

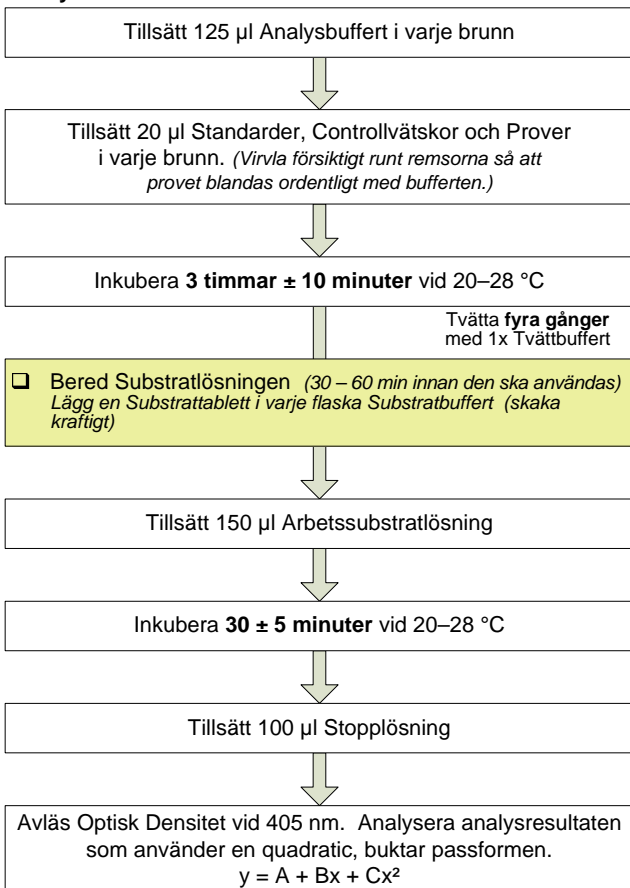
Enzymimmunoanalys för kvantitering av benspecifikt alkaliskt fosfatas (BAP) i mänskligt serum

## MicroVue™ BAP EIA Sammanfattning

### Reagent och Prov Förberedelse

- Späd 10X Tvättlösningskoncentrat 1:10 med Avjoniserat Vatten.

### Analysförfarande



### **iu** AVSETT ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

Immunoanalysen MicroVue BAP ger ett kvantitativt mått på benspecifikt alkaliskt fosfatasaktivitet (BAP) i serum som en indikator på osteoblastisk aktivitet. BAP-mätningen är avsedd för:

- användning som hjälpmedel vid postmenopausal osteoporos och Pagets sjukdom;
- övervakning av postmenopausala kvinnor som behandlas med hormoner eller bisfosfonat;
- prediktion av skelettets respons på hormonbehandling för postmenopausala kvinnor.

## SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Skelettisformen, eller den benspecifika isoformen av alkaliskt fosfatas är ett tetrameriskt glykoprotein som finns på cellytan i osteoblaster.<sup>1</sup> Osteoblaster är de celler som svarar för syntes av ny benvävnad och benmineralisering. Det benspecifika alkaliska fosfatasets funktion är inte helt klarlagd, men dess roll i benmineraliseringen har bekräftats.<sup>1,2,3</sup>

Ben genomgår konstant en metabolisk process som kallas benremodellering.<sup>3,4</sup> Den omfattar en nedbrytande process, benresorption, som utförs av osteoklaster, och en uppbyggande process, benformation, som utförs av osteoblaster.<sup>3,4</sup> Benremodelleringen är nödvändig för skelettets fortlevnad och kondition, och är nära sammankopplad – dvs. benresorptionen och benformationen är i balans.<sup>3,4</sup> I abnorma fall av benmetabolism bryts balansen. Om resorptionen är större än formationen leder det till benförlust som kan orsaka osteoporos,<sup>3,4</sup> eller till oregelbunden benvävnad (Pagets sjukdom).<sup>5</sup> Mätning av specifika biokemiska värden för dessa remodelleringshändelser ger analytiska data angående benmetabolismens hastighet eller "omsättning".<sup>3,4</sup>

Osteoporos är en metabolisk bensjukdom som karakteriseras av abnorm benremodellering. Det är en systemisk skelettsjukdom som karakteriseras av låg benmassa och mikrostrukturell försvagning i benvävnaden, med ökad känslighet för benfrakturer som följd.<sup>6</sup> Den vanligaste typen av osteoporos drabbar postmenopausala kvinnor som resultat av östrogenbrist när äggstockarnas funktion upphör.<sup>3</sup> Hormonbehandling som återställer östrogennivåerna förhindrar benförlust och osteoporos.<sup>3,6</sup> Östrogener och en klass föreningar som kallas bisfosfonater är anti-resorptiva behandlingar som kan användas för att förhindra benförlust eller för att behandla osteoporos.<sup>3,6,7</sup>

Osteoporos kan också orsakas av otillräcklig högsta benmassa under tillväxtåren, en åldersrelaterad obalans i benremodelleringen med nettoöverskott av resorption och ett antal kliniska tillstånd och behandlingar som leder till benförlust eller obalans i benremodelleringen.<sup>3</sup> De omfattar endokrina sjukdomar som hypogonadism, hypertyreoidism, hyperparatyreoidism och hyperkortisolism; njursvikt; metastatisk bencancer; gastrointestinala sjukdomar som är relaterade till näring och mineralmetabolism; besläktade vävnadssjukdomar; multipelt myelom; kronisk förlamning; alkoholism eller tobaksbruk; och kronisk behandling med heparin eller kortikosteroider.<sup>3</sup>

