



QUIDEL

MicroVue™ Bone

Osteocalcin EIA

Enzimoinmunoensayo para la cuantificación de la osteocalcina intacta en muestras de suero o plasma

RESUMEN

Preparación del Reactivo y de la Muestra

- Prepare el tampón de lavado 1X (*Diluya el tampón de lavado 10X en una proporción de 1:10 con agua desionizada*)
- Reconstituya los patrones y controles con 0,5 ml de tampón de lavado 1X (*No deben permanecer a 20 °C a 25 °C por más de 2 horas*)

Procedimiento de ensayo





USO PREVISTO

El ensayo inmunoenzimático MicroVue Osteocalcin mide cuantitativamente la osteocalcina intacta (*de novo*) en muestras de suero o EDTA plasma. La osteocalcina intacta puede resultar útil como indicador bioquímico de la renovación de las células óseas.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La osteocalcina o proteína ósea G1a se encuentra exclusivamente en el tejido óseo. Es una proteína extrahepática dependiente de la vitamina K y producida por osteoblastos de peso molecular 5800. Contiene tres residuos de ácido gamma-carboxiglutámico que, según se cree, participan en la unión de los iones cálcicos y la hidroxiapatita. Representa el 10-20% de la proteína no colagenosa en el hueso. Si bien se desconoce la función *in vivo* de la osteocalcina, su afinidad con los constituyentes minerales óseos implica que cumple una función en la formación ósea.

La osteocalcina representa entre el 10 y el 20% de la proteína no colágena en los huesos. El ensayo inmunoenzimático MicroVue Osteocalcin mide cuantitativamente la osteocalcina intacta (*de novo*) en suero. La osteocalcina intacta puede resultar útil como indicador bioquímico de la renovación de las células óseas. Si bien se desconoce la función *in vivo* de la osteocalcina, su afinidad con los constituyentes minerales del hueso implica que influye en la formación de los huesos. Se han comprobado niveles elevados de osteocalcina en diferentes enfermedades, entre ellas osteomalacia, enfermedad de Paget de los huesos, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo primario y osteodistrofia renal. Los niveles de osteocalcina también pueden ser elevados en la osteoporosis post-menopáusica debido a un aumento o disminución de la renovación de las células óseas. Se han informado reducciones en los niveles de osteocalcina en el hipoparatiroidismo y durante terapias prolongadas con corticosteroides.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo MicroVue Osteocalcin es un ensayo inmunoenzimático competitivo. Utiliza tiras recubiertas con osteocalcina, un anticuerpo anti-osteocalcina de ratón, un conjugado de IgG-fosfatasa alcalina anti-ratón y un sustrato pNPP para cuantificar la osteocalcina en las muestras de suero o plasma.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

96 ensayos para osteocalcina

El kit MicroVue Osteocalcin EIA contiene lo siguiente:

A	Patrones de osteocalcina:	Cód. 4168 – 4173	1 unidad
B	Calibradores A-F, liofilizados, concentraciones en Certificado de análisis		
C	Osteocalcina liofilizada purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores		
D			
E			
F			
L	Controles bajo	Cód. 4174	1 unidad
	Osteocalcina liofilizada purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores		
H	Controles alto	Cód. 4175	1 unidad
	Osteocalcina liofilizada purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores		
1	Tiras recubiertas	Cód. 4670	12 unidades
	Osteocalcina purificada de hueso de bovino adsorbida sobre tiras de pocillos		
2	Solución de parada	Cód. 4702	15 ml
	NaOH 0,5 N		

3	Tampón de lavado 10X Detergente no iónico en una solución tamponada con azida sódica (0,05%) como conservante	Cód. 4703	55 ml
4	Anti-osteocalcina Anticuerpo anti-osteocalcina monoclonal murino purificado en una solución tamponada con detergente no iónico, estabilizadores y azida sódica (0,05%) como conservante	Cód. 4089	15 ml
5	Tampón de sustrato Una solución de dietanolamina y cloruro de magnesio con azida sódica (0,05%) como conservante	Cód. 4705	3 x 10 ml
6	Pastillas de sustrato Fosfato de p-nitrofenil	Cód. 0012	3 x 20 mg
7	Conjugado enzimático Anticuerpo IgC anti-ratón de cabra liofilizado conjugado con fosfatasa alcalina con sales amortiguadoras y estabilizadores	Cód. 4180	3 unidades

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Micropipetas de 25-300 µl y 500 µl
- Material adecuado para medir 10-300 ml de líquidos
- Recipiente para dilución del tampón de lavado
- Lave el frasco
- Agua desionizada o destilada
- Lector de placas capaz de leer a 405 nm
- Software de ajuste de curva de calibrado de 4 parámetros

