temperature before pipetting.

Step 1 Additions	Step 2 Incubation	Step 3 Washing and Counting
To antibody coated tubes, add successively: 100 μL of calibrator, control or sample and 100 μL of tracer.* Shake gently test tube rack by hand for 15 seconds.	Put the rack into pre-cooled water bath placed in refrigerator. Incubate 19 ± 1 hours at 2-8 °C without shaking. The temperature must not exceed 8 °C.	Add to all tubes 2 mL of wash solution and aspirate** (with exception of the 2 tubes «total cpm»). Add once more 2 mL of wash solution and aspirate.** Determine activity (cpm) for 1 min.

*Add 100 μL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

**Aspirate each rack of tubes separately to decrease the time of washing solution presence in the tube to minimum. After finalization of second washing step, wait approximately 60 seconds and aspirate once more.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(for more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Sensitivity

Analytical sensitivity: 1.75 $\mu\text{g/L}$

Functional sensitivity: 5.00 $\mu\text{g/L}$

Specificity

Intestinal BAP: 100 U/L gives a result of 2.4 $\mu\text{g/L}$ in this assay.

Placental BAP: 100 U/L did not produce detectable result in this assay.

Liver BAP: 100 U/L gives a result of 6.9 $\mu\text{g/L}$ in this assay.

Precision

Intra-assay

Samples were assayed in 18 replicates in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 8.4 %.

Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 10 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 13.6 %.

Accuracy

Dilution test

High-concentration serum samples were serially diluted in zero calibrator. The recovery percentages were obtained between 88.5 % and 115 %.

Recovery test

Serum samples were spiked with known quantities of BAP. The recovery percentages were obtained between 86.7 % and 106 %.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 1.75 to approximately 120 $\mu\text{g/L}$.

LIMITATIONS

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly.

Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

It is not recommended to use haemolysed, icteric or lipaemic samples with the OSTASE assay.

Hook effect: "Hook effect" of this IRMA kit may appear in samples containing BAP concentration equal or higher than 1000 $\mu\text{g/L}$. The samples with clinical suspicion to very high concentrations should be diluted with zero calibrator. Values obtained must be corrected by the dilution factor.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DE LA PHOSPHATASE ALCALINE OSSEUSE (sALP) DANS LE SERUM HUMAIN

Pour un usage diagnostique *in vitro*.

PRINCIPE

Le dosage radioimmunologique de la phosphatase alcaline d'origine osseuse (sALP) est un dosage de type sandwich. La trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule et réagissant sans compétition.

Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de sALP dans l'échantillon.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- La distribution des échantillons dans la totalité des tubes pour un dosage ne devra pas excéder 20 minutes.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur.

L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue

ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Wash solution (20x) DANGER



H360

Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

P201

Se procurer les instructions avant utilisation.

P280

Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.

P308+P313

EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin.

Acide borique 0,1-0,3%
Borate de sodium décahydraté 0,1-0,3%

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif.
- Séparer le sérum des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-20 °C, 2 mois maximum) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans le calibrateur zéro.

ÉLÉMENTS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousse conservés non ouverts à 2-8 °C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution sont indiquées dans le paragraphe Procédure.

Tubes revêtus d'anticorps monoclonal anti-sALP : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Anticorps monoclonal anti-sALP marqué à l'iode ¹²⁵ : 1 flacon de 11 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 650 kBq d'immunoglobulines marquées à l'iode 125, en début de lot, sous forme liquide avec des protéines bovines et équine, de l'azide de sodium (< 0,1 %) et un colorant.

Remarque : La présence occasionnelle de particules dans le traceur n'affecte pas les performances du dosage.

Calibrateurs : 5 flacons (de 5 mL) + 1 flacon de 6 mL de calibrateur zéro (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à environ 120 µg/L de sALP dans un tampon avec de l'albumine sérique bovine et d'azide de sodium (<0,1%). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

Contrôles : 2 flacons (prêts à l'emploi)

Le flacon contient de la sALP dans du tampon avec de l'albumine sérique bovine et d'azide de sodium (<0,1%). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur une feuille séparée.

Solution de lavage (20x) : 1 flacon de 50 mL

Solution concentrée, à diluer avant usage.

ÉLÉMENTS NÉCESSAIRES, MAIS NON FOURNIS

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (100 µL).
- pipettes semi-automatiques (100 µL, 2 mL).
- réfrigérateur de 2-8 °C
- mélangeur de type vortex.
- Système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de sALP de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé log-log pour la gamme standard (mode « régression quadratique ») avec en ordonnée le rapport la radioactivité mesurée (cpm du calibrateur – cpm du calibrateur 0) et en abscisse les concentrations en sALP des calibrateurs (µg/L). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 225 220 cpm				
Calibrateurs	sALP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} – cpm _{cal0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Repérer la valeur (cpm_{échantillon} – cpm_{cal0}) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard. En déduire la concentration en sALP de l'échantillon par lecture sur l'axe horizontal en µg/L. Pour les échantillons dilués, les valeurs obtenues doivent être corrigées par le facteur de dilution.

L'activité enzymatique de 100 U/L sALP correspond environ à 38,4 µg/L.

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets présumés sains sont données à titre indicatif.

Une étude clinique multicentrique a été réalisée afin de tester l'efficacité du dosage de la phosphatase alcaline osseuse (sALP) dans le suivi de l'ostéoporose chez la femme ménopausée et de la maladie de Paget. Les résultats présentés ici, obtenus avec la trousse TANDEM-R OSTASE, restent identiques avec la trousse OSTASE IRMA d'Immunotech. La trousse OSTASE IRMA utilise les mêmes anticorps et a été calibrée de façon à rendre les mêmes résultats cliniques que la trousse TANDEM-R OSTASE.

Les trousse utilisant d'autres anticorps peuvent rendre des résultats cliniques différents.

Les résultats sont dans la table suivant :

	n	Moyenne (µg/L)	DS (µg/L)	Median (µg/L)	95ème percentile (µg/L)
Hommes	217	12,3	4,3	11,6	20,1

	n	Moyenne (µg/L)	DS (µg/L)	Median (µg/L)	95ème percentile (µg/L)
Femmes préménopausiques	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Femmes postménopausiques	529	13,2	4,7	12,5	22,4

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PROCÉDURE

Préparation et conservation des réactifs

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

Préparation de la solution de lavage

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Mode opératoire du dosage (voir tableau dessous)

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

Etape 1 Répartition	Etape 2 Incubation	Etape 3 Lavage et comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement :	Placer les tubes dans le bain-marie froid dans le réfrigérateur.	Ajouter 2 mL de solution de lavage et aspirer **le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).
100 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon et 100 µL de traceur.*	Incuber 19±1 heures à 2-8 °C sans agitation.	Ajouter encore une fois 2 mL de solution de lavage et aspirer.**
Agiter à la main le portoir avec les tubes pendant 15 s.	La température ne doit pas excéder 8 °C.	Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

*Ajouter 100 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

**Aspirer chaque portoir à part pour abréger les temps de la présence de la solution de lavage dans les tubes. Après la seconde étape de lavage, attendre environ 60 secondes et aspirer une fois encore.

PERFORMANCES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 1,75 µg/L.

Sensibilité fonctionnelle : 5,00 µg/L

Spécificité

100 U/L d'activité enzymatique de sALP intestinale donnent un résultat de 2,4 µg/L dans ce test.

100 U/L d'activité enzymatique de sALP placentaire n'ont donné aucun résultat détectable dans ce test.

100 U/L d'activité enzymatique de sALP hépatique donnent un résultat de 6,9 µg/L dans ce test.

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 18 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 8,4 %.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 13,6 %.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 88,5 % et 115 %.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues de sALP ont été ajoutées à des échantillons sérique de faible concentration. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 86,7 % et 106 %.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 1,75 à environ 120 µg/L.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, icteriques ou lipémiques.

L'effet "crochet" survient à des concentrations supérieures ou égales à 1000 µg/L. Les échantillons contenant des concentrations élevées en sALP doivent être dilués en utilisant le calibrateur "zéro". Pour ces échantillons, les valeurs obtenues doivent être corrigées par le facteur de dilution.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

IMMUNORADIOMETRISCHER ASSAY FÜR DIE QUANTITATIVE IN-VITRO BESTIMMUNG DER ALKALISCHEN KNOCHENPHOSPHATASE (ALKALISCHE SKELETT-PHOSPHATASE -SALP) IN HUMANEM SERUM *In-vitro-Diagnostikum.*

PRINZIP

Die immunoradiometrische Bestimmung der alkalischen Knochenphosphatase (Skelett-Phosphatase - sALP) ist ein sog. „Sandwichassay“. In diesem Assay werden monoklonale Mausantikörper gegen zwei verschiedene Epitope der sALP verwendet.

Standards und sALP-haltige Proben werden in Anwesenheit eines 125I-markierten, monoklonalen Antikörpers und einem zweiten, an der Röhrchenwand immobilisierten Antikörper inkubiert. Nach der Inkubation wird der Röhrcheninhalt ausgewaschen, um den ungebundenen, überschüssigen 125I-markierten Antikörper zu beseitigen. Die gebundene Radioaktivität wird anschließend in einem Gamma-Zähler gemessen. Die Menge der gemessenen Radioaktivität ist direkt proportional zu den sALP Konzentrationen in den Proben.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Die Probenmenge in einem Testansatz sollte so festgelegt sein, dass die Pipettierung aller Proben nicht länger als 20 Minuten andauert.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde.

Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface

Antigen (HbsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Alle Serumproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Wash solution (20x)

GEFAHR



H360

Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

P201

Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P308+P313

BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Borsäure 0,1-0,3%
di-Natriumtetraborat-Decahydrat 0,1-0,3%

SDS

Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Das Blut sollte in Röhrchen ohne Zusätze gesammelt werden.
- Trennen Sie die Zellen vom Serum durch Zentrifugation.
- Die Serumproben können bei 2-8 °C für 24 Stunden gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollte die Probe aliquotiert und tiefgefroren werden (<-20 °C, maximum 2 Monaten). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Wenn die Proben Konzentrationen über dem höchsten Kalibratorwert haben, müssen sie mit Nullkalibrator verdünnt werden.

PRODUKT

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungskonditionen der Reagenzien nach der Wiederherstellung oder Verdünnung werden im Abschnitt „Durchführung“ angegeben.

Coated-Tubes, die mit einem monoklonalen Antikörper gegen sALP beschichtet sind: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig).

Monoklonaler ¹²⁵I-markierter Antikörper gegen sALP: 1 Fläschchen mit 11 mL Inhalt (gebrauchsfertig)

Das Fläschchen enthält bei Herstellung 650 kBq des als 125I-markierten Immunglobulins in einer Pufferlösung mit Rind- und Pferd-Proteinmatrix, Natriumazid (<0,1%) und einem Farbstoff.

Bemerkung: Gelegentlich kann eine leichte Ausfällung des I-125 Tracers auftreten, die jedoch keinen Einfluß auf die Testbestimmung hat.

Kalibratoren: 5 Fläschchen mit jeweils 1 mL Inhalt (gebrauchsfertig) **und 1 Fläschchen „Nullkalibrator“ mit 6 mL Inhalt** (gebrauchsfertig)

Die Flaschen enthalten sALP in einer Pufferlösung mit Rinderserumalbumin und Natriumazid (<0,1%) Konzentrationsbereich der Kalibratoren: 0 bis ungefähr 120 µg/L. Die genauen Konzentrationswerte sind auf den Etiketten der Fläschchen angegeben. Die Kalibratorkonzentrationen wurden anhand interner Referenzunterlagen eingestellt.

Kontrollen: 2 Fläschchen mit jeweils 1 mL Inhalt (gebrauchsfertig)

Die Fläschchen enthalten eine sALP in einer Pufferlösung mit Rinderserumalbumin und Natriumazid (<0,1%). Die Konzentrationsbereiche der zu erwartenden Werte sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Waschlösung (20x): eine 50 mL Flasche

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

BENÖTIGTE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (100 µL)
- halbautomatische Pipetten (100 µL, 2 mL)
- Kühlvorrichtung mit gleichbleibenden Temperaturen von 2 bis 8 °C
- Vortex-Mixer.
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für ¹²⁵I.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der sALP-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die in der Anleitung aufgeführten Ergebnisse sind mit einer Log-Log-Darstellung (unter Einsatz der „gewichteten“ quadratischen Regression) durch Auftragung der Aktivität (cpm_{Kal.} – cpm_{Kal.0}) auf der y-Achse (Ordinate), und der Konzentrationen von sALP in den Kalibratoren auf der x-Achse (µg/L) bestimmt worden. Andere Auswertungsmethoden können geringfügig andere Ergebnisse liefern.

