



QUIDEL

MicroVue™ Bone

TRAP5b EIA

En immunobindande enzymanalys för bestämning av tartratresistant surt fosfat isoform 5b i humant serum eller plasma

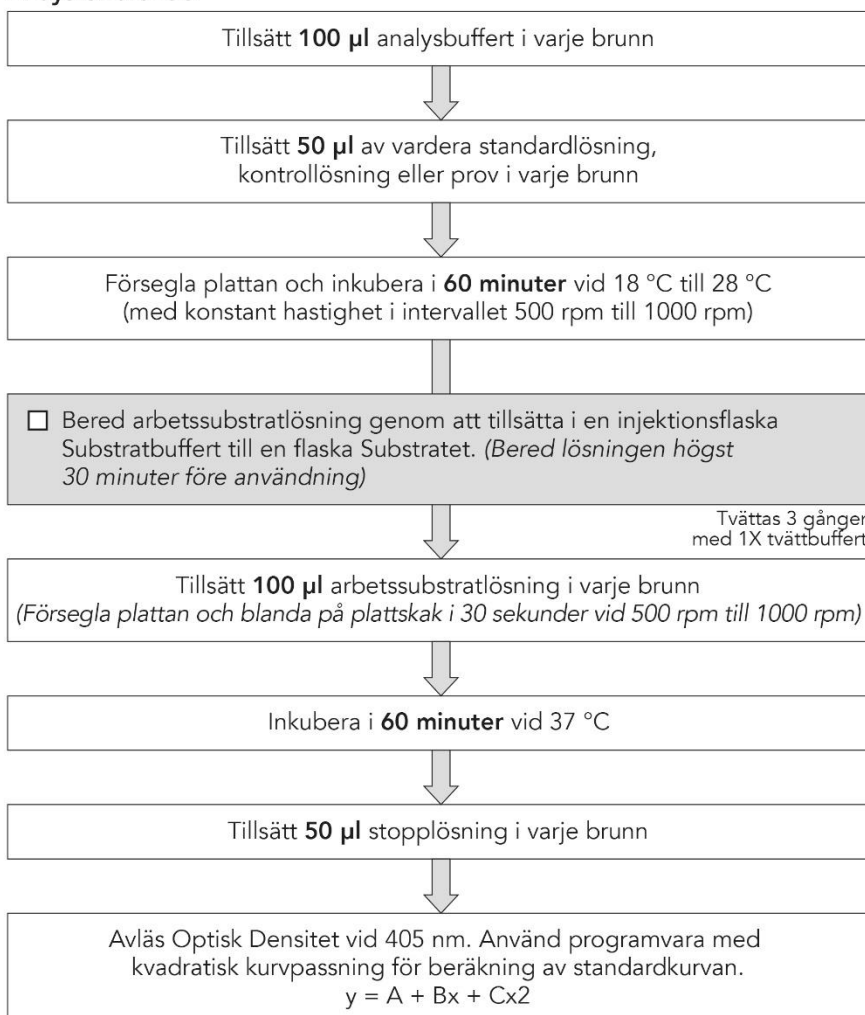
Endast för *in vitro*-diagnostik. Endast för export. Ej för försäljning eller användning i USA eller Kanada.

SAMMANDRAG

Reagent och Kontroll Förberedelse

- Förbered varje Standard med 400 µl avjoniserat (destillerat) vatten. (Användas inom 2 timmar)
- Förbered varje Kontroller med 400 µl avjoniserat (destillerat) vatten. (Användas inom 2 timmar)
- Späd 10x tvättbuffert 1:10 med avjoniserat vatten
OBS: Blanda noga med pipett; Inte vortexa.

Anaysförfarande





AVSETT ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

Immunoanalysen MicroVue TRAP5b ger ett kvantitativt mått på tartratresistent surt fosfatas isoform 5b (TRAP5b). TRAP5b utsöndras i serum av bennedbrytande osteoklaster och är en indikator på osteoklastaktivitet *in vivo*. Halten TRAP5b är användbar som indikator för osteoklastaktivitet och därmed benresorption i primär osteoporos och andra sjukdomar.¹⁻⁶

EGENSKAPER

- Den totala analystiden är två timmar.
- Analysen mäter endast aktiv TRAP5b aktivitet.
- Prov behöver inte förtunnas i förväg.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

TRAP5b (serum band 5 tartrat-resistent acid phosphatase, TRAcP 5b; EC 3.1.3.2) är ett glykoprotein om 35–37 kDa. TRAP5b uttrycks typiskt i proportion till osteoklastaktivitet och insöndras i cirkulationen. Forskning visar att serum TRAP5b är en potentiell serologisk markör för benresorption.⁵

Analysen MicroVue TRAP5b mäter enzymaktiviteten hos TRAP5b genom ett immuno-captured enzyme assay system.⁵

Höga TRAP5b värden tros vara kopplade till aktiv benåteruppbyggnad. Förhöjda serumvärden är observerade vid normal bentillväxt hos friska barn. Förhöjda nivåer har också noterats i vissa sjukdomsstadier och tillstånd som karakteriseras av ökad bennedbrytning.¹⁻¹⁴ Exempel: Paget's disease, vid hemodialys, primär hyperparatyroidism, maligna metastaser som involverar ben, multipelt myelom och bilateralt ovariektomerade kvinnor. Postmenopausala kvinnor under östrogenbehandling har vanligen lägre värden i serum än motsvarande obehandlade kvinnor; Specifik bestämning av TRAP5b-aktivitet kan därför fungera vid mätning och uppföljning av förändringar i benmetabolismen som svar på terapi.

PROCEDURENS PRINCIP

MicroVue TRAP5b ELISA är en 2-steps immunoanalys med anti-TRAP5b-antikroppar förpreparerade i en 96-brunnars mikrotiterplatta med strips. Serum eller plasma prover samt rekonstituerade standarder och kontroller tillsätts i den förbehandlade mikrotiterplattan tillsammans med analysbuffert⁷⁻⁹

Naturligt förekommande, inaktiva TRAP5b-fragment i serum kan inverka på detektionen av TRAP5b i fysiologiska prov. MicroVue TRAP5b ELISA påverkas inte av inaktiva fragment genom att utnyttja två olika monoklonala antikroppar. Dessa två unika antikroppar, Trk49 och Trk62, framställs genom immunisering av renat TRAP5b från humana benceller. Den första antikroppen, Trk49, är specifik för inaktivt TRAP5b fragment medan den andra, Trk62, är specifik för intakt, aktivt TRAP5b. Trk49 binder till inaktiva TRAP5b fragment och gör på detta sätt Trk62 mer tillgänglig att binda till aktivt TRAP5b i mikrobrunnen. Resultatet blir en analys med hög specificitet, god precision och linjäritet i ett brett område.

Efter inkubation tvättas plattan ren från obundet material och ett förberett substrat, 2-kloro-4-nitrofenylfosfat (CNPP, pH 6,4), tillsätts. Eftersom TRAP5b i sig själv är ett enzym behövs inget sekundärt antikropp-enzymkonjugat tillsättas. Vid slutet av följande inkubation stoppas reaktionen genom tillsättning av 0,2N NaOH-lösning. Avläsning sker i plattläsare vid 405 nm. TRAP5b-aktiviteten beräknas utifrån en kvadratisk kurvanpassning. Det utvecklade färgomslaget är proportionellt mot koncentrationen av TRAP5b i provet.

MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH MATERIAL

Räcker till 40 analyser av TRAP5b utförda i duplikat (96 brunnar)

MicroVue TRAP5b ELISA innehåller följande:

A	TRAP5b Standardlösning:	Art. 0711631-71	2 x 0,4 ml vardera
B	Rekombinanta protein består av Mänskliga TRAP5b (frystorkade) standarden. Den exakta		
C	koncentrationen är noterad på varje vial.		
D			
E			
L	Kontrolllösning	Art. 0711681-91	2 x 0,4 ml vardera
H	Rekombinanta protein består av Mänskliga TRAP5b (frystorkade) standarden. Den exakta		
	koncentrationen är noterad på det medföljande analyscertifikatet (Certificate of Analysis).		
1	Mikroanalysplatta	Art. 0711611	12 var
	Mikrotiterram och stripwellremсор med 12 x 8 brunnar preparerade med monoklonala murine-anti-TRAP5b antikroppar		
2	Stopplösning	Art. 07116C1	12 ml
	Stopplösning av 0,2N natriumhydroxid (NaOH)		
3	10X Tvättbuffert	Art. 07116D1	100 ml
	Tvättbuffert av TBS/Tween. innehåller 0,5 % Tween® 20 och 0,02 % ProClin® 300		
4	Analysbuffert	Art. 0711621	20 ml
	Analysbuffert av Tris. Innehåller 0,02 % ProClin 300		
5	Substratbuffert	Art. 07116B1	2 x 12 ml
	Substratbuffert av MES. Innehåller 0,02 % ProClin 300		
6	Substrat	Art. 07116A1	2 x 12 ml
	Substrat, 2-kloro-4-nitrofenylfosfate pulver (CNPP)		
	Tejplöck för Platta	Art. 0047	3 st

Tween® 20 är ett registrerat varumärke för ICI Americas Inc.

ProClin® är ett registrerat varumärke för Rohm and Haas Company.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

- Mikropipetter för 50, 100 och 300 µl. Både enkel- och multispetspipetter.
- Skakbord, för mikrotiterplattor, med möjlighet till konstant skakning i 60 min vid 500–1000 rpm.
- Inkubator för 37 °C.
- Lämpliga mätkärl för 10 till 300 ml
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- Plattläsare för avläsning av optisk densitet vid 405 nm
- Dator med CD-ROM läsare
- Mjukvara för att underlätta data insamling, kvadratisk kurvanpassning och dataanalys
- Lämplig plattvättare.
- Graderad pipett eller motsvarande för 12 ml
- Absorberande material att banka ur mikrotiterplattan på efter tvätt med buffert

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- För *in vitro*-diagnostik.
- Behandla 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 (pre-coated) om det finns hål på förpackningen.
- Dubbeltesta varje prov.
- Använd handskar och skyddsglasögon vid handhavande av detta kit. Iaktta god laboratoriesed (GLP) för att motverka exponering.
- 0,2N NaOH är frätande och kan orsaka svåra brännskador. Får inte förtäras. Undvik kontakt med hud, ögon eller kläder. Tvätta med vatten vid spill. Kontakta ögonblickligen läkare vid förtäring.
- Undvik kontakt med substratlösningen som innehåller CNPP och är irriterande.
- ProClin 300 används som konserveringsmedel. Kontakt med eller förtäring av buffert eller reagens som innehåller ProClin 300 kan orsaka irritationer på hud, ögon eller mun. Kontakta läkare om du upplever dessa symptom.
- Använd multikanalpipetter eller repeterande automatpipetter för att garantera bästa timing vid tillsats av reagens.
- För korrekt provmätning ska exakta mängder prover och standarder tillsättas. Pipettera omsorgsfullt med kalibrerade pipetter.
- Analysen utförs med någon validerad tvättmetod. Tvätta inte brunnarna med multikanalpipett.
- Generera en standardkurva vid varje analystillfälle.
- Standardkoncentrationer är unika för varje batch. Kontrollera därför märkningen på varje Standardvial eller analyscertifikat noggrant för den exakta koncentrationen.
- 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.

FÖRVARING

Förvara satsen vid 2 °C til 8 °C. Förvara oanvända reagens vid 2 °C til 8 °C. Under dessa förhållanden är alla komponenter hållbara till och med utgångsdatum på förpackningen.

PROVTAGNING OCH PROVFÖRVARING

MicroVue TRAP5b kan användas för analys av serum eller plasma (heparin). Använd vanlig venpunktion för att samla serum. Undvik hemolys. Låt blodet koagulera och separera serum genom centrifugering.

