

En immunanalyse til kvantificering af pyridinium (PYD)-tværbindinger i human urin

Til *in vitro* diagnostisk brug.

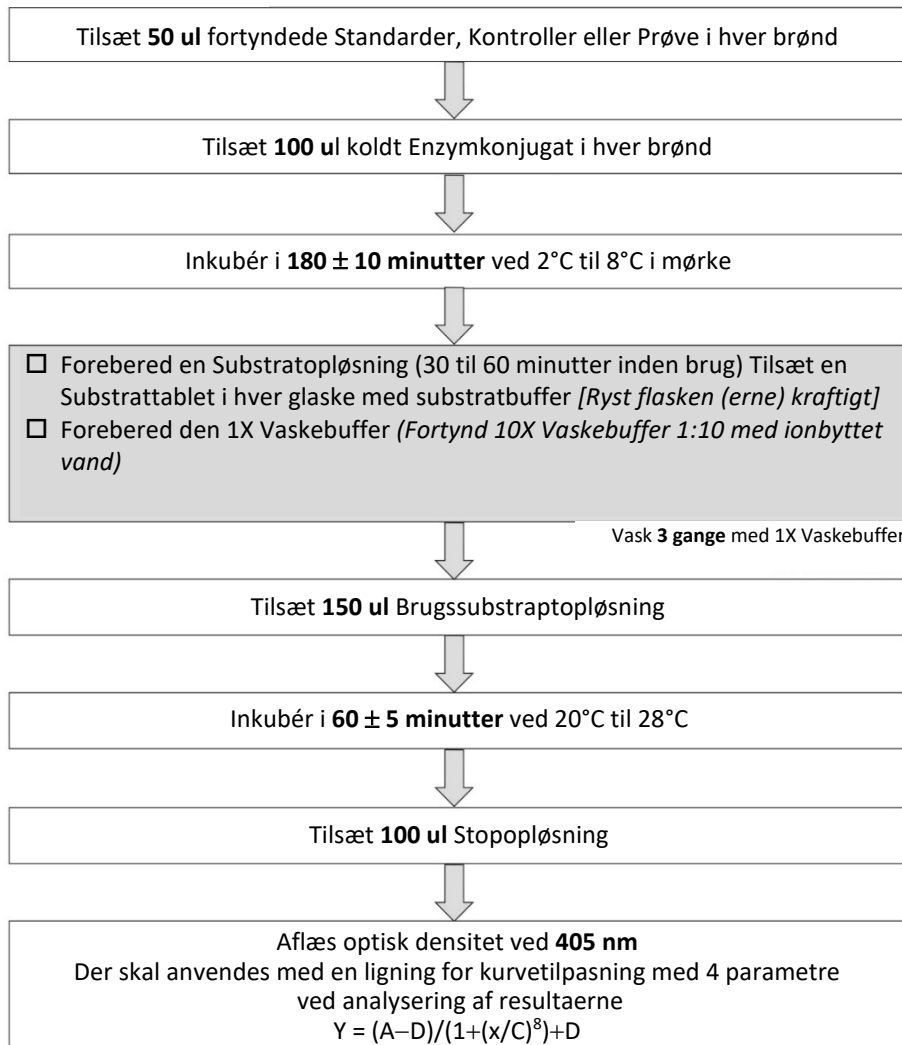
Der kan findes en ordliste over symboler på quidel.com/glossary.

OPSUMMERING

Klargøring af Reagens, Standarder, Kontroller, og Prøveeksemplar

- Forebered Enzymkonjugat med Analysebuffer; opbevar ved 2°C til 8°C. (7 ml koldt Analysebuffer på hvert hætteglas med enzymkonjugat.)
- Fortynd Prøver, Standarder og Kontroller 1:10 med Analysebuffer (f. eks. 50 ul Prøve + 450 ul Analysebuffer).

Analyseprocedure





TILSIGTET ANVENDELSE

MicroVue PYD er en urinanalyse til kvantitativ måling af ekskretion af pyridinium-tværbindinger som en indikator for kollagen type 1 resorption, især knoglekollagen.

OPSUMMERING OG FORKLARING

Ca. 90% af den organiske matrix for knoglemasse er kollagen type I, et helisk tripleprotein.¹ Type I kollagen fra knogler er tværbundet af specifikke molekyler, som giver styrke og rigiditet. Tværbindinger af moden kollagen type I i knogler er pyridinium-tværbindingerne, pyridinolin (PYD) og deoxypyridinolin (DPD).^{1,2} PYD og DPD dannes ved enzymaktiviteten i lisyloxidase på aminosyren lysin.³ De udskilles og indsættes i cirkulationen under knogleresorptionsprocessen.²⁻⁵ Pyridinium udskilles umetaboliseret i urin og er upåvirket af kosten,⁶ hvilket gør sådanne velegnede til evaluering af resorption.

Knogler gennemgår til stadighed en metabolisk proces, der hedder remodellering.^{2,7} Denne indbefatter en nedbrydningsproces – knogleresorption - der formidles af aktiviteten i osteoclaster, og en opbygningsproces – knogledannelsen - der varetages af aktiviteten i osteoblasterne.^{2,7} Remodellering er en nødvendig proces til opretholdelse af knoglemassen samt til varetagelse af knoglens generelle sundhed og er en nøje sammenkædning, hvor resorption og knogledannelse er i balance.⁷ I abnorme tilstande i knoglemetabolismen bliver denne proces ukoordineret, hvorved resorptionen overskrider knogledannelsen, så der foregår et nettosvind af knoglesubstans.⁷ Målingen af de specifikke nedbrydningsprodukter af knoglematrix, leverer de analytiske data vedr. knoglens metabolisme eller "omsætnings hastighed".^{2,4,5}

Osteoporose er en metabolisk knoglesygdom, der er karakteriseret ved abnorm remodellering af knogler. Det er en systemisk knoglesygdom, der er karakteriseret ved en lav knoglemasse og mikroarkitektonisk nedbrydning af knoglevævet med en tilhørende stigende modtagelighed for pådragelse af fraktur.⁸ Den mest almindelige form for osteoporose forekommer i postklimakterielle kvinder som følge af den østrogenmangel, der skyldes ophøret af den ovariale funktion.⁷ Gendannelsen af det præklimakterielle østrogenniveau ved hjælp af substitutionsterapi forhindrer knoglesvind og osteoporose.⁷⁻⁹ Østrogener og en gruppe kemiske forbindelser kaldet bisfosfonater er antiresorptive behandlinger til forebyggelse af tab af knoglesubstans eller til behandling af osteoporose.^{7,10} Osteoporose kan også være et resultat af, at der i opvækstårene er dannet en utilstrækkelig maksimal knoglemasse (peak bone mass), en aldersrelateret ubalance i knoglernes remodellering med en forhøjet nettoresorption og en række kliniske tilstande og terapier, som medfører knogletab eller ubalance i knoglernes remodellering.⁷ Disse omfatter endokrine lidelser, f.eks. hypogonadisme, hyperthyroidisme, hyperparathyroidisme og hyperkortisolisme, gastrointestinale lidelser med relation til ernærings- og mineralmetabolismen, systemiske bindevævssygdomme, multipel myeloma; kronisk immobilisering, brug af tobak eller alkohol og kronisk behandling med heparin eller binyrebarkhormoner (kortikoider).⁷ Andre sygdomme, der er kendte ved abnorm remodellering af knogler, omfatter Pagets sygdom og rmetastaser til knoglerne.³

Til MicroVue PYD-analysen anvendte man teknologi for at producere et monoklonalt antistof, der udviser specificitet for pyridinium-tværbindinger.¹¹ Specificiteten for det monoklonale antistof, der anvendes i MicroVue PYD-analysen muliggør en enkel, hensigtsmæssig, reproducerbar og direkte kvantificering af PYD og DPD i urin.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue -PYD er en kompetitiv enzym-immunanalyse i mikrotiter-strip-format, der anvender et monoklonalt anti-pyridinium tværbundet antistof til måling af PYD og DPD i urin. PYD og DPD i prøven konkurrerer om antistoffet med PYD, der er coatet på strippe. Reaktionen påvises ved hjælp af et pNNP-substrat. MicroVue PYD-resultater justeres for urinkoncentration ved hjælp af kreatinin.

ANVENDTE MATERIALER OG REAGENSER

96 Analyser for pyridinium-tværbindinger

MicroVue -PYD EIA-kit indeholder følgende:

A	Pyridionolinstandarder	Dele 4251-4256	0,3 ml hver
B	PYD renset fra humant urin i 10 mmol/l fosforsyre indeholdende natriumazid (0,05%) som		
C	konserveringsmiddel		
D			
E			
F			
L	Lave kontroller	Delene 4257	0,3 ml hver
	PYD renset fra humant urin i 10 mmol/l fosforsyre indeholdende natriumazid (0,05%) som		
	konserveringsmiddel		
H	Høje kontroller	Delene 4258	0,3 ml hver
	PYD renset fra humant urin i 10 mmol/l fosforsyre indeholdende natriumazid (0,05%) som		
	konserveringsmiddel		
1	Coatede strips	Del 4668	12 hver
	PYD renset fra bovin knoglesubstans adsorberet på Stripwells		
2	Stopopløsning	Del 4702	15 ml
	0,5N NaOH		
3	10X vaskebuffer	Del 4703	55 ml
	Nonion-aktivt vaskemiddel i en bufferopløsning indeholdende natriumazid (0,05%) som		
	konserveringsmiddel		
4	Analysebuffer	Del 4704	55 ml
	Nonion-aktivt vaskemiddel i en bufferopløsning indeholdende natriumazid (0,05%) som		
	konserveringsmiddel		
5	Substrate Buffer	Part 4705	3 x 10 mL
	En diethanolamin- og magnesiumkloridopløsning indeholdende natriumazid (0,05%) som		
	konserveringsmiddel		
6	Substrattabletter	Del 0012	3 x 20 mg
	p-Nitrophenylfosfat		
7	Enzymkonjugat	Del 4250	3 hver
	Frysetørret murin-monoklonalt anti-pyridinium tværbundet antistof konjugeret til alkalinfosfatase		
	indeholdende buffersalte og stabilisatorer		
	Pladedæktape	Del 0047	3 hver

NØDVENDIGE, IKKE LEVEREDE MATERIALER

- Mikropipetter til afgivelse af 50 µl til 300 µl
- Egnede enheder til væskemåling af 7 ml til 300 ml
- Beholder til vaskebufferfortynding
- Glas til prøvefortynding, standarder og kontroller
- Demineraliseret eller destilleret vand
- Pladelæser, der kan aflæse ved 405 nm
- Kurvetilpasningssoftware med 4 parametre til kvadratisk kalibrering
- Kreatininværdier (mmol/l) for urinprøver

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Til *In vitro* diagnostisk brug.
- Prøverne skal behandles som potentielt biologisk farlige materialer. Følg universelle sikkerhedsforanstaltninger ved håndtering af dette kit og alle patientprøver.
- Brug de leverede reagenser som en integreret enhed inden udløbsdatoen på pakkemærkatens.
- Opbevar analysereagenserne som anvist.
- Brug ikke coatede strips, hvis posen er punkteret.
- Test hver prøve i to eksemplarer.
- 0,5N NaOH anses for at være ætsende og kan medføre irritation af hud. Må ikke indtages. Undgå kontakt med hud, øjne og tøj. Hvis der sker kontakt, skylles med vand. Ved indtagelse tilkaldes læge.
- Natriumazid anvendes som konserveringsmiddel. Tilfældig kontakt med eller indtagelse af buffer indeholdende natriumazid, kan medføre irritation af hud, øjne eller mund. Brug kun buffer til det aktuelle formål, og undgå kontakt med syrer. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberinstallationer og danne yderst eksplosive 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.
- Standarder og kontroller opbevares i 10 mmol/l fosforsyre. Undgå kontakt med hud, øjne og tøj. Må ikke indtages. Hvis der sker kontakt, skylles med vand. Ved indtagelse tilkaldes læge.
- Brug af pipetter med flere kanaler eller genbrugspipetter anbefales for at sikre en punktlig tilsætning af reagenser.
- Tilsæt prøver og standarder præcist for at sikre en nøjagtig prøveudmåling. Foretag omhyggelig afpipettering og kun ved hjælp af kalibreret udstyr.
- Mikrobrøndene må ikke anvendes til mere end én test.
- Anvendelse af andre inkuberingstider og -temperaturer end dem, der er anført i afsnittet *ANALYSEPROCEDUREN*, kan medføre fejlagtige resultater.
- MicroVue Pyridionolinstandarderne, kontrollerne, coatede strips og urinprøver er lysfølsomme. Udgå at udsætte disse for lys gennem længere tid, især direkte eller indirekte sollys. Opbevar reagenserne i mørke, når de ikke er i brug. Prøver og reagenser påvirkes ikke væsentligt af almindelig, kunstig laboratoriebelysning, når de håndteres direkte, som anvist i *ANALYSEPROCEDUREN*.
- Mikrobrøndene må ikke tørre, når analysen er begyndt.
- Undgå at skrabe eller berøre brøndenes bund, når væsken fjernes fra mikrobrøndene.
- En vaskeflaske eller et automatisk fyldningsudstyr skal bruges til vask af pladen (*ANALYSEPROCEDUREN*, Trin 8). Brug, for at få de bedste resultater, ikke en multikanalpipette til vask af mikroanalysepladen.
- Denne analyse er valideret til manuel vaskning.
- 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.

KLARGØRING AF REAGENS

Vaskebuffer – Se procedurebemærkningen i afsnittet *ANALYSEPROCEDUREN*.

Præparer den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel i afsnittet *ANALYSEPROCEDUREN*) ved at fortynde 10X vaskebufferkoncentrat 1:10 med demineraliseret vand. Opbevar ved 20°C til 28°C. Brug 1X vaskebuffer inden for 21 dage efter præparering.

Særlige vaskeanvisninger: Præparer 1X vaskebuffer, som nævnt ovenfor, og opbevar ved 2°C til 8°C, indtil brug.

Enzymkonjugat

Præparer enzymkonjugat inden for 2 timer efter brug. Rekonstituer hvert nødvendigt prøveglas med enzymkonjugat (se tabel) med 7 ml kold analysebuffer. Opbevar rekonstitueret enzymkonjugat ved 2°C til 8°C indtil brug.

Brugssubstratopløsning

Substratbufferen skal være 20°C til 28°C, inden analysen påbegyndes. (Mellem to timer og natten over anbefales). Præparer en brugssubstratopløsning inden for en time inden brug. Tilsæt en substrattablet i hver flaske med substratbuffer, der har 20°C til 28°C (se tabel). Lad tabletten (erne) opløses i 30 til 60 minutter. Ryst flasken (erne) heftigt for at foretage fuldstændig opblanding.

OPBEVARING

Opbevar kittet ved 2°C til 8°C.

Opbevar ubrugte reagenser ved 2°C til 8°C.

Opbevar 1X vaskebuffer (10X fortyndet) ved 20°C til 28°C.

PRØVEUDTAGNING OG -OPBEVARING

MicroVue PYD-analysen kan udføres ved at benytte en urinprøve, der stammer fra den konserveringsmiddelfri først afgivne morgenurin eller den anden afgivne morgenurin. Længdeprøver (f.eks. ved måling af ændringer i resorption) skal indsamles på ca. samme tidspunkt hver dag. Opbevar urinprøven i køleskab (2°C til 8°C) i maks. 7 dage, eller frys prøven ved ≤ -20°C for længere opbevaring. Udsæt ikke prøven for mere end 3 fryse-/optøningscykler. Udgå at udsætte prøven for lys gennem længere tid, især sollys. Under den rutinemæssige forarbejdning påvirkes prøverne ikke af normal, kunstig laboratoriebelysning.

ANALYSEPROCEDUREN

Læs hele indlægssedlen inden analysen startes.

Se *KLARGØRING AF REAGENS*, inden du fortsætter.

PROCEDUREBEMÆRKNING: MicroVue PYD-analysen er sensitiv over for diverse vaskeforhold. Hele vasketrinnet skal afvikles inden **for 2 minutter**. Hvis vasketrinnet **IKKE kan afvikles inden for to minutter**, **følg de Særlige vaskeanvisninger i afsnittene *KLARGØRING AF REAGENS* og *Vasketrin***.

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

antal strips	4	6	8	12
antal prøver (testet i to eksemplarer)	8	16	24	40
Enzymkonjugat (prøveglas)	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, skal indholdet kombineres og blandes inden brug.

Inkubation af prøve-/enzymkonjugat

- Fortynd prøver, standarder og kontroller 1:10 med analysebuffer (f.eks. 50 µl prøve + 450 µl analysebuffer).
- Fjern Stripwell-holderen, og udtag det nødvendige antal coatede strips fra posen (se tabellen). Forvis dig om, at posen, der indeholder evt. ubrugte strips, lukkes fuldstændigt igen.
- Anbring det ønskede antal coatede strips i Stripwell-holderen. Navngiv stripsene for at forhindre en sammenblanding i tilfælde af, at de utilsigtet fjernes fra Stripwell-holderen.
- Tilsæt 50 µl fortyndet standard, kontrolvæske eller prøvesubstans i hver brønd med de coatede strips. Dette trin skal afsluttes inden for 30 minutter.

5. Præparer enzymkonjugat inden for 2 timer inden brug. Rekonstituer hvert nødvendigt prøveglas med enzymkonjugat (se tabel) med 7 ml kold (2°C til 8°C) analysebuffer. Opbevar rekonstitueret enzymkonjugat ved 2°C til 8°C indtil brug.
6. Tilføj 100 µl rekonstitueret enzymkonjugat i hver brønd. Dæk stripsene til med den vedlagte dæktape. Inkuber i 3 timer (± 10 minutter) ved 2°C til 8°C. Denne inkubation skal udføres i mørke.
7. Præparer en brugssubstratopløsning inden for en time inden brug. Tilsæt en substrattablet i hver flaske med substratbuffer, der har 20°C til 28°C (se tabel). Lad tablettens (erne) opløses i 30 til 60 minutter. Ryst flasken (erne) heftigt for at foretage fuldstændig opblanding.

Vasketrin

8. Præparer den nødvendige mængde 1X vaskebuffer (se tabel) ved at fortynde 10X vaskebuffer 1:10 med demineraliseret vand. Inverter/tøm stripsene manuelt (fra trin 6). Tilsæt mindst 250 µl 1X vaskebuffer i hver brønd og inverter/tøm stripsene manuelt. Gentag tre gange mere, så vaskeproceduren foretages tre gange i alt. Tør stripsene grundigt med papirservietter efter den sidste vask. Mens stripsene inverteres, tørres bunden af dem omhyggeligt med en fnugfri papirserviet for at sikre, at den er tør.

Særlige vaskeanvisninger: Udfør vasketrinnet efter ovenstående anvisninger ved hjælp af kold (2°C til 8°C) 1X vaskebuffer. Efter sidste vask skal stripsene have lov til at dryppe af i 5 til 10 minutter på papirservietterne, inden tilsætning af substrat.

Substratinkubation

9. Tilsæt 150 µl brugssubstratopløsning i hver brønd.
10. Inkuber i 60 minutter (± 5 minutter) ved 20°C til 28°C.

BEMÆRKNING: Hvis der ikke kan opretholdes en stuetemperatur mellem 20°C til 28°C, og en absorbans på > 2,0 ikke er forenelig med pladelæseren, overvåges udviklingen af substrat i standard A Stripwells; stop reaktionen, når den optiske densitet når 1,2 til 1,5; aflæs derefter stripsene.

Stop/aflæs

11. Tilsæt 100 µl stopopløsning i hver brønd. Tilsæt stopopløsning efter det samme mønster og tidsinterval som ved tilsætning af substratopløsning.
12. Aflæs den optiske densitet ved 405 nm. Sørg for, at der ikke er store bobler i brøndene, og at bunden på stripsene er rene. Stripsene skal aflæses inden for **15 minutter** efter tilsætning af stopopløsningen.
13. Der kan anvendes kvantificeringssoftware med en ligning for kurvetilpasning med 4 parametre ved analysering af analyseresultaterne for MicroVue PYD-analysen.

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

14. Bestem koncentrationen af prøver og kontroller fra standardkurven.
 - a. Fortynd prøver, der resulterer i værdier, der er større end den højeste standard kontrol i analysebuffer, og test igen. Inkluder fortyndingsfaktoren i den endelige beregning.
 - b. 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 dit laboratorium stort set er identiske med de resultater, Quidel Corporation selv er nået frem til. De optiske densitetsværdier er opgivet i leverancen og skal kun opfattes som vejledende. Resultater opnået i dit laboratorium kan variere.

Der er diverse kvalitetskontrolområder til rådighed. Kontrolværdierne skal 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.

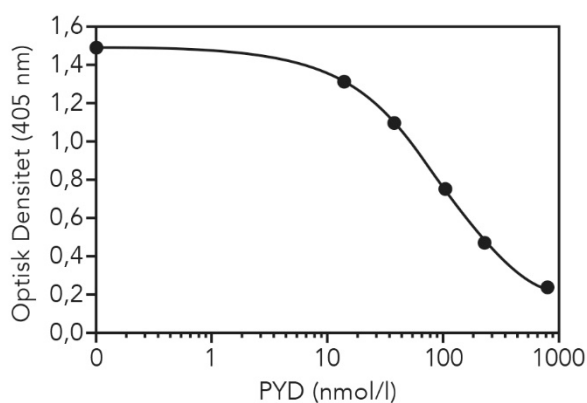
Hvis den optiske densitet for MicroVue PYD Standard A er mindre end 0,8, anses prøverne for tvivlsomme, hvorefter prøverne bør gentages.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Resultater opnået på basis af MicroVue PYD-analysen skal korrigeres for variationer i urinkoncentration ved at dividere pyridinium-tværbindingstværværdien (nmol/l) med kreatininværdien (mmol/l) for hver prøve (kreatinin mg/dl x 0,088 = mmol/l). De endelige MicroVue PYD-resultater udtrykkes som nmol PYD & DPD/mmol kreatinin.

Repræsentativ standardkurve

PYD standardniveauer: 0, 15, 40, 100, 250, 750 nmol/l



PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Da MicroVue PYD anvendes som en indikator for knogleresorption af kollagen type I, omfatter den etablerede brug af denne test ikke forudsigelse af udviklingen af osteoporose eller risikoen for fremtidige frakturer. Denne test er ikke etableret til brug i klimakteriet, Pagets knoglesygdom, primær hyperparathyroidisme eller hyperparathyroidisme. Resultaterne kan muligvis konfundes i patienter med kliniske lidelser, der vides at påvirke knogleresorption, f.eks. knoglemetastaser tillige med ovennævnte sygdomme og lidelser. MicroVue PYD-resultaterne bør fortolkes sammen med kliniske undersøgelsesresultater og andre diagnostiske resultater.

PRØVEEKSEMPLAR VÆRDIER

Der er etableret referenceområder for MicroVue PYD for raske mænd (n = 118) og raske præklimakterielle kvinder (n = 301) over 25 år. Ved udarbejdelsen af referenceområdernes rammer blev normale individer defineret som:

- Grundlæggende raske individer uden knogle-, endokrine, eller kroniske lidelser.
- Normale menstruationscykler (kvinder)
- Ikke gravide eller ammende (kvinder)
- Individer, der ikke aktuelt indtager medicin, der vides at påvirke knoglemetabolismen (f.eks. kortikoider, GnRH analoger, krampestillende midler, heparin, skjoldbruskkirtelmedicin).

Værdierne kan påvirkes af faktorer som lav østrogendannelse, lavt calciumindtag, lavt fysisk aktivitetsniveau eller sygdomme, der vides at påvirke knoglemetabolismen, f.eks. osteoporose, Pagets sygdom, hyperparathyroidisme, hyperthyroidisme og knoglemetastaser. Østrogenmangel i postklimakterielle kvinder kan medføre forhøjet knogleresorption. Det anbefales, at det præklimakterielle

referenceområde anvendes til fortolkning af resultaterne i postklimakterielle kvinder. Hvert laboratorium bør etablere sit eget normalreferenceområde. Områderne betegnes som nonparametriske referenceintervaller (90% CI).

Køn	Område (nmol/mmol)	Gennemsnit (nmol/mmol)	SD (nmol/mmol)
Kvinder	16,0 til 37,0	25,5	7,5
Mænd	12,8 til 25,6	18,5	4,4

Den forventede variation inden for individet blev bestemt på basis af urinprøver fra 49 raske individer (26 præklimakterielle kvinder og 23 mænd), der blev indsamlet på fem vilkårlige dage over en to ugers periode. Gennemsnittet for den individuelle længdevariation inden for individet var 15%. Variationen mellem individer er illustreret i de nonparametriske referenceintervaller, der er vist ovenstående.

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

Antistofspecifitet

Det monoklonale antipyridinium tværbundne antistof har en selektiv, høj affinitet for frit PYD og DPD og en ringe binding til PYD og DPD-peptider.

	% Reaktivitet
Frit PYD	100%
Frit DPD	100%
PYD/DPD-peptider \geq 1000 MW	< 2,5%

Sensitivitet

Minimumsgrænsen for påvisning på basis af MicroVue PYD-analysen er 7,5 nmol/l, der bestemmes af den øvre 3 SD-grænse i et standardstudium med en standard på nul.

Genopretning fra maksimum

Værdien efter genopretning fra maksimumsværdien blev bestemt ved at tilsætte en kendt mængde rensat PYD i urinprøver med forskellige niveauer af endogent PYD. Typiske resultater er angivet herunder.

Prøve	Endogent (nmol/l)	Tilsat (nmol/l)	Observeret (nmol/l)	Genopretning (%)
1	16,7	68,2	84,1	99
2	71,0	68,2	140,8	102
3	141,0	68,2	215,5	109

Genopretningslinearitet

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

Prøve	Fortyndingsfaktor	Observeret (nmol/l)	Forventet (nmol/l)	Genopretning (%)
1	ufortyndet	261,6	–	–
	1:2	127,8	130,8	98
	1:4	59,9	65,4	92
	1:8	31,1	32,7	95
2	ufortyndet	382	–	–
	1:2	183,2	191,0	96
	1:4	90,4	95,5	95
	1:8	57,9	57,1	95
3	ufortyndet	412,3	–	–
	1:2	199,0	206,2	96
	1:4	98,2	103,1	95
	1:8	47,8	54,5	98

Præcision

Præcision inden for kørsler blev bestemt ved 52 replikater af 3 prøver på 1 plade fra hver af 3 kitlots (i alt 3 plader). Præcision mellem kørsler blev bestemt ved 3 prøver på 8 separate plader fra hver af 3 kitlots (i alt 24 plader). Prøverne vist herunder repræsenterer en række nmol/l værdier. For en kvinde med et kreatinin på 5,0 mmol/l, repræsenterer prøverne 1 til 3 henholdsvis lav normal, høj normal og forhøjet resorption (13,2 nmol/mmol, 32,0 nmol/mmol og 81,4 nmol/mmol).

PYD (nmol/l)	Under kørsel ¹ C.V.%	Mellem kørsel ² C.V.%
66	9,9	11,2
160	7,0	5,8
407	6,6	3,9

¹ n = 52 ² n = 8 kørsler

KLINISKE UNDERSØGELSER

Der blev foretaget kliniske undersøgelser for at evaluere pyridium-tværbindingsniveauerne i urin ved hjælp af MicroVue PYD-analysen. Den første af disse undersøgelser blev udført ved kliniske undersøgelsescentre med deltagelse af 52 prøver fra raske frivillige deltagere og 138 prøver fra patienter med kendte knoglelidelser (f.eks. osteoporose, lægemiddel-induceret osteoporose, Pagets sygdom, hyperparathyroidisme og hyperthyroidisme). Disse sygdomme omfatter ofte en forhøjet kollagenresorption på prøvetagningstidspunktet.

I undersøgelsen blev MicroVue PYD-analysen sammenlignet med en metode for væskekromatografi (HPLC) med høj ydelse til måling af PYD.¹² HPLC-tærskelværdien blev i en undersøgelse af 84 raske voksne individer bestemt til at være 50 nmol/mmol for mænd og 60 nmol/mmol for kvinder (95% konfidensinterval som øvre grænse for begge køn). 101 af de 138 patienter med en diagnosticeret knoglelidelse havde ikke forhøjede PYD-værdier som målt ved hjælp af HPLC. PYD pyridinium tværbindingsværdierne i raske voksne varierede fra 13,7 til 49,4 nmol/mmol og i patienter lå værdierne mellem 9,8 til 135,9 nmol/mmol.

Ved hjælp af den forhøjede PYD, der blev bestemt vha. HPLC som klassifikationsmetoden, blev teknikken for modtagerdrifts karakteristika (ROC=receiver operating characteristic) benyttet til definition af en optimal

relativ sensitivitet og specificitet i den beskrevne population. Relativ sensitivitet og specificitet er angivet i tabel 1. En to gange to kontingenstabel, der angiver antallet af individer i hver klassifikation, er vist i figur 1.

Tabel 1
MicroVue PYD

Relativ sensitivitet	84%
Specificitet	82%

Figur 1

		HPLC PYD	
		Forhøjet +	Ikke forhøjet -
MicroVue PYD	+	38	26
	-	7	119

I en anden undersøgelse sammenlignedes MicroVue PYD-analyseresultaterne i en blandet population på 39 prøver fra raske individer og 99 prøver fra patienter med Pagets sygdom. Selvom Pagets sygdom repræsenterer en model til identificering af aktiv knoglekollagenresorption, var nogle af patienterne i denne undersøgelse i behandling eller var muligvis i bedring uden nødvendigvis at have forhøjet knogleresorption på prøveindsamlingsstidspunktet. I denne undersøgelse varierede værdierne for raske deltagere fra 12,8 til 33,2 nmol/mmol. Patienter med Pagets sygdom varierede fra 14,4 til 667,6 nmol/mmol.

Ved hjælp af diagnosen Pagets sygdom som klassifikationsmetode, anvendtes ROC-teknikken til at definere en optimal relativ sensitivitet og specificitet i denne population. Relativ sensitivitet og specificitet angives i tabel 2. En to gange to kontingenstabel vises i figur 2.

Tabel 2
MicroVue PYD

Relativ sensitivitet	89%
Specificitet	95%

Figur 2

		Pagets sygdom	
		Ja +	Nej -
MicroVue PYD	+	88	2
	-	11	37

ASSISTANCE

For serviceydelser uden for USA kontaktes den lokale forhandler. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på quidel.com.

REFERENCER

1. Seyedin SM, Rosen DM. Matrix Proteins of the Skeleton. *Curr.Opin.Cell Biol.* 1990;2:914-919.

2. 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.
3. Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP. Urinary pyridinium crosslinks of collagen: specific markers of bone resorption in metabolic bone disease. *Trends Endocrinol.Metab.* 1992;3:263-270.
4. Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J.Bone Miner.Res.* 1991;6:639-644.
5. Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. *J.Bone Miner.Res.* 1997;12:59-65.
6. Colwell A, Russell RG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. *Eur.J.Clin.Invest.* 1993;23:341-349.
7. Riggs BL. Overview of osteoporosis. *West.J.Med.* 1991;154:63-77.
8. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int.* 1997;7:1-6.
9. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of hormone therapy on bone mineral density: results from the postmenopausal estrogen/progestin interventions (PEPI) trial. *JAMA* 1996;276:1389-1396.
10. Chesnut CH,III, McClung MR, Ensrud KE, et al. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: Effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am.J.Med.* 1995;99:144-152.
11. Gomez B Jr, Ardakani S, Evans BJ, et al. Monoclonal antibody assay for free urinary pyridinium crosslinks. *Clin.Chem.* 1996;42:1168-1175.
12. Pratt DA, Daniloff Y, Duncan A, Robins SP. Automated analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in tissue and urine using solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal.Biochem.* 1992;207:168-175.
13. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (supplno.2S):001.

REF 8010 – MicroVue PYD 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

PI8010003DA00 (11/19)

ORDLISTE

REF

Katalognummer



CE-overensstemmelsesmærke

EC REP

Autoriseret repræsentant i EU

LOT

Batch-kode



Udløbsdato



Producent



Temperaturbegrænsning



Tilsigtet anvendelse

Rx ONLY

Receptpligtig



Se e-mærkning for
brugsanvisning

IVD

Til in vitro diagnostisk brug



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Indhold/Indeholder

CONTROL

Kontrol(prøve)