Pagets bensjukdom är en allvarlig sjukdom med smärta och bendeformation som symptom.<sup>5</sup> Pagets sjukdom karakteriseras av benvävnad med kraftigt abnorm struktur till följd av förhöjd benremodellering. Missbildningarna uppträder huvudsakligen i kraniet, ryggraden, bäckenet och de långa benen, och kan leda till frakturer och neurologisk försämring.<sup>5</sup> Etiologin för Pagets sjukdom är okänd, men trovärdiga hypoteser om ärftlighet och virus finns.<sup>5</sup> Bisfosfonat och kalcitonin används för närvarande för att dämpa den biokemiska aktiviteten till normala nivåer så att normal benstruktur kan återställas.<sup>9</sup>

Som ett kvantitativt mått på benomsättning ger BAP viktig information om benremodelleringen vid osteoporos och Pagets sjukdom, och om förändringar i sjukdomsaktivitet till följd av antiresorptiv behandling.<sup>10-12</sup> För MicroVue BAP-analysen användes antikroppsteknik för att ge en monoklonal antikropp som visar specificiteten för BAP.<sup>10</sup> Specificiteten för den monoklonala antikroppen som används i analysen möjliggör enkel, praktisk, reproducerbar och direkt kvantifiering av BAP-aktivitet i serum.

## PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue BAP är en immunoanalys i mikrotiter-remsformat med en monoklonal anti-BAP-antikropp på remsan för att infånga BAP i provet. Enzymaktiviteten hos infångad BAP upptäcks med ett pNPP-substrat.

## MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH MATERIAL

### 96 analyser för benspecifikt alkaliskt fosfat (BAP)

#### MicroVue BAP EIA innehåller följande:

##### A BAP-standard A till F

**B** Komponent 4395 till 4400 0,4 ml/st

**C** (A = 0, B = 2, C = 20, D = 50, E = 80, F = 140 E/l BAP)

**D** BAP som renats från osteosarkom SAOS-2-celler i en buffrad

**E** lösning med magnesiumklorid, zinksulfat, surfaktant,

**F** bärarprotein, blått färgämne och natriumazid (0,05 %) som

konserveringsmedel

##### L Låga/höga kontroller

**H** Komponent 4401, 4402 0,4 ml/st

BAP renat från osteosarkom SAOS-2-celler i en buffrad lösning med magnesiumklorid, zinksulfat, surfaktant, bärarprotein, blått färgämne och natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel

##### 1 Remsor med beläggning

Komponent 4660 12 st

Renad mus-monoklonal Anti-BAP IgG-antikropp på Stripwell-remsor

**2 Stopplösning** Komponent 4702 15 ml  
0,5N NaOH

**3 10x tvättbuffert** Komponent 4703 55 ml  
Nonjonaktivt rengöringsmedel i buffertlösning med natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel

**4 Analysbuffert** Komponent 4403 27 ml  
Buffertlösning som innehåller magnesiumklorid, zinksulfat, surfaktant och natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel

**5 Substratbuffert** Komponent 4404 3 x 10 ml  
2-amino-3-metyl-1-propanollösning innehållande HEDTA, magnesiumklorid, zinksulfat och natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel

**6 Substrattabletter** Komponent 0012 3 x 20 mg  
p-nitrofenylfosfat

## NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

- Mikropipetter för 20 µl och 100 till 300 µl
- Lämpliga mätkärl för 100 till 300 ml
- Behållare för tvättbuffertspädning
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- Plattläsare för avläsning av optisk densitet vid  $A_{405} > 2,0$
- Programvara för kurvpassning med kvadratisk kalibrering

## VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För *in vitro*-diagnostik.
2. Behandla prover som biologiskt riskmaterial. Hantera satsens innehåll och patientprover med försiktighet.
3. Behållare och oanvänt innehåll ska kasseras i enlighet med gällande lagar och bestämmelser.
4. Medföljande reagenser används som en enhet fram till det utgångsdatum som anges på förpackningen.
5. Förvara analysreagenser enligt anvisningen.
6. Använd inte remsor med beläggning om det finns hål på förpackningen.
7. Dubbeltesta varje prov.
8. Hantera satsens innehåll bär lämpliga skyddskläder, handskar och ögon/ansiktsskydd.
9. 0,5N NaOH är frätande och kan orsaka irritation på hud. Får inte förtäras. Undvik kontakt med hud, ögon eller kläder. Tvätta bort spilld 0,5N NaOH med vatten. Kontakta läkare vid förtäring.
10. Natriumazid används som konserveringsmedel. Tillfällig kontakt med eller förtäring av buffertlösningar med natriumazid kan orsaka irritation på hud, ögon och i munnen. Använd bara buffertlösningarna för de avsedda ändamålen och undvik kontakt med syror. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör och bilda högexplosiva metallazider. Spola stora mängder vatten när azider kasseras för att undvika azidansamling.
11. Substratbufferten innehåller 2-amino-2-metyl-1-propanol och kan irritera ögon och/eller hud vid längre kontakt. Kontaktade områden skall omedelbart tvättas med tvål och vatten.
12. Multikanal- eller repeterpipetter bör användas vid uppmätning av reagenser.
13. För korrekt provmätning ska exakta mängder prover och standarder tillsättas. Pipettera omsorgsfullt med kalibrerad utrustning.
14. Späd prover som är större än 140 E/l i analysbufferten och testa om. Ta med spädningsfaktorn i slutberäkningen.
15. Analysen utförs med någon validerad tvättmetod.

## REAGENSFÖRBEREDELSE

Reagenser och material ska ha temperaturen 20–28 °C före analysen. När de reagenser och material som behövs avlägsnats ska oanvända artiklar återställas till 2–8 °C.

### Remсор med beläggning

Ta ut Stripwell-ramen och det antal remsor med beläggning som behövs från förpackningen (se tabellen i avsnittet *ANALYSPROCEDUR*). Förpackningar med oanvända remsor måste återförslutas helt.

### Tvättbuffert

Bered den rätta mängden 1x tvättbuffert (se tabell) genom att späda 10x tvättbuffertkoncentrat 1:10 med avjoniserat vatten. Förvara vid 20–28 °C. Använd 1x tvättbufferten inom 21 dagar från beredningen.

### Arbetssubstratlösning

Bered arbetssubstratlösningen högst en timme innan den ska användas. Lägg en substrattablett i varje flaska 20–28 °C substratbuffert (se tabellen). Låt tablettens lösas upp i 30 till 60 minuter. Skaka flaskan/flaskorna kraftigt så att lösningen blandas helt. Kassera överbliven arbetssubstratlösning efter användning.

## FÖRVARING

Förvara satsen vid 2–8 °C. Får inte frysas. Förvara oanvänd reagens vid 2–8 °C. Låt reagensens temperatur stabiliseras vid 20–28 °C före användning. Förvara 1x tvättbuffert (10x utspädd) vid 20–28 °C.

## PROVTAGNING OCH PROVFÖRVARING

Ta serumprovet med vanlig venpunktion. Provet ska tas utan antikoagulant för att undvika hemolys. Låt blodet levra sig och avskilj serumet med centrifugering. Serum kan förvaras i fem dagar vid 2–8 °C, i tolv månader vid -40 °C eller kallare och i 36 månader vid -80 °C eller kallare. Prover får inte frysas och tinas mer än tre gånger.

Serum direkt från koagulatet, serum från serumrör, Na-heparinplasma och Li-heparinplasma ger väsentligen likvärdiga resultat. Plasmaprover bör inte prepareras med kelatmedel (till exempel EDTA eller citrat).

## ANALYSPROCEDUR

Läs hela produktbladet innan analysen påbörjas.

Läs avsnittet *REAGENSBEREDNING* före analysen.

**Avgör hur mycket av varje reagens som behövs utifrån antalet remsor som ska användas.**

Antal remsor	4	6	8	12
Antal prover (parprover)	8	16	24	40
Substrat (flaska)	1	1	2*	2*
1x tvättbuffert (ml)	100	150	200	300

\* Om mer än en flaska används ska innehållet blandas före användning.

### Provinkubering

1. Ta ut Stripwell-ramen och det antal remsor med beläggning som behövs från förpackningen (se tabellen). Förpackningar med oanvända remsor måste återförslutas helt.

2. Placera önskat antal remsor med beläggning i Stripwell-ramen. Märk remsorna för att undvika att de blandas ihop om de tas bort från Stripwell-ramen av misstag.
3. Tillsätt 125 µl analysbuffert i varje brunn.
4. Tillsätt 20 µl standard, kontrollvätska eller prov i varje brunn. Blanda inte med analysbuffert genom repeterpipettering. Detta steg ska slutföras inom 30 minuter. **Virvla försiktigt runt remsorna så att provet blandas ordentligt med bufferten.**
5. Inkubera tre timmar (± tio minuter) vid 20–28 °C.
6. Bered arbetssubstratlösningen högst en timme innan den ska användas. Lägg en substrattablett i varje flaska 20–28 °C substratbuffert (se tabellen). Låt tablettens lösas upp i 30 till 60 minuter. Skaka flaskan/flaskorna kraftigt så att lösningen blandas helt.

### Tvättning

7. Bered rätt mängd 1x tvättbuffert (se tabell) genom att späda 10x tvättbuffert 1:10 med avjoniserat vatten. Förvara vid 20–28 °C. Använd 1x tvättbufferten inom 21 dagar från beredningen.
8. Vänd/töm remsorna för hand. Tillsätt minst 250 µl 1x tvättbuffert i varje brunn och vänd/töm remsorna för hand. Upprepa ytterligare tre gånger (totalt fyra tvättningar). Torka av remsorna ordentligt på pappershanduker efter den sista tvättningen.

### Substratinkubering

9. Tillsätt 150 µl arbetssubstratlösning i varje brunn. Kassera överbliven arbetssubstratlösning efter användning.
10. Inkubera 30 ± 5 minuter vid 20–28 °C.

### Stopp/avläs

11. Tillsätt 100 µl stopplösning i varje brunn. Tillsätt stopplösningen i samma mönster och med samma tidsintervall som substratlösningen tillsattes.
12. Avläs den optiska densiteten vid 405 nm. Kontrollera att det inte finns några stora bubblor i brunnarna och att remsornas undersidor är rena. Remсорna ska avläsas inom **15 minuter** från att stopplösningen tillsatts.
13. Kvantitativ programvara som använder en kurvpassningsekvation med kvadratisk kalibrering **måste** användas för att analysera testresultat från MicroVue BAP.

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

## KVALITETSKONTROLL

Analyscertifikatet som medföljer produkten är parti-specifik och ska användas för att intyga att laboratoriets resultat liknar dem som erhålles på Quidel. De optiska densitetsvärdena är givna och ska endast användas som riktlinjer. Resultatet i ert laboratorium kan avvika.

