



Preste atención a los cambios!

LIAISON[®] BAP OSTASE[®] (310970)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON[®] BAP OSTASE[®] de DiaSorin es un inmunoensayo por quimioluminiscencia de tipo “sándwich” de adición demorada de un solo paso indicado para la determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina ósea (BAP) en suero humano. Este dispositivo está indicado para utilizarse como ayuda para el tratamiento de la osteoporosis y la enfermedad de Paget. El ensayo debe realizarse en la serie de instrumentos LIAISON[®].

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

La fosfatasa alcalina ósea (BAP) es un marcador sérico de la formación ósea osteoblástica. La concentración de BAP del suero humano está estrechamente relacionada con la tasa de formación ósea osteoblástica esquelética. La medición de la BAP es útil para el diagnóstico de la enfermedad de Paget y la osteoporosis, así como para la vigilancia de la respuesta al tratamiento anti-reabsortivo en estos pacientes.

La fosfatasa alcalina (ALP) (fosfohidrolasa de monoéster ortofosfórico, óptima en medio alcalino, EC3.1.3.1) es una enzima altamente conservada distribuida ampliamente en la naturaleza. En los humanos, cuatro locus genéticos codifican las isoenzimas de ALP: TNALP (tejido no específico), intestinal, línea germinal y placentario¹. La BAP y la fosfatasa alcalina hepática (LAP) se derivan de un locus de TNALP común, por lo que son 100% homólogas en cuanto a estructura primaria. Las diferencias en la inmunorreactividad a la LAP y la BAP se derivan de grados diferenciales de modificación postranslacional en cinco lugares de N-glucosilación (N123, N213, N254, N286 y N413)² comunes a ambas isoenzimas y en lugares de O-glucosilación exclusivos de la BAP. En suero humano normal, las isoformas BAP y LAP constituyen aproximadamente el 95% de la actividad de la ALP sérica total, y están presentes en cantidades casi equivalentes.

La BAP actúa como una ectoenzima que se une a la membrana celular de los osteoblastos a través de un anclaje de glucosilfosfatidilinositol (GPI) hidrófobo. Estudios *in vitro* demuestran que la BAP participa en la iniciación de la mineralización de la matriz ósea donde se libera en forma tetramérica insoluble unida a las vesículas matriciales. En el suero, la BAP está presente en forma de homodímero dependiendo de las acciones combinadas de dos fosfolipasas endógenas circulantes: la GPI-PLC y/o la GPI-PLD.

Estudios de hipofosfatasa (inducida por mutaciones de cambio de aminoácido del gen TNALP) indican que la BAP desempeña un importante papel en el desarrollo y la mineralización del esqueleto, actuando como una pirofosfatasa³. La escisión de la pirofosfatasa, un potente inhibidor de la mineralización, fomenta el depósito mineral *in vivo*⁴. La BAP se utiliza para vigilar la formación ósea en pacientes con trastornos renales, ya que es uno de los pocos marcadores que no se ven influidos por las variaciones de la función renal⁵. La BAP está experimentando una creciente utilidad clínica en la discriminación entre la enfermedad ósea adinámica (bajo recambio óseo) y la osteitis fibrosa (alto recambio óseo) cuando las pruebas actuales de hormona paratiroidea de segunda generación no son diagnósticas. La BAP también es útil para vigilar la eficacia de las intervenciones terapéuticas realizadas en pacientes con enfermedad de Paget tratados con bisfosfonatos o en mujeres osteoporóticas tratadas con bisfosfonatos o con sustitución de estrógenos.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El inmunoensayo LIAISON[®] BAP OSTASE[®] es un ensayo directo tipo «sándwich» en dos lugares que emplea dos anticuerpos monoclonales de ratón purificados por afinidad para capturar y detectar la BAP. El ensayo utiliza 50 µl de muestra de suero humano incubada con partículas paramagnéticas recubiertas con un anticuerpo monoclonal anti-BAP. Tras la incubación se añade a la reacción un segundo anticuerpo monoclonal conjugado con isoluminol y se deja incubar brevemente. Después de la incubación, el material libre se elimina en un ciclo de lavado. A continuación se agregan los reactivos iniciadores y tiene lugar una reacción quimioluminiscente rápida. La señal luminosa se mide en unidades lumínicas relativas con un fotomultiplicador y es proporcional a la concentración de BAP presente en calibradores, controles o muestras.

4. MATERIAL SUMINISTRADO

Integrador de reactivos

Partículas magnéticas	SORB	Partículas magnéticas recubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón anti-BAP, ASB, tampón fosfato, surfactante y azida sódica a <0,1%.
Conjugado	CONJ	Anticuerpo monoclonal de ratón conjugado con un derivado de isoluminol en tampón MES (monohidrato de ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico), ASB, surfactante, IgG de ratón y ProClin® 300 al 0,1%.
Tampón de ensayo	BUFAS	Tampón MES, ASB, surfactante, cloruro sódico, IgG de ratón y ProClin® 300 al 0,1%.
Número de ensayos	100	

Todos los reactivos suministrados están listos para su uso.

Incluidos con el integrador

Calibrador 1 (líoilizado)	CAL1	Suero humano, ProClin® 300 al 0,2% y BAP. Reconstituya con 1 ml de agua destilada o desionizada. Divida en partes y guarde el calibrador reconstituido a -20°C
Calibrador 2 (líoilizado)	CAL2	Suero humano, ProClin® 300 al 0,2% y BAP. Reconstituya con 1 ml de agua destilada o desionizada. Divida en partes y guarde el calibrador reconstituido a -20°C

ProClin® 300 es una marca comercial registrada de Rohm and Haas Co.

Materiales requeridos, pero no suministrados (relacionados con el sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 9450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102),
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check (REF 319101)

Otros materiales requeridos

LIAISON® BAP OSTASE® Control Set (Cat. No. 310971)

Material adicional recomendado

LIAISON® BAP OSTASE® Diluent (Cat. No. 310972)

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

SOLO PARA UTILIZAR EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO: No debe utilizarse interna o externamente en seres humanos ni animales.

SEGURIDAD GENERAL:

- Todas las muestras, reactivos biológicos y materiales utilizados en el ensayo deben ser considerados como transmisores potenciales de agentes infecciosos. Evite el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. El ensayo debe realizarse respetando escrupulosamente las buenas prácticas higiénicas industriales.
- Absténgase de comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el laboratorio de ensayos.
- No pipetee las soluciones con la boca.
- Evite el contacto directo con todos los materiales potencialmente infecciosos; para ello se aconseja utilizar batas de laboratorio, mascarillas y protectores oculares, además de guantes desechables.
- Lávese las manos a fondo después de cada ensayo.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles cuando manipule, diluya o transfiera muestras o reactivos. Los reactivos derramados deben lavarse con una solución de lejía al 10% (hipoclorito sódico al 0,5%) y eliminarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.
- La eliminación de los residuos debe efectuarse de conformidad con las disposiciones y normas generales establecidas por las autoridades con jurisdicción sobre el laboratorio, y con las leyes vigentes en cada país.
- No utilice ningún kit o componente después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Reactivos con material de origen humano

Trátense como potencialmente infecciosos

Cada unidad de suero utilizada en la preparación de este producto ha sido verificada con un método aprobado por la FDA estadounidense y hallada no reactiva a la presencia de AgsHB (antígeno de superficie de la hepatitis B), anticuerpos de VHC y anticuerpos de VIH 1/2. Aunque estos métodos son altamente precisos, no garantizan la detección de todas las unidades infectadas.


Este producto también puede contener otros materiales de origen humano para los cuales no existe prueba homologada. Dado que ningún método de prueba conocido puede garantizar plenamente la ausencia del virus de la hepatitis B (VHB), del virus de la hepatitis C (VHC), del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o de otros agentes infecciosos, todos los productos que contengan material de origen humano se deberán manejar de acuerdo con las prácticas de laboratorio correctas utilizando las precauciones adecuadas que se describen en el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y los Institutos Nacionales de Salud (Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health), 4ª ed., mayo de 1999.

Los reactivos que contienen azida sódica

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede formar azidas explosivas en las cañerías de plomo y cobre, por lo que es recomendable enjuagar a fondo los desagües con abundante agua tras eliminar soluciones con contenido de azida sódica.

Los reactivos que contienen ProClin® 300

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:

	67/548/CEE / 1999/45/CE / 2001/60/CE	(CE) No 1272/2008
CLASIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA:	Irritante	Sensibilización cutánea, categoría 1
PALABRA DE ADVERTENCIA:	NA	Atención
PICTOGRAMA:	 Xi - Irritante	 GHS07 – Signo de exclamación
INDICACIÓN DE PELIGRO:	R43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.	H317 – Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
CONSEJOS DE PRUDENCIA:	S24 – Evítense el contacto con la piel. S37 – Úsense guantes adecuados. S60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.	P261 – Evitar respirar la niebla o el aerosol. P272 – Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280 – Llevar guantes, prendas y gafas de protección. P264 – Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. P270 – No comer, beber ni fumar durante su utilización.

6. PREPARACIÓN DEL INTEGRADOR DE REACTIVOS

Observe escrupulosamente las siguientes precauciones importantes para manipular los reactivos:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Siga los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:

Antes de quitar la protección de los contenedores, gire hacia adelante y hacia atrás la ruedecilla dentada situada por debajo del contenedor de las partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte una coloración morena. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para favorecer la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Si es necesario, repita el procedimiento hasta la completa resuspensión de las partículas magnéticas. Después de quitar la protección, seque con sumo cuidado la superficie de cada pared para eliminar el líquido residual si fuera necesario.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Observe las recomendaciones siguientes para evitarla:

Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma después de la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso cuando se ha dejado descansar en el instrumento, las partículas magnéticas han sido mantenidas en agitación automática y se ha disuelto la espuma.

Cargar el integral en el área de los reactivos del instrumento

LIAISON® Analyzer

Coloque el integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta de los códigos de barras situada a la izquierda y déjelo agitar durante 30 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa.

Hágase referencia al manual operativo del instrumento para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

LIAISON® XL Analyzer

El instrumento LIAISON® XL Analyzer está dotado de un dispositivo magnético interno, en estado sólido, que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para los detalles técnicos.

Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.

Deje descansar el integral de reactivos en el dispositivo magnético en estado sólido por al menos 30 segundos (hasta varios minutos). Si es necesario, repita la operación.

Luego coloque el integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta situada a la izquierda y déjelo agitar durante 15 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa.

Hágase referencia al manual operativo del instrumento para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

7. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DEL INTEGRADOR DE REACTIVOS

A su recepción, almacene el integrador de reactivos boca arriba para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas. Si el integrador se almacena sin abrir, los reactivos permanecen estables a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. No lo congele. El integrador de reactivos no debe utilizarse después de la fecha de caducidad indicada en el equipo y en las etiquetas correspondientes. Después de utilizarse, el integrador de reactivos debe cerrarse con la cinta proporcionada en el kit y volverse a guardar a 2-8 °C. Una vez abierto, puede usarse en 4 semanas si se guarda en las debidas condiciones.

8. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe utilizarse suero humano. La sangre debe extraerse aseptícamente por punción venosa y dejarse coagular; el suero ha de separarse del coágulo lo antes posible. Para mantener la integridad de la muestra no se requieren aditivos ni conservantes. Las muestras que presentan partículas, turbidez, lipemia o detritus de eritrocitos pueden necesitar clarificación por filtración o centrifugación antes de la prueba. No deben analizarse las muestras muy hemolizadas o lipémicas, ni las que contengan partículas o presenten una evidente contaminación microbiana. Antes del ensayo, compruebe si hay burbujas de aire y elimínelas. Las muestras son estables durante 72 horas a 2-8 °C; si se necesita más tiempo, guárdelas congeladas a -20 °C o menos para el almacenamiento a corto plazo, o a -70 °C para el almacenamiento a largo plazo. Las muestras pueden almacenarse en viales de vidrio o plástico. El volumen mínimo requerido es de 250 µl. Si las muestras se guardan congeladas, mézclelas bien antes del ensayo cuando las descongele. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.

9. CALIBRACIÓN

Cada integrador de reactivos de LIAISON® BAP OSTASE® tiene una etiqueta de código de barras con información específica sobre la calibración del lote de integrador de que se trate. El análisis de los calibradores específicos para el ensayo permite ajustar a la curva maestra asignada los valores RLU detectados. Cada solución de calibración permite realizar 2 calibraciones. La recalibración por triplicado es obligatoria siempre que se dé al menos una de las siguientes situaciones:

- Con cada nuevo lote de reactivos (integrador de reactivos o reactivos iniciadores).
- Cada 28 días / 4 semanas.
- Después de una tarea de reparación o mantenimiento del LIAISON® Analyzer.
- Si los resultados del control de calidad están fuera del rango aceptable.

Rango de medida. El ensayo LIAISON® BAP OSTASE® de DiaSorin mide entre 1,5 µg/l y 120 µg/l. El valor mínimo presentable es 1,5 µg/l. Los valores inferiores a 1,5 µg/l deben presentarse como <1,5 µg/l. El máximo valor presentable sin dilución es 120 µg/l. Las muestras que superen el rango presentable deben diluirse usando el diluyente de muestras LIAISON® BAP OSTASE® de DiaSorin (310972) y someterse de nuevo a análisis y cálculo. Véase el apartado 16.10.

10. CALIBRADORES DE NIVEL 1 Y 2

Los calibradores LIAISON® BAP OSTASE® se suministran liofilizados. Reconstituya cada vial con 1 ml de agua destilada o desionizada. Deje reposar los viales durante 5 minutos a temperatura ambiente y mezcle suavemente por inversión durante 30 minutos antes de utilizarlos.

Transfiera un mínimo de 350 µl (calibradores triplicados) a un tubo de vidrio o plástico para muestras. Adhiera al tubo la etiqueta de código de barras que corresponda y colóquelo en el LIAISON® Analyzer. calibre el análisis como se describe en el manual del operador de LIAISON®.

Los calibradores LIAISON® BAP OSTASE® deben dividirse en partes después de la reconstitución si el análisis no se realiza inmediatamente. Los calibradores de BAP han demostrado ser estables durante 8 horas cuando se almacenan a temperatura ambiente. Los calibradores reconstituidos que no se utilicen deberían dividirse en partes con un mínimo de 350 µl y congelarse. Pueden utilizarse después de 3 ciclos de congelación-descongelación durante un máximo de 2 meses.

Una vez mezclados los calibradores, destápelos y colóquelos en la gradilla de muestras del LIAISON® Analyzer con el código de barras hacia fuera y deslice la gradilla hasta la zona de muestras del analizador. Siga las instrucciones del manual del analizador para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Para obtener unas prestaciones analíticas ideales hay que respetar estrictamente las instrucciones del manual operativo del instrumento.

LIAISON® Analyzer: Cada parámetro del test es identificado mediante el código de barras en la etiqueta del integral de reactivos. Si el lector del código de barras no funciona correctamente, el integral no puede ser usado y debe descartarse. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

LIAISON® XL Analyzer: Cada parámetro del test es identificado mediante informaciones codificadas en el Tag para identificación de radiofrecuencia (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) en el integral de reactivos. Si el RFID Tag no funciona correctamente, el integral no puede ser usado y debe descartarse. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

Si no es posible leer los códigos de barras externos del calibrador, es posible introducir manualmente en el instrumento de la serie LIAISON® Analyzer los datos que figuran en las etiquetas externas del calibrador (debajo del código de barras). Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

Las operaciones del analizador son las siguientes:

1. Dispensar la muestra, las partículas magnéticas del calibrador, o del control, y el tampón de ensayo en el módulo de reacción.
2. Incubar.
3. Dispensar el conjugado en el módulo de reacción.
4. Incubar.
5. Lavar con líquido de lavado/sistema.
6. Agregar los reactivos iniciadores y medir la emisión de luz.

Los resultados del inmunoensayo pueden verse afectados por los cambios de temperatura. Los usuarios deben tener en cuenta las variaciones en el entorno del laboratorio; puede que sea necesario utilizar los controles con más frecuencia y realizar la recalibración subsiguiente.

12. CONTROL DE CALIDAD

Es necesario que se realice el control de calidad cada día de trabajo o conforme a lo estipulado en las normas y requisitos de los reglamentos locales o de entidades acreditadas. Se recomienda consultar la documentación de CLSI C24-A2 y 42 CFR 493.1256 (c) para conocer las prácticas de control de calidad adecuadas.

El juego de controles LIAISON® BAP OSTASE® (310971) permite determinar los requisitos de control de calidad de este ensayo. Los controles LIAISON® BAP OSTASE® permiten detectar cualquier síntoma importante de deterioro del reactivo. Los controles LIAISON® se deben analizar individualmente para evaluar las prestaciones del test. Si los valores de control entran en los rangos previstos en el certificado de análisis, la prueba es válida. Si los valores de control quedan fuera de los rangos previstos, la prueba no es válida y los resultados de las pruebas clínicas no pueden publicarse. El ensayo tiene que calibrarse si se observa un fallo del control, en cuyo caso deben repetirse los controles y las muestras del paciente.

Antes de utilizar otros controles, es preciso evaluar su efectividad para comprobar su compatibilidad con este ensayo. Deberán establecerse rangos de valores apropiados para todos los materiales de control de calidad utilizados. Siempre que los resultados de control estén fuera de los rangos previstos, será necesario repetir la calibración y volver a analizar los controles.

El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables.

13. ESTANDARIZACIÓN

El LIAISON® Analyzer calcula automáticamente la concentración de BAP en la muestra. Esta concentración se expresa en µg/l.

Los calibradores y los controles pueden dar resultados de RLU (unidades relativas de luz) y de dosis distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, pero los resultados con respecto al paciente son equivalentes.

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para obtener resultados fiables son imprescindibles una técnica experta y el estricto cumplimiento de las instrucciones. La contaminación bacteriana de las muestras o los ciclos repetidos de congelación-descongelación pueden afectar a los resultados del ensayo. Los resultados del ensayo deben utilizarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar al médico a decidir qué tratamiento aplicar a cada paciente.

Los integrales no se deben intercambiar entre diferentes tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Después de introducir un integral en uno de los instrumentos, deberá usarse siempre en él hasta que se haya acabado.

Debido a los problemas de trazabilidad resultantes de la indicación anterior, los seguimientos del paciente no podrán efectuarse entre diferentes tipos de analizadores. Estos deben realizarse en un analizador en concreto (LIAISON® o LIAISON® XL).

15. VALORES PREVISTOS⁶

Se evaluó un panel de muestras de hombres y mujeres sin osteoporosis, enfermedad de Paget, insuficiencia renal crónica o cualquier otra enfermedad que pudiera ocasionar problemas relacionados con el recambio óseo. En este estudio se descartaron las muestras con valores anormales de 25-OH Vitamina D y PTH intacta (definidos como <32 ng/ml y >58 pg/l respectivamente), con niveles de calcio y fosfato fuera del intervalo de referencia del laboratorio e índice de filtración glomerular estimado < 60ml/min/1,73m².

Población	n	Media proporcional BAP (µg/l)	Rango del 95% observado (µg/l)
Hombres	120	10,8	5,5 – 22,9
Mujeres premenopáusicas	120	10,4	4,9 – 26,6
Mujeres posmenopáusicas	120	10,8	5,2 – 24,4
Puesto que no se observó ninguna diferencia estadística entre las 3 poblaciones, los datos se combinaron:			
Adultos	360	10,7	5,5 – 24,6

Estos límites deben considerarse meramente orientativos. Cada laboratorio debería establecer sus propios intervalos de referencia.

16. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

16.1 Sensibilidad analítica: Siguiendo un método adaptado del EP17-A de CLSI, la sensibilidad analítica del ensayo LIAISON[®] BAP OSTASE[®], definida como la dosis mínima detectable y distinguible de cero por dos desviaciones estándar, es ≤ 0,1 µg/l.

16.2 Sensibilidad funcional: Siguiendo un método adaptado del EP17-A de CLSI, la sensibilidad funcional del ensayo LIAISON[®] BAP OSTASE[®] se define como la concentración en la que el % de CV es superior al 20%. La sensibilidad funcional derivada del análisis de regresión del perfil de precisión es de 1,5 µg/l.

16.3 Precisión con el LIAISON[®] Analyzer: La precisión del ensayo LIAISON[®] BAP OSTASE[®] se evaluó según el EP5-A2 de CLSI. Se analizaron por duplicado nueve muestras con diferentes concentraciones de analito, dos veces al día durante 20 días de trabajo, para determinar la repetibilidad y reproducibilidad del ensayo (esto es, su variabilidad intraensayo e interensayo).

Repetibilidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9*
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Media (µg/l)	14,5	25,7	56,6	64,7	87,4	6,5	12,2	53,3	31,6
DE (µg/l)	0,47	1,01	1,85	2,78	3,46	0,22	0,52	2,08	1,26
% CV	3,3	3,9	3,3	4,3	4,0	3,4	4,3	3,9	4,0

Reproducibilidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9*
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Media (µg/l)	14,5	25,7	56,6	64,7	87,4	6,5	12,2	53,3	31,6
DE (µg/l)	1,18	1,69	4,06	5,18	5,33	0,42	0,98	3,56	2,37
% CV	8,1	6,6	7,2	8,0	6,1	6,4	8,1	6,7	7,5

*diluido 1:2 con diluyente de muestras

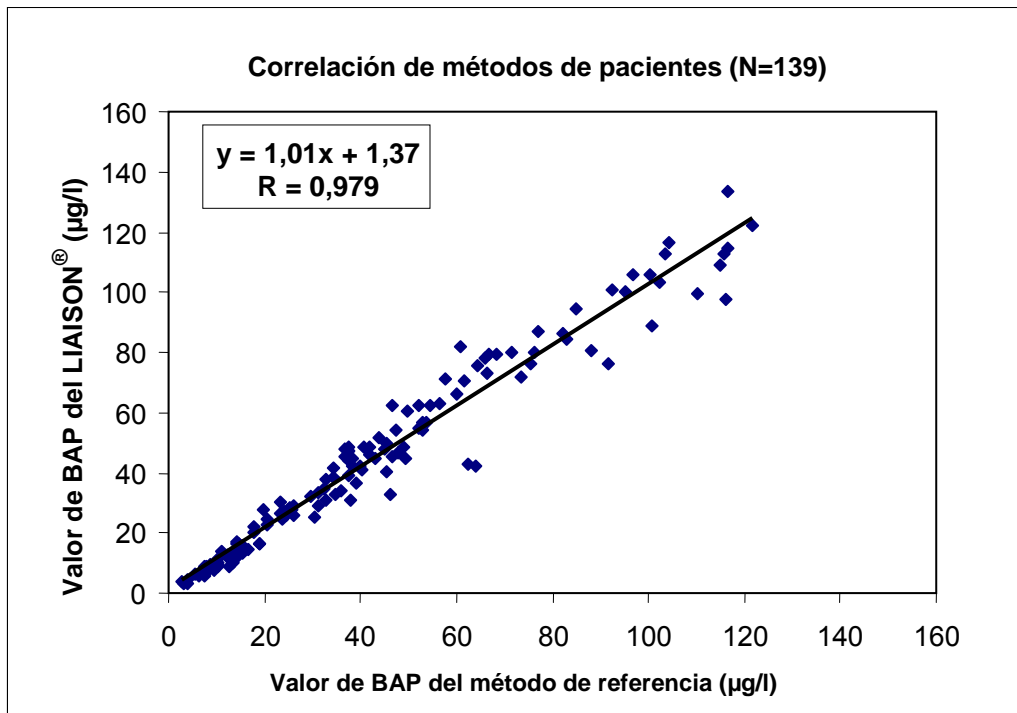
16.4 Precisión con el LIAISON® XL Analyzer: La precisión del ensayo LIAISON® BAP OSTASE® se evaluó según el EP5-A2 de CLSI. Se analizaron por duplicado nueve muestras con diferentes concentraciones de analito, dos veces al día durante 20 días de trabajo, para determinar la repetibilidad y reproducibilidad del ensayo (esto es, su variabilidad intraensayo e interensayo).

Repetibilidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9*
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Media (µg/l)	13,1	78,2	6,83	14,5	22,4	37,9	47,8	84,6	28,8
DE (µg/l)	0,61	1,92	0,23	0,73	0,53	0,73	1,19	2,08	0,76
% CV	4,6	2,5	3,4	5,0	2,4	1,9	2,5	2,5	2,6

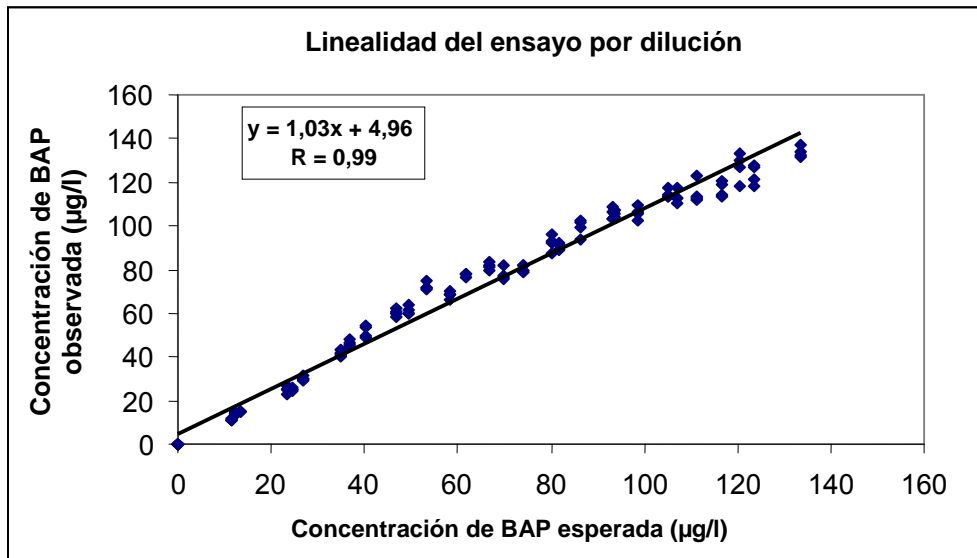
Reproducibilidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9*
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Media (µg/l)	13,1	78,2	6,83	14,5	22,4	37,9	47,8	84,6	28,8
DE (µg/l)	0,73	2,79	0,27	0,92	0,72	1,25	1,66	2,31	0,79
% CV	5,6	3,6	3,9	6,4	3,2	3,3	3,5	2,7	2,7

*diluido 1:2 con diluyente de muestras

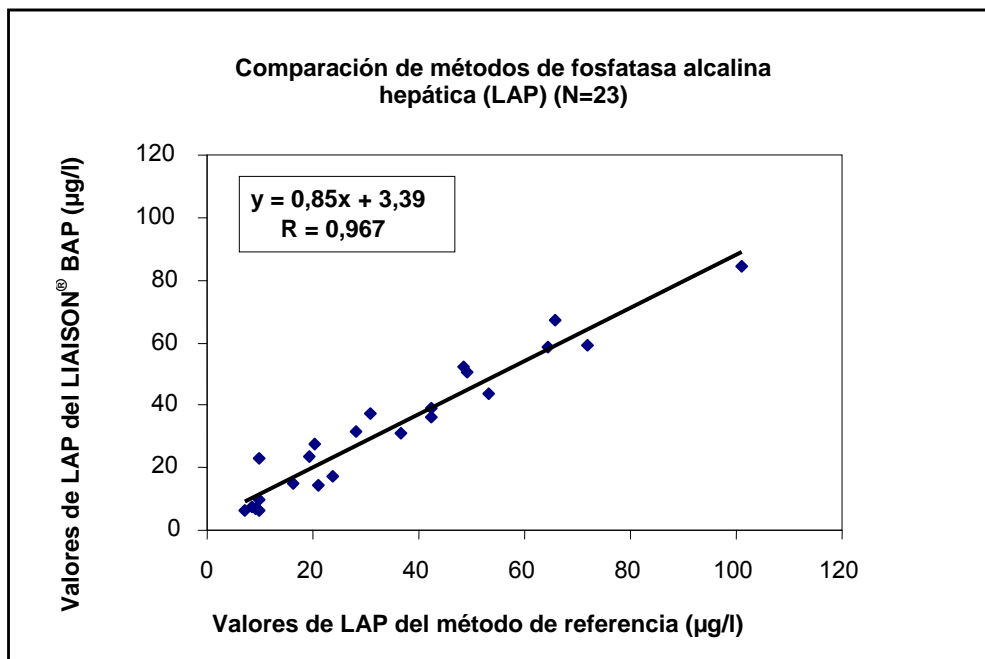
16.5 Correlación de pacientes: Se analizó un total de 139 muestras clínicas con LIAISON® BAP OSTASE® y con otro método automatizado según el EP7-A2 de CLSI, y se obtuvo la comparación siguiente: LIAISON® BAP = 1,01 (método de referencia) + 1,37; R = 0,979.



16.6 Linealidad del ensayo: Se diluyeron tres muestras de pacientes y se analizaron con el LIAISON® BAP OSTASE® siguiendo el EP6-A de CLSI. Los resultados se analizaron mediante la regresión lineal de la concentración de BAP observada en función de la concentración de BAP esperada. La ecuación de regresión resultante es: BAP observada = 1,03 (BAP esperada) + 4,96; R = 0,99.



16.7 Especificidad: La reactividad cruzada del ensayo LIAISON® BAP OSTASE® con la fosfatasa alcalina hepática (LAP) se comparó con un método de referencia utilizado frecuentemente. La reactividad cruzada con la LAP en muestras de suero enriquecidas con LAP (enriquecidas con > 50% de LAP) es comparable al método de referencia con la ecuación: valores de LAP de LIAISON® BAP = 0,85 (valores de LAP del método de referencia) + 3,39; R = 0,967. Las muestras con altas elevaciones de LAP pueden arrojar resultados elevados en el ensayo LIAISON® BAP OSTASE®.



16.8 Recuperación: Se analizaron cinco muestras clínicas enriquecidas de alta concentración y cinco muestras clínicas de baja concentración. Las muestras utilizadas para determinar el porcentaje de recuperación se preparan mezclando proporciones definidas de las muestras de alta y baja concentración y realizando análisis en series de cinco.

	Definida (µg/l)	Prevista (µg/l)	Observada (µg/l)	% de recuperación
Muestra con concentración alta 1 (HS1)	128,6			
2 HS1: 1 LS1		91,1	93,7	103
1 HS1: 1 LS1		71,8	74,6	104
1 HS1: 2 LS1		52,5	53,9	103
Muestra con concentración baja 1 (LS1)	15,0			
Muestra con concentración alta 2 (HS2)	97,2			
2 HS2: 1 LS2		70,2	69,8	99
1 HS2: 1 LS2		56,3	58,2	103
1 HS2: 2 LS2		42,3	44,2	104
Muestra con concentración baja 2 (LS2)	15,3			
Muestra con concentración alta 3 (HS3)	99,8			
2 HS3: 1 LS3		71,6	71,4	100
1 HS3: 1 LS3		57,1	56,9	100
1 HS3: 2 LS3		42,5	44,3	104
Muestra con concentración baja 3 (LS3)	14,3			
Muestra con concentración alta 4 (HS4)	112,9			
2 HS4: 1 LS4		79	80,2	102
1 HS4: 1 LS4		61,6	65	106
1 HS4: 2 LS4		44,1	45,7	103
Muestra con concentración baja 4 (LS4)	10,3			
Muestra con concentración alta 5 (HS5)	111,9			
2 HS5: 1 LS5		78,5	82,3	105
1 HS5: 1 LS5		61,3	64,5	105
1 HS5: 2 LS5		44,1	47,3	107
Muestra con concentración baja 5 (LS5)	10,7			
			Media	103
			DE	2,2

16.9 Efecto de gancho a concentraciones altas: No se ha observado efecto de gancho con concentraciones de BAP de hasta 2.000 µg/l.

16.10 Dilución de la muestra con concentración alta (>120 µg/l): Las muestras con lecturas superiores a 120 µg/l deberán diluirse con el diluyente de muestras LIAISON® BAP OSTASE® 1:2. Una dilución recomendada sería una de 125 µl de diluyente + 125 µl de muestra de paciente. Mezcle bien la dilución, repita el análisis y calcule la concentración final multiplicando por el factor de dilución.

Precisión: La precisión se evaluó con una muestra diluida* según el EP5-A2 de CLSI (§ 16.3 – 16.4).

16.11 Sustancias interferentes: Estudios controlados de sustancias potencialmente interferentes realizados con dos niveles de BAP no mostraron interferencias a la concentración más alta de cada una de las sustancias enumeradas a continuación en el ensayo LIAISON® BAP OSTASE®. Las pruebas se basaron en el EP7-A2 de CLSI.

Sustancia	Concentración probada
	mg/dl
Hemoglobina	200
Bilirrubina	20
Triglicéridos	3.000
Colesterol	500
Paracetamol	35
Alendronato	8
Ácido acetilsalicílico	50
Calcitonina (salmón)	112 UI/dl
Calcio	40
Estradiol	10
Etidronato	105
Ibuprofeno	40
Pamidronato	18
Progesterona	25
Risedronato	6
Raloxifeno	12
Vitamina D2	80.500 UI/dl
Vitamina D3	80.500 UI/dl
Anticuerpos humanos antirratón	30 ng/ml



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy