

## En enzymimmunoanalys för kvantitering av intakt osteocalcin i plasma eller serum

### SAMMANDRAG

#### Reagent och Prov Förberedelse

- Bered 1x tvättbuffert (*Späd 10x tvättbuffert 1:10 med avjoniserat vatten*)
- Rekonstituera standarderna och kontrollerna med 0,5 ml 1X tvättbuffert (*Ska inte förbli vid en temperatur på 20 °C til 25 °C i mer än 2 timmar*)

#### Analysförfarande

Tillsätt **25 µl** standard, kontrollvätska eller prov i varje brunn på remsorna med beläggning

Tillsätt **125 µl** anti-osteocalcin till varje brunn

Inkubera i **2 timmar (± 10 minuter)** vid en temperatur på 20 °C til 25 °C

- Bered enzymkonjugatet med 1x tvättbuffert (*Rekonstituera alla flaskor med enzymkonjugat med 10 ml 1x tvättbuffert*) Låt pillret lösas upp helt och hållet.

Tvätta **3 gånger** med tvättbuffert

Tillsätt **150 µl** rekonstituerat enzymkonjugat i varje brunn

Inkubera **60 (± 5 minuter)** vid en temperatur på 20 °C til 25 °C

- Bered arbetssubstratlösningen (*30 til 60 minuter före användning*) Lägga en substrattablett i varje flaska substratbuffert (*Skaka flaskan/flaskorna kraftigt*)

Tvätta **3 gånger** med tvättbuffert

Tillsätt **150 µl** arbetssubstratlösning i varje brunn

Inkubera i **35 til 40 minuter** vid en temperatur på 20 °C til 25 °C

Tillsätt **50 µl** stopplösning till varje brunn

Avläs den optiska densiteten vid 405 nm. En kurvpasningsekvation med 4-parameterkalibrering, måste användas för att analysera testresultat  
 $y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D$



## INTENDED USE

MicroVue Osteocalcin immunoanalysen mäter kvantitativt intakt (*de novo*) osteocalcin i serum eller EDTA-plasma. Intakt osteocalcin kan vara till nytta som en biokemisk indikator för benomsättning.

## SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Osteocalcin (OC) eller BGP (ben-gla-protein) återfinns enbart i benvävnad. Det är ett extrahepatiskt K-vitaminberoende protein, med en molekylvikt på 5800, som produceras av osteoblaster. Det innehåller tre gammakarboxyglutaminsyrarester, som man tror medverkar i kalciumjon- och hydroxyapatitbindningen. Den svarar för 10-20 % av det icke-kollagena proteinet i ben. Osteocalcinets *in vivo*-funktion är inte känd, men dess affinitet för benmineralbeståndsdelar antyder en roll i benbildningen.

Osteocalcin utgör mellan 10 och 20 % av icke-kollagent protein i ben. MicroVue Osteocalcin immunanalysen mäter kvantitativt intakt (*de novo*) osteocalcin i serum. Intakt osteocalcin kan vara användbart som en biokemisk indikator av benomsättning. Medan *in vivo*-funktionen av osteocalcin är okänd antyder dess affinitet för benmineralkonstituenten en roll i benformation. Förhöjda osteocalcinhalter har påvisats i flera sjukdomar, inklusive osteomalaci, Pagets bensjukdom, hypertyroidism, primär hyperparatyroidism och renal osteodystrofi. Osteocalcinhalter kan även vara förhöjda vid postmenopausal osteoporos på grund av ökad eller minskad benomsättning. Sänkta osteocalcinhalter har rapporterats i hypoparatyroidism och under lång kortikosteroid-terapi.

## PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue Osteocalcin-analysen är en konkurrerande immunoanalys. Analysen använder osteocalcinbelagda remsor, en mus-anti-osteocalcin-antikropp, ett anti-mus-IgG-alkalifosfatkonjugat samt ett pNPP-substrat för att kvantifiera osteocalcinet i plasma eller serum.

## MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH MATERIA

### 96 analyser för osteocalcin

MicroVue osteocalcin EIA-satsen innehåller följande:

<b>A</b>	<b>Osteocalcinstandarder</b>	<b>Komponent 4168 – 4173</b>	<b>1 vardera</b>
<b>B</b>	<b>Standard A-F, frystorkade, koncentration se Analyscertifikat</b>		
<b>C</b>	Lyofiliserat osteocalcin, renat från humant ben, innehållande buffertsalter och stabilisatorer		
<b>D</b>			
<b>E</b>			
<b>F</b>			
<b>L</b>	<b>Låga kontroller</b>	<b>Komponent 4174</b>	<b>1 av varder</b>
	Lyofiliserat osteocalcin, renat från humant ben, innehållande buffertsalter och stabilisatorer		
<b>H</b>	<b>Höga kontroller</b>	<b>Komponent 4175</b>	<b>1 av varder</b>
	Lyofiliserat osteocalcin, renat från humant ben, innehållande buffertsalter och stabilisatorer		
<b>①</b>	<b>Remsor med beläggning</b>	<b>Art. 4670</b>	<b>12 av vardera</b>
	Osteocalcin renat från humant ben och adsorberat på stripwellremсор		
<b>②</b>	<b>Stopplösning</b>	<b>Art. 4702</b>	<b>15 ml</b>
	0,5 N NaOH		
<b>③</b>	<b>10X tvättbuffert</b>	<b>Art. 4703</b>	<b>55 ml</b>
	Nonjonaktivt rengöringsmedel i buffertlösning med natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel		

<b>4</b>	<b>Anti-osteocalcin</b> Renad monoklonal musantikropp i en buffrad lösning som innehåller icke-joniskt rengöringsmedel, stabiliserare och natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel	<b>Art. 4089</b>	<b>15 ml</b>
<b>5</b>	<b>Substratbuffert</b> Lösning av dietanolamin och magnesiumklorid med natriumazid (0,05 %) som konserveringsmedel	<b>Art. 4705</b>	<b>3 x 10 ml</b>
<b>6</b>	<b>Substrattabletter</b> p-nitrofenylfosfat	<b>Art. 0012</b>	<b>3 x 20 mg</b>
<b>7</b>	<b>Enzymkonjugat</b> Lyofiliserad get-anti-mus-IgG-antikropp konjugerat till alkalisk fosfatas innehållande buffertsalter och stabilisatorer	<b>Art. 4180</b>	<b>3 vardera</b>

## MATERIAL SOM BEHÖVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Mikropipetter för 25-300 µl och 500 µl
- Utrustning för vätskemätning av volymer på 10-300 ml
- Behållare för tvättbuffertlösning
- Tvättflaska
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- Plattläsare för avläsning vid 405 nm
- Programvara för kurvpassning med 4-parameterskalibrering

## VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSANVISNINGAR

- Endast för forskningsbruk i USA. Inte för användning i diagnostikförfaranden (endast i USA).
- Behandla alla prover som biologiskt riskmaterial. Hantera satsens innehåll och patientprover med försiktighet.
- Medföljande reagenser används som en enhet fram till det utgångsdatum som anges på förpackningen.
- Förvara analysreagenser enligt anvisningen.
- Använd inte remsor med beläggning om det finns hål på förpackningen.
- Stopplösning 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.
- 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 med stora mängder vatten när azider kasseras för att undvika azidansamling.
- Substratbufferten innehåller dietanolamin och kan irritera ögon och/eller hud vid längre kontakt. Kontaktade områden skall omedelbart tvättas med tvål och vatten.
- Vi rekommenderar användning av multikanal- eller repeterpipetter vid uppmätning av reagenser.
- För korrekt provmätning ska exakta mängder prover och standarder tillsättas. Pipettera omsorgsfullt med kalibrerad utrustning.
- Dubbeltesta varje prov.
- Använd inte en mikroanalysbrunn för mer än ett test.
- Tillämpning av andra inkubationstider och temperaturer än dem som anges i avsnittet *ANALYSPROCEDUR* kan leda till felaktiga resultat.
- Genomför prov/anti-osteocalcininkubationen vid samma temperatur varje gång analysen körs (inom  $\pm 1$  °C). Vi rekommenderar att en inkubator används om det inte går att hålla en jämn rumstemperatur.
- Låt inte mikroanalysbrunnarna torka när analysen har påbörjats.
- Undvik att skrapa eller beröra brunnarnas botten vid uttagning av vätskor ur mikroanalysbrunnarna.
- Det är viktigt med tillräckligt med tvättbuffert. Dispensera minst 300 µL i varje brunn under tvättstegen. Genomför denna analys med valfri validerad tvättmetod. För bästa resultat, använd inte en multikanalpipett för att tvätta plattan.

- Testning ska utföras i utrymmen med tillräcklig ventilation.
- Kassera behållare och oanvänt innehåll i enligt gällande nationella och lokala reglerings föreskrifter.
- Använd lämpliga skyddskläder, -handskar och -glasögon/ansiktsskydd vid hantering av kitets innehåll.
- Tvätta händerna grundligt efter hantering.
- För ytterligare information om farosymboler, säkerhet, hantering och bortskaffande av delarna som ingår i denna sats, hänvisas till säkerhetsdatabladet (SDS) på [quidel.com](http://quidel.com).

## FÖRVARING

Förvara kitet vid en temperatur på 2 °C til 8 °C. Förvara oanvända reagenser vid en temperatur på 2 °C til 8 °C. Förvara 1x tvättbuffert (10X spädning) vid en temperatur på 18 °C til 28 °C.

## INDIKATIONER PÅ REAGENSINSTABILITET ELLER FÖRSÄMRING

Grumlighet, missfärgning eller obehaglig lukt kan vara tecken på reagensinstabilitet eller -försämring. Kassera i så fall reagensen.

## PROVTAGNING OCH PROVBEREDNING

Osteocalcin i serumprover eller EDTA-plasmaprover har rapporterats vara känsligt för proteolys. Vi rekommenderar att blod förvaras vid en temperatur på 2 °C til 8 °C direkt efter provtagningen och under behandlingen. Serum ska behandlas och frysas vid en temperatur på ≤ -20 °C inom 4 timmar från provtagningen. Om provtagningen och behandlingen utförs vid rumstemperatur måste serum behandlas och testas eller frysas (≤ -20 °C) inom 2 timmar från provtagningen. Serum ska frysas vid en temperatur på ≤ -70 °C för förvaring under en längre tid än en månad.

Tina frusna (≤ -70°C) prover snabbt i 37°C-vattenbad tills det precis tinat. Lägg tinade prover omedelbart på is (i högst fyra timmar). **Låt inte proverna ligga kvar i 37°C.** Tina inte prover i rumstemperatur eller vid 4°C. Frusna prover ska testas så snart som möjligt efter upptining. Upprepad infrysning och upptining rekommenderas ej. Om prover måste frysas om för ytterligare analys, föreslår Quidel att man fryser in multipla aliquoter av proverna för att förhindra upprepade infrysnings-/upptiningscykler.

## FÖRBEREDANDE AV REAGENS

**Alla reagenser ska temperaturutjämnas till 20 °C til 25 °C före användning.**

### Remсор med beläggning

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

### Tvättbuffert

Bered erforderad mängd 1x tvättbuffert (se tabell) genom att späda 10x tvättbuffert 1:10 med avjoniserat vatten. Förvara vid 18 °C til 28 °C. Använd 1x tvättbufferten inom 21 dagar från beredningen.

### Enzymkonjugat

Bered enzymkonjugat högst två timmar innan det ska användas. Rekonstituera alla flaskor med enzymkonjugat (se tabellen) med 10 ml 1X-tvättbuffert. Låt pillret lösas upp helt och hållet.

### Osteocalcinstandarder och -kontroller

Rekonstituera standarderna och kontrollerna inom 1 timme från användningstillfället med 0,5 ml 1x tvättbuffert. Vänta minst 15 minuter så att pillret hinner lösa sig helt. Rekonstituerade standarder och kontroller ska inte förbli vid en temperatur på 20 °C til 25 °C i mer än 2 timmar. Frysa återstående standarder och kontroller vid en temperatur på ≤ -20 °C. Frysa/tina inte mer än 4 gånger.

## Arbetssubstratlösning

Bered arbetssubstratlösningen högst en timme innan den ska användas. Lägg en substrattablett i varje flaska substratbuffert vid 20 °C til 25 °C (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.

## ANALYSPROCEDUR

**Läs hela produktbladet innan analysen påbörjas.**

*Beredning av reagenser och material.*

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
Enzymkonjugat (flaska)	1	1	2*	2*
Substrat (flaska)	1	1	2*	2*
1X tvättbuffert (ml)	100	150	200	300

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

## Prov/anti-osteocalcininkubering

1. Bered erforderad mängd 1x tvättbuffert (se tabell) genom att späda 10x tvättbuffert 1:10 med avjoniserat vatten. Förvara vid 18 °C til 28 °C. Använd 1x tvättbufferten inom 21 dagar från beredningen.
2. Rekonstituera standarderna och kontrollerna inom 1 timme från användningstillfället med 0,5 ml 1X tvättbuffert. Vänta minst 15 minuter så att pillret hinner lösa sig helt. Rekonstituerade standarder och kontroller ska inte förbli vid en temperatur på 20 °C til 25 °C i mer än 2 timmar. Frys återstående standarder och kontroller vid en temperatur på  $\leq -20$  °C. Frys/tina inte mer än 4 gånger.
3. Ta ut Stripwell-ramen och det antal remsor med beläggning som behövs från förpackningen (se tabellen). Förpackningar med oanvända remsor måste återförslutas helt.
4. Placera önskat antal belagda remsor i Stripwellramen alldeles innan de ska användas. Märk remsorna för att undvika att de blandas ihop om de av misstag tas bort från Stripwell-ramen.
5. Tillsätt 25  $\mu$ L standard, kontrollvätska eller prov i varje brunn på remsorna med beläggning. Detta steg ska slutföras inom 30 minuter.
6. Tillsätt 125  $\mu$ L anti-osteocalcin till varje brunn och inkubera i 2 timmar ( $\pm$  10 minuter) vid en temperatur på 20 °C til 25 °C.
7. Bered enzymkonjugatet under inkuberingen. Rekonstituera alla flaskor med enzymkonjugat (se tabellen) med 10 ml 1x tvättbuffert. Låt pillret lösas upp helt och hållet. Använd inom 2 timmar.

## Tvättsteget (1)

8. Vänd/töm remsorna för hand. Tillsätt minst 300  $\mu$ L 1X tvättbuffert i varje brunn och vänd/töm remsorna för hand. Upprepa ytterligare två gånger (totalt tre tvättningar). Torka av remsorna ordentligt på pappershandukar efter den sista tvättningen.

## Enzymkonjugatinkubering

9. Tillsätt 150  $\mu$ L rekonstituerat enzymkonjugat i varje brunn.
10. Inkubera 60 ( $\pm$  5 minuter) vid en temperatur på 20 °C til 25 °C.
11. Bered arbetssubstratlösningen under inkuberingen. Lägg en substrattablett i varje flaska substratbuffert (se tabellen). Låt tablettens lösas upp i 30-60 minuter. Skaka flaskan/flaskorna kraftigt så att lösningen blandas helt. Använd inom en timme.

## Tvättsteget (2)

12. Vänd/töm remsorna för hand. Tillsätt minst 300 µL 1X tvättbuffert i varje brunn och vänd/töm remsorna för hand. Upprepa ytterligare två gånger (totalt tre tvättningar). Torka av remsorna ordentligt på pappershandukar efter den sista tvättningen.

## Substratinkubering

13. Tillsätt 150 µL arbetssubstratlösning i varje brunn.
14. Inkubera i 35-40 minuter vid en temperatur på 20 °C till 25 °C.  
**Notera:** Om temperaturen inte kan hållas mellan 20 °C och 25 °C, och absorbanser under 2,0 inte är kompatibla med plattläsaren, ska substratets utveckling i standard A-brunnarna övervakas. När den optiska densiteten når 1,5 ska reaktionen stoppas och remsorna avläsas.

## Stopp/avläs

15. Tillsätt 50 µL stopplösning till varje brunn för att stoppa reaktionen.
16. Avläs den optiska densiteten vid 405 nm. Kontrollera att det inte finns några stora bubblor i brunnarna och att remsornas undersidor är rena. Remsorna ska avläsas inom **15 minuter** från det att stopplösningen tillsatts.
17. Använd kvantitativ programvara, som använder en kurvpassningsekvation med 4-parameterkalibrering för att analysera testresultat från MicroVue Osteocalcin.

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

18. Avgör koncentrationen i prover och kontrollvätskor från standardkurvan. Späd prover som är större än 32 ng/ml i 1X tvättbufferten och testa om. Ta med spädningsfaktorn i beräkningen. Kontrollvärdena ska ligga inom det område som anges i det medföljande analyscertifikatet.

## KVALITETSKONTROLL

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

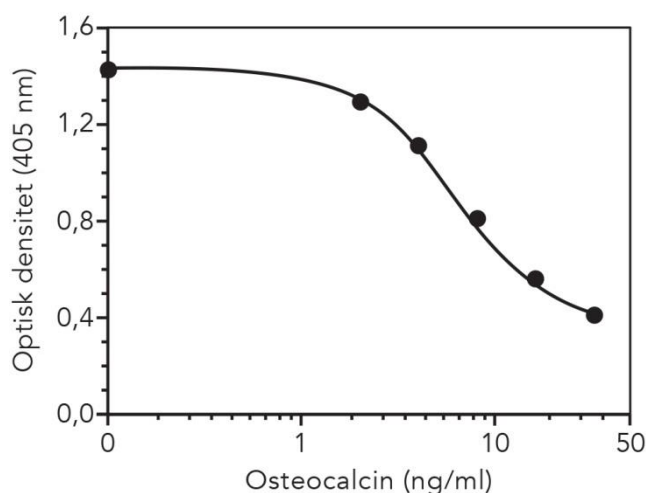
Kvalitetskontrollområden medföljer. Kontrollvärdena är avsedda att bekräfta kurvans och testresultatets giltighet. Varje laboratorium ska upprätta egna parametrar för vad som är acceptabla analysvärden. Om kontrollvärdena INTE ligger inom laboratoriets acceptansgränser, ska analysresultaten ifrågasättas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

Om den optiska densiteten för MicroVue osteocalcin-standard A är mindre än 0,8 ska resultatet ifrågasättas och proverna bör upprepas.

## RESULTATTOLKNING

Testresultat uttrycks i ng/ml och behöver **inte** korrigeras för utspädning (om inte provet späddes före testet).

## Representativ standardkurva



## EXEMPELVÄRDEN

Vid vårt test av 140 vuxna personer över 25 år låg de värden som erhöles med kit MicroVue osteocalcin mellan 3,7 och 10,0 ng/ml.

Värdena kan påverkas av sådana faktorer som låg östrogenproduktion, lågt kalciumintag eller låg fysisk aktivitetsnivå. Östrogenbrist hos postmenopausala kvinnor kan leda till förhöjd benresorption. Varje laboratorium bör fastställa egna referensområden.

## TESTPRESTANDA

### Antikroppsificitet

Den monoklonala antiosteocalcinantikroppen togs upp mot nötkreatursosteocalcin, som uppvisar en betydande homologi med humant osteocalcin. Denna antikropp antas vara konformationellt beroende och bör därför endast känna igen intakt (*de novo*) osteocalcin, och inte fragment från resorberad benvävnad.

	% reaktivitet
Humant intakt osteocalcin	100
Intakt nötkreatursosteocalcin	100
Reducerat, alkylaterat osteocalcin	ND
C-terminalosteocalcinfragment	ND
N-terminalosteocalcinfragment	ND

ND = ej detekterat (not detected)

### Detekteringsgränser

MicroVue osteocalcinanalysens minsta analytiska avkänningsgräns är 0,45 ng/ml, vilket avgörs av den övre 3-SD-gränsen i en studie med nollstandard.

### Precision

Precisionen inom körningar och mellan körningar bestämdes genom analys av tre serumprover. Typiska resultat visas nedan.

Osteocalcin (ng/ml)	CV % inom körning <sup>1</sup>	CV % mellan körningar <sup>2</sup>
6,2	10,0	9,8
7,4	4,8	4,8
16,5	8,0	7,6

<sup>1</sup> n = 22 upprepningar    <sup>2</sup> n = 3 i 3 tester

## 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. 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**







MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germany



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

**PI8002000SV00 (10/17)**

## ORDLISTA

---

**REF**

Katalognummer



CE-märkning om överensstämmelse

---

**EC REP**

Auktoriserad representant inom europeiska gemenskapen

**LOT**

Satskod

---



Använd före



Tillverkare

---



Temperaturbegränsning



Avsedd användning

---



Konsultera e-märkning bruksanvisning

**IVD**

För *in vitro*-diagnostik

---



Innehållet räcker till 96 bestämningar

**CONT**

Innehåll/innehåller

---

**CONTROL**

Kontroll

---