



QUIDEL

MicroVue™ Bone

TRAP5b EIA

Et immunoassay til bestemmelse af tartrate-resistent acid phosphatase isoform 5b (TRAP5b) i human serum og plasma

Til *in vitro*-diagnostisk brug. Kun til eksport. Ikke til salg eller brug i USA eller Canada.

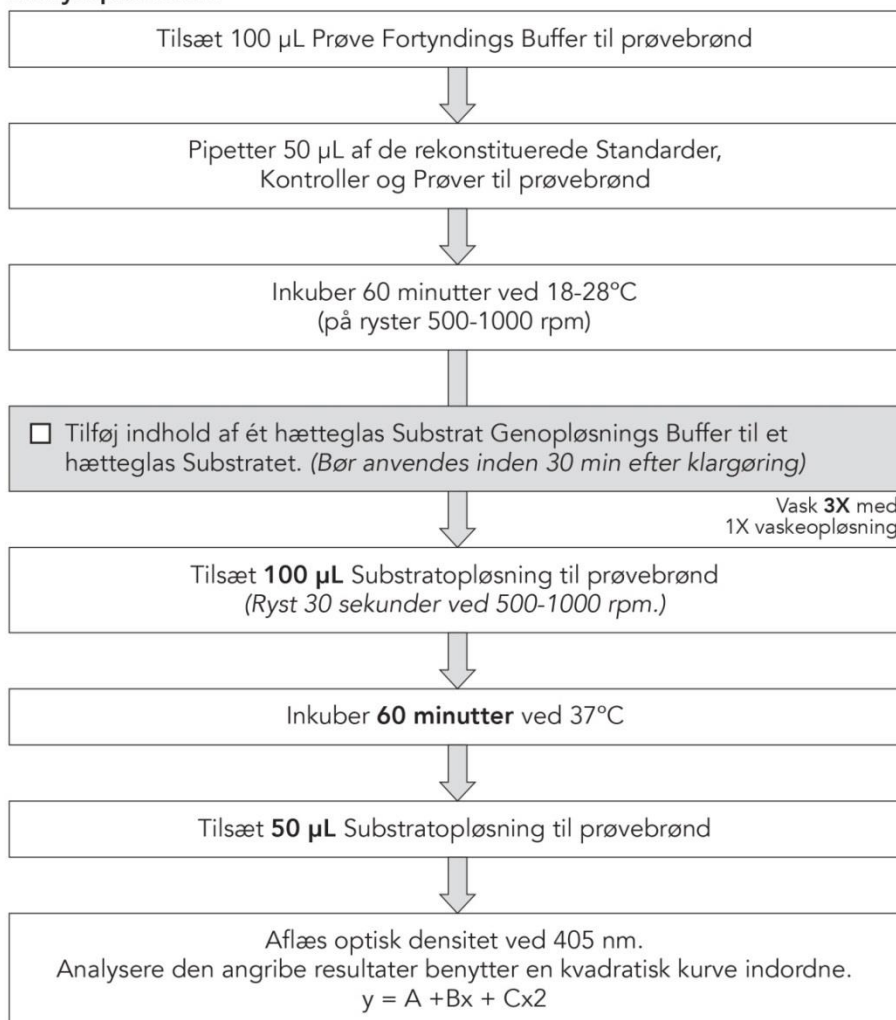
OPSUMMERING

Klargøring af Reagens og Prøveeksemplar

- Genopløs Standarder med 400 µL deioniseret vand. (Bør anvendes inden 2 timer efter klargøring)
- Genopløs Standarder med 400 µL deioniseret vand. (Bør anvendes inden 2 timer efter klargøring)
- Fortynd Vaskeopløsningskoncentrat 1:10 med deioniseret vand.

BEMÆRK: Blandes Standarder omhyggeligt med pipetter; ikke vortex.

Analyseprocedure





ANBEFALET ANVENDELSE

MicroVue TRAP5b test er et immunassay til bestemmelse af tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b (TRAcP5b). TRAP5b afgives til blodbanen af knogle-nedbrydende osteoklaster og er en indikator for osteoklast aktivitet *in vivo*. TRAP5b niveauet kan være en brugbar indikator for osteoklast aktivitet og derfor for knogle nedbrydning i primær osteoporose og andre sygdomme.¹⁻⁶

EGENSKABER

- Testen tager 2 timer
- Testen måler kun aktivt TRAP5b enzym.
- Prøverne behøver ikke for-fortynding

SAMMENFATNING OG FORKLARING

TRAP5b (serum bånd 5 tartrate-resistant acid phosphatase, TRAcP 5b; EC 3.1.3.2) er et 35-37 kDa glykoprotein. TRAP5b udtrykkes typisk proportionalt med osteoklast aktiviteten og afgives til cirkulationen. Forskning indikerer at serum TRAP5b potentielt er en anvendelig serologisk markør for knogle nedbrydning.⁹ MicroVue TRAP5b test måler TRAP5b enzym aktiviteten ved et immunassay.⁵

Forhøjede serum TRAP5b niveauer er associeret med aktiv knogle remodellering. Forhøjede serum niveauer ses under normal knogle vækst i raske børn. Forhøjede serum TRAP5b niveauer er også målt i nogle sygdomme og tilstande karakteriseret ved øget knogle nedbrydning^{1,14}. Eksempler er; Paget's sygdom, ved hemodialyse, primær hyperparathyroidisme, metastatisk cancer involverende knogle nedbrydning, multipel myeloma og bilateral ovariektomi. Postmeno-pausale kvinder på østrogen terapi har typisk lavere niveauer i serum end ubehandlede postmenopausale kvinder; derfor kan specifik bestemmelse af TRAP5b aktivitet være en potentiel metode til måling og monitorering af ændringer i knogle metabolismen som respons til behandling.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue TRAP5b test er et 2-trins, direkte 96-brønds immunoassay. Serum eller plasma prøver og genopløste standarder og kontroller pipetteres i brøndene i en coated mikrotiter plade sammen med Prøve Fortyndings Buffer.⁷⁻⁹

Naturligt forekommende, inaktive TRAP5b fragmenter i serum kan interferere med målingen af TRAP5b i fysiologiske prøver. MicroVue TRAP5b test er upåvirket af disse inaktive fragmenter idet der anvendes to forskellige monoklonale antistoffer. Disse to unikke monoklonale antistoffer, Trk49 og Trk62, er udviklet ved immunisering med oprenset TRAP5b fra humane knogle celler. Det ene antistof, Trk49, er yderst specifik for inaktive TRAP5b fragmenter; det andet antistof, Trk62, er yderst specifik for intakt, aktivt TRAP5b. Trk49 binder inaktive TRAP5b fragmenter, hvorved Trk62 bliver bedre i stand til at binde aktivt TRAP5b i brønden. TRAP5b testen er yderst specifik, har en god precision og linearitet i et stort område.

Efter immunreaktionerne, vaskes pladen for at fjerne frit materiale og det forberedte substrat, 2-chloro-4-nitrophenyl phosphate (CNPP, pH 6,4) pipetteres i brøndene. Da TRAP5b selv er et enzym, er et sekundært enzym-mærket antistof ikke nødvendigt. Efter inkubation med substratet stoppes reaktionen ved tilsætning af 0,2N NaOH og pladen læses med en mikrotiter plade læser ved 405 nm. TRAP5b aktiviteten aflæses på standardkurven, som kalkuleres med et kvadratisk kurvefit.

REAGENSER OG MEDFØLGENDE MATERIALER

40 tests af TRAP5b i dobbelbestemmelse (96 brønde)

MicroVue TRAP5b kit indeholder følgende:

A	TRAP5b Standarder	Nr 0711631-71	2 x 0,4 mL hver
B	(frysetørret) rekombinant protein består af Menneskelige TRAP5b. Den præcise koncentration er		
C	angivet på glassene.		
D			
E			
L	Kontroller	Nr. 0711681-91	2 x 0,4 mL hver
H	(frysetørret) rekombinant protein består af Menneskelige TRAP5b. Det præcise koncentrationsområde er angivet på Analyse Certifikatet.		
1	Microtiter plade	Nr. 0711611	12 stk
	12 x 8 brønde coated med murine monoklonale anti-TRAP5b antistoffer		
2	Stop Opløsning	Nr. 07116C1	12 mL
	0,2N natrium hydroxid (NaOH)		
3	10X Vaske Buffer	Nr. 07116D1	100 mL
	TBS/Tween. Indeholder 0,5% Tween® 20 og 0,02% ProClin® 300		
4	Prøve Fortyndings Buffer	Nr. 0711621	20 mL
	Tris buffer. Indeholder 0,02% ProClin 300		
5	Substrat Genopløsnings Buffer	Nr. 07116B1	2 x 12 mL
	MES buffer. Indeholder 0,02% ProClin 300		
6	Substrat	Nr. 07116A1	2 x 12 mL
	Substrat opløsning, 2-chloro-4-nitrophenyl-phosphate powder (CNPP)		
	Plade tape	Nr. 0047	3 stk

Tween® 20 er et registreret varemærke (ICI Americas Inc).

ProClin® er et registreret varemærke (Rohm and Haas Company).

NØDVENDIGE MATERIALER MEN IKKE MEDFØLGENDE

- Justerbare mikropipetter til dispensering af 50, 100, 300 µL, både enkelt og multikanal.
- Mikrotiter plade ryster, 500-1000 rpm
- Inkubator, 37°C
- Måleglas, 10-300 mL
- Distilleret vand
- Mikrotiter plade læser, 405 nm
- Computer med CD ROM drev
- Software til databehandling og kvadratisk kurvefit
- Egnet udstyr til vask af mikrotiter plader
- Pipette til dispensering af 12 mL
- Sugende materiale til tørring af mikrotiter plader ved vask

FORHOLDSREGLER

- Kun til *in-vitro* diagnostisk anvendelse.
- Behandl prøvemateriale som potentialt biologisk risikomateriale. Følg gældende regler for håndtering af biologisk risikomateriale når kittet og patient materiale håndteres.
- Brug de medfølgende varer i sammenhæng inden udløbsdatoen angivet på box etiketten.
- Opbevar kit reagenser som angivet.
- Brug ikke de coated strips (mikrotier brøndene) hvis forseglingen er brudt.

- Test hver prøve i dobbeltbestemmelse.
- Benyt handsker og beskyttelsesbriller når produktet anvendes. Iagtag god laboratorie praksis for at reducere kontakt med potentielt farligt materiale.
- 0,2 N NaOH er lokalirriterende. Må ikke indtages. Undgå kontakt med hud, øjne og beklædning. Ved kontakt afvaskes med vand. Ved indtagelse kontaktes en læge.
- Undgå kontakt med den lokalirriterende Substrat Opløsning, som indeholder CNPP. Ved kontakt vaskes huden omgående grundigt med sæbe og vand.
- ProClin 300 anvendes som konserveringsmiddel. Kontakt med eller indtagelse af opløsninger med ProClin 300 kan give irritation af hud, øjne, og mund. Søg omgående lægehjælp, hvis symptomer viser sig.
- For at sikre betimelig dispensering af reagenser anbefales brug af multikanalspipetter eller gentagelses pipetter.
- For akkurat måling af prøver bør prøver og standarder pipetteres præcist. Brug kun kalibrerede pipetter.
- Testen kan udføres med enhver valideret vaskemetode. Brug dog ikke en multikanals pipette.
- Brug standardkurve til hver test.
- Koncentration af TRAP5b i standarder og kontroller fastlægges for hvert lot. Den præcise koncentration er angivet på glasset eller på Analyse Certifikatet.
- 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. Overskydende reagens bør opbevares ved 2°C til 8°C. Under disse omstændigheder er kit reagenserne stabile indtil udløbsdatoen angivet på bos etiketten.

PRØVEUDTAGNING OG FORBEREDELSE

Serum eller plasma (heparin) kan anvendes som prøver i MicroVue TRAP5b kittet. Udtag serum ved hjælp af standardteknik for venepunktur, idet hæmolyse undgås. Lad blodet koagulere og høst serum ved centrifugering.

Prøver kan opbevares op til 8 timer ved stuetemperatur, op til 2 dage ved 2°C til 8°C, en måned ved -20°C og længere tid ved -80°C. Frys og tøj ikke prøver mere end tre gange.

FORBEREDELSE AF REAGENSER

Alle reagenser bør ekvilibreres til 18°C til 28°C før brug. Forbered reagenserne på følgende måde:

Prøve Fortyndings Buffer

Prøve Fortyndings Buffer er klar til brug.

Standarder

Tilsæt 400 µL destilleret vand til hvert glas med frysetørret standard og rekonstituer i mindst 5 min. Bland omhyggeligt. De rekonstituerede standarder bør anvendes indefor 2 timer ved opbevaring ved 18°C til 28°C, eller inden 24 timer ved opbevaring ved 4°C.

Kontroller

Tilsæt 400 µL destilleret vand til hvert glas med frysetørret kontrol og rekonstituer i mindst 5 min. Bland omhyggeligt. De rekonstituerede kontroller bør anvendes indefor 2 timer ved opbevaring ved 18°C til 28°C, eller inden 24 timer ved opbevaring ved 4°C.

10X Vaske Buffer

Fortynd 100 mL af 10X Vaske Buffer med 900 mL destilleret vand. Færdig Vaske Buffer er brugbar i 1 måned ved opbevaring ved 18°C til 28°C.

Substrat Opløsning

Klargør Substrat Opløsning ved indhold af ét hætteglas Substrat Genopløsnings Buffer til et hætteglas Substratet. Bør anvendes inden 30 min efter klargøring.

Stop Opløsning

Stop Opløsning er klar til brug

ANALYSEPROCEDUREN

Læs hele instruktionen før testen påbegyndes.

Læs ligeledes afsnittene FORBEHOLD og REAGENS FORBEREDELSE inden testen påbegyndes.

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
Substrat (flaske)	1	1	1	1
1X vaskebuffer (ml)	100	150	200	300

Prøve/enzym inkubering

1. Ekvilibrer posen med mikrotiter pladen til 18°C til 28°C før åbning. Udtag rammen og det nødvendige antal strips, og sørg for at lukke posen med de ubrugte strips og tør-kapslen fuldstændig tæt.
2. Pipetter 100 µL Prøve Fortyndings Buffer i hver brønd.
3. Pipetter 50 µL af de rekonstituerede standarder, kontroller og prøver i mikrotiter brøndene.
4. Forsegl mikrotiter pladen med en af de medfølgende plade tapes, og inkuber i 60 minutter ved 18°C til 28°C på plade ryster (500 rpm til 1000 rpm).
5. Efter inkuberingen vaskes mikrotiter pladen tre gange med mindst 300 µL Vaske Buffer per brønd. Efter vask, bankes pladen på et stykke absorberende materiale for at fjerne resterende Vaske Buffer.

Substrat inkubering

6. Pipetter 100 µL af den klargjorte Substrat Opløsning i hver brønd.
7. Forsegl mikrotiter pladen med en af de medfølgende plade tapes, og inkuber i 30 sekunder på plade ryster (500 rpm til 1000 rpm). Efter rystning, inkuberes pladen i 60 minutter ved 37°C.

Stop/aflæsning

8. Pipetter 50 µL Stop Opløsning i hver brønd for at stoppe reaktionen.
9. Aflæs og noter/gem absorbancen af hver brønd ved 405 nm.
10. Brug et kvadratisk kurvefit for at konstruere standardkurven. Beregn koncentrationen af Kontroller og prøver ved hjælp af standardkurven.

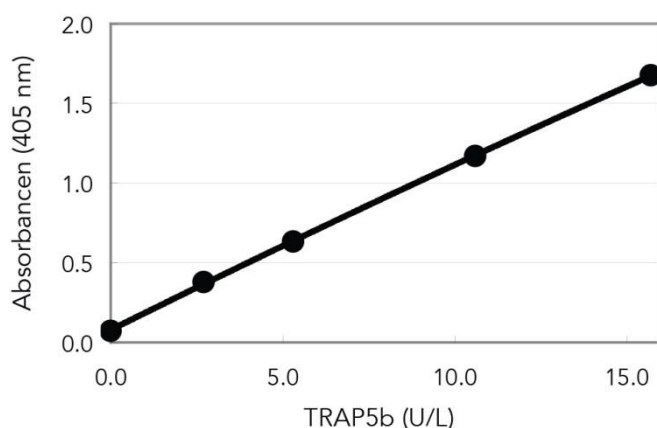
KVALITETS KONTROL

Analyse Certifikatet, der medfølger kittet, er lot specifikt og anvendes til verifikation af at de resultater, der opnås af Deres laboratorium, er tilsvarende til resultaterne hos Quidel Corporation.

Kvalitets kontrol områder er angivet. Hensigten med kontrol værdierne er at verificere kvaliteten af standardkurve og prøveresultater. Hvert laboratorie bør etablere sine egne kriterier for godkendelse af analyseresultater. Hvis kontrol værdier ikke er indenfor laboratoriets accept grænser, bør analyseresultaterne afvises og analysen gentages.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Representativ standardkurve



BEMÆRKET VÆRDIER

Målte serum TRAP5b værdier i raske mænd og kvinder er angivet nedenfor:

Køn	Alder (år)	n	Gennemsnit (U/L)
Mænd	≥ 20	91	4,0 ± 1,4
Kvinder (Før menopausen)	30 til 44	31	2,9 ± 1,4
Kvinder (Efter menopausen)	≥ 50	36	4,3 ± 1,5

Yderligere blev TRAP5b målt i serum og plasma prøver fra 64 raske, voksne (se køn og alder nedenfor).

- 28 mænd (alder 25 til 54 år, middel 35,4 år)
- 36 kvinder (alder 21 til 59 år, middel 41,9 år)

Prøve	Gennemsnit (U/L)	Min	Max	Korrelation (r)
Serum	3,5 ± 1,4	1,2	6,7	–
Heparin Plasma	3,6 ± 1,4	1,2	7,3	0,989

TESTENS SPECIFIKATIONER

Typiske data opnået med MicroVue TRAP5b test er præsenteret i denne sektion. Der henvises til Analyse Certifikatet for lot specifikke standard og kontrol værdier.

Sensitivitet

Den minimale detektions grænse (LDL, lower detection limit) af MicroVue TRAP5b kit er 0,2 U/L, som er bestemt ved den øvre 3 SD grænse i et nul standard (0 U/L) precisions studie.

Præcision

- Inter-assay (køre til at køre) (n = 16)

Prøve	Gennemsnit (U/L)	Standard Variation (U/L)	%CV
1	3,4	0,07	2,2
2	7,4	0,14	1,9

- Inter-assay (køre til at køre) (n = 8)

Prøve	Gennemsnit (U/L)	Standard Variation (U/L)	%CV
1	3,8	0,11	3,0
2	7,4	0,15	2,0

Spiking inddrivelse

Spiking inddrivelse på 92-103% blev målt ved at tilsætte kendt mængde rent TRAP5b til serum prøver med forskelligt indhold af endogent TRAP5b.

Linearitet

Linearitet blev bestemt ved fortynding af serum prøver med Prøve Fortyndings Buffer og sammenligning af forventede og målte TRAP5b værdier.

Prøve	Fortyndingsfaktor	Observeret (U/L)	Forventet (U/L)	Genfindelse (%)
1	neat	3,7	–	–
	1:2	1,8	1,8	95,9
	1:4	0,9	0,9	95,1
	1:8	0,5	0,5	101,2
2	neat	7,7	–	–
	1:2	3,8	3,8	99,8
	1:4	1,9	1,9	97,5
	1:8	0,9	1,0	97,4
3	neat	12,0	–	–
	1:2	5,8	6,0	96,2
	1:4	3,0	3,0	100,8
	1:8	1,4	1,5	95,9

Interfererende stoffer

Følgende stoffer er testet i de angivne koncentrationer og gav ikke anledning til interferens i TRAP5b testen:

Prøve	Koncentration
Hemoglobin	500 mg/dL
Bilirubin F	20 mg/dL
Bilirubin C	20 mg/dL
Lipids (Intralipid®)	2500 Turbidity
RF (Rheumatoid Factor)	500 U/mL

Intralipid® er et registreret varemærke (Fresenius Kabi AB).

KUNDE HENVENDELSER

Kontakt venligst den lokale distributør for at bestille varer eller for teknisk assistance. Yderligere information om Quidel, vores produkter og vore distributører kan findes på quidel.com.

REFERENCER

1. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Vaananen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res.* 2000, 15, 133-1345.
2. Halleen JM, Alatalo SL, Janckila AJ, Woitge HW, Seibel MJ, Väänänen HK 2001 Serum Tartrate-resistant acid phosphatase is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem.* 47:597-600.
3. Halleen JM 2003 Tartrate-resistant acid phosphatase 5B is a specific and sensitive marker of bone resorption (Review). *Anticancer Res.* 23(2A):1027-1029.
4. Janckila AJ, Takahashi K, Sun SZ, Yam LT 2001 Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b as serum marker for osteoclastic activity. *Clin Chem.* 47:74-80.
5. Lamp EC, Drexler HG. Biology of tartrate-resistant acid phosphatase. *Leuk Lymphoma.* 2000, 39, 477-484.
6. Leeming, et al 2006 The relative use of eight collagenous and noncollagenous markers for diagnosis of skeletal metastases in breast, prostate or lung cancer patients, *Cancer epidemiology Biomarkers.* 15(1).
7. Igarashi Y, Mochizuki Y, Miura T, Ohashi T, Sasagawa K, Katayama K, Inaba N, Matsuzaki S. Evaluation of a novel immunoassay for serum tartrate-resistant acid phosphatase type 5b activity in hormone replacement therapy. *Bone* 2003; 32(5): S179.
8. Minkin C. Bone acid phosphatase: tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. *Calcif Tissue Int.* 1982, 34, 285-290.
9. Lau KH, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ. Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: potential use to assess bone resorption. *Clin Chem.* 1987, 33, 458-462.
10. Nakanishi M, Yoh K, Uchida K, Maruo S, Matsuoka A. Improved method for measuring tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum. *Clin Chem.* 1998, 44, 221-225.
11. Nakanishi M, Yoh K, Miura T, Ohashi T, Rai SK, Uchida K. Development of a kinetic assay for band 5b tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum. *Clin Chem.* 2000, 46, 469-473.
12. Waguespack SG, Hui SL, White KE, Buckwalter KA, Econs MJ. Measurement of tartrate-resistant acid phosphatase and the brain isoenzyme of creatine kinase accurately diagnose type II autosomal dominant osteopetrosis but does not identify gene carriers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87, 2212-2217.
13. Igarashi Y, Lee M, Matsuzaki S. Acid phosphatases as markers of bone metabolism. *J Chromatogr B.* 2002, 781, 345-358.
14. Terpos E, de la Fuente J, Szydlo R, Hatjiharissi E, Viniou N, Meletis J, Yataganas X, Goldman JM, Rahemtulla A. Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b: a novel serum marker for monitoring bone disease in multiple myeloma. *Int J Cancer.* 2003, 106, 455-457

REF 8036 – MicroVue TRAP5b 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

PI8036000DA00 (02/17)

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



Biologisk fare

IVD

Til *in vitro* diagnostisk anvendelse



Indeholder nok til 96 bestemmelser

CONT

Inghold/Indeholder

CONTROL

Prøve