Kvalitetskontrollområden medföljer. Kontrollvärdena är avsedda att bekräfta kurvans och testresultatets giltighet. Varje laboratorium ska upprätta egna parametrar för vad som är acceptabla analysvärden. Om kontrollvärdena INTE ligger inom laboratoriets acceptansgränser, ska analysresultaten ifrågasättas och proven ska upprepas.

Om den optiska densiteten för MicroVue BAP standard F är mindre än 1,0, ska resultatet ifrågasättas och proverna bör upprepas.

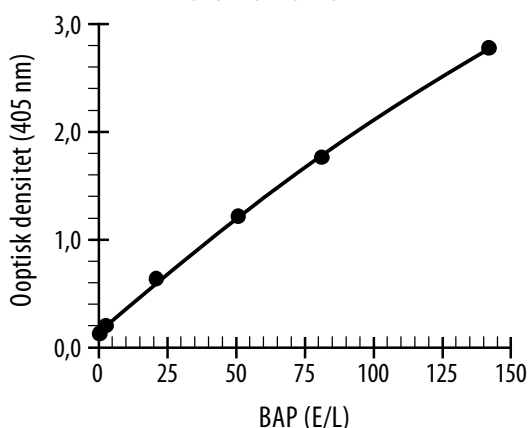
## RESULTATTOLKNING

Testresultat uttrycks i E/L och behöver inte korrigeras för utspädning (om inte provet späddes före testet).

I MicroVue BAP-analysen motsvarar en enhet en  $\mu\text{mol}$  pNPP-hydrolyserad per minut vid 25 °C i 2-amino-2-metyl-1-propanol-buffert.

### Representativ standardkurva

BAP-standardnivåer: 0, 2, 20, 50, 80, 140 E/L



## PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

### HAMA-interferens

Vissa personer har antikroppar mot mus-antikroppar (HAMA), som kan orsaka interferens i immunoanalyser som använder antikroppar från möss. Det har framförallt rapporterats att serumprover från patienter som genomgått behandling eller diagnos omfattande infusion av monoklonala antikroppar från möss kan ge felaktiga resultat. Därför ska MicroVue BAP-resultat från sådana patienter bara användas i kombination med resultat från andra diagnosmetoder och med information från den kliniska utvärderingen av patienten.

Prover med betydligt förhöjd alkalisk fosfatasaktivitet i levern kan orsaka felaktigt förhöjda resultat i MicroVue BAP-analysen.

Patienter med låg nivå av Pagets sjukdom kan ha värden för alkaliskt fosfat som faller inom referensområdet för MicroVue BAP.

## PROV VÄRDEN

Referensområden för BAP har fastställts för normala män över 25 års ålder (n = 126), normala premenopausala kvinnor mellan 25 och 44 års ålder (n = 178) och normala postmenopausala kvinnor (n = 107). För etableringen av referensområden definierades följande normalsubjekt:

- friska, utan bensjukdomar eller endokrina eller kroniska sjukdomar
- med regelbunden menstruationscykel (premenopausala kvinnor)
- ej gravida eller ammande (kvinnor)
- ingen medicinering med känd inverkan på benmetabolismen.

Värdena kan påverkas av faktorer som låg östrogenproduktion, lågt kalciumintag eller låg fysisk aktivitet.<sup>8</sup> Östrogenbrist hos postmenopausala kvinnor kan ge förhöjd benomsättning.<sup>3,4</sup> Varje laboratorium bör fastställa egna normalreferensområden. Områdena uttrycks som icke-parametriska referensintervaller (90 % CI).

	Alder (år)		Område (E/l)	Median
Kvinnor	25 - 44	Premenopausala	11,6 – 29,6	18,3
Kvinnor	≥ 45	Postmenopausala	14,2 – 42,7	25,0
Män	≥ 25		15,0 – 41,3	23,2

## PRESTANDASPECIFIKATIONER

### Antikropps-specifikationer

Den benspecifika alkaliska fosfatasantikroppen har selektiv hög affinitet för den benspecifika alkaliska fosfatisoformen, låg korsreaktivitet mot leverformen av alkaliskt fosfat och försumbar bindning av intestinala och placentala isoenzymer.

AP-isoenzym	% Reaktivitet
Ben	100
Lever	3 – 8
Placental	0
Intestin	0,4

### Känslighet

MicroVue BAP-analysens minsta avkänningsgräns är 0,7 E/l, vilket avgörs av den övre 3-SD-gränsen i en precisionsstudie med nollstandard.

### Återhämtning – pik-återhämtning

Pik-återhämtningen avgjordes genom att en känd mängd renat BAP tillsattes i serumprover med olika nivåer endogent BAP. Typiska resultat erhålls efter man taggat serumprover med låg, medelhög och hög koncentration av BAP och trippelanalyserat dessa.

Endogent (E/l)	Tillsatt (E/l)	Observerat (E/l)	Återhämtning (%)
13,4	15,7	29,1	99
17,6	37,5	55,3	99
27,2	57,2	88,1	106

### Återhämtning – linjäritet

Linjäriteten avgjordes genom att prover späddes seriellt. De observerade värdena jämfördes med förväntade värden. Typiska resultat visas nedan.