Totalaktivität: 225 220 cpm				
Kalibratoren	sALP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{Kal.} – cpm _{Kal.0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Berechnen Sie für jede unbekannt Probe den Aktivitätswert (cpm_{Probe} – cpm_{Kal.0}) und tragen diese auf der y-Achse auf. Tragen Sie die entsprechenden sALP-Konzentrationen auf der x-Achse auf. Die Konzentrationen der verdünnten Proben sind mit dem Verdünnungsfaktor zu korrigieren.

Enzymaktivität 100 U/L sALP entspricht ungefähr 38,4 µg/L.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte eigene Normalwerte aufgrund von klinisch charakterisierten Proben festlegen. Die angegebenen Werte, die von Proben von gesunden Einzelpersonen gewonnen wurden, haben nur einen Orientierungscharakter.

Bei umfangreichen klinischen Prüfungen wurde die Anwendbarkeit der sALP-Bestimmung als Hilfe bei der Beobachtung der Osteoporose nach der Menopause und der Paget-Krankheit gezeigt. Die Messergebnisse der sALP wurden mit dem TANDEM-R OSTASE Assay gewonnen und sie sind hier angeführt, da der Immunotech-OSTASE IRMA Assay identische monoklonale Antikörper verwendet und so standardisiert wurde, dass dieser gleiche klinische Ergebnisse liefert wie das TANDEM-R OSTASE Testsystem.

Test-Systeme, die andere monoklonale Antikörper oder andere Festlegungsmethoden verwenden, können zu anderen klinischen Ergebnisse führen

Die Ergebnisse der Studie sind in der folgenden Tabelle angeführt:

	n	Durchschnitt (µg/L)	SD (µg/L)	Median (µg/L)	95% Perzentil (µg/L)
Männer	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Prämenopausale Frauen	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Postmenopausale Frauen	529	13,2	4,7	12,5	22,4

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay-Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben.

Präparation der Waschlösung.

Den Inhalt der Flasche in 950 mL destilliertes Wasser schütten und homogenisieren. Die verdünnte Lösung ist bei 2-8 °C bis zum Verfallsdatum haltbar.

Testdurchführung (siehe Tabelle unten)

Die Reagenzien sollten vor dem Pipettieren Raumtemperatur haben.

Schritt 1 Zugabe	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Waschen und Messen
Den beschichteten Röhrrchen in dieser Reihenfolge zugeben.	Röhrrchen im kühlen Wasserbad in den Kühlschränken stellen.	In alle Röhrrchen 2 mL Waschlösung zugeben und absaugen** (außer 2 Röhrrchen für die Totalaktivität T).
100 µL Kalibratoren, Kontrolle oder Probe und 100 µL Tracer.*	19 ± 1 Stunde bei 2-8°C kühl ohne Schütteln inkubieren.	Erneut 2 mL Waschlösung zugeben und absaugen.**
Inhalt der Röhrrchen in einem Ständer durch leichtes, 15 Sekunden langes Handschütteln durchmischen.	Die Temperatur darf nicht 8 °C überschreiten!	Aktivität (cpm) bestimmen (1min).

*Fügen Sie 100 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhrrchen hinzu, um die Totalaktivität zu erhalten.

**Jeden Ständer separat absaugen, um die Dauer der Waschlösung in den Röhrrchen auf Minimum zu verkürzen. Nach dem zweiten Waschvorgang ca. 1 Minute warten und dann den Flüssigkeitsrest wieder absaugen.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(für mehr Details siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 1,75 µg/L

Funktionelle Sensitivität: 5,00 µg/L

Spezifität

Darm-sALP: 100 U/L lieferte bei dieser Bestimmung ein Ergebnis von 2,4 µg/L.

Plazenta-sALP: 100 U/L lieferte bei dieser Bestimmung kein detektierbares Ergebnis.

Leber-sALP: 100 U/L lieferte bei dieser Bestimmung ein Ergebnis von 6,9 µg/L.

Präzision

Intra-Assay

Proben aus derselben Serie wurden in 18-fach Bestimmung im Assay analysiert. Der Variationskoeffizient war ≤ 8,4 %.

Inter-assay

Die Proben aus 10 verschiedenen Serien wurden in Doppelbestimmung getestet. Der Variationskoeffizient war $\leq 13,6\%$.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Serumproben mit einer hohen Konzentration der sALP wurden schrittweise mit dem Nullkalibrator verdünnt. Die prozentuale Wiederfindung lag zwischen 88,5 % und 115 %.

Wiederfindungstest

Verschiedene sALP-Mengen wurden zu Serumproben zugegeben, die Proben anschließend analysiert. Die prozentuale Wiederfindung lag zwischen 86,7 % und 106 %.

Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 1,75 bis ungefähr 120 $\mu\text{g/L}$.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.

Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen

Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Es wird nicht empfohlen, die sALP aus hämolysierten, ikterischen oder lipämischen Proben zu bestimmen.

„Hook-Effekt“ Bei diesem Assay tritt ein „Hook-Effekt“ bei sALP-Werten von $\leq 1000\ \mu\text{g/L}$ auf. Bei Proben mit einem klinischen Verdacht auf sehr hohe sALP-Konzentrationen empfehlen wir immer die Verdünnung mit dem Nullkalibrator. Die Ergebnisse sind dann mit Verdünnungsfaktor zu korrigieren.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören.

Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

DETERMINAZIONE IMUNORADIOMETRICA DELLA FOSFATASI ALCALINA OSSEA IN VITRO (Bone alkaline phosphatase - BAP) NEL SIERO UMANO Per uso diagnostico *in vitro*.

PRINCIPIO

La determinazione immunoradiometrica della fosfatasi alcalina ossea (bone alkaline phosphatase - BAP) corrisponde ad una determinazione di tipo "sandwich". Nel kit vengono utilizzati anticorpi monoclonali di topo contro due differenti epitopi BAP.

I campioni di siero, i campioni di controllo ed i calibratori vengono incubati in provette sensibilizzate con il primo anticorpo monoclonale assieme al secondo anticorpo monoclonale marcato con ¹²⁵I. Al termine dell'incubazione le provette vengono lavate per eliminare l'anticorpo marcato non legato. L'attività legata ¹²⁵I viene misurata con un rivelatore di onde gamma. La concentrazione della BAP nei campioni è direttamente proporzionale alla radioattività misurata e viene ricavata per interpolazione della curva di calibrazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- La quantità delle provette in una sessione deve essere determinata in maniera tale che la pipettatura dei campioni non superi i 20 minuti.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Le provette sono monouso.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale.

Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo.
- Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.
- In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per anticorpi anti HIV1 e HIV2, anticorpi anti HCV e antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg). Questi reattivi devono essere manipolati come in grado di trasmettere malattie infettive. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Manipolare questi reattivi come potenziali fonti di infezioni.

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Wash solution (20x)

PERICOLO



H360

Può nuocere alla fertilità o al feto.

P201

Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P280

Indossare guanti/indumenti protettivi. Proteggere gli occhi/il viso.

P308+P313

IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
Acido borico 0,1-0,3%
Sodio borato decaidrato 0,1-0,3%

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante.
- Separare per centrifugazione il siero dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati a temperatura di 2-8 °C per 24 ore. Per la conservazione prolungata (fino ad 2 mesi) occorre mantenere i campioni congelati a temperatura inferiore a -20 °C, preferibilmente frazionati. Occorre evitare la ripetizione dei cicli di congelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- I campioni con concentrazioni superiori a quelle dello calibratore più elevato devono essere diluiti con lo calibratore zero.

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reagenti dopo la ricostituzione o la diluizione sono indicate nel paragrafo Procedura.

Provette sensibilizzate con anticorpo monoclonale contro la BAP: 2 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale contro la BAP, marcato ¹²⁵I: 1 flacone (11 mL) (pronto per l'uso).

Alla data della produzione il flacone contiene 650 kBq ¹²⁵I dell'immunoglobulina marcata in soluzione tampone con proteine bovine ed equine, sodio azide (<0,1%) e un colorante.

Annotazione: L'eventuale presenza della coagulazione nel radioindicatore non ha alcun effetto sulla qualità della determinazione.

Calibratori: 5 flaconi (1 mL) + 1 flacone - calibratore zero (6 mL) (pronti per l'uso).

I flaconi contengono la BAP in soluzione tampone con albumina di siero bovino e sodio azide (<0,1%); l'intervallo di concentrazione è di 0 e circa 120 µg/L. I valori dei calibratori sono impostati in base al materiale interno di riferimento.

Sieri di controllo: 2 flaconi (pronti per l'uso)

I flaconi contengono la BAP liofilizzata in soluzione tampone con albumina di siero bovino e sodio azide (<0,1%); l'intervallo di concentrazione dei valori previsti è riportato sul foglio del controllo di qualità.

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

Soluzione concentrata da diluire prima dell'uso.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- Micropipette di precisione (100 µL).

- Pipette semi-automatiche (100 µL, 2 mL).
- Frigorifero tenuto a una temperatura di 2–8 °C.
- agitatore tipo vortex.
- Sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.

RISULTATI

Le concentrazioni di BAP in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratori.

Curva standard

I risultati indicati nelle istruzioni sono stati ricavati dal grafico log-log (utilizzando la regressione quadratica ponderata) distribuendo le attività ($cpm_{cal.} - cpm_{cal.0}$) sull'asse y e le concentrazioni della BAP nel calibratore sull'asse x (µg/L). Altri metodi di valutazione possono fornire dei risultati leggermente differenti.

Attività totale: 225 220 cpm				
Calibratori	BAP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal.} - cpm_{cal.0}$
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Trovare per ogni campione di controllo o per quello sconosciuto il valore dell'attività ($cpm_{camp.} - cpm_{cal.0}$) sull'asse y e leggere la concentrazione corrispondente alla BAP sull'asse x. Le concentrazioni delle soluzioni diluite devono essere corrette per il fattore di diluizione.

L'attività enzimatica 100 U/L della BAP corrisponde circa a 38,4 µg/L.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri valori normali in base a campioni clinicamente definiti. L'indicazione dei valori ottenuti sui campioni dei soggetti sani hanno solo carattere indicativo.

Durante i test clinici allargati è stata stimata l'applicazione della determinazione della BAP come supporto per monitorare l'osteoporosi post-menopausale e della malattia di Paget. I risultati delle misurazioni della BAP riportati in questa tabella sono stati ottenuti con il kit TANDEM-R OSTASE; il kit OSTASE IRMA utilizza gli stessi anticorpi monoclonali ed è stato standardizzato in maniera tale da offrire gli stessi risultati clinici del kit TANDEM-R OSTASE.

I kit che utilizzano altri anticorpi monoclonali o altri metodi per la determinazione possono offrire dei risultati clinici diversi.

I risultati dello studio sono indicati nella tabella seguente:

	n	Valore medio (µg/L)	SD (µg/L)	Valore mediano (µg/L)	95% Valore percentile (µg/L)
Uomini	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Donne premenopausali	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Donne postmenopausali	529	13,2	4,7	12,5	22,4

CONTROLLO QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere al indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Preparazione e conservazione dei reattivi

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto del flacone con 950 mL e agitare con cura. La soluzione diluita è stabile a 2-8 °C fino alla scadenza del kit.

Schema del dosaggio: (vedi tabella).

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

Fase 1 Dispensazione	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Lavaggio e conteggio
Per sensibilizzare le provette con anticorpo, aggiungere in successione: 100 µL di calibratori, controlli o campioni e 100 µL di marcato.* Miscelare il contenuto delle provette con una leggera agitazione manuale per 15 secondi.	Immergere le provette nel bagno freddo collocato nel frigo. Incubare per 19 ± 1 ore a temperatura di 2-8 °C, non agitare. La temperatura non deve superare gli 8 °C.	Aggiungere 2 mL della soluzione di lavaggio in tutte le provette ed aspirarla** (ad eccezione delle 2 provette per la determinazione dell'attività totale T). Aggiungere di nuovo 2 mL della soluzione di lavaggio ed aspirarla.** Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.

*Aggiungere 100 µL di marcato a 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.

**Aspirare separatamente ogni rack di provette per ridurre al minimo il tempo di presenza della soluzione di lavaggio nelle provette. Dopo il secondo lavaggio attendere circa un minuto e poi ripetere l'aspirazione del liquido.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(ulteriori dati sono riportati in APPENDICE)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 1,75 µg/L

Sensibilità funzionale: 5,00 µg/L

Specificità

BAP intestinale - 100 U/L con questa determinazione presenta il valore di 2,4 µg/L.