Prover kan förvaras i upp till 8h vid rumstemperatur, upp till 2 dygn vid 2 °C til 8 °C, en månad vid -20 °C eller vid -80 °C för långtidsförvaring. Prover bör ej frysas och tinas mer än 3 gånger.

REAGENSFÖRBEREDELSE

Reagenser och material ska tempereras till 18 °C til 28 °C före analysen.

Förbered analysreagens enligt följande:

Analysbuffert (Sample diluent)

Analysbufferten är färdig för användning.

Standardlösning

Tillsätt 400 µl avjoniserat (destillerat) vatten till behållaren med lyofiliserad standard och låt det lösa sig i åtminstone 5 minuter. Blanda noga. Färdigblandad standardlösning är färskvare och bör användas inom 2 timmar vid 18 °C til 28 °C, eller inom 24 timmar vid förvaring i 4 °C.

Kontrollösning

Tillsätt 400 µl avjoniserat (destillerat) vatten till behållaren med lyofiliserad kontroll och låt det lösa sig i åtminstone 5 minuter. Blanda noga. Färdigblandad kontrollösning är färskvara och bör användas inom 2 timmar vid 18 °C til 28 °C, eller inom 24 timmar vid förvaring i 4 °C.

10X Tvättbuffert

Blanda 100 ml 10X tvättbuffert med 900 ml avjoniserat (destillerat) vatten. Färdigblandad tvättbuffert är stabil i 1 månad vid 18 °C til 28 °C.

Arbetssubstratlösning

Bered arbetssubstratlösning genom att tillsätta en flaska Substratbuffert till en flaska Substrat. Bered lösningen högst 30 minuter före användning.

Stopplösning

Stopplösningen är färdig för användning.

ANALYSPROCEDUR

Läs hela produktbladet innan analysen påbörjas.

Läs även avsnitten VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER och REAGENSFÖRBEREDELSE före analysen.

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
Substrat (flaska)	1	1	1	1
1x tvättbuffert (ml)	100	150	200	300

Provinkubering

- Låt förpackningen med stripwellremsor tempereras till 18 °C til 28 °C. Ta ut Stripwell-ramen och det antal remsor som behövs från förpackningen. Förpackningar med oanvända remsor måste återförslutas helt och innehålla en liten påse med torkmedel.
- Tillsätt 100 µl analysbuffert i varje brunn.
- Tillsätt 50 µl av vardera standardlösning, kontrollösning eller prov i varje brunn.
- Försegla plattan med medföljande plate tape cover och inkubera i 60 min vid 18 °C til 28 °C på en plattskak med konstant hastighet i intervallet 500 rpm til 1000 rpm.
- Efter inkubation tvättas plattan med stripwells 3 gånger med åtminstone 300 µl tvättbuffert per brunn. Vänd/töm remsorna för hand. Banka försiktigt plattorna mot ett absorberande material (pappershanddukar eller liknande) efter sista tvätt för att få ut resterande vätska.

Substratinkubering

- Tillsätt 100 µl arbetssubstratlösning i varje brunn.
- Försegla plattan och blanda på plattskak i 30 sekunder vid 500 rpm til 1000 rpm. Inkubera därefter i inkubator i 60 minuter vid 37 °C.

Stopp/avläs

- Tillsätt 50 µl stopplösning i varje brunn för att stoppa reaktionen.
- Avläs och dokumentera den optiska densiteten vid 405 nm.
- Använd programvara med kvadratisk kurvpassning för beräkning av standardkurvan. Beräkna värden för kontroller och prov från standardkurvan.

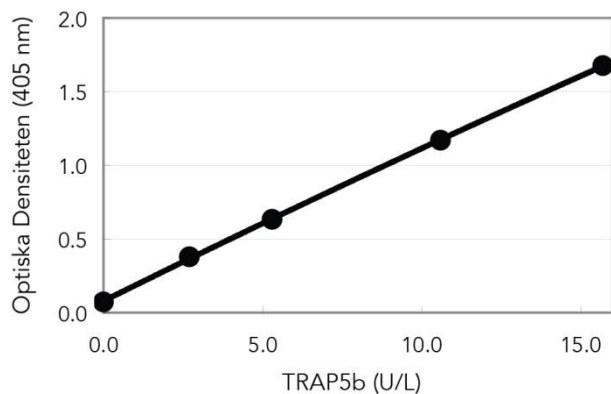
KVALITETSKONTROLL

Analyscertifikatet som medföljer produkten är batchspecifikt och ska användas för att intyga att laboratoriets resultat liknar dem som erhålles hos Quidel Corporation.

Gränsvärden för kvalitetskontroll 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 proven ska upprepas.

RESULTATTOLKNING

Representativ standardkurva



OBSERVERADE VÄRDEN

Observerade serumvärden av TRAP5b hos friska män och kvinnor har rapporterats som följer:

Kön	Ålder (år)	N	Medelvärde (U/l)
Män	≥ 20	91	4,0 ± 1,4
Kvinnor (premenopausala)	30 til 44	31	2,9 ± 1,4
Kvinnor (postmenopausala)	≥ 50	36	4,3 ± 1,5

Observerade TRAP5b värden (U/l) hos 64 friska vuxna (se köns- och åldersfördelning nedan) i både serum och plasma (heparin). Plasmaprover användes för jämförelse med serumprover.

- 28 män, ålder 25 til 54 (medel: 35,4)
- 36 kvinnor, ålder 21 til 59 (medel: 41,9)

Provtyp	Medelvärde (U/l)	Min	Max	Korrelation (r)
Serum	3,5 ± 1,4	1,2	6,7	–
Heparinplasma	3,6 ± 1,4	1,2	7,3	0,989

PRESTANDA

I detta avsnitt redovisas typiska analysresultat för MicroVue TRAP5b. Se analyscertifikatet för batchspecifika värden på standarder och kontroller.

Känslighet

Den nedre detektionsgränsen för MicroVue TRAP5b är 0,2 U/l vilket är det övre 3 SD-gränsvärdet i en precisionsstudie med nollvärdesstandard.

Precision

■ Intra- variation (inom ett test) (n = 16)

Prov	Medel (U/l)	Standardavvikelse (U/l)	%CV
1	3,4	0,07	2,2
2	7,4	0,14	1,9

■ Inter- variation (test-till-test) (n = 8)

Prov	Medel (U/l)	Standardavvikelse (U/l)	%CV
1	3,8	0,11	3,0
2	7,4	0,15	2,0

Pik-Återhämtning

Pik-återhämtning på 92-103 % bestämdes genom tillsättning av känd kvantitet renat TRAP5b till serumprover med olika nivåer av endogent TRAP5b.

Lineäritet

Lineäriteten fastställdes genom jämföring av observerade värden från en spädningsserie av serumprover med förväntade värden.

Prov	Spädningsfaktor	Observerat (U/l)	Förväntat (U/l)	Recovery (%)
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

Interfererande Substanser

Följande substanser har testats vid angivna koncentrationer med avseende på interferens med analysen och funnits vara utan interferens.

Substance	Concentration
Hemoglobin	500 mg/dl
Bilirubin F	20 mg/dl
Bilirubin C	20 mg/dl
Lipids (Intralipid®)	2500 Turbiditet
RF (Rheumatoid Factor)	500 U/ml

Intralipid® är ett registrerat varumärke för Fresenius Kabi AB.

SUPPORT

För beställningar eller teknisk support vänligen kontakta en lokal återförsäljare.

Ytterligare information om Quidel, våra produkter eller distributörer finns på vår hemsida quidel.com.

REFERENSER

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

PI8036000SV00 (02/17)

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



Biologisk risk

IVD

För *in vitro*-diagnostik



Innehållet räcker till 96 bestämningar

CONT

Innehåll/innehåller

CONTROL

Kontroll