Prov	Spädningsfaktor	Observerat (E/l)	Förväntat (E/l)	Återhämtning (%)
1	konc.	108,5	-	-
	1:2	51,1	54,2	94
	1:4	25,8	27,1	99
	1:6	18,0	18,1	99
2	konc.	39,1	-	-
	1:2	20,1	19,5	103
	1:4	10,3	9,8	105
	1:6	6,7	6,5	103
3	konc.	58,4	-	-
	1:2	29,9	29,2	102
	1:4	15,7	14,6	108
	1:6	9,7	9,7	100

## Precision

Precision inom tester bestämdes för  $\geq 21$  replikat av 3 prov på 3 plattor från var och en av 3 partier (totalt 9 plattor). Precision mellan tester bestämdes för 3 prov, som körts i 6 separata plattor från var och en av 3 partier (totalt 18 plattor). Typiska resultat visas nedan.

BAP (E/l BAP)	CV % Inom test <sup>1</sup>	CV % mellan tester <sup>2</sup>
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 tester

## Störande ämnen

Följande ämnen testades vid angiven koncentration och befanns inte störa analysen.

Ämne	Koncentration
Hemoglobin	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 vatten

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

## Läkemedelsinterferens

Olika koncentrationer av läkemedel tillsattes i tre separata serumprover med ungefär 35, 70 och 105 E/L BAP och trippelanalyserades. De läkemedel och högsta koncentrationer som testades var:

Ämne	Högsta koncentration
Etidronat	350 µg/ml
Östrogen	100 µg/ml
Ibuprofen	150 µg/ml
Acetaminophen	350 µg/ml
Aspirin	350 µg/ml
Kalcitonin – humant	80 µg/ml
Kalcitonin – lax	80 µg/ml
Kalcium	500 µg/ml
Blandning av noretindron/etynilestradiol (oralt preventivmedel)	3 mg/ml
Vitamin D	400 IU/ml

## Noggrannhet

Komparativa studier utfördes för att utvärdera sambanden mellan mätningar av serumets benspecifika alkaliska fosfatas (BAP), som erhållits genom MicroVueBAP-analys, och resultat som erhållits med tre för närvarande tillgängliga metoder för mätning av totalt alkaliskt fosfatas (TAP) eller BAP. Studierna utfördes vid en oberoende klinisk undersökningsanläggning med serum från 114 patienter med Pagets sjukdom och 464 friska personer. Den första jämförelsen var en kolorimetrisk teknik för TAP-mätning. Korrelationskoefficienten (r), som fastställdes mellan den kolorimetriska metoden och MicroVue BAP-analysen, var 0,99. Den andra komparativa metoden var en elektroforesmetod för att avgöra isoenzymnivåerna för BAP (r = 0,99).

Den tredje komparativa metoden var en immunoradiometrisk analys för att mäta BAP (r = 0,99). Av de 114 patienterna med diagnosen Pagets sjukdom hade 101 patienter värden som var högre än den övre gränsen för referensområdena för MicroVue BAP-analysen. Tretton patienter hade värden som var mindre än den övre gränsen för referensområdena.

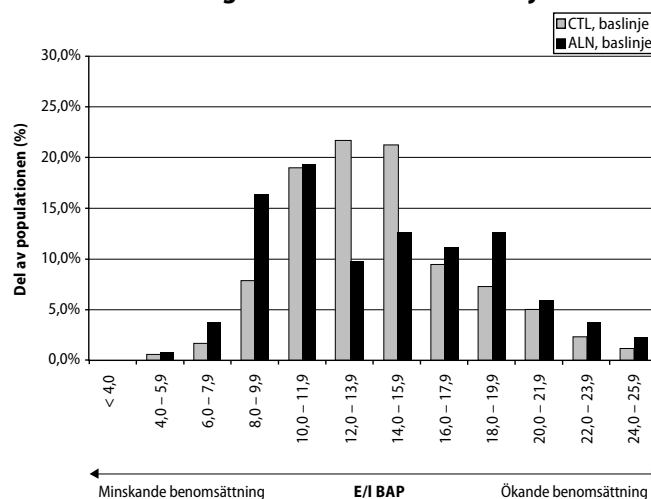
## KLINISKA STUDIER

### MicroVue BAP-användning för övervakning av effekten av anti-resorptiv behandling vid osteoporos

Ett slumpmässigt kontrollerat multicenterförsök utfördes framgångsrikt för att fastställa MicroVue-BAP-analysens säkerhet och effektivitet att övervaka förändringar i BAP-koncentrationer i samband med anti-resorptiv behandling med aminobisfosfonat (alendronat). Testpersonerna, som togs från en mer omfattande studie av alendronatets effekt för osteoporosbehandling,<sup>7</sup> var postmenopausala kvinnor mellan 45 och 84 års ålder (medel  $64 \pm 7$  år) med diagnosen osteoporos (utifrån en klinisk presentation eller om baslinjen för ländryggradens mineraltätethet [LSBMD] var mer än 2,5 standardavvikelser under medelvärdet för mogna premenopausala kvinnor). Vid baslinjen fick lämpliga testpersoner slumpmässigt antingen 10 mg alendronat och 500 mg kalcium per dag (ALN) eller ett placebo och 500 mg kalcium per dag (CTL). Serumprover togs vid baslinjen och efter tre, sex och tolv månader från alla testpersoner.

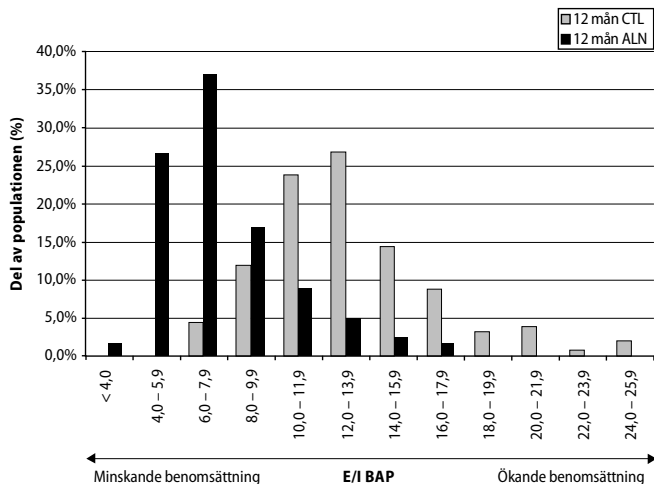
Medelvärdet ( $\pm 1$  SD) för BAP-koncentrationen vid baslinjen  $14,6 \pm 5,4$  jämfört med  $14,6 \pm 4,6$ ,  $p = 0,900$ ) och LSBMD ( $0,74 \pm 0,10$  jämfört med  $0,75 \pm 0,09$ ,  $p = 0,751$ ) hade liknande värden för ALN och CTL. Fördelningen av baslinjevärden för BAP-värden i ALN och CTL avbildas i följande figur i proportion till studiepopulationen.

### Fördelning av BAP-nivåer vid baslinjen



BAP var avsevärt lägre för ALN än CTL vid tre ( $9,6 \pm 3,5$  jämfört med  $13,4 \pm 4,0$ ,  $p < 0,00001$ ), sex ( $8,0 \pm 3,0$  jämfört med  $13,2 \pm 3,8$ ,  $p < 0,00001$ ) och tolv månader ( $7,8 \pm 2,6$  jämfört med  $13,3 \pm 3,9$ ,  $p < 0,00001$ ). Fördelningen av BAP-värden efter tolv månader i ALN- och CTL-grupperna visas i följande figur.

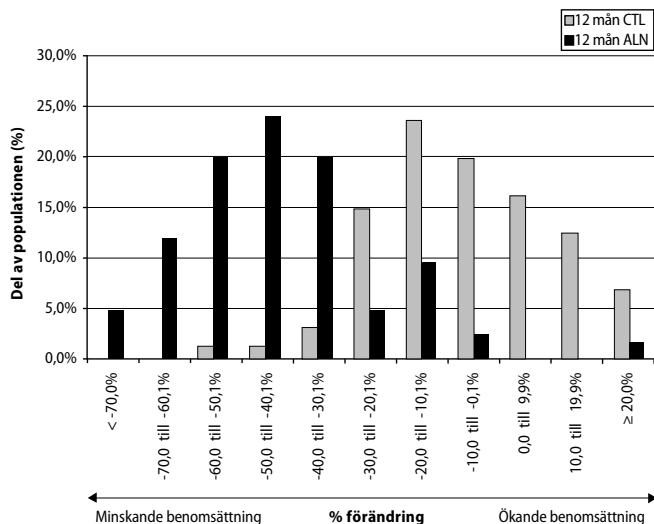
### Fördelning av BAP-nivåer efter 12 månaders behandling med alendronat (ALN) eller kalcium (CTL)



Medelvärdet ( $\pm 1$  SA) för BAP-koncentrationen hos CTL-testpersoner hade minskat något från baslinjen till  $-5,4\%$  ( $\pm 19,1\%$ ) vid tolv månader ( $p = 0,00004$ ) vilket visar kalciumets begränsade bensparande effekt.<sup>13</sup>

Medelvärdet för BAP-koncentrationen hos ALN-testpersoner hade minskat  $30,5 \pm 24,6\%$  vid tre månader,  $42,8 \pm 17,3\%$  vid sex månader och  $42,2 \pm 19,2\%$  vid tolv månader. Testpersoner i ALN-gruppen var mer benägna än dem i CTL-gruppen att uppvisa BAP-förluster över den minsta procentförändringen<sup>14</sup>;  $68,5\%$ ,  $83,9\%$  och  $86,1\%$  av ALN-personerna och  $9,5\%$ ,  $15,9\%$  och  $9,0\%$  av CTL-personerna hade en minskning som var  $25\%$  eller större efter tre, sex och tolv månader. Fördelningen av procentförändringen av BAP-värden från baslinjen till tolv månader i ALN- och CTL-grupperna visas i följande figur.

### Fördelning av procentförändring av BAP-nivåer efter 12 månaders behandling med alendronat (ALN) eller kalcium (CTL)



Vid tolv månader hade testpersoner i ALN-gruppen förhöjd LSBMD jämfört med CTL-gruppen ( $p < 0,00001$ ), vilket visas i följande tabell.

### Förändring i LSBMD (medel $\pm$ SD)

	n	Baslinje (g/cm <sup>2</sup> )	Tolv månader (g/cm <sup>2</sup> )	$\Delta$ (%)
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

Resultaten visar att MicroVue-BAP-analysen är ett säkert och effektivt sätt att övervaka den antiresorptiva effekten av behandling med aminobisfosfonat (alendronat) för testpersoner med diagnosen osteoporos.

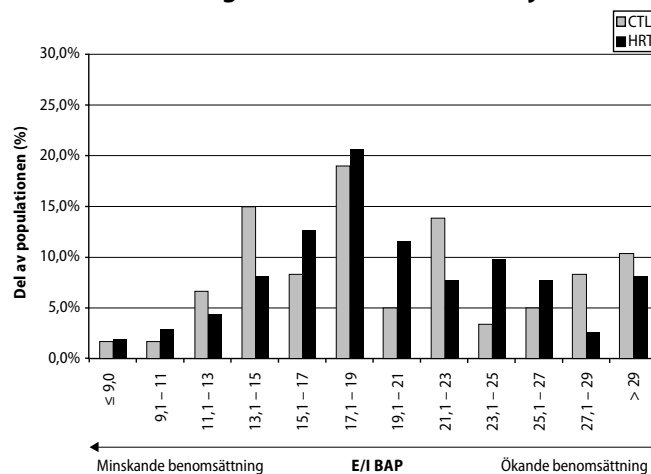
### Användning av MicroVue-BAP för övervakning av hormonell antiresorptiv behandling och prediktion av skelettets respons (benmineraltäthet) hos postmenopausala kvinnor

#### Behandlingsövervakning:

Ett slumpmässigt kontrollerat multicenterförsök utfördes framgångsrikt för att fastställa MicroVue-BAP-analysens säkerhet och effektivitet att övervaka förändringar i BAP-koncentrationer i samband med antiresorptiv behandling med östrogen/progestin. Ökad bensättning och betydande benförlust hör ofta ihop med postmenopausal östrogenbrist. Östrogensättning har visats minska bensättningen effektivt och skydda befintlig benmassa.<sup>3,6</sup> Testpersonerna var postmenopausala kvinnor från 45 till 64 års ålder (medel  $56 \pm 4$  år) som genomgått naturlig eller kirurgisk menopaus de senaste tio åren. Vid baslinjen placerades lämpliga testpersoner slumpmässigt i en aktiv behandlingsgrupp (HRT): Premarin® (0,625 mg per dag) med placeboprogestin, Premarin® (0,625 mg per dag) och ett aktivt progestin (Provera® 2,5 mg per dag kontinuerligt, Provera® 10 mg per dag cykliskt eller mikroniserat progesteron 200 mg per dag cykliskt); eller i kontrollgruppen (CTL): placeböstrogen och placeboprogestin. Serumprover togs vid baslinjen och efter tolv månader från alla testpersoner.

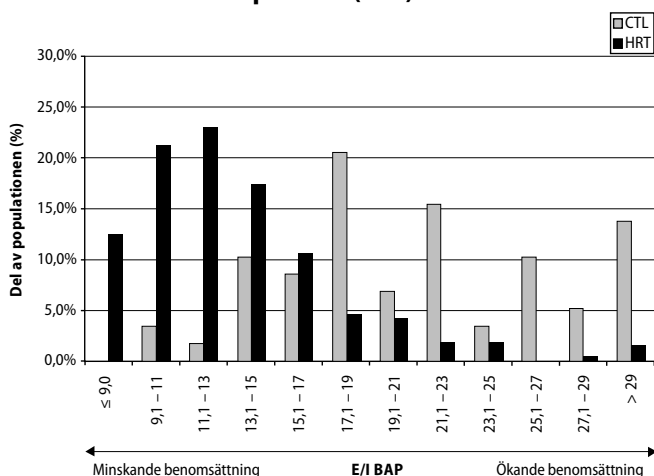
Medelvärdet ( $\pm 1$  SD) för BAP-koncentrationen vid baslinjen ( $20,7 \pm 7,6$  jämfört med  $20,3 \pm 6,8$  E/l,  $p = 0,704$ ) och LSBMD ( $0,97 \pm 0,17$  jämfört med  $0,97 \pm 0,15$  g/cm<sup>2</sup>,  $p = 0,970$ ) hade liknande värden för CTL och HRT. Fördelningen av baslinjevärden för BAP i HRT och CTL avbildas i följande figur i proportion till studiepopulationen.

### Fördelning av BAP-nivåer vid baslinjen



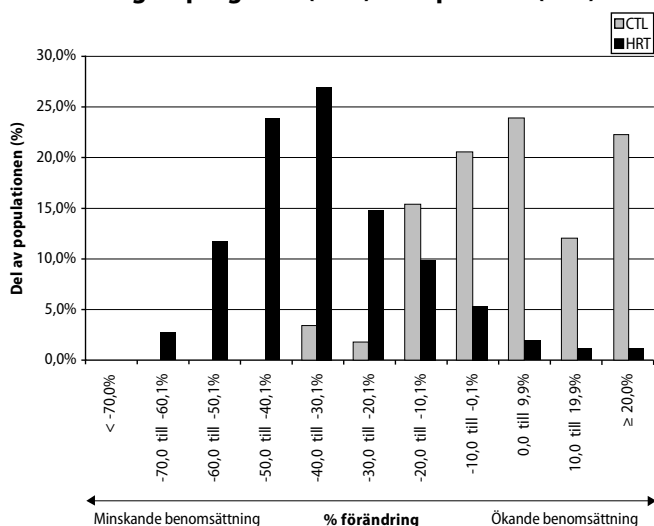
BAP var avsevärt lägre för HRT än CTL vid tolv månader ( $13,3 \pm 5,0$  jämfört med  $21,9 \pm 7,9$  E/L,  $p < 0,00001$ ). Fördelningen av BAP-värden efter tolv månader i HRT- och CTL-grupperna visas i följande figur.

### Fördelning av BAP-nivåer efter 12 månaders behandling med östrogen/progestin (HRT) eller placebo (CTL)



Medelvärde ( $\pm 1$  SD) för BAP-koncentrationen hos CTL-testpersonerna ökade något från baslinjen till 9,8 % ( $\pm 33,2$  %) vid tolv månader ( $p = 0,08$ ) medan BAP-koncentrationen hos HRT-testpersoner minskade från baslinjen till -32,4 ( $\pm 21,5$  %) vid tolv månader ( $p < 0,00001$ ). Testpersoner i HRT-gruppen var mer benägna än dem i CTL-gruppen att uppvisa BAP-förluster över den minsta procentförändringen<sup>12</sup>; 73,3% av HRT-personerna och 3,4 % av CTL-personerna hade en minskning som var 25 % eller större efter tolv månader. Fördelningen av procentförändringen av BAP-värden från baslinjen till tolv månader i HRT- och CTL-grupperna visas i följande figur.

### Fördelning av procentförändring av BAP-nivåer efter 12 månaders behandling med östrogen/progestin (HRT) eller placebo (CTL)



Vid tolv månader hade testpersoner i HRT-gruppen förhöjd LSBMD jämfört med CTL-gruppen ( $p < 0,00001$ ), vilket visas i följande tabell.

### Förändring i LSBMD (medel $\pm$ SD)

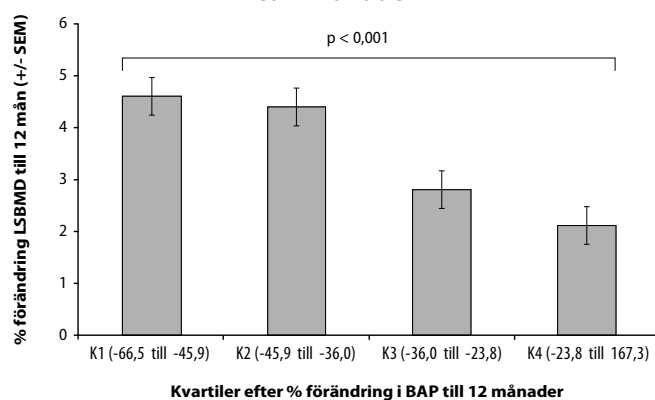
	n	Baslinje (g/cm <sup>2</sup> )	Tolv månader (g/cm <sup>2</sup> )	$\Delta$ (%)
CTL	58	$0,97 \pm 0,17$	$0,95 \pm 0,16$	$-1,6 \pm 2,8$
HRT	262	$0,97 \pm 0,15$	$1,00 \pm 0,15$	$+3,5 \pm 2,8$

Resultaten visar att MicroVue-BAP-analysen är ett säkert och effektivt sätt att övervaka den antiresorptiva effekten av behandling med hormonsättning hos postmenopausala kvinnor.

### Prediktion av skelettets respons:

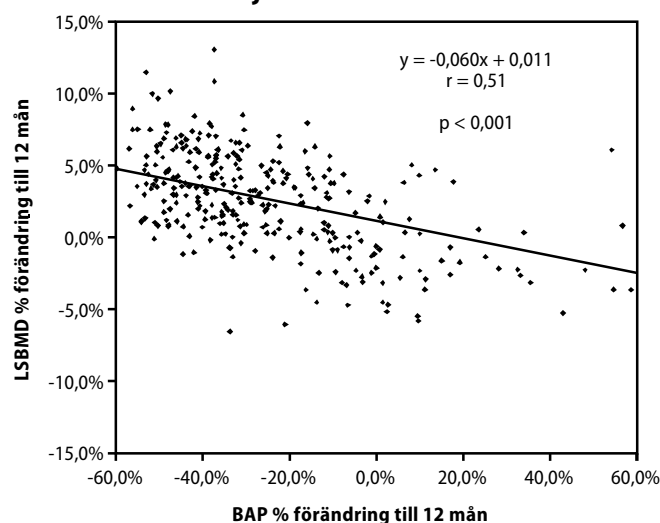
Följande figur visar den procentuella minskningen av BAP-värden från baslinjen till tolv månader efter kvartil för HRT-gruppen. Testpersoner i den högsta kvartilen (K1: största procentuella minskning) visade störst ökning i LSBMD efter HRT-behandling.

### HRT-gruppen – värden för procentuell förändring av BAP till tolv månader, sorterade efter kvartil och motsvarande procentuell förändring av LSBMD vid tolv månader



Följande figur visar linjär regressionsanalys ( $y = -0,060x + 0,011$ ,  $r = -0,51$ ,  $p < 0,001$ ) för den procentuella förändringen från baslinjen till tolv månader för BAP och för BMD för alla testpersoner i studien (placebo och behandlade).

### HRT-studie – linjär regression för procentuell förändring i LSBMD och BAP från baslinjen till tolv månader



Analys av kontingenstabell visade att en minskning på 25 % eller mer för BAP vid tolv månader hade ett starkt samband ( $p < 0,0001$ ) med positiv skelettrespons på HRT (ökad BMD) vid tolv månader. De binomiala (andra gradens approximation) 85-procentigakonfidensintervallerna för känsligheten och specificiteten med en 25-procentig minskning av BAP för prediktion av respsen på HRT är:

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

Resultaten visar att den procentuella förändringen av BAP-koncentration kan användas för att förutse graden av skelettets respons (BMD) på HRT-behandling.

## SUPPORT

Utanför USA: kontakta en lokal distributör för Quidel-produkter. Ytterligare information om Quidel, våra produkter eller distributörer finns på vår hemsida [www.quidel.com](http://www.quidel.com).

## REFERENSER

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.

## ORDLISTA



Se handhavandebeskrivningen sur CDROM



Avsett användningsområde

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

 **QUIDEL**<sup>®</sup>  
CORPORATION  
SPECIALTY PRODUCTS  
RESEARCH TO RAPIDS™

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



MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany