

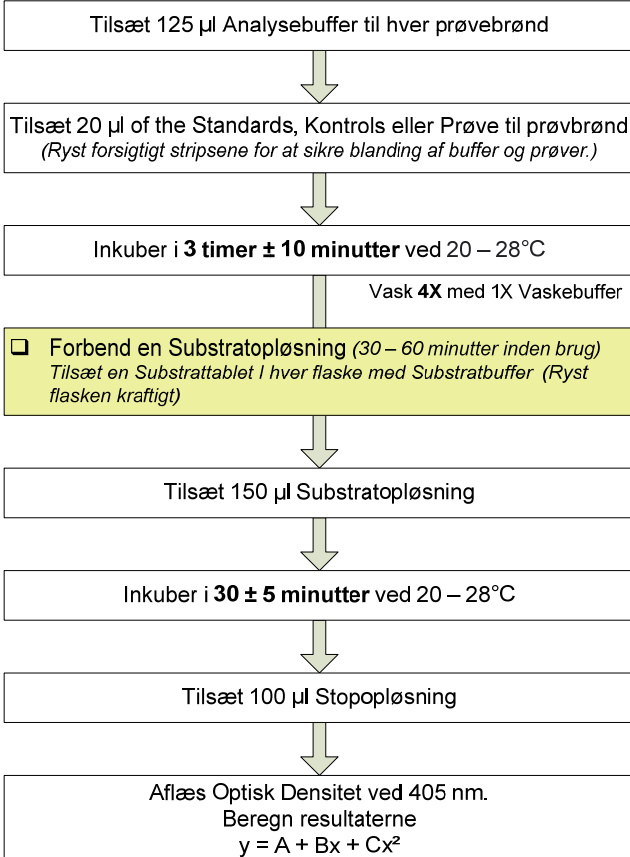
Et enzym immunoassay til kvantificering af knoglespecifik alkalisk fosfatase (BAP) i humant serum

### MicroVue™ BAP EIA Sammendrag

#### Klargøring af Reagens og Prøveeksemplar

- Fortynd 10X Vaskebuffer 1:10 med deioniseret vand.

#### Analyseprocedure



### **iu** TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue BAP-immunoanalysen giver en kvantitativ måling af knoglespecifik alkalisk fosfatase (BAP)-aktivitet i serum som en indikator for osteoblastaktiviteten. Målingen af BAP er beregnet som en hjælp til:

- behandling af postklimakteriel osteoporose og Pagets sygdom;
- overvågning af postklimakterielle kvinder i hormon- eller bisfosfonatbehandling;
- forudsigelse af skeletrespons på hormonbehandling i postklimakterielle kvinder.

### OPSUMMERING OG FORKLARING

Den skeletale eller knoglespecifikke isoform af alkalisk fosfatase er et tetramert glykoprotein, der findes på celleoverfladen af osteoblaster.<sup>1</sup> Osteoblaster er celler, der er ansvarlige for syntetiseringen af ny knoglematrix samt mineraliseringen af denne. Funktionen af BAP er ikke fuldt belyst, men dens rolle i knoglernes mineralisering er blevet bekræftet.<sup>1,2,3</sup>

Knogler gennemgår konstant en metabolisk proces, der kaldes remodellering.<sup>3,4</sup> Denne indbefatter en nedbrydningsproces – knogleresorption - der medieres af osteoclasternes aktivitet, og en opbygningsproces, knogledannelsen, der medieres af aktiviteten af osteoblasterne.<sup>3,4</sup> Remodellering er nødvendig for knoglevedligeholdelse og opretholdelse af knoglernes generelle sundhedstilstand, og foregår i tæt sammenkædede processer, således at resorption og knogledannelse er i balance.<sup>3,4</sup> I anormale knoglemetabolismetilstande er denne proces ikke sammenkædet, og når resorptionen overskrider knogledannelsen, resulterer det i et nettotab af knoglemasse, hvilket kan føre til osteoporose,<sup>3,4</sup> eller til en tilstand med ødelagt knoglevæv forårsaget af "Paget-relaterede" læsioner.<sup>5</sup> Måling af specifikke biokemiske markører, der indgår i disse remodelleringshændelser, tilvejebringer en række analytiske data vedr. knoglens metabolisme eller "omsætnings hastighed".<sup>3,4</sup>

Osteoporose er en metabolisk knoglesygdom, der er karakteriseret ved abnorm knogleremodellering. Det er en systemisk skeletsygdom der er karakteriseret ved lav knoglemasse og mikroarkitektonisk nedbrydning af knoglevæv med en tilhørende stigende risiko for pådragelse af fraktur.<sup>6</sup> Den mest almindelige form for osteoporose forekommer i postklimakterielle kvinder som følge af den østrogenmangel, der skyldes ophøret af den ovariale funktion.<sup>3</sup> Gendannelsen af det præklimakterielle østrogenniveau ved hjælp af substitutionsterapi forhindrer knoglesvind og osteoporose.<sup>3,6</sup> Østrogener og en stofgruppe kaldet bisfosfonater er antiresorptive behandlinger til forebyggelse af tab af knoglemasse eller til behandling af osteoporose.<sup>3,6,7</sup>

Osteoporose kan også skyldes, at der i opvækstårene er dannet en utilstrækkelig maksimal knoglemasse, en aldersrelateret ubalance i knoglernes remodellering med en forhøjet nettoresorption og en række kliniske tilstande og forholdinger, som medfører knogletab eller ubalance i knoglernes remodellering.<sup>3</sup> Disse omfatter endokrine lidelser, f.eks. hypogonadisme, hyperthyroidisme, hyperparathyroidisme, og hypercortisolisme, nyresvigt, cancer med metastaser til knoglerne, gastrointestinale lidelser med relation til ernærings- og mineralmetabolismen, bindevævsygdomme, multipel myeloma; kronisk immobilisering, brug af tobak eller alkohol og kronisk behandling med heparin eller binyrebarkhormoner (kortikosteroider).<sup>3</sup>