BAP placentale - 100 U/L non ha fornito alcun risultato misurabile con questa determinazione.

BAP epatica - 100 U/L con questa determinazione presenta il valore di 6,9 µg/L.

Precisione

Intra-saggio

I campioni sono stati analizzati 18 volte in una determinazione. I valori dei coefficienti di variazione rilevati non hanno superato l'8,4 %.

Inter-saggio

I campioni sono stati determinati in duplicato in 10 determinazioni differenti. I valori dei coefficienti di variazione rilevati non hanno superato il 13,6 %.

Accuratezza

Test di diluizione

I campioni di siero con alta concentrazione della BAP sono stati diluiti progressivamente con il calibratore zero. La percentuale di recupero è risultata oscillare tra l'88,5 % ed il 115 %.

Test di recupero

Varie quantità di BAP sono state aggiunte ai campioni di siero, dopodiché i campioni sono stati analizzati. La percentuale di recupero oscilla tra l'86,7 % ed il 106 %.

Intervallo di misura (è compreso tra la concentrazione corrispondente alla sensibilità analitica e la concentrazione del calibratore più elevato): 1,75 e circa 120 µg/L.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.

I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.

E' sconsigliato eseguire la determinazione della BAP sui campioni emolizzati, itterici o lipemici.

In queste determinazioni si verifica "L'effetto Hook" se i valori della BAP superano 1000 µg/L. Nel caso di sospetto clinico del valore molto alto della BAP si consiglia la diluizione con il calibratore zero. Successivamente correggere i risultati per il fattore di diluizione.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

ENSAYO INMUNORADIOMÉTRICO PARA LA DETERMINACION CUANTITATIVA IN VITRO DE LA FOSFATASA ALCALINA ÓSEA (Bone alkaline phosphatase - BAP) EN SUERO HUMANO Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO

El ensayo inmunoradiométrico de la fosfatasa alcalina ósea (bone alkaline phosphatase - BAP) es un ensayo de tipo „sandwich“. El equipo utiliza anticuerpos monoclonales de ratón dirigidos contra diferentes epitopos de la BAP.

Las muestras, controles y calibradores se incuban en tubos recubiertos con el primer anticuerpo monoclonal en presencia del segundo anticuerpo monoclonal el cual está marcado con ¹²⁵I. Después de la incubación se aspira el líquido contenido en los tubos y estos se lavan para retirar el anticuerpo no enlazado y marcado. La actividad enlazada ¹²⁵I después se mide en un contador gamma. La concentración de BAP en las muestras es directamente proporcional a la radiactividad y se obtiene por interpolación a partir de la curva estándar.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- El número de muestras a analizar está limitado al tiempo máximo de 20 minutos para pipetear las muestras.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas de las disposiciones legales del país en el que se utiliza.

El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

Material de origen humano

Ciertos reactivos de este equipo son de origen humano y fueron negativos a las pruebas de HIV 1, de HIV 2; de HCV, así como de hepatitis B (Hbs Ag). Sin embargo, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedad. Ninguna prueba conocida puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de agentes virulentos. Maneje estos reactivos con todas las precauciones necesarias.

Todas las muestras de suero deben ser manipuladas como si fueran susceptibles de contener virus como la hepatitis o el sida. Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos nacionales actuales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Wash solution (20x)

PELIGRO



H360

Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.

P201

Procurarse las instrucciones antes del uso.

P280

Use guantes/ropa de protección y equipo de protección para los ojos/la cara.

P308+P313

EN CASO DE exposición demostrada o supuesta: consultar a un médico. Acido bórico 0,1-0,3% di-Sodio tetraborato decahidrato 0,1-0,3%

SDS

La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

- Colectar la sangre en tubos secos.
- Separar el suero de las células mediante centrifugación.
- Las muestras del suero se pueden almacenar a de 2-8 °C durante 24 horas. Para un periodo mayor (2 meses máximo) almacenar a <-20°C después de preparar alícuotas para evitar el congelamiento y la descongelación repetidos de las muestras. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Las muestras que presenten concentraciones más altas, a aquella del calibrador de mayor concentración, diluirlas con el calibrador Cero.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Todos los reactivos son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo indicada en las etiquetas. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Las condiciones de conservación de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el apartado Procedimiento.

Tubos recubiertos de anticuerpo monoclonal anti-BAP: 2 x 50 tubos (listos para su uso).

Anticuerpo monoclonal anti-BAP, marcado ¹²⁵I: 1 frasco (11 mL); listos para su uso.

El frasco contiene 650 kBq (en la fecha de fabricación) de inmunoglobulina marcada con ¹²⁵I en un tampón con proteínas bovinas y equina, azida de sodio (<0.1%) y colorante.

Nota: La presencia eventual de precipitado en el trazador no tiene influencia sobre la calidad de la determinación.

Calibradores: 5 frascos (a 1 mL) y 1 frasco del calibrador „cero“ (6 mL); listos para su uso.

Los frascos contienen BAP en un tampón con albúmina de suero bovino y azida de sodio (<0.1%), el límite de la concentración es desde 0 hasta aproximadamente 120 µg/L. Los valores exactos de las concentraciones se encuentran en las etiquetas de los frascos. Los valores de los calibradores han sido ajustados según un estándar interno de referencia.

Muestra de control: 2 frascos; listos para su uso.

Los frascos contienen BAP en un tampón con albúmina sérica bovina y azida de sodio (<0.1%). Los valores esperados se sitúan en el intervalo de concentración indicado en el anexo de la instrucción.

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

La solución concentrada debe diluirse antes de su uso.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (100 µL).
- Micropipeta de repetición (100 µL, 2 mL).
- Unidad de refrigeración mantenida entre 2 y 8 °C.
- Mezclador tipo vórtex.
- Sistema de aspiración.
- Contador gamma calibrado para I¹²⁵.

RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para la determinación de las concentraciones de BAP en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados presentados en este folleto fueron calculados usando una curva log-log (regresión cuadrática ponderada), donde los valores (cpm_{cal} – cpm_{cal0}) ha sido marcados en el eje vertical y la concentración de BAP de los calibradores en el eje horizontal (µg/L). Otros métodos de valoración pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 225,220 cpm				
Calibradores	BAP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} – cpm _{cal0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

Muestras

Para cada muestra o control ubicar el valor de la actividad (cpm_{mues} – cpm_{cal0}) en el eje vertical y determinar la concentración correspondiente de BAP en el eje horizontal. La concentración de las muestras diluidas debe ser corregida por el factor de dilución.

La actividad enzimática 100 U/L BAP corresponde aproximadamente a 38,4 µg/L.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los valores que se muestran a continuación fueron obtenidos de sujetos sanos y deben de considerarse sólo como orientativos.

Se realizó un ensayo clínico multicéntrico para verificar la efectividad de BAP como ayuda en el seguimiento de la osteoporosis postmenopáusica y la enfermedad de Paget. Aunque los resultados de la medición de BAP en este ensayo fueron obtenidos TANDEM-R OSTASE el kit de Immunotech OSTASE IRMA ha sido desarrollado usando los mismos anticuerpos monoclonales utilizados en el kit Tandem-R OSTASE y ha sido estandarizado para proporcionar la misma interpretación clínica. Determinaciones de BAP usando otros anticuerpos monoclonales u otros métodos pueden dar resultados clínicos diferentes.

Sistemas que usen otros anticuerpos monoclonales u otros métodos de la serie pueden dar resultados clínicos diferentes.

Los resultados del estudio están en la tabla siguiente.

	n	Media (µg/L)	SD (µg/L)	Mediana (µg/L)	Percentil 95 (µg/L)
Varones	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Mujeres premenopáusicas	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Mujeres posmenopáusicas	529	13,2	4,7	12,5	22,4

CONTROL DE CALIDAD

Para la obtención de resultados óptimos se recomienda el uso de los controles en cada ensayo para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichos controles deben ser procesados de la misma manera que las muestras a analizar. Se recomienda que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el empaque del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

Preparación de la solución de lavado

Verter el contenido de un frasco en 950 mL de agua destilada y homogeneizar. La solución diluida se puede almacenar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Procedimiento del ensayo (ver tabla a continuación)

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

Paso 1 Adiciones	Paso 2 Incubación	Paso 3 Lavado y conteo
Adicionar sucesivamente a los tubos con anticuerpos:	Introducir los tubos en baño de agua fría colocado en el refrigerador.	Añadir a todos los tubos 2 mL de solución de lavado y aspirar** (con excepción de 2 tubos de cpm total).
100 µL de los calibradores, controles o muestras y 100 µL de trazador.*	Incubar durante 19 ±1 horas con 2-8 °C sin agitar.	Añadir 2 mL de la solución de lavado y aspirar.**
Mezclar manualmente, agitando con cuidado durante 15 segundos.	La temperatura no debe superar 8 °C.	Determinar la actividad (cpm) por 1 min.

*Agregar 100 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales.

**Aspire cada gradilla de tubos aparte para disminuir la presencia de la solución de lavado en los tubos al mínimo. Después del segundo aclarado espere aproximadamente un minuto y vuelva a aspirar el resto del líquido.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(para mayores detalles ver la página de "APENDICES")

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

Sensibilidad

Sensibilidad analítica: 1.75 µg/L

Sensibilidad funcional: 5.00 µg/L

Especificidad

De intestinos BAP – 100 U/L da el resultado de 2.4 µg/L en este ensayo.

De placenta BAP – 100 U/L no ha proporcionado un resultado detectable en este ensayo.

De hígado BAP – 100 U/L da el resultado 6.9 µg/L en este ensayo.

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras fueron analizadas 18 veces en una misma serie. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 8.4 %.

Inter-análisis

Las muestras se evaluaron por duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 13.6 %.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras altamente concentradas se diluyeron en serie con el calibrador Cero. Los porcentajes de recuperación fueron entre 88.5 % y 115 %.

Prueba de recuperación

Las muestras de baja concentración se regularon con concentraciones conocidas de BAP. Los porcentajes de recuperación fueron entre 86.7 % y 106 %.

Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): desde 1.75 hasta aproximadamente 120 µg/L.

LIMITACIONES

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados.

Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.

No se recomienda usar en muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas con el kit de OSTASA.

El "Efecto Hook" de este kit IRMA puede aparecer en muestras que contengan concentraciones de BAP igual o superiores 1000 µg/L. En

muestras con una sospecha clínica de un nivel muy alto de BAP se recomienda diluir siempre con el calibrador cero. Los resultados deben corregirse con el factor de dilución.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

ENSAIO IMUNORADIOMÉTRICO PARA A DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA IN VITRO DA FOSFATASE ALCALINA ÓSSEA (Bone alkaline phosphatase - BAP) NO SORO HUMANO Para fins de diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

O ensaio imunoradiométrico da fosfatase alcalina óssea (bone alkaline phosphatase - BAP) é um ensaio de tipo „sandwich“. O equipamento utiliza anticorpos monoclonais de rato dirigidos contra diferentes epítomos da BAP.

As amostras, controlos e calibradores são incubados em tubos revestidos com o primeiro anticorpo monoclonal em presença do segundo anticorpo monoclonal o qual está marcado com ¹²⁵I. Depois da incubação, aspira-se o líquido contido nos tubos e estes lavam-se para retirar o anticorpo não ligado e marcado. A actividade de ¹²⁵I ligado é depois medida num contador gama. A concentração de BAP nas amostras é directamente proporcional à radioactividade e obtém-se por interpolação a partir da curva padrão.

AVISOS E PRECAUÇÕES

Orientações Gerais:

- Os frascos dos calibradores e controlos devem estar abertos durante o menor tempo possível, de forma a evitar evaporação excessiva.
- Não misture os reagentes de kits de diferentes lotes.
- Uma curva padrão deve ser feita em cada ensaio.
- O número de amostras a analisar está limitado ao tempo máximo de 20 minutos para pipetar as amostras.
- É recomendado que o ensaio seja feito em duplicado.
- Cada tubo deve ser utilizado uma vez.

Regras básicas de segurança para radiação

A compra, posse, utilização e transporte de material radioativo está sujeita a regulação do país.

O cumprimento das regras básicas de segurança radiológica deve fornecer uma proteção adequada:

- Não comer, beber, fumar ou aplicar cosméticos na presença de materiais radioativos.
- Não pipetar o material radioativo com a boca.
- Evite qualquer contato com o material radioativo utilizando-se luvas e EPI's de laboratório.
- Toda a manipulação de material radioativo deve ser feita em local apropriado, distante de corredores e locais muito utilizados.
- O registro de recepção e armazenamento de produtos radioativos devem ser mantidos atualizados.
- Equipamentos laboratoriais e vidrarias que estão sujeitas à contaminação devem ser separados para prevenir a contaminação cruzada de radioisótopos diferentes.
- Cada caso de contaminação ou perda de material radioativo deve ser efetuada de acordo com os procedimentos estabelecidos.
- Descarte dos reagentes e materiais deve ser de acordo com a regulamentação aplicável.

Azida Sódica

Alguns dos reagentes contêm azida sódica como conservante. A azida de Sódio reage com chumbo e cobre das canalizações e forma azidas metálicas altamente explosivas. Descarte os reagentes com uma grande quantidade de água ao sistema sanitário.

Soro Humano

Os materiais de origem humana, contidos neste kit, foram testados negativos para a presença de anticorpos para HIV 1 e HIV 2, para HCV, assim como para antigénio de superfície de Hepatite B (HBsAg). No entanto, os mesmos devem ser tratados como potencialmente infectantes. Nenhum método pode oferecer total segurança da ausência do vírus. Manuseie o kit com todo cuidado necessário.

Todas as amostras de soro humano devem ser manuseadas com potencialmente infectantes para a Hepatite e para o HIV. O lixo deve ser descartado de acordo com as regras estabelecidas por cada país.

PI-A44176-02

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Wash solution (20x)

PERIGO



H360

Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.

P201

Pedir instruções específicas antes da utilização.

P280

Use luvas de proteção, vestuário de proteção e proteção ocular/proteção facial.

P308+P313

EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

Ácido bórico 0,1-0,3%

Borato de sódio

deca-hidrato 0,1-0,3%

SDS

A SDS (FDS — Ficha de dados de segurança) está disponível em techdocs.beckmancoulter.com

COLHEITA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO, E DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS

- Colheita de sangue em tubos secos.
- Centrifugar as amostras, para separar soro das células.
- As amostras do soro podem-se armazenar entre 2-8 °C durante 24 horas. Para um período maior armazenar a <-20 °C (até 2 meses) depois de preparar alíquotas para evitar o congelamento e a descongelação repetidos das amostras. Descongelação da amostra deve ser realizada à temperatura ambiente.
- Qualquer amostra com leituras acima da concentração do calibrador mais alto deve ser diluída com o calibrador zero e ensaiada novamente.

MATERIAIS FORNECIDOS

Todos os reagentes do kit são estáveis até a data de validade indicada no rótulo do kit, se armazenado a 2-8 °C. A data de validade impressa nas etiquetas dos frascos é aplicada no armazenamento a longo prazo dos componentes pelo fabricante. Não levar em consideração.

As condições de armazenamento para reagentes após a reconstituição ou diluição são indicados no paragrafo Procedimento.

Tubos revestidos de anticorpo monoclonal anti-BAP: 2 x 50 tubos (prontos a usar).

Anticorpo monoclonal anti-BAP, marcado ¹²⁵I: 1 frasco (11 mL); prontos a usar

O frasco contém 650 kBq (na data de fabrico) de imunoglobulina marcada com ¹²⁵I em tampão com proteínas bovinas e equina, azida sódica (<0.1%) e corante.

Nota: A presença ocasional de partículas no marcador não afeta o desempenho do ensaio.

Calibradores: 5 frascos (a 1 mL) e 1 frasco do calibrador „zero“ (6 mL); prontos a usar

Os frascos contêm BAP num tampão com albumina de soro bovino e azida sódica (<0.1%), o limite da concentração é de 0 a, aproximadamente 120 µg/L. Os valores exactos das concentrações encontram-se nas etiquetas dos frascos. Os valores dos calibradores foram ajustados segundo um padrão interno de referência.

Amostra de controlo: 2 frascos; prontos a usar

Os frascos contêm BAP num tampão com albumina sérica bovina e azida sódica (<0.1%). Os valores esperados situam-se no intervalo de concentração indicado no anexo das instruções.

Solução de Lavagem (20 X): um frasco de 50 mL

Solução concentrada, deve ser diluída antes do uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Em adição ao material usual de laboratório, é ainda necessário:

- Micropipetas de precisão (100 µL).
- Micropipeta de repetição (100 µL, 2 mL).
- Unidade de refrigeração mantida entre 2 e 8 °C.
- Vórtex
- Sistema de Aspiração.
- Contador gama calibrado para I125.

RESULTADOS

Os resultados são obtidos a partir da curva padrão por interpolação. A curva é utilizada para a determinação das concentrações de BAP em amostras doseadas ao mesmo tempo que os calibradores.

Curva Padrão

Os resultados apresentados neste folheto foram calculados usando uma curva log-log (regressão quadrática ponderada), onde os valores (cpm_{cal} - cpm_{cal.0}) foram marcados no eixo vertical e a concentração de BAP dos calibradores no eixo horizontal (µg/L). Outros métodos de valoração podem dar resultados ligeiramente diferentes.

Actividade total: 225,220 cpm				
Calibradores	BAP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal.0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Exemplo de curva padrão, não utilize para cálculo)

Amostras

Para cada amostra ou controlo inserir o valor da actividade (cpm_{amos} - cpm_{cal.0}) no eixo vertical e determinar a concentração correspondente de BAP no eixo horizontal. A concentração das amostras diluídas deve ser corrigida pelo factor de diluição.

A actividade enzimática 100 U/L BAP corresponde aproximadamente a 38.4 µg/L.

VALORES ESPERADOS

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência. Os valores que se mostram a seguir foram obtidos em indivíduos saudáveis e devem considerar-se só como orientadores.

Realizou-se um ensaio clínico multicêntrico para verificar a efectividade da BAP como ajuda no seguimento da osteoporose pós-menopausa e a doença de Paget. Embora os resultados da medição de BAP neste ensaio tenham sido obtidos com o TANDEM-R OSTASE, o kit da Immunotech OSTASE IRMA foi desenvolvido, usando os mesmos anticorpos monoclonais utilizados no kit Tandem-R OSTASE e foi padronizado para proporcionar a mesma interpretação clínica. As determinações de BAP usando outros anticorpos monoclonais ou outros métodos podem dar resultados clínicos diferentes.

Sistemas que utilizem outros anticorpos monoclonais ou outros métodos da série podem dar resultados clínicos diferentes.

Os resultados do estudo estão na tabela seguinte.

	n	Média (µg/L)	DP (µg/L)	Mediana (µg/L)	Percentil 95 (µg/L)
Indivíduos do sexo masculino	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Mulheres na pré-menopausa	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Mulheres na pós-menopausa	529	13,2	4,7	12,5	22,4

CONTROLO DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório implicam a execução regular do controlo para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Estes controlos devem ser processados exactamente como as amostras do ensaio, e é recomendado

que os seus resultados sejam analisados utilizando um método estatístico adequado.

Em caso de deterioração da embalagem ou se o dado obtido mostrar alguma alteração de performance, por favor contacte o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de e-mail: imunochem@beckman.com.

PROCEDIMENTO

Preparação e armazenamento dos reagentes

Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente.

Preparação da Solução de Lavagem

Misture o conteúdo do frasco em 950 mL de água destilada e homogenize. A solução diluída deve ser armazenada entre 2-8 °C até a data validade do kit.

Procedimento de Ensaio (veja tabela na próxima página)

Permitir que os reagentes alcancem a temperatura ambiente antes da sua utilização.

Passo 1 Pipetagem	Passo 2 Incubação	Passo 3 Lavagem e contagem
Nos tubos revestidos, adicione sucessivamente:	Introduzir os tubos em banho de água fria colocado no frigorífico.	Adicionar a todos os tubos 2 mL de solução de lavagem e aspirar** (com excepção de 2 tubos de cpm total).
100 µL de calibrador, controlo ou amostra e 100 µL de traçador.*	Incubar durante 19 ±1 horas com 2-8 °C sem agitar.	Adicionar 2 mL da solução de lavagem e aspirar.**
Misturar manualmente, agitando com cuidado durante 15 segundos.	A temperatura não deve ultrapassar os 8 °C.	Determinar a actividade (cpm) em todos os tubos durante 1 minuto.

*Adicionar 100 µL de traçador a 2 tubos adicionais para obter as cpm totais.

**Aspire cada grade de tubos à parte para diminuir a presença da solução de lavagem nos tubos, ao mínimo. Depois da segunda lavagem espere aproximadamente um minuto e volte a aspirar o resto do líquido.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

(para mais detalhes, veja o "APPENDIX" da ficha de segurança)

São fornecidos dados representativos apenas para fins ilustrativos. O desempenho pode variar de um laboratório para outro.

Sensitividade

Sensibilidade analítica: 1.75 µg/L

Sensibilidade funcional: 5.00 µg/L

Especificidade

De intestinos BAP – 100 U/L dá o resultado de 2.4 µg/L neste ensaio.

De placenta BAP – 100 U/L não deu um resultado detectável neste ensaio.

De fígado BAP – 100 U/L dá o resultado de 6.9 µg/L neste ensaio.

Precisão

Intra-ensaio

As amostras foram analisadas 18 vezes numa mesma série. Os coeficientes de variação foram iguais ou abaixo de 8.4 %.

Inter-ensaio

As amostras avaliaram-se em duplicado em 10 séries diferentes. Os coeficientes de variação foram iguais ou abaixo de 13.6 %.

Exactidão

Teste de Diluição

As amostras altamente concentradas foram diluídas em série com o calibrador Zero. As percentagens de recuperação foram entre 88.5 % e 115%.

Teste de Recuperação

As amostras de baixa concentração regularam-se por concentrações conhecidas de BAP. As percentagens de recuperação situaram-se entre 86.7 % e 106 %.

Faixa de medida (da sensibilidade analítica ao calibrador mais alto): de 1.75 a, aproximadamente 120 µg/L.

LIMITAÇÕES

O não cumprimento das instruções deste protocolo pode afectar, significativamente, os resultados.

Os resultados devem ser interpretados conjuntamente com a clínica do doente, incluindo história clínica, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Não se recomenda usar em amostras hemolisadas, ictéricas ou lipémicas com o kit de OSTASA.

O "Efecto Hook" deste kit IRMA pode aparecer em amostras que contenham concentrações de BAP iguais ou superiores 1000 µg/L. Em amostras com suspeita clínica de um nível muito alto de BAP recomenda-se diluir sempre com o calibrador zero. Os resultados devem corrigir-se com o factor de diluição.

Em ensaios que usam anticorpos, há possibilidade de interferência por anticorpos heterófilos nas amostras de doentes. Os doentes expostos regularmente a animais, que receberam imunoterapia ou procedimentos diagnósticos utilizando imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos, ex. HAMA, que interferem com os imunoensaios.

Tais anticorpos interferentes podem produzir resultados errados. Os resultados de doentes suspeitos de ter estes anticorpos devem ser avaliados com cuidado.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗΣ (Bone alkaline phosphatase - BAP) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση της οστικής αλκαλικής φωσφατάσης (bone alkaline phosphatase - BAP) είναι εξέταση τύπου σάντουιτς. Στο kit χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού που κατευθύνονται κατά δύο διαφορετικών επιτόπων της BAP.

Τα δείγματα και τα πρότυπα επωάζονται σε σωληνάρια επιστρωμένα με το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα, υπό την παρουσία του δεύτερου μονοκλωνικού αντισώματος που είναι επισημασμένο με Ιώδιο 125. Μετά την επώαση, τα σωληνάρια ξεπλένονται, για να απομακρυνθεί το μη δεσμευμένο αντίσωμα. Η δεσμευμένη ραδιενέργεια 125I μετρείται στο Gamma counter. Η συγκέντρωση της BAP στα δείγματα είναι ευθέως ανάλογη της μετρημένης ραδιενέργειας και προσδιορίζεται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Η ποσότητα των σωληναρίων στην ίδια σειρά πρέπει να καθοριστεί έτσι, ώστε η αναρρόφηση των δειγμάτων να μην υπερβεί τα 20 λεπτά.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται.

Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία.

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Τα ανθρώπινης προέλευσης υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια του kit βρέθηκαν αρνητικά σε ότι αφορά στα αντισώματα αντι-HIV 1 και HIV 2,

στα αντισώματα HCV και το επιφανειακό αντιγόνο της Ηπατίτιδας Β (HbsAg). Παρόλα αυτά, ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν τις ασθένειες. Δεν υπάρχει κάποια γνωστή μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα ότι δεν υπάρχει παράγοντας μόλυνσης, γι'αυτό το λόγο είναι απαραίτητο να λαμβάνονται προφυλάξεις κατά τη διάρκεια του χειρισμού.

Όλα τα δείγματα ορού πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Δημιουργημένο απόρριμμα να εκκαθαρισθεί σύμφωνα με ισχύω κανονισμό.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Wash solution (20x)

KΙΝΔΥΝΟΣ



H360

P201

P280

P308+P313

Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβρυο.
Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.
Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.
Βορικό οξύ 0,1-0,3%
Δεκαένυδρο βορικό νάτριο 0,1-0,3%

SDS

Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Συλλέξτε το αίμα σε στεγνά σωληνάρια.
- Διαχωρίστε τον ορό από τα κύτταρα με φυγοκέντρηση.
- Τα δείγματα ορού μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C εάν η εξέταση πρόκειται να γίνει μέσα σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται στην κατάψυξη (<-20 °C, 2 μήνες), και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες. Πρέπει να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Αν τα δείγματα που έχουν αναλυθεί έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητής με την υψηλότερη συγκέντρωση, πρέπει να αραιωθούν στο μηδενικό βαθμονομητή.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων μετά από ανασύσταση ή αραιώση αναφέρονται στην παράγραφο «Διαδικασία».

Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα κατά του BAP: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση).

Μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της BAP επισημασμένο με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο (11 mL); έτοιμο προς χρήση.

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 650 kBq επισημασμένης με Ιώδιο 125 ανοσοσφαιρίνης σε ρυθμιστικό που περιέχει πρωτεΐνες βοδινού και αλόγου, αζίδιο του Νατρίου (<0.1%) και μία χρωστική.

Παρατήρηση: Η τυχόν παρουσίαση ιζήματος εντός ραδιοανίχνευσης δεν επηρεάζει την ποιότητα της ανάλυσης.

Βαθμονομητές: 5 φιαλίδια (του 1 mL) και 1 φιαλίδιο „μηδενικού“ βαθμονομητή (6 mL); έτοιμα προς χρήση.

Τα φιαλίδια περιέχουν μεταξύ από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 120 µg/L BAP σε ρυθμιστικό που περιέχει αλβουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0.1%). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται σε κάθε φιαλίδιο. Οι βαθμονομητές είναι βαθμονομημένοι με βάση του εσωτερικού συστατικού υλικού.

Οροί ελέγχου: 2 φιαλίδια, έτοιμα προς χρήση.

Τα φιαλίδια περιέχουν λυοφιλημένη BAP σε ρυθμιστικό που περιέχει αλβουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0.1%). Οι αναμενόμενες τιμές κυμαίνονται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε συμπληρωματικό φυλλάδιο.

Διάλυμα πλύσης (20x): 1 φιαλίδιο των 50 mL

Το συμπυκνωμένο διάλυμα πρέπει να αραιωθεί πριν από τη χρήση.

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- Μικροπιπέτα ακριβείας (100 µL).
- Ημιαυτόματες πιπέτες (100 µL, 2 mL).
- Το ψυγείο διατηρείται στους 2 έως 8 °C.
- Μίξερ τύπου vortex.
- Σύστημα απόχυσης.
- Gamma counter σει για Ιώδιο 125.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων BAP σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητές.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο υπολογίστηκαν με τη χρήση log-log καμπύλης προσαρμογής („ζυγισμένη“ τετραγωνικός πτώση) με τη σημείωση της ραδιενέργειας (cpm_{cal} - $cpm_{cal,0}$) στον κάθετο άξονα, και των συγκεντρώσεων BAP των βαθμονομητών στον οριζόντιο άξονα (µg/L). Άλλες μέθοδοι αναγωγής δεδομένων μπορεί να οδηγήσουν σε ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: 225,220 cpm				
Βαθμονομητές	BAP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal,0}$
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Για κάθε δείγμα σημειώστε την τιμή ($cpm_{\text{δείγμα}} - cpm_{cal,0}$) στον κάθετο άξονα, έπειτα διαβάστε την αντίστοιχη συγκέντρωση BAP στον οριζόντιο άξονα. Οι συγκεντρώσεις των αραιωμένων δειγμάτων πρέπει να διορθώνονται με τον παράγοντα αραιώσης.

Ενζυμική ενεργότητα 100 U/L BAP αντιστοιχεί περίπου σε 38.4 µg/L.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές τους τιμές αναφοράς βάσεις κλινικών δειγμάτων. Οι τιμές που ακολουθούν μετρήθηκαν σε δείγματα ορών από υγιή άτομα και είναι απλώς ενδεικτικές.

Σε μεγάλη κλινική έρευνα αξιολογήθηκε η χρησιμότητα του καθορισμού της BAP ως εργαλείο για την παρακολούθηση της οστεοπόρωσης που εμφανίζεται μετά την εμμηνοπαύση καθώς και για την νόσο του Paget. Οι μετρήσεις αυτές της BAP πραγματοποιήθηκαν με το σετ TANDEM-R OSTASE και αναφέρονται εδώ επειδή το kit Immunotech OSTASE IRMA χρησιμοποιεί τα ίδια μονοκλωνικά αντισώματα και είναι σχεδιασμένο έτσι ώστε να δίνει τα ίδια κλινικά αποτελέσματα όπως το σύστημα TANDEM-R OSTASE.

Τα συστήματα που χρησιμοποιούν άλλα μονοκλωνικά αντισώματα ή άλλες μεθόδους προσδιορισμού μπορούν να δώσουν διαφορετικά κλινικά αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

	n	Μέση τιμή (µg/L)	SD (µg/L)	Διάμεση τιμή (µg/L)	95% ποσοτό (µg/L)
Άρρενες	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	529	13,2	4,7	12,5	22,4

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων των δειγμάτων ελέγχου να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία και αποθήκευση των αντιδραστηρίων

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου.

Προετοιμασία του διαλύματος πλύσης

Προσθέστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 950 mL απεσταγμένου νερού και ομογενοποιήστε. Το αραιωμένο διάλυμα μπορεί να αποθηκευθεί στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Διαδικασία εξέτασης (βλέπε τον πίνακα στην επόμενη σελίδα)

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Βήμα 1 Προσθήκες	Βήμα 2 Επώαση	Βήμα 3 Πλύσιμο και μέτρηση
Στα επιστρωμένα με αντισώματα σωληνάρια προσθέστε διαδοχικά: 100 µL προτύπου, ορού ελέγχου ή δείγματος και 100 µL ιχνηθέτη.* Ανακατέψτε το περιεχόμενο των σωληναρίων με ελαφρή ανάδευση με το χέρι για 15 δευτερόλεπτα.	Κλείστε τα σωληνάρια και τοποθετήστε τα σε ψυχρό υδατόλουτρο στο ψυγείο. Επώαση 19 ±1 ώρες στους 2-8 °C χωρίς ανάδευση. Η θερμοκρασία δεν πρέπει να υπερβεί τους 8 °C.	Προσθέστε σε όλα τα σωληνάρια 2 mL διαλύματος πλύσης και αποχύστε* (εκτός από τα 2 σωληνάρια «ολικές κρούσεις»). Προσθέστε πάλι 2 mL διαλύματος πλύσης και αποχύστε.** Μετρήστε τη ραδιενέργεια (cpm) για 1 λεπτό.

*Προσθέστε 100 µL ιχνηθέτη σε 2 επιπλέον σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

**Αδειάστε κάθε βάση με σωληνάρια χωριστά, για να ελαχιστοποιήσετε τον χρόνο της παρουσίας του διαλύματος πλύσης στα σωληνάρια. Μετά την δεύτερη πλύση, περιμένετε περίπου ένα λεπτό και αδειάστε ξανά το υπόλοιπο του υγρού.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα “APPENDIX” για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 1.75 µg/L

Λειτουργική ευαισθησία: 5.00 µg/L

Εξειδίκευση

BAP του εντέρου - 100 U/L δίνουν το αποτέλεσμα 2.4 µg/L.

BAP του πλακούντα - 100 U/L μη ανιχνεύσιμο αποτέλεσμα.

Ηπατική BAP - 100 U/L δίνουν το αποτέλεσμα 6.9 µg/L.

Ακρίβεια

Intra-assay

Διάφορα δείγματα εξετάστηκαν 18 στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι από 8.4 %.

Inter-assay

Διάφορα δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 13.6 %.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα υψηλής συγκέντρωσης ινσουλίνης αραιώθηκαν διαδοχικά με το μηδενικό βαθμονομητή. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται μεταξύ 88.5 % και 115 %.

Δοκιμή ανάκτησης

Διαφορετικές ποσότητες BAP προστέθηκαν σε δείγματα ορών, τα οποία αναλύθηκαν. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται μεταξύ 86.7 % και 106 %.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): 1.75 μέχρι κατά προσέγγιση 120 µg/L.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μη τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.

„Hook effect“ παρατηρείται σε αυτόν τον προσδιορισμό σε τιμές BAP από 1000 µg/L και πάνω. Τα δείγματα με κλινική υποψία για υψηλά επίπεδα BAP συνιστάται πάντα να αραιώνονται με το μηδενικό βαθμονομητή. Τα αποτελέσματα αυτά πρέπει να διορθώνονται με τον παράγοντα αραιώσης.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή μέρηματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παράγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

IN VITRO IMUNORADIOMETRICKÉ STANOVENÍ KOSTNÍ ALKALICKÉ FOSFATÁZY (Bone alkaline phosphatase - BAP) V LIDSKÉM SÉRU

Pro diagnostické účely *in vitro*.

PRINCIP

Imunoradiometrické stanovení kostní alkalické fosfatázy (bone alkaline phosphatase - BAP) je stanovení typu „sandwich“. V soupravě jsou použity myši monoklonální protilátky proti dvěma různým epitopům BAP.

Vzorky séra, kontrolní vzorky a kalibrátory se ve zkumavkách potažených první monoklonální protilátkou, inkubují společně s druhou monoklonální protilátkou značenou 125I. Po inkubaci se obsah zkumavek vymyje, aby se odstranila nenavázaná značená protilátka. Vázaná aktivita 125I se poté měří na gama-čítači. Koncentrace BAP ve vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě a získá se interpolací z kalibrační křivky.

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřeny co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Množství zkumavek v jednom běhu je třeba stanovit tak, aby pipetace vzorků nepřesáhla 20 minut.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Každá zkumavka může být použita jen jednou.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracovníci, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zářiči.

Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagenty splachujte velkým množstvím vody.

Materiál lidského původu

Materiál lidského původu obsažený v reagentech této soupravy měl negativní test na přítomnost protilátek proti viru HIV 1 a 2, viru hepatitidy C a proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg). Žádná z dostupných metod nemůže dát stoprocentní jistotu neinfekčnosti. Je tedy nutné pracovat s tímto reagentem jako s potenciálně infekčními.

Se všemi krevními vzorky musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Wash solution (20x)

NEBEZPEČÍ



H360

Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

P201

Před použitím si obstarejte speciální instrukce.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P308+P313

PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Kyselina boritá 0,1-0,3% Boritan sodný, dekahydrát 0,1-0,3%

SDS

Bezpečnostní list je k dispozici na adrese techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv.
- Odstředěním oddělte od buněk frakci séra.
- Vzorky séra mohou být skladovány při 2-8 °C po dobu 24 hodin. Při delším skladování je nutno uchovávat vzorky zmrazené (při <-20 °C, maximálně 2 měsíce), nejlépe v alikvotech. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování vzorků. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Vzorky, v nichž je koncentrace vyšší než nejvyšší kalibrátor, je nutno zředit „nulovým“ kalibrátorem.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagenty v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirace uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování v výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro zředěné nebo rekonstituované reagenty jsou uvedeny v odstavci Postup.

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti BAP: 2 x 50 zkumavek (připraveny k použití).

Monoklonální protilátka proti BAP, značená ¹²⁵I: 1 lahvička (11 mL); připravena k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 650 kBq 125I značeného imunoglobulinu v tlumivém roztoku s hovězími a koňskými proteiny, azidem sodným (<0,1%) a barvivem.

Poznámka: Případný výskyt sraženiny v radiindikátoru nemá vliv na kvalitu stanovení.

Kalibrátory: 5 lahviček (po 1 mL) a 1 lahvička „nulového“ kalibrátoru (6 mL); připravené k použití.

Lahvičky obsahují BAP v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1%), koncentrační rozmezí je od 0 do přibližně 120 µg/L. Přesné hodnoty koncentrací jsou uvedeny na štítcích lahviček. Hodnoty kalibrátorů byly nastaveny pomocí vnitřního referenčního materiálu.

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky; připravené k použití.

Lahvičky obsahují lyofilizovaný BAP v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1%). Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot jsou uvedena v příloze návodu.

Promyvací roztok (20x): 1 lahvička 50 mL.

Koncentrovaný roztok musí být před použitím zředěn.

MATERIÁLY POŽADOVÁNY, ALE NEPOSKYTNUTY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesná mikropipeta 100 µL
- opakovací dávkovače 100 µL a 2 mL
- chladnice s teplotou 2-8 °C
- vibrační míchadlo
- Vývěva.
- gama-čítač kalibrovaný na ¹²⁵I

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro BAP analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky uvedené v návodu byly získány v log-log zobrazení (s použitím „vážené“ kvadratické regrese) vynesením aktivity (cpm_{kal.} – cpm_{kal.0}) na osu y, a koncentrací BAP v kalibrátorech na osu x (µg/L). Jiné vyhodnocovací metody mohou poskytovat trochu odlišné výsledky.

Celková aktivita: 225 220 cpm				
Kalibrátory	BAP (µg/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{kal.} – cpm _{kal.0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Najděte pro každý kontrolní nebo neznámý vzorek hodnotu aktivity (cpm_{vz} – cpm_{kal.0}) na ose y a odečtěte odpovídající koncentraci BAP na ose x. Koncentrace ředěných vzorků musí být korigovány na faktor ředění.

Enzymatická aktivita 100 U/L BAP odpovídá přibližně 38,4 µg/L.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní normální hodnoty na základě klinicky charakterizovaných vzorků. Uvedené hodnoty, získané na vzorcích zdravých jedinců, mají pouze orientační charakter.

Při rozsáhlém klinickém testování byla odhadnuta použitelnost stanovení BAP jako pomůcky při sledování postmenopauzální osteoporózy a Pagetovy choroby. Výsledky měření BAP byly získány soupravou TANDEM-R OSTASE a jsou zde uvedeny, protože souprava Immuntech OSTASE IRMA používá identické monoklonální protilátky a je standardizována tak, aby poskytovala stejné klinické výsledky, jako systém TANDEM-R OSTASE.

Systémy, používající jiné monoklonální protilátky nebo jiné metody stanovení, mohou dávat odlišné klinické výsledky.

Výsledky studie uvádí následující tabulka.

	n	Průměr (µg/L)	SD (µg/L)	Medián (µg/L)	Limity pro 95% populace (µg/L)
Muži	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Ženy před menopauzou	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Ženy po menopauze	529	13,2	4,7	12,5	22,4

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorek používá v každé kalibraci, aby se zajistila kontrola kvality získaných výsledků. Kontrolní vzorky musí být zpracovány stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Příprava a skladování reagensů

Vytemperujte všechny reagensie na laboratorní teplotu.

Příprava promývacího roztoku

Obsah lahvičky přidejte k 950 mL destilované vody a promíchejte. Zředěný roztok může být skladován při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Schéma postupu (viz tabulka uvedená dole)

Nechte reagensie před pipetací vytemperovat na laboratorní teplotu.

Krok 1 Pipetace	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Promytí a měření
Do potažených zkumavek postupně přidejte: 100 µL kalibrátoru, kontroly nebo vzorku a 100 µL radioindikátoru.* Promíchejte obsah zkumavek ve stojánku lehkým třepáním rukou po dobu 15 vteřin.	Vložte zkumavky do vychlazené vodní lázně, umístěné v lednici. Inkubujte 19 ±1 hodinu při 2-8 °C bez třepání. Teplota nesmí přesáhnout 8 °C.	Přidejte do všech zkumavek 2 mL promývacího roztoku a odsajte** (s výjimkou 2 zkumavek pro stanovení celkové aktivity T). Přidejte znovu 2 mL promývacího roztoku a odsajte.** Měřte četnosti (cpm) ve všech zkumavkách po dobu 1 minuty.

*Připravte si odděleně dvě zkumavky a napipetujte do nich po 100 µL radioindikátoru pro určení celkové aktivity (T).

**Odsávejte každý stojánek zkumavek zvlášť, abyste zkrátili dobu přítomnosti promývacího roztoku ve zkumavkách na minimum. Po druhém promytí počkejte asi minutu a znovu odsajte zbytek kapaliny.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Mez detekce

Analytická citlivost: 1,75 µg/L

Funkční citlivost: 5,00 µg/L

Specifita

Sřevní BAP: 100 U/L dává v tomto stanovení výsledek 2,4 µg/L.

Placentární BAP: 100 U/L neposkytovala v tomto stanovení detekovatelný výsledek.

Jaterní BAP: 100 U/L dává v tomto stanovení 6,9 µg/L.

Přesnost

Intra-assay

Vzorky byly analyzovány 18x v jednom stanovení. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 8,4 %.

Inter-assay

Vzorky byly stanoveny v duplikátech v 10 různých stanoveních. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 13,6 %.

Správnost

Test ředění

Sérové vzorky s vysokou koncentrací BAP byly postupně ředěny nulovým kalibrátorem. Procento recovery se pohybovalo mezi 88,5 % a 115 %.

Test „recovery“

Různá množství BAP byla přidávána k sérovým vzorkům, vzorky pak byly analyzovány. Procento recovery se pohybovalo mezi 86,7 % a 106 %.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): od 1,75 do přibližně 120 µg/L.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.

Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Nedoporučuje se provádět stanovení BAP v hemolyzovaných, ikterických nebo lipemických vzorcích.

„Hook effect“ u tohoto stanovení nastává při hodnotách BAP 1000 µg/L a výše. U vzorků s klinickým podezřením na velmi vysokou hladinu BAP doporučujeme vždy ředit nulovým kalibrátorem. Výsledky pak musí být korigovány ředícím faktorem.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti,

kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

IN VITRO IMUNORÁDIOMETRICKÉ STANOVENIE KOSTNEJ ALKALICKEJ FOSFATÁZY (Bone alkaline phosphatase - BAP) V ĽUDSKOM SÉRE Na *in vitro* diagnostické použitie.

PRINCÍP

Imunorádiometrické stanovenie kostnej alkalické fosfatázy (bone alkaline phosphatase - BAP) je stanovenie typu „sandwich“. V súprave sú použité myšie monoklonálne protilátky proti dvom rôznym epitopom BAP.

Vzorky séra, kontrolné vzorky a kalibrátory, sa v skúmavkách potiahnutých prvou monoklonálnou protilátkou inkubujú spoločne s druhou monoklonálnou protilátkou značenou 125I. Po inkubácii sa obsah skúmaviek vymyje, aby sa odstránila nenaviazaná značená protilátka. Viazaná aktivita 125I sa potom meria na gama-čítači. Koncentrácia BAP vo vzorkách je priamo úmerná zmeranej rádioaktivite a získa sa interpoláciou z kalibračne krivky.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducej odpareniu roztoku.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Pre každú novú sériu analýz treba urobiť novú kalibráciu.
- Množstvo skúmaviek v jednom behu je potrebné stanoviť tak, aby pipetovanie vzoriek nepresiahlo 20 minút.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Tento rádioaktívny materiál môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi.

Dodržiavanie základných pravidiel radiačnej bezpečnosti by malo zabezpečiť dostatočnú ochranu:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Prijem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody.

Materiál ľudského pôvodu

Materiál ľudského pôvodu nachádzajúci sa v reagentoch tejto súpravy mal negatívny test na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV 1 a 2, vírusu hepatitídy C a proti povrchovému antigénu hepatitídy B (HBsAg). Žiadna z dostupných metód nedáva stopercentnú istotu neinfekčnosti. Je teda potrebné pracovať s týmito reagentami ako s potenciálne infekčnými.

So všetkými krvnými vzorkami sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitída alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Wash solution (20x)

NEBEZPEČENSTVO



H360

Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.

P201

Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.

P280

Noste ochranné rukavice/ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P308+P313

Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Kyselina boritá 0,1-0,3% Dekahydrát boritanu sodného (bórax) 0,1-0,3%

SDS

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odobierajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív.
- Odstredením oddelíte od buniek frakciu séra.
- Vzorky séra môžu byť skladované pri 2-8 °C po dobu 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní je nutné uchovávať vzorky zmrazené (pri <-20°C, maximálne 2 mesiace), najlepšie v alikvotách. Je potrebné sa vyvarovať opakovaného zmrazovaniu vzoriek. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Vzorky, v ktorých je koncentrácia vyššia ako v najvyššom kalibrátore, treba zriediť „nulovým“ kalibrátorom.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetny reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre činidlá po rekonštitúcii alebo riedení sú uvedené v kapitole Postup.

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti BAP: 2 x 50 skúmaviek (prípravené na použitie).

Monoklonálna protilátka proti BAP, značená ¹²⁵I: 1 fľaštička (11 mL); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 650 kBq 125I značený imunoglobulín v tlmivom roztoku s hovädzimi a konskými proteínmi, azidom sodným (<0,1%) a farbivom.

Poznámka: Prípadný výskyt zrazeniny v rádioindikátore nemá vplyv na kvalitu stanovenia.

Kalibrátory: 5 fľaštičiek (po 1 mL) a 1 fľaštička „nulového“ kalibrátora (6 mL); pripravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú BAP v tlmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1%), koncentračné rozmedzie je od 0 do približne 120 µg/L. Presné hodnoty koncentrácií sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Hodnoty kalibrátorov boli nastavené pomocou vnútorného referenčného materiálu.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; pripravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú lyofilizovaný BAP v tlmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1%). Koncentračné rozmedzia očakávaných hodnôt sú uvedené v prílohe návodu.

Premývací roztok: 1 fľaštička (50 mL); 20x konc.

Koncentrovaný roztok sa musí pred použitím zriediť.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presná mikropipeta 100 µL
- opakovacie dávkovače 100 µL a 2 mL
- chladnička s teplotou 2-8 °C
- vibračné miešadlo
- Výveva.
- gama-merač kalibrovaný na ¹²⁵I

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá sa používa iba na analýzu tých BAP vzoriek, ktoré sa inkubovali spolu s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v návode boli získané v log-log zobrazení (s použitím „váženej“ kvadratickej regresie) vynesení aktivity (cpm_{kal.} – cpm_{kal.0}) na os y, a koncentráciou BAP v kalibrátoroch na os x (µg/L). Iné vyhodnocovacie metódy môžu poskytovať trochu odlišné výsledky.

Celková aktivita: 225 220 cpm				
Kalibrátory	BAP (µg/l)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{kal.} – cpm _{kal.0}
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Nájdite pre každú kontrolnú alebo neznámu vzorku hodnotu aktivity (cpm_{vz} – cpm_{kal.0}) na osi y a odčítajte zodpovedajúcu koncentráciu BAP na osi x. Koncentrácie riedených vzoriek musia byť korigované na faktor riedenia.

Enzymatická aktivita 100 U/L BAP zodpovedá približne 38,4 µg/L.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium si musí stanoviť vlastné normálne hodnoty na základe klinicky charakterizovaných vzoriek. Uvedené hodnoty, získané na vzorkách zdravých jedincov, majú len orientačný charakter.

Pri rozsiahlom klinickom testovaní bola odhadnutá použiteľnosť stanovení BAP ako pomôcky pri sledovaní postmenopauzálnych osteoporózy a Pagetovej choroby. Výsledky meraní BAP boli získané súpravou TANDEM-R Ostase a sú tu uvedené, pretože súprava Immunotech Ostase IRMA používa identické monoklonálne protilátky a je štandardizovaná tak, aby poskytovala rovnaké klinické výsledky, ako systém TANDEM-R Ostase.

Systémy, používajúce iné monoklonálne protilátky alebo iné metódy stanovení, môžu dávať odlišné klinické výsledky.

Výsledky štúdie uvádza nasledujúca tabuľka.

	n	Priemer (µg/L)	SD (µg/L)	Medián (µg/L)	Limity pre 95% populácie (µg/L)
Muži	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Premenopauzálna ženy	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Postmenopauzálna ženy	529	13,2	4,7	12,5	22,4

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá, že kontrolná vzorka sa používa pri každej kalibrácii, aby sa zaistila kontrola kvality získaných výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia spracovať rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Príprava a skladovanie reagensí

Vytemperujte všetky reagensy na laboratórnu teplotu.

Príprava premývacieho roztoku

Obsah fľaštičky pridajte k 950 mL destilovanej vody a premiešajte. Zriedený roztok sa môže skladovať pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Schéma postupu (viď tabuľka uvedená dole)

Nechajte reagensy pred pipetovaním vytemperovať na lab. teplotu.

Krok 1 Pipetácia	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Premytie a meranie
Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte:	Vložte skúmavky do vychladnutého vodného kúpeľa, umiestneného v chladničke.	Pridajte do všetkých skúmaviek 2 mL premývacieho roztoku a odsajte** (s výnimkou 2 skúmaviek pre stanovenie celkovej aktivity T).
100 µL kalibrátora, kontroly alebo vzorky a 100 µL rádioindikátora.*	Inkubujte 19 ±1 hodinu pri 2-8 °C bez trepania.	Pridajte znovu 2 mL premývacieho roztoku a odsajte.**
Premiešajte obsah skúmaviek v stojančeku ľahkým trepaním rukou po dobu 15 sekúnd.	Teplota nesmie presiahnuť 8 °C.	Merajte početnosti (cpm) vo všetkých skúmavkách po dobu 1 minúty.

*Pripravte si oddelene dve skúmavky a napipetujte do nich po 100 µL rádioindikátora na určenie celkovej aktivity (T).

**Odsávajte každý stojanček skúmaviek zvlášť, aby ste skrátili dobu prítomnosti premývacieho roztoku v skúmavkách na minimum. Po druhom premytí počkajte asi minútu a znovu odsajte zvyšok kvapaliny.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 1,75 µg/L

Funkčná citlivosť: 5,00 µg/L

Špecifita

Črevná BAP: 100 U/L dáva v tomto stanovení výsledok 2,4 µg/L.

Placentárna BAP: 100 U/L neposkytovala v tomto stanovení detekovateľný výsledok.

Pečeňová BAP: 100 U/L dáva v tomto stanovení výsledok 6,9 µg/L.

Presnosť

Intra-assay

Vzorky boli analyzované 18x v jednom stanovení. Nájdene hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 8,4 %.

Inter-assay

Vzorky boli stanovené v duplikátoch v 10 rôznych stanoveniach. Nájdene hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 13,6 %.

Správnosť

Test riedenia

Sérové vzorky s vysokou koncentráciou BAP boli postupne riedené nulovým kalibrátorom. Percento recovery sa pohybovalo medzi 88,5 % a 115 %.

Test „recovery“

Rôzne množstvo BAP bolo pridávané k sérovým vzorkám, vzorky boli následne analyzované. Percento recovery sa pohybovalo medzi 86,7 % a 106 %.

Rozsah stanovení (od analytickej citlivosti do najvyššieho kalibrátora): od 1,75 do približne 120 µg/L.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Neodporúča sa vykonávať stanovenia BAP v hemolyzovaných, ikterických alebo lipemických vzorkách.

„Hook effect“ pri tomto stanovení nastáva pri hodnotách BAP 1000 µg/L a vyšších. Pri vzorkách s klinickým podozrením na veľmi vysokú hladinu BAP doporučujeme vždy riediť nulovým kalibrátorom. Výsledky potom musia byť korigované riediacim faktorom.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v pacientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatnosťou.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

İNSAN SERUMUNDA KEMİK ALKALEN FOSFATAZIN (BAP) IN VITRO TESPİTİ İÇİN IMMUNORADIOMETRİK TESTTİR

In vitro diagnostik kullanım içindir.

PRENSİP

Kemik Alkale Fosfat (BAP) testi, "sandwich" tipi bir deneydir. Kite, BAP molekülünün iki farklı epitoplara karşı yönelen ancak yarışmayan fare monoklonal antikorları kullanılmıştır.

Numuneler, kontroller ve kalibratörler, ilk monoklonal antikor ile kaplanmış tüplerde, iyot 125 ile işaretlenmiş ikinci monoklonal antikor varlığında inkübe edilirler. İnkübasyon sonrasında, tüp sıvı içeriği yıkanır. Bağlanmış radyoaktifite bir gamma sayacında ölçülür. Numunelerdeki BAP konsantrasyonu bir standard eğrisinden interpolasyon yolu ile alınır. Numunedeki total BAP konsantrasyonu, radyoaktivite ile doğru orantılıdır.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Test sayısı, pipetleme 20 dakika içinde tamamlanabilecek şekilde sınırlandırılmalıdır.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir.

Aşağıda belirtilen temel radyasyon güvenlik kurallarına uyulduğunda yeterli korunma sağlanır:

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önleyiniz.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözülmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bu kit içindeki insan kaynaklı materyaller, HIV 1 ve HIV 2 antikorları, HCV antikorları ve Hepatit B yüzey antijenleri (HbsAg) yönünden negatif bulunmuştur. Ancak, hastalık geçirebilecek materyal gibi işlem uygulanmalıdır. Virüs yokluğunu garanti edecek bir metod bulunmamaktadır. Bu kiti, bütün gerekli önlemleri alarak kullanınız.

Bütün serum, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Wash solution (20x)

TEHLİKE



H360

Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.

P201

Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/ yüz koruyucu kullanın.

P308+P313

Maruz kalınma veya etkileşme halinde: Tıbbi yardım/bakım alın.
Borik Asit 0,1-0,3%
Sodyum Borat Dekahidrat 0,1-0,3%

SDS

Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Kanı, başka bir madde içermeyen kuru tüplere alınır.
- Serum hücrelerden santrifüjle ayırınız.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, serum numuneleri 2-8 °C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa, tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölünüz ve dondurarak (<-20 °C, maksimum 2 ay içinde) saklayınız. Numunelerin buzu oda ısısında çözülürmelidir.
- Eğer numuneler en yüksek kalibratörden daha yüksek konsantrasyona sahipse sıfır kalibratör ile dilüe edilmelidir.

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8 °C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Sulandırma veya dilüsyon sonrasındaki reaktif saklama koşulları Prosedür paragrafında belirtilmiştir.

Anti-BAP monoklonal antikor kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş anti-BAP antikor: 11 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe üretim tarihinde, sığır ve at proteinleri, sodyum asit (<= 0,1) ve boya içeren bir tampon içindeki 125I-ışaretlenmiş immunglobulinler, 650 kBq içerir.

Not: Tracer içinde olabilecek partiküller testin performansını etkilemez.

Kalibratörler: 1 mL beş şişe ve 6 mL bir şişe (sıfır kalibratör) (kullanıma hazır)

Kalibratör şişeleri, bovin serum albumin ve sodyum asit (<= 0,1) içinde 0 ile yaklaşık 120 µg/L BAP içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler, internal referans standartlarına göre kalibre edilmiştir.

Kontrol serumu: iki şişe (liyofilize)

Şişe, bovin serumu albumin ve sodyum asit (<= 0,1) içinde liyofilize BAP içerir. Beklenen değerler, ekteki konsantrasyon aralıklarında belirtilmiştir.

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL bir şişe

Konsantre solüsyon kullanmadan önce dilüe edilmelidir.

GEREKEN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standart laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (100 µL).
- Yarı-otomatik pipet (100 µL ve 2 mL).
- Soğutucu veya soğuk oda (2-8 °C)

- Vorteks tipi mikser.
- Aspirasyon sistemi.
- 125 iyot için gamma counter seti.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki BAP konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Paket içindeki kullanma kılavuzundaki sonuçlar, dikey ekseninde belirlenen radyoaktivite (cpm_{kal} – $cpm_{kal,0}$) ve yatay ekseninde kalibratörlerin BAP konsantrasyonları ($\mu g/L$) yer alacak şekilde bir log-log eğri çizgisi (tartılmış kuadratik regresyon) kullanılarak hesaplanmıştır. Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 225 220 cpm				
Kalibratörler	BAP ($\mu g/L$)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{kal} - cpm_{kal,0}$
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her bir numune için, dikey ekseninde ($cpm_{numune} - cpm_{kal,0}$) yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen BAP konsantrasyonunu okuyunuz. Dilüe edilmiş numunelerin konsantrasyonları dilüsyon faktörü ile düzeltilmelidir.

100 U/L BAP'ın enzimatik aktivitesi yaklaşık 38.4 $\mu g/L$ 'ye karşılık gelmektedir.

BEKLENEN DEĞERLER

Yerel sağlıklı popülasyonun yaşı, diğer potansiyel etnik ve bölgesel farklılıklar da göz önüne alınarak, her laboratuvarın kendi normal değerlerini oluşturması önerilmektedir.

Postmenopozal osteoporoz ve Paget Hastalığının idaresinde BAP'ın etkinliğini araştırmak amacıyla çok merkezli bir çalışma yürütüldü. Bu çalışmadaki BAP sonuçları Tandem-R OSTASE kiti ile yapıldıysa da, Immunochem OSTASE kiti de aynı monoklonal antikorlar kullanılarak, aynı klinik performansı sağlayacak şekilde standardize edilmiştir.

Diğer monoklonal antikorlar veya diğer metodlar kullanılarak yapılan BAP ölçümleri benzer klinik performans göstermeyebilir.

Çalışma sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

	n	Ortalama ($\mu g/L$)	SD ($\mu g/L$)	Median ($\mu g/L$)	95% Yüzdellik ($\mu g/L$)
Erkekler	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Premenopozal Kadınlar	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Postmenopozal Kadınlar	529	13,2	4,7	12,5	22,4

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PROSEDÜR

Numunelerin hazırlanması ve saklanması

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Yıkama solüsyonunun hazırlanması

Şişe içeriğini 950 mL distile su içine boşaltınız ve homojenize ediniz. Dilüe edilmiş solüsyon, 2-8 °C'de etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

İTest prosedürü (Bir sonraki sayfadaki tabloya bakınız)

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Aşama 1 Eklèmeler	Aşama 2 İnkübasyon	Aşama 3 Yıkama ve Sayım
Antikor kaplanmış tüplere dikkatli bir şekilde ekleyiniz:	Rack'ı önceden soğutulmuş Su banyosu içinde soğutucuya koyunuz.	Bütün tüplere 2 mL yıkama solüsyonu ekleyiniz ve aspire ediniz** (2 «total cpm» tüpü hariç).
100 μL kalibratör, kontrol veya numune ve 100 μL tracer.*	19 ± 1 saat 2-8°C'de çalkalamadan inkübe ediniz.	Tekrar 2 mL yıkama solüsyonu ekleyiniz ve aspire ediniz.**
Test tüp rack'ını elle 15 saniye sallayınız.	Sıcaklık 8 °C'yi geçmemelidir.	Aktiviteyi (cpm) 1 dakika süresince tespit ediniz.

*Total cpm'yi elde etmek için, 2 ek tüpe 100 μL tracer ekleyiniz.

**Tüp içindeki yıkama solüsyonunun varlık süresini azaltmak için her tüp rack'ını ayrı aspire ediniz. İkinci yıkama aşamasının tamamlanmasından sonra, 60 saniye bekleyiniz ve tekrar aspire ediniz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Hassasiyet

Analitik duyarlılık: 1,75 $\mu g/L$

Fonksiyonel duyarlılık: 5,00 $\mu g/L$

Özgüllük

İntestinal BAP: 100 U/L, testte 2,4 $\mu g/L$ sonuç vermektedir.

Plasental BAP: 100 U/L, bu testte tespit edilebilir bir sonuç vermedi.

Karaciğer BAP: 100 U/L, bu testte 6,9 $\mu g/L$ sonuç verdi.

Kesinlik

Deney-içi

Numuneler, aynı seride 18 replikede tekrarlandı. Değişim katsayısı % 8,4'e eşit veya altında bulundu.

Testler arası

Numuneler 10 farklı seride duplika olarak test edildi. Değişim katsayısı % 13,6'a eşit veya altında bulundu.

Doğruluk

Dilüsyon testi

Yüksek konsantrasyonlu numuneler sıfır kalibratör içinde seri olarak dilüe edildi. Alınan düzeltme oranı % 88,5 ve % 115 arasında idi.

Düzeltilme testi

4 serum numunesine farklı miktarlarda BAP eklendi ve test edildi. Alınan düzeltme oranı % 86,7 ve % 106 arasında idi.

Ölçüm aralığı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 1,75 ile yaklaşık 120 $\mu g/L$.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir.

Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.

Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.

Hook etkisi: 1000 $\mu g/L$ eşit veya daha yüksek BAP konsantrasyonuna sahip numunelerde bu IRMA kiti "hook etkisi" oluşturabilir. Klinik bulguları çok yüksek konsantrasyona sahip şüphesi oluşturan numuneler sıfır kalibratör ile dilüe edildikten sonra tekrar test edilmelidir. Alınan değerler dilüsyon faktörü ile düzeltilmelidir.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör. HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar üretebilir. Bu antikorlara sahip olduğundan şüphe duyulan hastaların sonuçlarını dikkatle değerlendirin.

OSTASE IRMA KIT

REF A44176

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОСТНОЙ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФОТАЗЫ (ВАР) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП

Иммунорадиометрическое определение костной щелочной фосфатазы (ВАР) относится к анализам типа «сэндвич». В наборе используются два вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам молекулы ВАР.

Анализируемые образцы, контрольные пробы и калибраторы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом моноклональных антител в присутствии других моноклональных антител, меченных ¹²⁵I. После окончания инкубации удаляют содержимое пробирок, промывают пробирки, чтобы удалить несвязанные ¹²⁵I меченные антитела. Связанную активность ¹²⁵I измеряют с помощью гамма счетчика. Концентрацию ВАР в образцах прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных проб должен проводиться одновременно с исследуемыми образцами.
- Количество образцов следует ограничить, т.к. все образцы должны быть пипетированы в течение 20 минут.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки только для однократного применения.

Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия


Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латуной, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

Материал человеческого происхождения

Материал человеческого происхождения, входящий в состав компонентов данного набора, не содержит антител к HIV 1, HIV 2, HCV, а также к поверхностному антигену вируса гепатита В (HbsAg). Однако ни один из существующих методов анализа не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому при работе с компонентами набора следует соблюдать необходимые меры предосторожности.

С исследуемыми образцами сыворотки крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ GHS

Wash solution (20x)	ОПАСНО	
		
	H360	Может нанести ущерб плодородности или нерожденному ребенку.
	P201	Перед использованием получить специальные инструкции.
	P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения/лица.
	P308+P313	ПРИ оказании воздействия или беспокойности: обратиться к врачу. Борная кислота 0,1-0,3% Натрия борат, декагидрат 0,1-0,3%

SDS

Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com.

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать кровь в чистые сухие пробирки.
- Отделить сыворотку крови центрифугированием.
- Образцы сыворотки можно хранить при 2-8 °C в течение 24 часов. Для более длительного хранения их необходимо разделить на аликвоты и заморозить при температуре <-20 °C, до 2 месяцев. Избегать повторного замораживания-оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
- Если концентрация в образце превышает концентрацию в максимальной калибровочной пробе, его следует разбавить нулевой калибровочной пробой.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8 °C до окончания срока годности набора, указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения компонентов набора после их растворения или разбавления указаны в разделе «Процедура».

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к ВАР: 2 x 50 шт. (готовы к использованию)

Метка, раствор моноклональных антител к ВАР, меченных ¹²⁵I: 1 флакон, 11 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 650 кБк ¹²⁵I-иммуноглобулинов в буфере с бычьим и лошадиным сывороточными альбуминами, красителем и азидом натрия (< 0,1 %).

Примечание: Наличие сгустков в растворе метки не влияет на результат анализа.

Калибровочные пробы: 5 флаконов по 1 мл и 1 флакон с 6 мл «нулевой» калибровочной пробы (готовы к использованию)

Калибровочные пробы содержат ВАР в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 120 мкг/л в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (< 0,1 %). Точные концентрации указаны на этикетках флаконов. Значения калибраторов получены в соответствии с внутренним стандартом.

Контрольная сыворотка: 2 флакона (готовы к использованию)

Флаконы содержат ВАР в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (< 0,1 %). Ожидаемый диапазон концентраций указан на дополнительном листке-вкладыше.

Промывочный раствор (20х): 1 флакон, 50 мл.

Концентрированный раствор должен быть разведен перед использованием.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетка (100 мкл)
- полуавтоматические пипетки (100 мкл, 2 мл)
- холодильник или холодная комната (2-8 °С)
- вихревой смеситель типа Vortex
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом ВАР неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты, приведенные в данной инструкции, получены при построении калибровочной кривой в логарифмических координатах (взвешенная квадратическая регрессия) со связанной активностью 125I (В – Во, имп/мин) по вертикальной оси и концентрацией ВАР (мкг/л) по горизонтальной оси калибровочного графика. Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 225 220 имп/мин				
Калибраторы	ВАР (мкг/л)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	В-В ₀ , имп./мин.
0	0	196	0,09	-
1	7,5	2 481	1,10	2 285
2	15	5 122	2,27	4 926
3	30	9 448	4,20	9 252
4	60	18 208	8,08	18 012
5	120	32 125	14,3	31 929

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждого образца найти на вертикальной оси калибровочного графика значение В-В₀ (имп/мин), а на горизонтальной оси соответствующую концентрацию ВАР (мкг/л). Результаты, полученные для разбавленных образцов, следует умножить на фактор разведения.

Ферментативная активность 100 Е/л ВАР соответствует приблизительно 38,4 мкг/л.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон нормальных значений. Ниже в таблице приведены результаты полученные при клинических исследованиях здоровых людей.

Клинические исследования показали эффективность исследования ВАР при остеопорозе в постмено-паузальный период у женщин и при болезни Педжета. Хотя исследования проводились с использованием наборов Tandem-R OSTASE, набор Immunotech OSTASE IRMA разработан с использованием тех же моноклональных антител, что и Tandem-R OSTASE и имеют такие же клинические характеристики.

Результаты, полученные с использованием других моноклональных антител и других методик, могут иметь другие клинические характеристики.

Результаты проведенного исследования представлены в таблице.

	n	Среднее значение (мкг/л)	SD (мкг/л)	Медиана (мкг/л)	95я Перцентиль (мкг/л)
Мужчины	217	12,3	4,3	11,6	20,1
Женщины в предменопаузе	228	8,7	2,9	8,5	14,3
Женщины в постменопаузе	529	13,2	4,7	12,5	22,4

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ПРОЦЕДУРА

Подготовка и хранение реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Подготовка промывочного раствора

Тщательно смешать содержимое флакона с концентратом и 950 мл дистиллированной воды. Подготовленный к работе промывочный раствор можно хранить при 2-8 °С до окончания срока годности набора.

Процедура анализа (см. таблицу)

Перед использованием довести все реагенты до комнатной температуры.

Стадия 1 Внесение компонентов	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Промывка и учет результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 100 мкл калибровочных, контрольных и анализируемых проб и 100 мкл метки.* Осторожно встряхнуть вручную 15 секунд.	Поместить штатив с пробирками на охлажденную водяную баню. Инкубировать 19 ± 1 часов при 2-8 °С без встряхивания. Температура не должна быть выше 8 °С.	Внести в пробирки по 2 мл промывочного раствора и удалить жидкость** (кроме проб Т). Повторить стадию промывки и удалить жидкость.** Во всех пробирках измерить активность 125I (имп./мин.) в течение 1 минуты.

*В две дополнительные пробирки внести по 100 мкл метки для оценки общей активности 125I (Т), имп./мин.

**Стадию промывки и удаления жидкости проводить отдельно в каждом штативе, чтобы сократить время присутствия промывочного раствора в пробирках до минимума. После завершения второй промывки, примерно через 60 секунд, удалите остатки промывочного раствора.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 1,75 мкг/л

Функциональная чувствительность: 5,00 мкг/л

Специфичность

Кишечная ВАР: ферментативная активность 100 Е/л при данном определении соответствует 2,4 мкг/л.

Плацентарная ВАР: ферментативная активность 100 Е/л при данном определении не давала определяемый результат.

ВАР печени: ферментативная активность 100 Е/л при данном определении соответствует 6,9 мкг/л.

Воспроизводимость

Внутри анализа

Образцы анализировали в 18 репликах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации не превышал 8,4 %.

Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации не превышал 13,6 %.

Точность

Тест на разведение

Образцы с высокой концентрацией ВАР серийно разводили «нулевым» стандартом. Измеренная величина «открытия» составляла от 88,5 % до 115 %.

Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества ВАР добавляли к образцам. Измеренная величина «открытия» составляла от 86,7 % до 106 %.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 1,75 до приблизительно 120 мкг/л.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования.

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.

Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.

“Хук эффект” в данном наборе может появляться в образцах содержащих ВАР в концентрации равной или выше 1000 мкг/л. Образцы, в которых по клиническим данным можно ожидать высокое содержание ВАР, следует развести «нулевым» стандартом. Полученные результаты следует умножить на коэффициент разведения.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Интерференция со стороны этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Accuracy

Dilution test

Serum samples were diluted with zero calibrator and assayed according to the assay procedure of the kit.

Sample	Dilution	BAP (µg/L)		Recovery measured/expected (%)
		expected	measured	
K	Undiluted	-	103	-
	1/2	51.4	47.1	91.7
	1/4	25.7	23.5	91.5
	1/8	12.8	11.7	91.1
	1/16	6.42	6.24	97.2
L	Undiluted	-	82.7	-
	1/2	41.4	36.6	88.5
	1/4	20.7	18.9	91.4
	1/8	10.3	9.75	94.3
	1/16	5.17	5.90	114
M	Undiluted	-	56.3	-
	1/2	28.2	27.4	97.3
	1/4	14.1	13.8	98.0
N	Undiluted	-	50.2	-
	1/2	25.1	24.9	99.2
	1/4	12.6	13.3	106
	1/8	6.28	7.20	115

Recovery test

Serum samples containing known concentrations of BAP were added to three sera and assayed according to the assay procedure of the kit.

Endogenous conc.	BAP (µg/L)		Recovery (%) Measured/Expected
	Added	Obtained	
59.4	40.2	101.9	106.0
	58.7	119.8	102.9
	29.7	87.8	95.7
26.6	40.2	68.9	105.2
	20.0	46.1	97.7
	10.5	35.7	86.7
19.0	58.7	76.1	97.3
	29.7	48.4	99.1
	15.2	33.0	92.0

Precision

Intra-assay

Sample	A	B	C	D	E	F
No. of determinations	19	18	18	18	18	19
Mean value (µg/L)	12.9	17.8	23.2	40.6	53.4	99.9
CV (%)	8.39	4.61	3.55	6.18	2.93	2.83

Inter-assay

Sample	1	2	3	4	5	6
No. of determinations	10	10	10	10	10	10
Mean value (µg/L)	6.77	8.40	11.8	25.0	45.5	74.1
CV (%)	10.9	13.6	9.35	6.53	7.06	9.30

Interference by drugs

Analogous IRMA sandwich system Tandem-R OSTASE, employing the same monoclonal antibodies, was tested for interference by drugs. The drugs and the highest concentrations tested were:

Acetaminophen (350 µg/mL), alendronate (20 µg/mL), aspirin (350 µg/mL), calcitonin-human (80 µg/mL), calcitonin-salmon (60 IU/mL), calcium (500 µg/mL), estrogen (100 µg/mL), etidronate (350 µg/mL), ibuprofen (150 µg/mL), norethidronel/ethinyl estradiol mixture (oral contraceptive) (3.0 mg/mL), pamidronate (180 µg/mL), vitamin D (400 IU/mL).

These drugs did not interfere in the Tandem-R OSTASE assay. Due to analogous design of the Immunotech OSTASE IRMA assay, no interference is expected as well.

¹²⁵I Characteristics

T_{1/2} (¹²⁵I) = 1443 h = 60.14 d


¹²⁵ I	E (MeV)	%
Gamma	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25


Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferens / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин витро диагностика / 體外診斷


CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄


 Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 製造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商


 Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

 Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 請參閱使用說明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

 Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sıcaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

 Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

 Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirație / 만료 날짜 / Son Kullanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarası / Номер партии / Номер на партида / 批號

 Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biyolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktyvioji medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZENSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / TEHLÍKE / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag^{125I}

Ab^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikator / Indikator (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL 0

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrator / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibratör / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontrolliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάκια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用說明

SOLN | **WASH** | **20x**

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvättlösningkoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 浓缩清洗液 20X / Plovimo tirpalu koncentratas 20X / 20X mosóoldat-koncentrátum / Koncentrat 20X roztworu płuczającego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Концентрат промывочного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda,
Calçada Aldebarã, 39, Centro de Apoio 2 - Alphaville,
CEP 06541-055 - Santana de Parnaíba, SP, Brasil
Telefone: (11) 4154-8818 - CNPJ: 42.160.812/0001-44



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic