

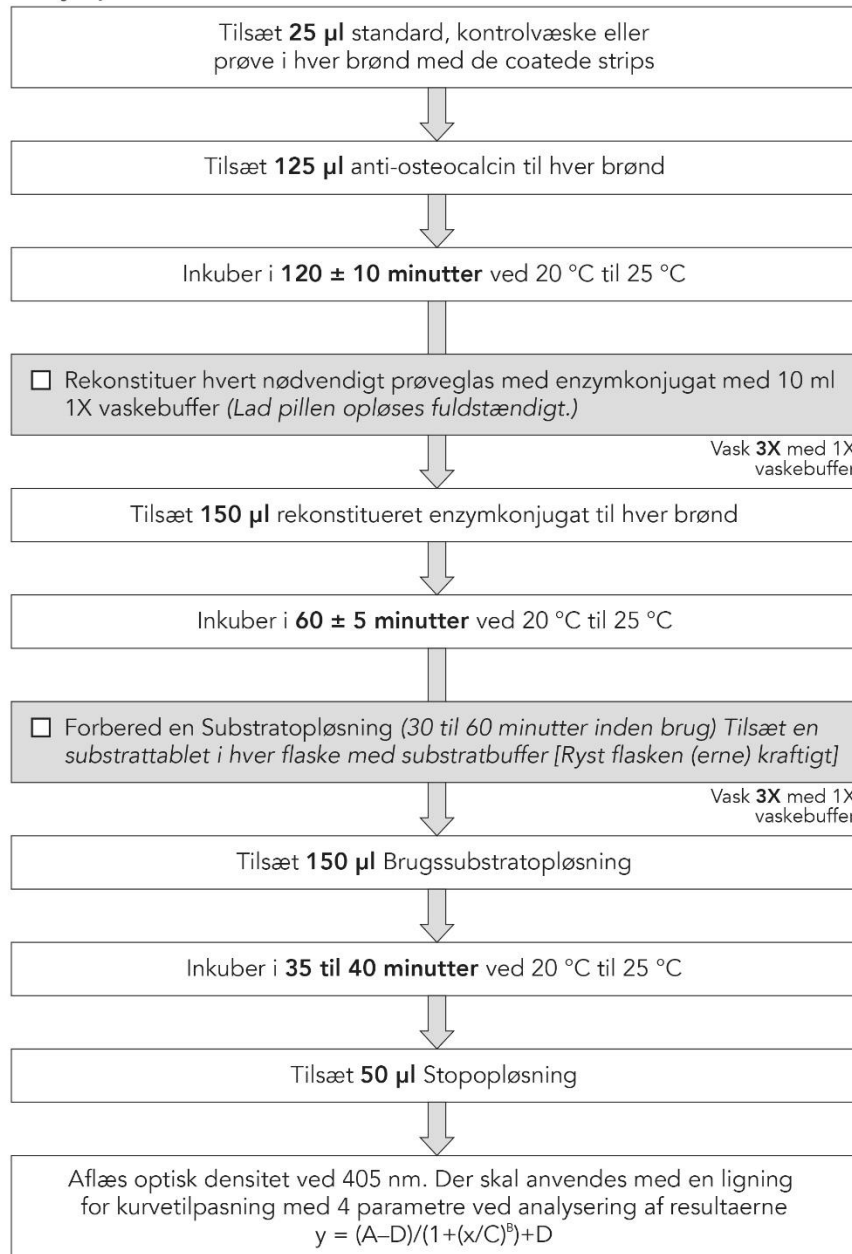
En enzymanalyse for kvantificering af intakt osteocalcin i plasma og serum

OPSUMMERING

Klargøring af Reagens og Prøveeksemplar

- Forbered 1X Vaskebuffer (Fortynd 10X Vaskebuffer 1:10 med demineraliseret vand)
- Rekonstruere Standarder og Kontroller med 0,5 ml 1X Vaskebuffer (må ikke opholde sig ved 20 °C til 25 °C i mere end 2 timer)

Analyseproceduren





TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue Osteocalcin-immunanalyse udfører kvalitativ måling af intakt (*de novo*) osteocalcin i serum eller EDTA plasma. Intakt osteocalcin kan være nyttigt som en biokemisk indikator af knogleomsætning.

OPSUMMERING OG FORKLARING

Osteocalcin (OC) eller BGP (bone gla protein) findes udelukkende i knoglevæv. Det er et protein med en molekylær vægt på 5800, som afhænger af ekstrahepatisk vitamin K og produceres af osteoblaster. Det indeholder tre gamma-karboxyglutaminsyre-rester, der menes at være involveret i bindingen af calciumion og hydroxyapatit. Det udgør 10-20 % af det ikke-kollagene protein i knogler. Mens *in vivo*-funktionen af osteocalcin er ukendt, antyder dets affinitet for knoglemineralkonstituenten en rolle i knogledannelse.

Osteocalcin udgør mellem 10 og 20 % af ikke-kollagent protein i knogler. MicroVue osteocalcin-immunanalyse udfører en kvantitativ måling af intakt (*de novo*) osteocalcin i serum. Intakt osteocalcin kan være nyttigt som en biokemisk indikator for knogleresorption. Mens *in vivo*-funktionen af osteocalcin er ukendt, antyder dets affinitet for knoglemineralkonstituenten en rolle i knogledannelse. Forhøjede osteocalcin-niveauer er blevet påvist i forskellige sygdomme. herunder osteomalacia, Pagets knoglesygdom, hyperthyroidisme, primær hyperparathyroidisme og renal osteodystrofi. Osteocalcin-niveauer kan også være forhøjede ved postmenopausal osteoporose på grund af forhøjet eller nedsat knogleresorption. Nedsatte osteocalcin-niveauer er blevet rapporteret ved hypoparathyroidisme og langvarig kortikosteroidbehandling.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue Osteocalcin-analysen er en kompetitiv immunanalyse. Analysen anvender osteocalcin-coatede strips, muse anti-osteocalcin antistof, antimus IgG-alkalisk fosfatasekonjugat og pNPP-substrat til kvantificering af osteocalcin i plasma og serum.

LEVEREDE MATERIALER OG REAGENSER

96 analyser for osteocalcin

MicroVue Osteocalcin EIA kit indeholder følgende:

A	Osteocalcin standarder	Dele 4168 – 4173	1 hver
B	Standard A-F, frysetørret, se Analyseattest for koncentration		
C	Frysetørret osteocalcin, oprenset fra human knoglesubstans, som indeholder buffersalte og		
D	stabilisatorer		
E			
F			
L	Lave kontroller	Dele 4174	1 stk.
	Frysetørret osteocalcin, oprenset fra human knoglesubstans, som indeholder buffersalte og stabilisatorer		
H	Høje kontroller	Dele 4175	1 stk.
	Frysetørret osteocalcin, oprenset fra human knoglesubstans, som indeholder buffersalte og stabilisatorer		
1	Coatede strips	Del 4670	12 stk.
	Osteocalcin, der er oprenset fra human knoglesubstans og adsorberet på stripbrønde		
2	Stopopløsning	Del 4702	15 ml
	0,5 N NaOH		

3	10X vaskebuffer Nonionisk detergent i en bufferopløsning, der indeholder natriumazid (0,05 %) som konserveringsmiddel	Del 4703	55 ml
4	Anti-osteocalcin Oprenset monoklonalt anti-osteocalcin museantistof i en bufferopløsning, der indeholder nonionisk detergent, stabilisator og natriumazid (0,05 %) som konserveringsmiddel	Del 4089	15 ml
5	Substratbuffer En diethanolamin- og magnesiumkloridopløsning, der indeholder natriumazid (0,05 %) som konserveringsmiddel	Del 4705	3 x 10 ml
6	Substrattabletter p-Nitrofenylfosfat	Del 0012	3 x 20 mg
7	Enzymkonjugat Frysetørret gede anti-mus IgG-antistof konjugeret til alkalisk fosfatase, som indeholder buffersalte og stabilisatorer	Del 4180	3 stk.

NØDVENDIGE, IKKE LEVEREDE MATERIALER

- Mikropipetter til afgivelse af 25-300 µl og 500 µl
- Egnede enheder til væskemåling af 10-300 ml
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Skylleflaske
- Demineraliseret eller destilleret vand
- Pladelæser, der kan aflæse ved 405 nm
- Kalibreringskurvetilpasnings-software med 4 parametre

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Kun til forskningsbrug i USA. Må ikke anvendes til diagnostiske procedurer (kun i USA).
- Prøverne skal behandles som potentielt biologisk risikomateriale. Følg gældende retningslinier for omgang med biologisk risikomateriale ved håndtering af dette kit og alle patientprøver.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed, inden udløbsdatoen på pakningens etiket.
- Opbevar analysereagenserne som anvist.
- Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.
- Stopopløsningen 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.
- Natriumazid anvendes som konserveringsmiddel. Utsigtet kontakt med eller indtagelse af bufferne, der indeholder 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 kobberinstallationer og danne højeksplosive metalazider. Efter bortskaffelse skylles med rigeligt vand for at undgå azidophobning.
- Substratbufferen indeholder diethanolamin og kan forårsage irritation af øjne og/eller hud ved kontakt i længere tidsrum. Berørte områder skal omgående vaskes med vand og sæbe.
- Brug af multikanalpipetter eller repeat-pipetter anbefales for at sikre en rettidig tilsætning af reagenser.
- Tilsæt prøver og standarder præcist for at sikre en nøjagtig prøveudmåling. Foretag omhyggelig afpipettering og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Test hver prøve i to eksemplarer.
- Mikrobrøndene må ikke anvendes til mere end én test.
- Anvendelse af andre inkuberings-tider og -temperaturer end dem, der er anført i afsnittet Procedure, kan medføre fejlagtige resultater.
- Udfør prøve-/anti-osteocalcin-inkubationen ved samme temperatur, hver gang analysen køres (inden for ± 1 °C). Hvis den samme stuetemperatur ikke kan vedligeholdes, anbefales brug af inkubator.

- Mikrobrøndene må ikke tørre, når analysen er begyndt.
- Undgå at skrabe eller berøre brøndenes bund, når væsken fjernes fra mikrobrøndene.
- Den tilstrækkelige mængde vaskebuffer er kritisk. Dispensere mindst 300 µl pr. brønd i vasketrinene. Udfør analysen med enhver valideret vaskemetode. For at sikre optimale resultater må man ikke bruge en multikanalpipette til at skylle pladen.
- Testning skal udføres i et område med tilstrækkelig ventilation.
- Bortskaf beholdere og ubrugt indhold i henhold til gældende kliniske retningslinjer for bortskaffelse af biologisk farligt materiale.
- Bær egnet beskyttelsestøj, handsker og øjen/ansigtsbeskyttelse ved håndtering af indholdet i dette kit.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering.
- For yderligere oplysninger om faresymboler, sikkerhed, håndtering og bortskaffelse af komponenterne i dette kit henvises til sikkerhedsdatabladet (SDS), der findes på quidel.com.

OPBEVARING

Opbevar kittet ved 2 °C til 8 °C. Opbevar ubrugte reagenser ved 2 °C til 8 °C. Opbevar 1X vaskebuffer (10X fortynding) ved 18 °C til 28 °C.

TEGN PÅ ELLER FORRINGELSE AF REAGENSERNE

Uklarhed, misfarvning eller ubehagelig lugt kan indikere ustabilitet eller forringelse af kittets reagenser. Hvis dette forekommer, skal reagenset kasseres.

PRØVEUDTAGNING OG FORBEREDELSE

Det er rapporteret, at osteocalcin i serum eller EDTA plasma er sensitivt overfor proteolyse. Det anbefales, at blod holdes på en temperatur på 2 °C til 8 °C straks efter udtagning og under behandling. Serum skal behandles og fryses ved ≤ -20 °C inden for 4 timer efter udtagning. Hvis udtagning og behandling udføres ved stuetemperatur, skal serum behandles og testes eller fryses (≤ -20 °C) inden for 2 timer fra udtagningstidspunktet. Serum skal fryses ved ≤ -70 °C ved opbevaring længere end en måned.

Tø frosne (≤ -70 °C) prøver hurtigt i et 37 °C vandbad indtil prøven netop er tøet. Overfør straks optøede prøver til is (for maksimalt 4 timer). **Efterlad ikke prøver ved 37 °C.** Tø ikke prøver ved stuetemperatur eller 4 °C. Frosne prøver skal testes så hurtigt som muligt efter optøning. Gentagne frysninger og optøninger anbefales ikke. Hvis prøverne skal gen-fryses for yderligere analyse, anbefaler Quidel at fryse flere aliquot af prøven for at forhindre gentagne fryse/tø forløb.

KLARGØRING AF REAGENS

Alle reagenser skal afbalanceres til 20 °C til 25 °C før anvendelse.

Coatede strips

Fjern brøndstripholderen, og tag det nødvendige antal coatede strips ud af posen (se tabellen i afsnittet *ANALYSEPROCEDUREN*). Sørg for, at posen med evt. ubrugte strips, lukkes fuldstændigt igen.

Vaskebuffer

Forbered den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel) ved at fortynde 10X vaskebuffer 1:10 med demineraliseret vand. Opbevares ved 18 °C til 28 °C. 1X vaskebuffer skal bruges inden for 21 timer efter forberedelse.

Enzymkonjugat

Forbered enzymkonjugat inden for 2 timer før brugen. Rekonstituer hvert nødvendigt prøveglas med enzymkonjugat (se tabel) med 10 ml 1X vaskebuffer. Lad pillen opløses fuldstændigt.

Osteocalcin-standarder og -kontroller

Inden for 1 time før brugen rekonstitueres standarder og kontroller med 0,5 ml 1X vaskebuffer. Giv pillen mindst 15 minutter til at opløses fuldstændigt. Rekonstituerede standarder og kontroller må ikke opholde sig ved 20 °C til 25 °C i mere end 2 timer. Ubrugte portioner af standarder og kontroller fryses ved ≤ -20 °C. Må ikke fryses/optøes mere end 4 gange.

Brugssubstratopløsning

Forbered en brugssubstratopløsning inden for en time før brugen. Tilsæt en substrattablet i hver nødvendig flaske med substratbuffer ved en temperatur på 20–25 °C (se tabel). Lad tablettene(-ne) opløses i 30-60 minutter. Ryst flasken(-erne) kraftigt for at sikre fuldstændig opblanding. Resterende brugssubstratopløsning skal kasseres efter brug.

ANALYSEPROCEDUREN

Læs hele indlægssedlen inden analysen startes.

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

Antal strips	4	6	8	12
Antal prøver (testet i to eksemplarer)	8	16	24	40
Enzymkonjugat (hætteglas)	1	1	2*	2*
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.

Prøve-/anti-osteocalcin-inkubation

1. Forbered den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel) ved at fortynde 10X vaskebuffer 1:10 med demineraliseret vand. Opbevares ved 18 °C til 28 °C. 1X vaskebuffer skal bruges inden for 21 timer efter forberedelse.
2. Inden for 1 time før brugen rekonstitueres standarder og kontroller med 0,5 ml 1X vaskebuffer. Giv pillen mindst 15 minutter til at opløses fuldstændigt. Rekonstituerede standarder og kontroller må ikke opholde sig ved 20 °C til 25 °C i mere end 2 timer. Ubrugte portioner af standarder og kontroller fryses ved ≤ -20 °C. Må ikke fryses/optøes mere end 4 gange.
3. Udtag brøndstrip-holderen og det nødvendige antal coatede strips fra posen (se tabellen). Sørg for, at posen med evt. ubrugte strips lukkes fuldstændigt igen.
4. Placer det ønskede antal coatede strips i brøndstrip-holderen lige før brug. Navngiv stripsene for at forhindre en sammenblanding i tilfælde af, at de utilsigtet fjernes fra brøndstrip-holderen.
5. Tilsæt 25 μ L standard, kontrolvæske eller prøve i hver brønd med de coatede strips. Dette trin skal afsluttes inden for 30 minutter.
6. Tilsæt 125 μ L anti-osteocalcin til hver brønd og inkuber i 2 timer (\pm 10 minutter) ved 20 °C til 25 °C.
7. Under inkuberingen forberedes enzymkonjugatet. Rekonstituer hvert nødvendigt prøveglas med enzymkonjugat (se tabel) med 10 ml 1X vaskebuffer. Lad pillen opløses fuldstændigt. Skal bruges inden for 2 timer.

Vasketrin (1)

8. Stripsene inverteres/tømmes manuelt. Tilsæt mindst 300 μ L 1X vaskebuffer i hver brønd og inverter/tøm strimlerne manuelt. Gentag to gange, så vaskeproceduren foretages tre gange i alt. Tør stripsene grundigt med papirservietter efter den sidste vask.

Inkubation af enzymkonjugat

9. Tilsæt 150 μ L rekonstitueret enzymkonjugat til hver brønd.
10. Inkuber i 60 minutter (\pm 5 minutter) ved 20 °C til 25 °C.

11. Under inkuberingen forberedes brugssubstratopløsningen. Tilsæt en substrattablet i hver nødvendig flaske med substratbuffer (se tabel). Lad tabletten(-erne) opløses i 30–60 minutter. Ryst flasken(-erne) kraftigt for at sikre fuldstændig opblanding. Skal bruges inden for 1 time.

Vasketrin (2)

12. Stripsene inverteres/tømmes manuelt. Tilsæt mindst 300 µL 1X vaskebuffer i hver brønd og inverter/tøm strimlerne manuelt. Gentag to gange, så vaskeproceduren foretages tre gange i alt. Tør stripsene grundigt med papirservietter efter den sidste vask.

Substratinkubation

13. Tilsæt 150 µL brugssubstratopløsning i hver brønd.
14. Inkuber i 35-40 minutter ved 20 °C til 25 °C.
Bemærk: Hvis der ikke kan opretholdes en temperatur på mellem 20 °C til 25 °C, og en absorbans på > 2,0 ikke er forenelig med pladelæseren, skal udviklingen af substrat i standard A-brøndene overvåges. Reaktionen skal standses, når den optiske densitet når 1,5, hvorefter stripsene aflæses.

Stop/aflæs

15. Tilsæt 50 µL stopopløsning til hver brønd for at standse reaktionen.
16. Aflæs den optiske densitet ved 405 nm. Sørg for, at der ikke findes store bobler i brøndene, og at bunden af stripsene er ren. Strips skal aflæses inden for **15 minutter** efter tilsætning af stopopløsningen.
17. Der kan anvendes kvantificeringssoftware med en ligning for kurvetilpasning med 4 parametre ved analysering af resultaterne for MicroVue Osteocalcin-analysen.

$$\text{Ligning: } y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$$

18. Bestem koncentrationen af prøver og kontroller ud fra standardkurven. Fortynd prøver større end 32 ng/ml i 1X vaskebuffer, og test igen. Inkluder fortyndingsfaktoren i beregningen. Kontrolværdierne skal ligge inden for det område, der er angivet i Analysecertifikatet, der leveres med kittet.

KVALITETSKONTROL

Analysecertifikatet i dette kit er lotspecifikt og skal anvendes til at bekræfte, at resultater opnået i laboratoriet svarer til dem, der er opnået hos Quidel Corporation. De optiske densitetsværdier er opgivet i leverancen og skal kun opfattes som vejledende. Resultater opnået i laboratoriet kan variere.

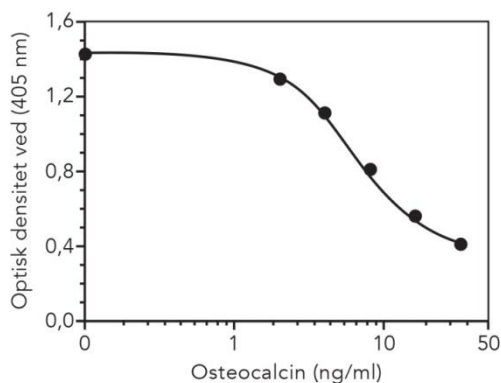
Der er diverse kvalitetskontrolområder til rådighed. Kontrolværdierne har til formål at verificere validiteten af kurve- og prøveresultaterne. Hvert laboratorium skal etablere egne parametre for acceptable analysegrænser. Hvis kontrolværdierne IKKE ligger inden for laboratoriets acceptable grænseværdier,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

Hvis den optiske densitet for MicroVue Osteocalcin standard A er mindre end 0,8, skal resultaterne anses for tvivlsomme og prøverne skal gentages.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Prøveresultater udtrykkes i ng/ml og **skal ikke** korrigeres for fortynding (med mindre prøven blev fortyndet inden testning).

Representativ standardkurva



VÆRDIEKSEMPLER

I vores undersøgelse af 140 voksne over 25 år varierede de opnåede værdier fra MicroVue Osteocalcin kit fra 3,7 til 10,0 ng/ml.

Værdierne kan være påvirket af faktorer såsom lav østrogenproduktion, lavt calciumindtag eller manglende fysisk aktivitet. Østrogenmangel i postklimakterielle kvinder kan medføre forhøjet knogleresorption. Hvert laboratorium bør etablere sit eget normalreferenceinterval.

TESTENS YDEEVNE

Antistofspecificitet

Monoklonalt anti-osteocalcin antistof blev hævet mod bovint osteocalcin, som udviser signifikant homologi med humant osteocalcin. Dette antistof anses for at være konstellationsafhængigt og bør derfor kun genkende intakt (*de novo*) osteocalcin og ikke fragmenter fra resorberet knoglevæv.

	% Reaktivitet
Humant intakt osteocalcin	100
Bovint intakt osteocalcin	100
Reduceret, alkyleret osteocalcin	ND
C-terminalt osteocalcin-fragment	ND
N-terminalt osteocalcin-fragment	ND

ND = ikke detekteret

Detekteringsgrænse

Minimumsgrænsen for analytisk påvisning på basis af MicroVue Osteocalcin Assay er 0,45 ng/ml, hvilket bestemmes af den øvre 3 SD-grænse i et standardstudium med en standard på nul.

Præcision

Præcision under og mellem kørsler blev bestemt ved at analysere tre serumprøver. Typiske resultater angives herunder.

Osteocalcin (ng/ml)	Under kørsel ¹ CV %	Mellem kørsler ² CV %
6,2	10,0	9,8
7,4	4,8	4,8
16,5	8,0	7,6

¹n = 22 replikater ²n = 3 | 3 kørsler

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.

REFERENCER

1. Banfi G, Daverio R. *In vitro* stability of osteocalcin. *Clin. Chem.* 1994;40:833-834.
2. Blumsohn A, Hannon RA, Eastell R. Apparent instability of osteocalcin in serum as measured with different commercially available immunoassays. *Clin. Chem.* 1995;41:318-319.
3. Delmas PD. Biochemical markers for the assessment of bone turnover. In: Riggs BL, Melton LJ, III (eds): *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1995, pp. 319-333.
4. Delmas PD, Stenner D, Wahner HW, Mann KG, Riggs BL. Assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis by measurement of serum bone gla-protein. *J. Lab. Clin. Med.* 1983;102:470-476.
5. Duda RJ, O'Brien JF, Katzmann JA, Peterson JM, Mann KG, Riggs BL. Concurrent assays of circulating bone gla protein and bone alkaline phosphatase: Effects of sex, age, and metabolic bone disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1988;66:951-957.
6. Gomez B, Bally CA, Jenkins DK, Kelm RJ, Jr., Seyedin S. An enzyme immunoassay for intact, newly synthesized osteocalcin: A marker of bone formation. *International Conference on Progress in Bone and Mineral Research*, Vienna, Austria, October 14-16 1994. (abst)
7. Ismail F, Epstein S, Pacifici R, Droke D, Thomas SB, Avioli LV. Serum bone gla protein (BGP) and other markers of bone mineral metabolism in postmenopausal osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* 1986;39:230-233.
8. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ, Nishimoto SK. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J. Clin. Invest.* 1980;66:878-883.
9. Riggs BL, Mann KG. Assessment of metabolic bone diseases by measurement of serum bone gla-protein. In: Sen A, Thornhill T (eds): *Development of diseases of cartilage and bone matrix*. New York: Alan R Liss, 1987, pp. 177-186.
10. Tracy RP, Andrianorivo A, Riggs BL, Mann KG. Comparison of monoclonal and polyclonal antibody-based immunoassays for osteocalcin: A study of sources of variation in assay results. *J. Bone Miner. Res.* 1990;5(5):451-461.
11. Triffitt JT. The Special Proteins of Bone Tissue. *Clin. Sci.* 1987;72:399-408.
12. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

REF 8002 – MicroVue Osteocalcin EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8002000DA00 (10/17)

ORDLISTE

REF

Katalognummer



CE-mærket for overensstemmelse

EC REP

Autoriseret repræsentant i det Europæiske

LOT

Batch-code



Anvendes inden



Producent



Temperaturbegrænsning



Tilsigtet anvendelse



Konsultere brugsanvisningen e-mærkning af

IVD

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Inghold/Indeholder

CONTROL

Prøve