Paget's knoglesygdom er en fokal lidelse, der medfører smerter og knogledeformitet i symptomatiske patienter.<sup>5</sup> "Pagetiske" læsioner er kendetegnet ved en knoglematrix, der har en yderst abnorm struktur som følge af en overdreven remodeleringsaktivitet. Læsionerne ses hovedsageligt i kraniet, columna, pelvis og de lange knogler og kan medføre frakturer og neurologisk svækkelse.<sup>5</sup> Ætiologien for Pagets sygdom er ukendt, men hypoteser, der involverer genetiske og virale faktorer er overbevisende.<sup>5</sup> Bisfosfonater og kalcitonin anvendes for øjeblikket til at undertrykke det høje biokemiske aktivitetsniveau til et mere normalt niveau, hvilket muliggør gendannelse af normal knoglestruktur.<sup>9</sup>

Som en kvantitativ måling af en markør for knoglemassens omsætning, giver BAP nyttige oplysninger om knogleremodellering ved osteoporose og Pagets sygdom og ændringer i sygdomsforløbet ved antiresorptiv behandling.<sup>10-12</sup> Til MicroVue BAP-analysen er der anvendt antistofteknologi for at producere et monoklonalt antistof, der udviser specificitet over for BAP.<sup>10</sup> Specificiteten for det monoklonale antistof, der anvendes i analysen, muliggør en enkel, hensigtsmæssig, reproducérbar og direkte kvantificering af BAP-aktiviteten i serum.

#### PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue-BAP er et immunoassay i mikrotiter-stripformat, der anvender et monoklonalt anti-BAP antistof coated på strippen til opsamling af BAP i prøven. Enzymaktiviteten på den opsamlede BAP bestemmes ved hjælp af et pNPP-substrat.

#### LEVEREDE MATERIALER OG REAGENSER

##### 96 analyser til knoglespecifik alkalisk fosfatase

MicroVue-BAP EIA indeholder følgende:

**A BAP standarder A - F**      **Dele 4395 til 4400**      **0,4 ml hver**  
(A = 0, B = 2, C = 20, D = 50, E = 80, F = 140 U/l BAP)

**C** BAP, der er oprenset fra osteosarkom SAOS-2-celler i en bufferopløsning indeholdende magnesiumklorid, zinksulfat, overfladeaktivt stof, transportprotein, blå farve og natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**E** overfladeaktivt stof, transportprotein, blå farve og natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**L Lave/høje kontroller**      **Delen 4401, 4402**      **0,4 ml hver**  
**H** BAP, der er oprenset fra osteosarkom SAOS-2-celler i en bufferopløsning indeholdende magnesiumklorid, zinksulfat, overfladeaktivt stof, transportprotein, blå farve og natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**1 Coatede strips**      **Del 4660**      **12 af hver**  
Renset murin-monoklonalt Anti-BAP IgG antistof adsorberet på brøndstrips

**2 Stopopløsning**      **Del 4702**      **15 ml**  
0,5N NaOH

**3 10X vaskebuffer**      **Del 4703**      **55 ml**  
Nonionisk detergent i en bufferopløsning indeholdende natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**4 Analysebuffer**      **Del 4403**      **27 ml**  
En bufferopløsning indeholdende magnesiumklorid, zinksulfat, overfladeaktivt stof og natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**5 Substratbuffer**      **Del 4404**      **3 x 10 ml**  
En 2-amino-2-methyl-1-propanolopløsning indeholdende HEDTA, magnesiumklorid, zinksulfat og natriumazid (0,05%) som konserveringsmiddel

**6 Substrattabletter**      **Del 0012**      **3 x 20 mg**  
p-Nitrophenylphosphat

#### NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDLEVEREDE MATERIALER

- Mikropipetter til levering af 20 µl og 100–300 µl
- Egnede enheder til væskemåling af 100–300 ml
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Ionbyttet eller destilleret vand
- Pladelæser til optiske densitets aflæsninger ved  $A_{405} > 2,0$
- Kurvetilpasningssoftware til kvadratisk kalibrering

#### ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Kun til *In Vitro* diagnostisk brug.
2. Prøverne skal behandles som potentielt biologisk farligt materiale. Følg gældende retningslinier for omgang med biologisk risikomateriale ved håndtering af dette kit og alle patientprøver.
3. Beholdere og ikke anvendt indhold bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.
4. Brug de leverede reagenser som en integreret enhed, inden udløbsdatoen på pakningens etiket.
5. Opbevar analysereagenserne, som anvist.
6. Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.
7. Test hver prøve i to eksemplarer.
8. Brug egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen-/ansigtsværn ved håndtering af dette kit.
9. 0,5N NaOH anses for at være ætsende og kan medføre irritation af hud. Må ikke indtages. Undgå kontakt med hud, øjne og tøj. Hvis der sker kontakt, skylles med vand. Ved indtagelse tilkaldes læge.
10. Natriumazid anvendes som konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffer indeholdende natriumazid, kan medføre irritation af hud, øjne eller mund. Brug kun bufferne til det tilsigtede formål, og undgå kontakt med syrer. Natriumazid kan reagere med bly- og kobber-installationer og danne højeksplosive metalazider. Efter bortskaffelse skylles med rigeligt vand for at undgå azidophobning.
11. Substratbufferen indeholder 2-amino-2-methyl-1-propanol og kan forårsage irritation af øjne og/eller hud ved kontakt i længere tidsrum. Berørte områder skal omgående vaskes med vand og sæbe.
12. Brug af pipetter med flere kanaler eller repeat-pipetter anbefales for at sikre en rettidig tilsætning af reagenser.
13. Tilsæt prøver og standarder præcist for at sikre en nøjagtig prøveudmåling. Foretag omhyggelig afpipettering og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
14. Fortynd prøver større end 140 U/l i analysebuffer, og test igen. Inkluder fortyndingsfaktoren i den endelige beregning.
15. Denne analyse kan udføres med enhver valideret vaskemetode.

## KLARGØRING AF REAGENS

Reagenser og materialer til analysen skal bringes op på en temperatur på 20–28°C inden brug. Når de nødvendige reagenser og materialer er taget ud, skal ubrugte materialer bringes tilbage på 2–8°C.