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso investigativo únicamente en los EE.UU. No utilizar para procedimientos diagnósticos (sólo en los EE.UU.).
- Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
- Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.
- No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
- El Solución de parada se considera corrosivo y puede provocar irritación en la piel. No lo ingiera. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lave con agua. En caso de ingestión, solicite asistencia médica.
- La azida sódica se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones que contienen azida sódica pueden provocar irritación en la piel, los ojos o la boca. Emplee los tampones únicamente para los fines previstos y evite el contacto con ácidos. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Después de desecharlo, enjuague con agua abundante para evitar la acumulación de la azida.
- El tampón de sustrato contiene dietanolamina y puede causar irritación en los ojos y en la piel con el contacto prolongado. Las áreas que entren en contacto con el tampón deben lavarse de inmediato con agua y jabón.
- Se recomienda utilizar pipetas multicanal o pipeteros de repetición para garantizar la administración de los reactivos en el momento adecuado.
- Para una medición exacta de las muestras, añada las muestras y los patrones con precisión. Pipetee cuidadosamente utilizando sólo equipo calibrado.
- Analice cada muestra por duplicado.
- No utilice un pocillo de microensayo para más de un ensayo.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección Procedimiento de ensayo puede dar resultados erróneos.

- Realice la incubación de la muestra/anti-osteocalcina a la misma temperatura cada vez que ejecuta el ensayo (dentro de $\pm 1^\circ\text{C}$). Si no se puede mantener la temperatura ambiente, se recomienda utilizar un incubador.
- No permita que los pocillos de microensayo se sequen una vez iniciado el ensayo.
- Al eliminar líquidos de los pocillos de microensayo, no raspe ni toque el fondo de los pocillos.
- El volumen de tampón de lavado adecuado es fundamental; dispensar al menos 300 μl por pocillo en los pasos de lavado. Este ensayo puede realizarse con cualquier método de lavado homologado. Para obtener mejores resultados, no utilice una pipeta multicanal para lavar la placa.
- La prueba debe realizarse en una zona que disponga de la ventilación adecuada.
- Deseche los envases y contenido no utilizado conforme a los requerimientos locales, estatales y federales reglamentarios.
- Vista preferentemente ropa protectora, guantes y protección para ojos/cara cuando esté manipulando los componentes del kit.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.
- Para obtener información adicional sobre símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit, consulte la Ficha de datos de seguridad (*Safety Data Sheet*, SDS) que se encuentra en quidel.com.

CONSERVACIÓN

Conserve el kit y los reactivos no utilizados a 2°C a 8°C . Conserve el tampón de lavado 1X (diluido 10X) a 18°C a 28°C .

INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La turbiedad, decoloración u olor fuerte de los reactivos del kit pueden indicar su inestabilidad o deterioro. En cualquiera de estos casos, deben desecharse.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se ha informado que la osteocalcina en muestras de suero o EDTA plasma es sensible a la proteólisis. Se recomienda conservar la sangre a 2°C a 8°C inmediatamente después de recogida y durante su procesamiento. El suero debe procesarse y congelarse a $\leq -20^\circ\text{C}$ dentro de las 4 horas de recogido. Si la recogida y el procesamiento se realizan a temperatura ambiente, el suero debe procesarse y analizarse o congelarse ($\leq -20^\circ\text{C}$) dentro de las 2 horas de recogido. El suero debe congelarse a $\leq -70^\circ\text{C}$ si se desea conservarlo más de un mes.

Descongelar las muestras congeladas ($\leq -70^\circ\text{C}$) rápidamente en un baño de agua a 37°C . Transferir las muestras descongeladas inmediatamente a hielo (durante no más de cuatro horas). **No dejar las muestras a 37°C .** No descongelar las muestras a temperatura ambiente o a 4°C . Las muestras congeladas deben ser analizadas lo antes posible después de su descongelación. No se recomiendan los ciclos repetidos de congelación y descongelación. En caso de que sea necesario volver a congelar las muestras para su posterior análisis, Quidel recomienda congelar varias alícuotas de las muestras para evitar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Deje que todos los reactivos se estabilicen a 20°C a 25°C antes de utilizarlos.

Tiras recubiertas

Retire la estructura de tiras de pocillos y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa (vea la sección *PROCEDIMIENTO DE ENSAYO*). Asegúrese de que la bolsa que contiene las tiras no utilizadas queda perfectamente sellada.

Tampón de lavado

Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (vea la tabla) diluyendo tampón de lavado 10X con agua desionizada en una proporción de 1:10. Conservar a 18°C a 28°C. Utilice el tampón de lavado 1X dentro de los 21 días de su preparación.

Conjugado enzimático

Prepare el conjugado enzimático dentro de las 2 horas previas a su uso. Reconstituya cada vial necesario de conjugado enzimático (vea la tabla) con 10 ml de tampón de lavado 1X. Deje que la pelletilla se disuelva completamente.

Patrones y controles de osteocalcina

Dentro de 1 hora de su uso, reconstituya los patrones y controles con 0,5 ml de tampón de lavado 1X. Espere al menos 15 minutos para que la pelletilla se disuelva completamente. Los patrones y controles reconstituidos no deben permanecer a 20°C a 25°C por más de 2 horas. Congele la parte no utilizada de los patrones y controles a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. No congele/descongele más de 4 veces.

Solución de sustrato de trabajo

Prepare la solución de sustrato de trabajo 1 hora antes de su uso como máximo. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato a 20°C a 25°C (vea la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30-60 minutos. Agite vigorosamente los frascos para mezclar completamente. Deseche la solución de sustrato de trabajo restante tras su uso.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Lea el prospecto del producto en su totalidad antes de iniciar el ensayo.

Determine la cantidad necesaria de cada reactivo para el número de tiras que desea utilizar.

Nº de tiras	4	6	8	12
Nº de muestras (analizadas por duplicado)	8	16	24	40
Conjugado enzimático (vial)	1	1	2*	2*
Sustrato (frasco)	1	1	2*	2*
Tampón de lavado 1X (ml)	100	150	200	300

*Cuando se vaya a utilizar más de un frasco o vial, combine el contenido y mezcle antes de usarlo.

Incubación de la muestra/anti-osteocalcina

1. Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (vea la tabla) diluyendo tampón de lavado 10X con agua desionizada en una proporción de 1:10. Conservar a 18°C a 28°C. Utilice el tampón de lavado 1X dentro de los 21 días de su preparación.
2. Dentro de 1 hora de su uso, reconstituya los patrones y controles con 0,5 ml de tampón de lavado 1X. Espere al menos 15 minutos para que la pelletilla se disuelva completamente. Los patrones y controles reconstituidos no deben permanecer a 20°C a 25°C por más de 2 horas. Congele la parte no utilizada de los patrones y controles a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. No congele/descongele más de 4 veces.
3. Retire la estructura de tiras de pocillos y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa (vea la tabla). Asegúrese de que la bolsa que contiene las tiras no utilizadas queda perfectamente sellada.
4. Introduzca el número deseado de tiras recubiertas en la estructura de tiras de pocillos. Etiquete las tiras para evitar confusiones en caso de retirarlas accidentalmente de la estructura.
5. Añada 25 μL de patrón, control o muestra a cada pocillo de las tiras recubiertas. Este paso debe completarse en 30 minutos como máximo.
6. Añada 125 μL de anti-osteocalcina a cada pocillo e incube durante 2 horas (± 10 minutos) a 20°C a 25°C.

7. Mientras se incubaba, prepare conjugado enzimático. Reconstituya cada vial necesario de conjugado enzimático (vea la tabla) con 10 ml de tampón de lavado 1X. Deje que la pelotilla se disuelva completamente. Utilizar dentro de las 2 horas.

Lavado (Paso 1)

8. Invierta/vacíe manualmente las tiras. Añada como mínimo 300 µL de tampón de lavado 1X a cada pocillo e invierta/vacíe manualmente las tiras. Repita dos veces más hasta un total de tres lavados. Seque vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del conjugado enzimático

9. Añada 150 µL de conjugado enzimático reconstituido a cada pocillo.
10. Incube durante 60 minutos (± 5 minutos) a 20°C a 25°C.
11. Mientras se incubaba, prepare la solución de sustrato de trabajo. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato (vea la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30-60 minutos. Agite vigorosamente los frascos para mezclar completamente. Utilizar dentro de 1 hora de su preparación.

Lavado (Paso 2)

12. Invierta/vacíe manualmente las tiras. Añada como mínimo 300 µL de tampón de lavado 1X a cada pocillo e invierta/vacíe manualmente las tiras. Repita dos veces más hasta un total de tres lavados. Seque vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del sustrato

13. Añada 150 µL de solución de sustrato de trabajo a cada pocillo.
14. Incube durante 35-40 minutos a 20°C a 25°C.
NOTA: Si no pudiera mantenerse la temperatura ambiente entre 20 y 25°C y no fuera compatible una absorbancia > 2,0 con el lector de placas, controle el desarrollo del sustrato en los pocillos de patrón A; detenga la reacción cuando la densidad óptica alcance 1,5 y, a continuación, lea las tiras.

Parada/lectura

15. Añada 50 µL de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción.
16. Lea la densidad óptica a 405 nm. Asegúrese de que no hay burbujas grandes en los pocillos y que el fondo de las tiras está limpio. Las tiras deben leerse dentro de los **15 minutos** de incorporada la solución de parada.
17. Utilice software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibrado de 4 parámetros para analizar los resultados del ensayo MicroVue Osteocalcin.

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

18. Determine la concentración de las muestras y los controles a partir de la curva estándar. Diluya las muestras de más de 32 ng/ml en tampón de lavado 1X y repita el análisis. Incluya el factor de dilución en el cálculo final. Los valores de control deberán estar dentro del intervalo especificado en el certificado de análisis suministrado con el kit.

CONTROL DE CALIDAD

El certificado de análisis incluido en este kit es específico a este lote y debe emplearse para comprobar que los resultados obtenidos por su laboratorio son similares a los obtenidos por Quidel Corporation. Se proporcionan los valores de densidad óptica, pero deberán utilizarse únicamente a efectos orientativos. Los resultados obtenidos por su laboratorio pueden ser diferentes.

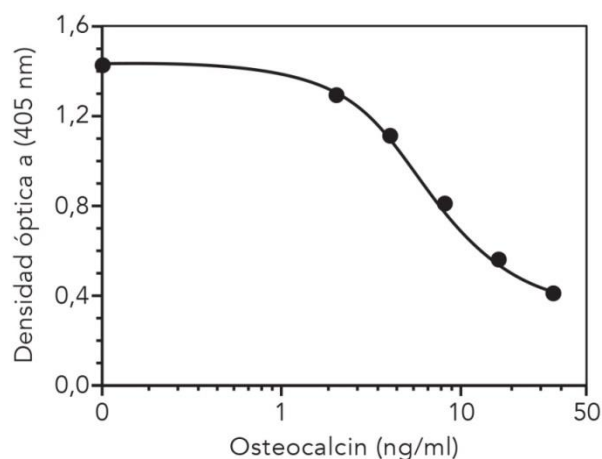
Se proporcionan los intervalos de control de calidad. Los valores de control están diseñados para verificar la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para determinar los límites de análisis aceptables. Si los valores de control NO están dentro de los límites de aceptación de su laboratorio, los resultados del ensayo deben considerarse cuestionables y deberán volver a analizarse las muestras.

Si la densidad óptica del patrón A de MicroVue Osteocalcin es inferior a 0,8, los resultados deberán considerarse dudosos y deberán volver a analizarse las muestras.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de las muestras se expresan como ng/ml y **no** es necesario corregirlos por dilución (a menos que la muestra se haya diluido antes del ensayo).

Curva representativa estándar



VALORES DE REFERENCIA

En las pruebas realizadas en 140 adultos de más de 25 años de edad, los valores obtenidos con el kit MicroVue Osteocalcín fueron de 3,7 a 10,0 ng/ml.

Los valores pueden estar influidos por factores como baja producción de estrógenos, baja ingesta de calcio o poca actividad física. La deficiencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas puede provocar una mayor renovación de las células óseas. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia normal.

RENDIMIENTO DEL ENSAYO

Especificidad de los anticuerpos

Se elevaron los anticuerpos anti-osteocalcina monoclonales en relación con la osteocalcina bovina, que exhibe una homología significativa con la osteocalcina humana. Se cree que este anticuerpo es conformacionalmente dependiente y, en consecuencia, debería reconocer sólo osteocalcina intacta (*de novo*) y no fragmentos de tejido óseo reabsorbido.

	% Reactividad
Osteocalcina intacta humana	100
Osteocalcina intacta bovina	100
Osteocalcina alcalinizada reducida	ND
Fragmento de osteocalcina C-terminal	ND
Fragmento de osteocalcina N-terminal	ND

ND = no detectado

Límites de detección

El límite de detección analítica mínimo del ensayo MicroVue Osteocalcin es de 0,45 ng/ml, determinado por el límite superior de DE 3 en un estudio de patrón cero.

Precisión

Se determinaron las precisiones intra-análisis e inter-análisis analizando tres muestras de suero. A continuación se muestran los resultados típicos.

Osteocalcina (ng/ml)	Intra-análisis¹ CV(%)	Inter-análisis² CV(%)
6,2	10,0	9,8
7,4	4,8	4,8
16,5	8,0	7,6

¹n = 22 réplicas ²n = 3 in 3 análisis

ASISTENCIA

Para servicios fuera de los EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Información adicional de Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores puede encontrarse en nuestra página web quidel.com.

REFERENCIAS

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, Pacifi ci 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

PI8002000ES00 (10/17)

GLOSARIO

REF

Catalogue number



CE mark of conformity

EC REP

Authorized Representative
in the European Community

LOT

Batch code



Use by



Manufacturer



Temperature limitation



Intended use



Consult e-labeling
instructions for use

IVD

For *In Vitro* diagnostic use



Contains sufficient for 96 determinations

CONT

Contents/Contains

CONTROL

Control