### Coatede strips

Fjern brøndstripholderen, og tag det nødvendige antal coatede strips ud af posen (se tabellen i afsnittet ANALYSEPROCEDUREN). Forvis dig om, at posen, der indeholder evt. ubrugte strips, lukkes fuldstændigt igen.

### Vaskebuffer

Forbered den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel) ved at fortynde 10X vaskebufferkoncentrat 1:10 med ionbyttet vand. Opbevar ved 20–28°C. Brug 1X vaskebuffer inden for 21 dage efter forberedelse.

### Brugssubstratopløsning

Forbered en substratopløsning inden for en time for brugen. Tilsæt en substrattablet i hver flaske med substratbuffer, der har 20–28°C (se tabel). Lad tabletten (erne) opløses i 30–60 minutter. Ryst flasken (erne) kraftigt for at sikre fuldstændig opblanding. Kassér den resterende substratopløsning efter brug.

### Opbevaring

Opbevar kittet ved 2–8°C. Må ikke fryses. Opbevar ubrugte reagenser ved 2–8°C. Afbalancér reagenserne til 20–28°C inden brug. Opbevar 1X vaskebuffer (10X fortyndet) ved 20–28°C.

## PRØVEUDTAGNING- OG OPBEVARING

Udtag serum ved hjælp af standardteknik for venepunktur. Prøverne skal udtages uden antikoagulanter og på en sådan måde, at hæmolyse undgås. Lad blodet størkne, og udskil serum ved centrifugering. Serum kan opbevares i 5 dage ved 2–8°C, ved ≤ -40°C i 12 måneder eller ved ≤ -80°C i 36 måneder. Udsæt ikke prøver for mere end 3 fryse/optøningscykler.

Serum der er "fjernet fra clottet", serum fra serumseparationsrør, Na-heparinplasma og Li-heparinplasma medfører stort set identiske resultater. Det anbefales, at plasma-prøver ikke præpareres ved brug af kelater, f.eks. EDTA eller citrat.

## ANALYSEPROCEDUREN

Læs hele indlægssedlen inden analysen startes.

Se KLARGØRING AF REAGENS, inden du fortsætter.

Bestem hvor meget reagens der skal anvendes til det antal strips, der skal anvendes.

Antal strips	4	6	8	12
Antal prøver (testet i to eksemplarer)	8	16	24	40
Substrat (flaske)	1	1	2*	2*
1X vaskebuffer (ml)	100	150	200	300

\* Når der skal bruges mere end en flaske eller et hætteglas, skal indholdet kombineres og blandes inden brug.

## Inkubation af prøver

1. Fjern brøndstrip-holderen, og udtag det nødvendige antal coatede strips fra posen (se tabellen) umiddelbart inden brug. Sørg for, at folieposen indeholdende ubrugte strips lukkes fuldstændigt igen.
2. Anbring det ønskede antal coatede strips i brøndstrip-holderen. Navngiv stripsene for at forhindre en sammenblanding i tilfælde af, at de utilsigtet fjernes fra brøndstrip-holderen.
3. Tilsæt 125 µl analysebuffer til hver prøve.
4. Tilsæt 20 µl standard, kontrol eller prøve i hver brønd. Bland **ikke** med analysebuffer ved gentagen pipettering. Dette trin skal afsluttes inden for 30 minutter. **Ryst forsigtigt stripsene for at sikre blanding af buffer og prøver.**
5. Inkubér i 3 timer (± 10 minutter) ved 20–28°C.
6. Forbered en brugssubstratopløsning inden for en time for brugen. Tilsæt en substrattablet i hver flaske med substratbuffer, der har 20–28°C (se tabel). Lad tabletten (-erne) opløses i 30–60 minutter. Ryst flasken (-erne) kraftigt for at sikre fuldstændig opblanding.

## Vasketrin

7. Forbered den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel) ved at fortynde 10X vaskebuffer 1:10 med ionbyttet vand. Opbevar ved 20–28°C. Brug 1X vaskebuffer inden for 21 dage efter præparering.
8. Vend op og ned/tøm stripsene manuelt. Tilsæt mindst 250 µl 1X vaskebuffer i hver brønd og vend op og ned/tøm stripsene manuelt. Gentag tre gange mere, så vaskeproceduren foretages fire gange i alt. Tør stripsene grundigt med papirservietter efter den sidste vask.

## Substratinkubation

9. Tilføj 150 µl brugssubstratopløsning i hver brønd. Kassér den resterende substratopløsning efter brug.
10. Inkubér i 30 minutter (± 5 minutter) ved 20–28°C.

## Stop/aflæs

11. Tilsæt 100 µl stopopløsning i hver brønd. Tilsæt stopopløsning efter det samme mønster og tidsinterval som ved tilsætning af substratopløsning.
12. Aflæs den optiske densitet ved 405 nm. Sørg for, at der ikke findes store bobler i brøndene, og at stripsene er rene. Stripsene skal aflæses inden for **15 minutter** efter tilsætning af stopopløsningen.
13. Kvantificeringssoftware med en ligning for kurvetilpasning ved kvadratisk kalibrering **skal** anvendes til analysering af resultaterne for MicroVue BAP-analysen.

$$\text{Ligning: } y = A + Bx + Cx^2$$

## KVALITETSKONTROL

Analysecertifikatet i dette kit er lotspecifikt og skal anvendes til at bekræfte, at resultater opnået i dit laboratorium er identiske med dem, der er opnået hos Quidel. De optiske densitetsværdier stilles til rådighed og skal alene anvendes som retningsgivende. Resultater opnået i dit laboratorium kan variere.

Der medleveres kvalitetskontrolintervaller. Kontrolværdierne har til formål at verificere validiteten af kurve- og prøveresultaterne. Hvert laboratorium skal etablere egne parametre for acceptable analysegrænser. Hvis kontrolværdierne IKKE ligger inden for laboratoriets acceptable grænseværdier, skal analyseresultaterne betragtes som tvivlsomme, og prøverne skal gentages.

Hvis den optiske densitet for MicroVue BAP Standard F er mindre end 1,0, anses prøverne for tvivlsomme, hvorefter prøverne bør gentages.

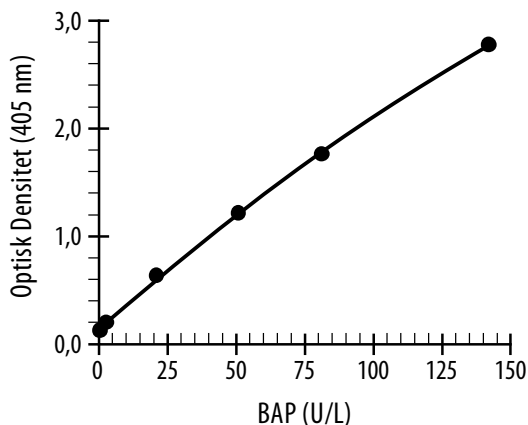
## FORTOLKNING AF RESULTATER

Prøveresultater udtrykkes som U/l og **skal ikke** korrigeres for fortynding (med mindre prøven er fortyndet inden testning).

I MicroVue BAP-analysen, repræsenterer 1 Unit 1  $\mu\text{mol}$  pNPP hydrolyseret pr. minut ved 25°C i 2-amino-2-methyl-1-propanolbuffer.

### Repræsentativ standardkurve

BAP standardniveauer: 0, 2, 20, 50, 80, 140 U/l



## PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

### HAMA-interferens

Visse personer har antistoffer mod museantistoffer (HAMA), der kan forårsage interferens i immunoanalyser, som anvender antistoffer udvundet fra mus. Det har særligt været rapporteret, at serumprøver fra patienter, der har modtaget behandling eller diagnostiske procedurer omfattende infusion af monoklonalt museantistof, kan give fejlagtige resultater. Derfor bør MicroVue BAP-resultaterne for sådanne patienter kun anvendes i sammenhæng med resultaterne fra en anden diagnostisk procedure og tilgængelige resultater fra den kliniske evaluering af patienten.

Prøver med signifikant forhøjet alkalisk leverfosfatase-aktivitet kan medføre fejlagtigt forhøjede resultater i MicroVue BAP-analysen.

Paget-patienter med mild grad af sygdom, kan have knoglespecifikke alkaliske fosfatase-niveauer, der ligger inden for referenceintervallet for MicroVue BAP.

## PRØVEEKSEMPLAR VÆRDIER

Der er etableret BAP-referenceintervaller for normale mænd over 25 år (n = 126), normale præklimakterielle kvinder mellem 25 og 44 år (n = 178) og normale postklimakterielle kvinder (n = 107). Ved udarbejdelsen af referenceintervallerne blev normale individer defineret som:

- Grundlæggende raske individer uden knogle-, endokrine-, eller kroniske lidelser.
- Regelmæssig menstruation (præklimakterielle kvinder)
- Ikke gravide eller ammende (kvinder)
- Individer, der ikke aktuelt tager medicin, der vides at påvirke knoglemetabolismen.

Værdierne kan påvirkes af faktorer som lav østrogenproduktion, lav calciumindtagelse eller lav fysisk aktivitet.<sup>8</sup> Østrogenmangel i postklimakterielle kvinder kan medføre en forhøjet knogleomsætning.<sup>3,4</sup> Hvert laboratorium bør etablere sit eget referenceinterval. Intervallerne betegnes som nonparametriske referenceintervaller (90% CI).

	Alder (år)		Interval (U/l)	Median
Kvinder	25 - 44	Præklimakterielle	11,6 - 29,6	18,3
Kvinder	≥ 45	Postklimakterielle	14,2 - 42,7	25,0
Mænd	≥ 25		15,0 - 41,3	23,2

## PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

### Antistofspecifikationer

Det knoglespecifikke alkaliske fosfatase-antistof har selektiv, høj affinitet for den knoglespecifikke alkaliske fosfatase-isoform, lav krydsreaktivitet med den alkaliske fosfatase, der findes i leveren, og en ubetydelig binding af intestinale og placenta-isoenzymet.

AP Isoenzym	% Reaktivitet
Knogle	100
Lever	3 - 8
Placenta	0
Intestinal	0,4

### Sensitivitet

Minimumsdetektionsgrænsen for MicroVue BAP-analysen er 0,7 U/l, der bestemmes af den øvre 3 SD-grænse i et præcisionsstudie med en standard på nul.

### Recovery - Spike recovery

Spike recovery blev bestemt ved at tilsætte en kendt mængde oprenset BAP i serumprøver med forskellige niveauer af endogent BAP. Typiske resultater opnås ved at 'spike' serumprøverne med lave, mellemhøje og høje koncentrationer af BAP og foretage tre identiske analyser.

Endogent (U/l)	Tilsat (U/l)	Observeret (U/l)	Recovery (%)
13,4	15,7	29,1	99
17,6	37,5	55,3	99
27,2	57,2	88,1	106

## Recovery-linearitet

Lineariteten blev bestemt ved at foretage seriel fortynding af prøver og sammenligne konstaterede værdier med forventede værdier. Typiske resultater angives herunder.

Prøve	Fortyndingsfaktor	Observeret (U/l)	Forventet (U/l)	Recovery (%)
1	ublandet	108,5	-	-
	1:2	51,1	54,2	94
	1:4	25,8	27,1	99
	1:6	18,0	18,1	99
2	ublandet	39,1	-	-
	1:2	20,1	19,5	103
	1:4	10,3	9,8	105
	1:6	6,7	6,5	103
3	ublandet	58,4	-	-
	1:2	29,9	29,2	102
	1:4	15,7	14,6	108
	1:6	9,7	9,7	100

## Præcision

Præcision inden for kørsler blev bestemt ved  $\geq 21$  replikater af 3 prøver på 3 plader fra hver af 3 kitlots (i alt 9 plader). Præcision mellem kørsler blev bestemt ved 3 prøver på 6 separate plader fra hver af 3 kitlots (i alt 18 plader). Typiske resultater angives herunder.

BAP (U/l BAP)	Under kørsel <sup>1</sup> CV%	Mellem kørsler <sup>2</sup> CV%
12	5,8	5,2
35	3,9	7,6
100	5,2	5,0

<sup>1</sup> n=21

<sup>2</sup> n=6 kørsler

## Interfererende substanser

Følgende substanser blev testet ved de angivne koncentrationer og blev ikke fundet at interferere med analysen.

Substans	Koncentration
Hæmoglobin	500 mg/dl
Bilirubin	25 mg/dl
Triglycerider	1420 mg/dl
Totalprotein	6,0 g/dl †
Totalprotein	15,6 g/dl †
Totalprotein	6,0 g/dl ‡
Totalprotein	15,6 g/dl ‡

† Protein med vand

‡ Protein med BAP (BAP-koncentration = 43,6 U/l)

## Lægemedelinterferenser

Diverse koncentrationer af lægemidler blev tilsat i tre separate pools af serum indeholdende ca. 35, 70 og 105 U/l BAP og analyseret ved tre identiske prøver. Lægemedlerne og de højeste koncentrationer, der blev testet, var:

Substans	Højeste koncentration
Etidronat	350 µg/ml
Østrogen	100 µg/ml
Ibuprofen	150 µg/ml
Acetaminophen	350 µg/ml
Aspirin	350 µg/ml
Kalcitonin (human)	80 µg/ml
Kalcitonin (laks)	80 µg/ml
Kalcium	500 µg/ml
Noretindron/ethynil-østradiol mikstur (oral antikonception)	3 mg/ml
Vitamin D	400 IU/ml

## Præcision

Der blev foretaget sammenlignende undersøgelser for at bedømme sammenhængen mellem målinger af serum med knoglespecifik alkalisk fosfatase (BAP), opnået vha. MicroVue BAP-analysen med resultaterne fra tre kommercielt tilgængelige metoder for måling af total alkalisk fosfatase (TAP) eller (BAP). Studierne blev udført på et uafhængigt laboratorium med anvendelse af sera fra 114 patienter med Pagets sygdom og 464 raske forsøgspersoner. Den første sammenlignende metode var en kolorimetrisk teknik til måling af TAP. Korrelationskoefficienten (r) mellem denne kolorimetriske metode og MicroVue BAP-analysen var 0,99. Den anden sammenlignende metode var en elektroforesemetode til bestemmelse af BAP-isoenzymniveauer (r = 0,99). Den tredje sammenlignende metode var en immun-radio-metrisk analyse til måling af BAP (r = 0,99). Af de 114 personer med Pagets sygdom havde 101 patienter værdier, der var højere end den øvre grænseværdi for referenceintervallerne i MicroVue BAP-analysen. Tretten patienter havde værdier, der lå under den øvre grænse for referenceintervallerne.

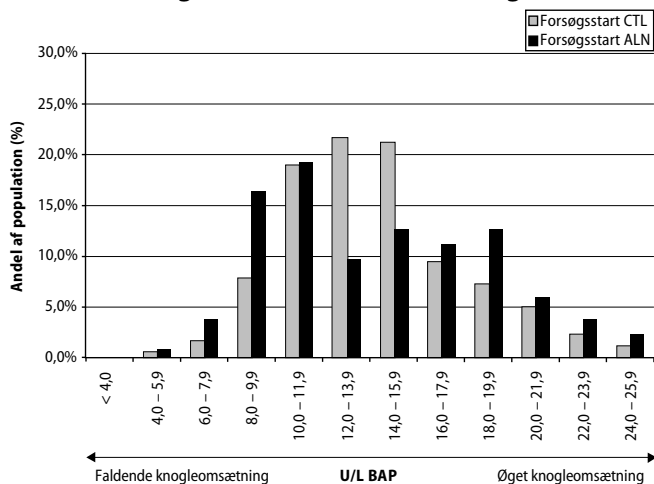
## KLINISKE UNDERSØGELSER

### Brug af MicroVue BAP til overvågning af effektiviteten af antiresorptiv behandling ved osteoporose.

En vellykket, randomiseret, kontrolleret undersøgelse er blevet gennemført med henblik på bestemmelse af sikkerheden og effektiviteten ved brug af MicroVue BAP-analysen til overvågning af ændringer i serum BAP-koncentrationerne i forbindelse med antiresorptiv behandling med aminobisfosfonat (alendronat). Testpersoner valgt fra en større undersøgelse af effektiviteten af alendronat til behandling af osteoporose,<sup>7</sup> var post-klimakterielle kvinder i alderen 45 til 84 år (gennemsnit  $64 \pm 7$  år) med diagnosen osteoporosis (baseret på klinisk forekomst eller en knogleminerale densitet i columna lumbalis [LSBMD] ved forsøgsstart, mere end 2,5 standardafvigelser under gennemsnittet for modne præklimakteriske kvinder). Ved forsøgsstart blev de egnede testdeltagere randomiseret til at modtage enten 10 mg alendronat og 500 mg kalcium pr. dag (ALN) eller placebo og 500 mg kalcium pr. dag (CTL). Der blev udtaget serumprøver fra deltagerne ved undersøgelsens start samt efter 3, 6 og 12 måneder.

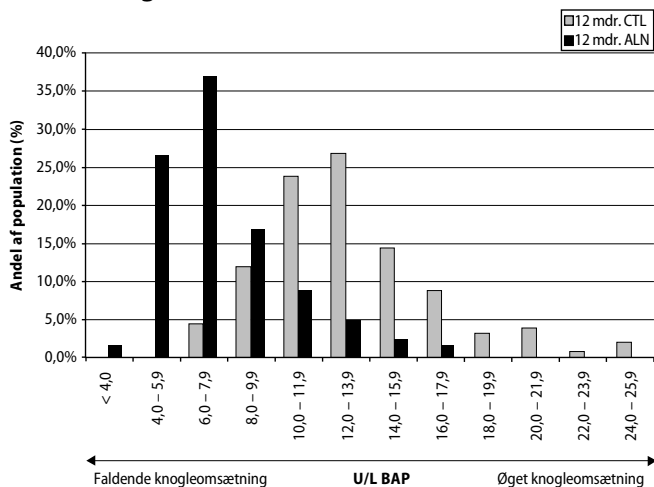
Gennemsnitlig ( $\pm 1SD$ ) BAP koncentration ved undersøgelsens start ( $14,6 \pm 5,4$  vs.  $14,6 \pm 4,6$ ,  $p = 0,900$ ) og LSBMD ( $0,74 \pm 0,10$  vs.  $0,75 \pm 0,09$ ,  $p = 0,751$ ) var tilsvarende for ALN og CTL. Fordelingen af BAP-værdier ved forsøgsstart i ALN og CTL er angivet i følgende figur efter andel af den undersøgte population.

**Fordeling af BAP-niveauer ved forsøgsstart**



BAP var væsentligt lavere for ALN end CTL ved 3 ( $9,6 \pm 3,5$  vs.  $13,4 \pm 4,0$ ,  $p < 0,00001$ ), 6 ( $8,0 \pm 3,0$  vs.  $13,2 \pm 3,8$ ,  $p < 0,00001$ ) og 12 måneder ( $7,8 \pm 2,6$  vs.  $13,3 \pm 3,9$ ,  $p < 0,00001$ ). Fordelingerne af BAP-værdier efter 12 måneder i ALN og CTL-grupperne er angivet i følgende figur.

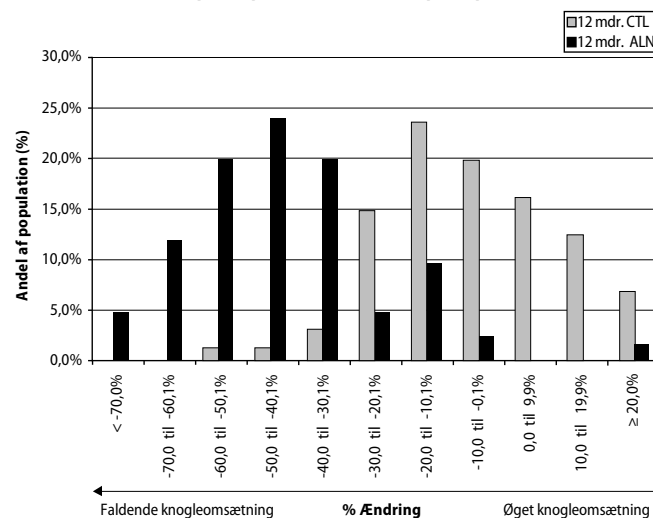
**Fordeling af BAP-niveauer efter 12 måneders behandling med alendronat (ALN) eller kalcium (CTL)**



Den gennemsnitlige ( $\pm 1SD$ ) BAP-koncentration i CTL-forsøgsgruppen aftog moderat fra forsøgsstart til  $-5,4\%$  ( $\pm 19,1\%$ ) ved 12 måneder ( $p = 0,00004$ ), hvilket muligvis afspejler den begrænsede knoglesparende effekt for kalcium.<sup>13</sup>

Gennemsnitlige BAP-koncentrationer i ALN-forsøgspersonerne aftog  $30,5 \pm 24,6\%$  ved 3 måneder,  $42,8 \pm 17,3\%$  ved 6 måneder og  $42,2 \pm 19,2\%$  ved 12 måneder. Deltaerne i ALN-testgruppen havde en større tendens end CTL-deltagerne til at udvise BAP-tab, der oversteg den procentvise minimumsændring med<sup>14</sup>  $68,5\%$ ,  $83,9\%$  og  $86,1\%$  for ALN, hvor  $9,5\%$ ,  $15,9\%$  og  $9,0\%$  af CTL-deltagerne faldt med  $\geq 25\%$  ved henholdsvis 3, 6 og 12 måneder. Fordelingerne af den procentvise ændring fra forsøgsstart i BAP-værdier efter 12 måneder i ALN og CTL-grupperne er afbildet i følgende figur.

**Fordelingen af den procentvise ændring i BAP-niveauer efter 12 måneders behandling med alendronat (ALN) eller kalcium (CTL)**



Ved 12 måneder, havde personerne i ALN øget LSBMD sammenlignet med CTL ( $p < 0,00001$ ) som vist i nedenstående tabel.

**Ændringer i LSBMD (gennemsnit  $\pm$  SD)**

	n	Forsøgsstart (g/cm²)	12 måneder (g/cm²)	$\Delta$ (%)
CTL	159	$0,75 \pm 0,09$	$0,74 \pm 0,09$	$-0,6 \pm 3,4$
ALN	121	$0,74 \pm 0,10$	$0,79 \pm 0,10$	$5,5 \pm 4,1$

Disse resultater antyder, at MicroVue BAP-analysen er sikker og effektiv til overvågning af den antiresorptive effekt af amino-bisfosfonat (alendronat) i personer med diagnosen osteoporose.

**Brugen af MicroVue BAP til overvågning af hormonal antiresorptiv behandling og forudsigelse af skelet-respons (knoglemineraldensitet) i postklimakterielle kvinder**

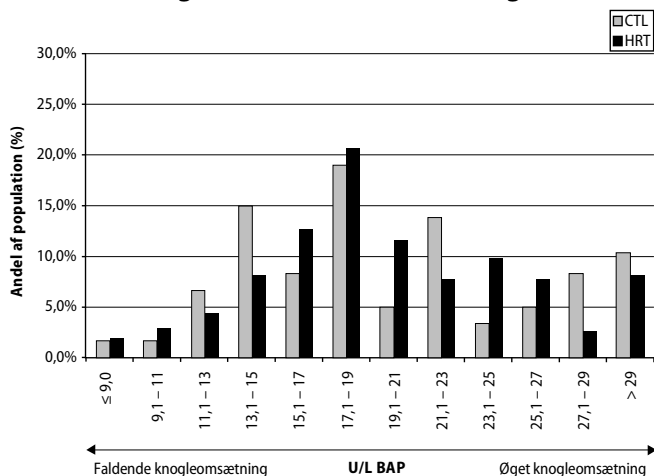
**Overvågning af behandlingen:**

En vellykket, randomiseret, kontrolleret multicenterundersøgelse er blevet gennemført med henblik på bestemmelse af sikkerheden og effektiviteten ved brug af MicroVue BAP-analysen til overvågning af ændringer i serum BAP-koncentrationer i forbindelse med østrogen/gestagen antiresorptiv behandling. Forøget knogleomsætning og signifikant tab af knoglevæv er ofte associeret med postklimakteriel østrogenmangel. Det er vist, at østrogensubstitution er effektivt til at sænke knogleomsætningen og beskytte den eksisterende knoglemasse.<sup>3,6</sup> Testpersonerne var postklimakterielle kvinder i alderen 45 til 64 år (gennemsnit  $56 \pm 4$  år), som havde gennemgået naturligt eller kirurgisk klimakterium inden for de sidste 10 år. Ved forsøgsstart blev egnede

testdeltagere randomiseret til en aktiv behandlingsgruppe (HRT): Premarin® (0,625 mg dagligt) med placebo-gestagen. Premarin® (0,625 mg dagligt) og en aktiv gestagen (Provera® 2,5 mg/dag vedvarende, Provera® 10 mg/dag cyklisk eller mikroniseret progesteron 200 mg/dag cyklisk); eller til en kontrolgruppe (CTL): placeboøstrogen og placebogestagen. Der blev udtaget serumprøver fra deltagerne ved undersøgelsens start samt ved 12 måneder.

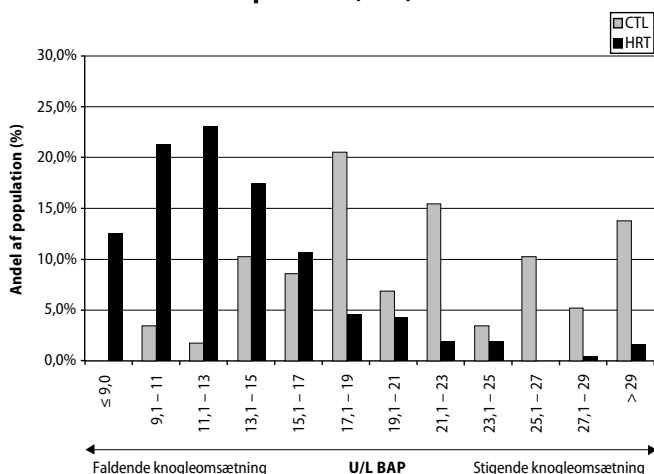
Den gennemsnitlige ( $\pm 1$ SD) BAP koncentration ved undersøgelsens start ( $20,7 \pm 7,6$  vs.  $20,3 \pm 6,8$  U/l,  $p = 0,704$ ) og LSBMD ( $0,97 \pm 0,17$  vs.  $0,97 \pm 0,15$  g/cm<sup>2</sup>,  $p = 0,970$ ) var tilsvarende for CTL og HRT. Fordelingen af BAP-værdier ved forsøgsstart for ALN og CTL er afbildet i følgende figur efter andel af den undersøgte population.

**Fordeling af BAP-niveauer ved forsøgsstart**



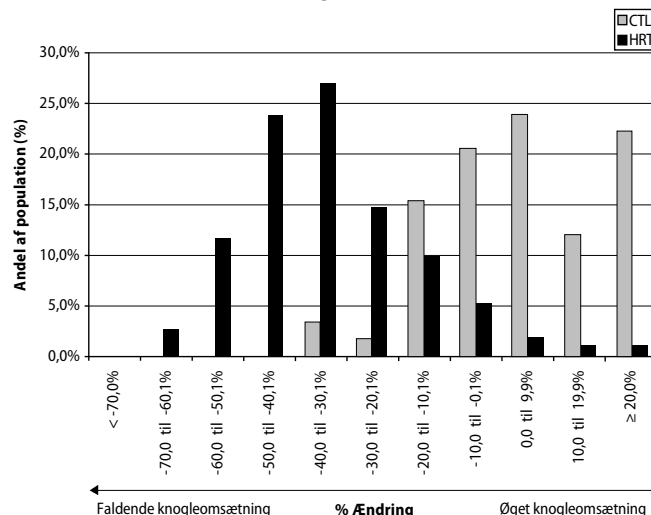
BAP var væsentligt lavere for HRT end CTL ved 12 måneder ( $13,3 \pm 5,0$  vs.  $21,9 \pm 7,9$  U/l,  $p < 0,00001$ ). Fordelingerne af BAP-værdier efter 12 måneder i HRT og CTL-grupperne er afbildet i følgende figur.

**Fordeling af BAP-niveauer efter 12 måneders behandling med østrogen/gestagen (HRT) eller placebo (CTL)**



Den gennemsnitlige ( $\pm 1$ SD) BAP-koncentration i CTL-forsøgsgruppen steg moderat fra forsøgsstart til  $+9,8\%$  ( $\pm 33,2\%$ ) ved 12 måneder ( $p = 0,08$ ), hvorimod BAP-koncentrationerne i HRT-forsøgsgrupperne aftog fra forsøgsstart til  $-32,4$  ( $\pm 21,5\%$ ) ved 12 måneder ( $p < 0,00001$ ). Deltagerne i HRT-testgruppen havde en større tendens end CTL-deltagerne til at udvise BAP-tab, der oversteg den procentvise minimumsændring<sup>12</sup>, med  $73,3\%$  af HRT-deltagerne og  $3,4\%$  af CTL-deltagerne der udviste fald på  $\geq 25\%$  ved 12 måneder. Fordelingerne af den procentvise ændring fra forsøgsstart i BAP-værdier efter 12 måneder i ALN og CTL-grupperne er afbildet i følgende figur.

**Fordeling af procentvis ændring i BAP-niveauer efter 12 måneders behandling med østrogen/gestagen (HRT) eller placebo (CTL)**



Ved 12 måneder havde deltagerne i HRT-gruppen øget LSBMD sammenlignet med CTL ( $p < 0,00001$ ), som vist i følgende tabel:

**Ændringer i LSBMD (gennemsnit  $\pm$  SD)**

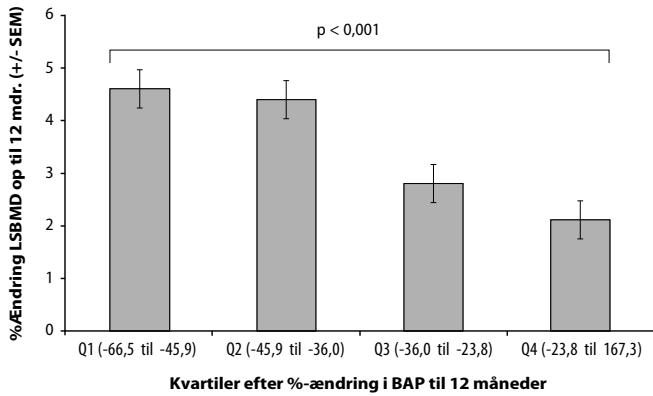
	n	Forsøgsstart (g/cm <sup>2</sup> )	12 måneder (g/cm <sup>2</sup> )	$\Delta$ (%)
CTL	58	$0,97 \pm 0,17$	$0,95 \pm 0,16$	$-1,6 \pm 2,8$
HRT	262	$0,97 \pm 0,15$	$1,00 \pm 0,15$	$+3,5 \pm 2,8$

Disse resultater antyder, at MicroVue BAP-analysen er sikker og effektiv til overvågning af den antiresorptive effekt af hormonbehandling af postklimakterielle kvinder.

**Forudsigelse af skeletrespons:**

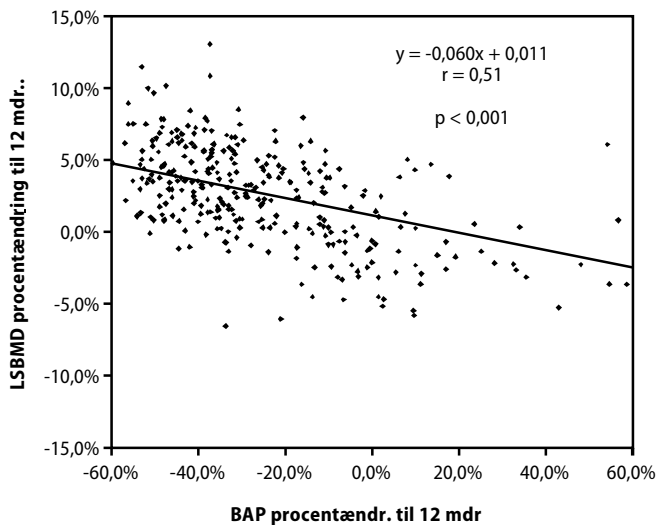
I følgende figur afbildes %-faldet i BAP-værdierne fra forsøgsstart til 12 måneder efter kvartil for gruppen behandlet med HRT. Testpersoner i øvre kvartil (Q1): største procentvise fald) udviste den største stigning af LSBMD som reaktion på HRT.

**HRT-gruppen – Værdier for %-ændring i BAP op til 12 måneder fordelt efter kvartil og tilsvarende %-ændring i LSBMD ved 12 måneder.**



På følgende figur angives den lineære regressionsanalyse ( $y = -0,060x + 0,011$ ,  $r = -0,51$ ,  $p < 0,001$ ) for den procentvise ændring fra forsøgsstart op til 12 måneder med BAP og procentændringen fra forsøgsstart til 12 måneder for BMD for alle deltagerne i undersøgelsen (placebo og behandlede).

**HRT-undersøgelsen – lineær regression for den procentvise ændring i LSBMD og BAP fra forsøgsstart op til 12 måneder.**



En kontingenstabelanalyse påviste, at der var væsentlig sammenhæng mellem et fald på  $\geq 25\%$  i BAP ved 12 måneder ( $p < 0,0001$ ) og en positiv skeletrespons på HRT (stigning i BMD) ved 12 måneder. De binominale (anden ordens approksimering) 85% konfidensintervaller for sensitiviteten og specificiteten ved anvendelse af en 25% reduktion af BAP til forudsigelse af en reaktion på HRT er:

Sensitivitet = 77% (95% CI 75%, 82%);  
Specificitet = 61% (95% CI 41%, 78%).

Disse resultater antyder, at den procentvise ændring af BAP-koncentrationen kan anvendes til forudsigelse af skeletrespons (BMD) på HRT-behandling.

**ASSISTANCE**

For serviceydelser uden for USA kontaktes den lokale distributør. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på [www.quidel.com](http://www.quidel.com).

## REFERENCER

1. Price CP. Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation. *Ann.Clin.Biochem.* 1993;30:355-372.
2. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr.Rev.* 1994;15:439-461.
3. Riggs BL. Overview of osteoporosis. *West.J.Med.* 1991;154:63-77.
4. Garnero P, Delmas PD. Clinical usefulness of markers of bone remodeling in osteoporosis. In: Meunier PJ (ed.). *Osteoporosis: Diagnosis and management.* London: Martin Dunitz, 1998:79-101.
5. Singer FR, Roodman GD. Paget's disease of bone. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (ed.). *Principles of bone biology.* San Diego: Academic Press, 1996:969-977.
6. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int.* 1997;7:1-6.
7. Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. *N.Engl.J.Med.* 1995;333:1437-1443.
8. Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann.Clin.Biochem.* 1995;32:244-260.
9. Meunier PJ, Vignot E. Therapeutic strategy in Paget's disease of bone. *Bone* 1995;17(Suppl.):489S-491S.
10. Gomez B, Jr., Ardakani S, Ju J, et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin.Chem.* 1995;41:1560-1566.
11. Pedrazzoni M, Alfano FS, Girasole G, et al. Clinical observations with a new specific assay for bone alkaline phosphatase: A cross-sectional study in osteoporotic and pagetic subjects and a longitudinal evaluation of the response to ovariectomy, estrogens, and bisphosphonates. *Calcif.Tissue Int.* 1996;59:334-338.
12. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1994;79:1693-1700.
13. Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD, Sharpe SJ. Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Am.J.Med.* 1995;98:331-335.
14. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures? [Editorial] *Clin.Chem.* 1994;40:1671-1673.
15. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

---

## GLASSET



Se brugsanvisninger CDROM



Tilsigtet anvendelse

---

REF 8012 – **MICROVUE** BAP EIA Kit  
Bone Health



Quidel Corporation | 10165 McKellar Court  
San Diego, CA 92121 USA | [www.quidel.com](http://www.quidel.com)



MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany