

OCTEIA™OSTASE®骨特异性碱性磷酸酶酶联免疫测定说明书

用于定量测定人血清中骨特异性碱性磷酸酶（BAP）

使用目的

OCTEIA™ Ostase® BAP酶免测定是定量检测骨特异性碱性磷酸酶（BAP）的体外诊断试剂盒，是血清中成骨细胞活性的指示剂。该试剂盒主要用作绝经后骨质疏松和变形性骨炎处理的辅助工具。

概要说明

骨组织不是一成不变的。在人的一生中，骨组织一直经历着骨的溶解（也叫骨吸收）和骨的重形成，这一过程叫骨的重建。有两种骨细胞相互作用完成这一复杂的过程，其一是成骨细胞——负责骨的形成，另一种是破骨细胞——负责骨的吸收。骨吸收和骨形成是一个相互依赖的同时进行过程，在正常环境中是紧密耦联的。这种耦联关系主要保持了骨的生化活性，因此维持了骨组织的结构，骨的外型及强度。

血清中的骨碱性磷酸酶的浓度被认为反映了成骨细胞的代谢状态，而骨代谢的精确评定对于测定骨代谢疾病的严重程度和治疗效果有着重要意义。因此在变形性骨炎、骨软化、原发性甲状旁腺功能亢进、肾性骨营养不良、骨质疏松和骨转移中，血清骨碱性磷酸酶水平的测定有着重要意义。总碱性磷酸酶测定已经被应用于变形性骨炎的诊断和病情的监测。

变形性骨炎是一种常见的骨骼疾病，表现为某些正常骨细胞的局灶性增生。它的发病人群曾被认为主要存在于 3%—4%的中年患者和 10%—15%的老年人中，而现在看来，其涉及的人群要更广一些。这种疾病一般不影响年轻人。绝大部分变形性骨炎患者没有临床症状，容易漏诊。一般是在对其它一些不相关的疾病的检查中，才发现有异常的 X 线片或血清碱性磷酸酶水平。变形性骨炎的通常症状是疼痛和畸形。

骨质疏松症是另一种骨代谢性疾病，它的发生部分是由于骨的本身的生长规律，骨量在达到一生的峰值之后，会逐渐丢失。在正常儿童中，骨形成速度快于骨吸收，因此有了骨的生长与发育。到了青年以后，骨吸收与骨形成相互平衡，使骨量稳定于一定水平。随着年龄的增加，男性和女性经历骨重建的不平衡，其反应是骨吸收开始轻度大于骨形成，这就造成了骨量随着时间的变迁出现持续缓慢丢失。如果这种不平衡持续，骨量下降，骨组织将不能维持其应有的机械强度，从而逐渐不正常并易于发生骨折。骨量过度丢失及骨折的易感性增加则是骨质疏松症。

骨质疏松多发生于绝经后妇女，这主要是由于雌激素水平的下降。在停经和双侧卵巢切除后，雌激素水平下降，造成骨量的快速丢失。快速的骨量丢失是由于骨重建的不平衡和骨转换增加的联合作用造成的结果。在美国，骨质疏松影响着约 2500 万绝经后妇女，以及由此造成的每年 150 万人次的骨折，包括约 50 万的脊椎压缩性骨折，25 万人的髌部骨折和 20 万人的桡骨远端骨折。

雌激素疗法被认为是目前能预防绝经后妇女骨质疏松性骨折而被广泛应用。但由于其具有潜在的致癌性和恢复月经而使许多女性不能、或不愿意采用这种疗法。基于这个原因，一种治疗变形性骨炎的药物如双膦酸盐被开发应用于治疗骨质疏松。双膦酸盐的抗骨吸收特性抑制了骨的重建，从而减少了骨量的全面丢失。

生化标记物是用于骨代谢疾病监测的一个有用的指标。尿羟(基)脯氨酸(Hydroxyproline)水平和血清总碱性磷酸酶水平已经用于监测变形性骨炎的治疗效果。骨质疏松，表现为一种更轻微的骨重建的修正过程，因此需要更特异和敏感的标记物。

OCTEIA™ Ostase®BAP 测定是一种用于定量测定人血清中骨特异性碱性磷酸酶的体外诊断试剂。BAP 水平的变化已显示在用于骨代谢疾病的治疗监测方面是有效的。

检测原理

OCTEIA™ Ostase®BAP 测定是一种固相、单克隆抗体酶免法检测。此检测是采用亲和素-生物素的酶免分析方法。血清中的 BAP 与结合物（含有生物素标记的特异性骨碱性磷酸酶单克隆抗体）结合，此结合物同时又与包被在孔壁上的链霉素亲和素反应，从而形成一个链霉素亲和素-生物素标记的特异性骨碱性磷酸酶单克隆抗体-BAP 复合物。经洗涤除去未能形成复合物的物质，再加入酶底物进行孵育。终止反应时，以比色法在 405nm 酶标仪下读吸光度测定底物的反应量。吸光度与样本中 BAP 浓度成正比。样本中 BAP 浓度的计算建立在同时检测的 BAP 标准品和 0 标准品/稀释液的基础上。

产品信息

成分	货号.AC-20F1 96T
结合物 CONJ	1 x 14 mL
含有 0.09%叠氮化钠的牛/马蛋白基质中的带有生物素的抗 BAP (小鼠单克隆 IgG)。	
酶标板 MICROPLAT	1 x 96 孔
塑料孔内包被链霉亲和素。干燥剂: 无水硅胶。	
0 标准品/稀释液 (0) CAL 0	1 x 14 mL
不包含BAP (0 μg BAP/L) 的牛蛋白基质和0.09%的叠氮化钠。	
标准品 (1-5) CAL 1-5	5 x 1 mL
包含浓度约为7、15、30、60和90 μg人BAP/L的牛蛋白基质和0.09%的叠氮化钠。	
低质控品 (1) CTRL 1	1 x 1 mL
包含浓度约为11 μg人BAP/L的牛蛋白基质和0.09%的叠氮化钠。指定范围参考质量控制报告。	
高质控品 (2) CTRL 2	1 x 1 mL
包含浓度约为45 μg人BAP/L的牛蛋白基质和0.09%的叠氮化钠。指定范围参考质量控制报告。CTRL质控品: 2 × 2 小瓶, 每瓶0.5ml, 人重组TRACP, 冻干粉, Xn, 有害, R22-52/53, S36-60, 包含 < 1% 叠氮化钠和BSA。	
冲洗浓缩缓冲液 BMF WASH 28X	1 x 18 mL
清洁溶液 (6%Tween*20) 包含0.3%的叠氮化钠。	
底物 SMBS pNPP	1 x 20 mL
包含防腐剂的 对硝基苯磷酸盐(pNPP)于稳定化处理的缓冲液。	
终止液 NaOH	1 x 14 mL
1N 氢氧化钠	
质量控制报告,说明书	1 份

警告与预防

- 1、此试剂仅用于体外诊断。
- 2、不要用嘴吸取。
- 3、在工作区不得吃喝或吸烟。
- 4、接触标本和试剂之后应将手洗净。
- 5、该试剂盒中含有人来源材料的一些试剂经 FDA 推荐的方法进行检测发现无 HIV-1 和 HIV-2 病毒抗体及丙肝病毒和乙肝表面抗原抗体(HBsAg)。目前没有任何一种检测方法能完全保证不存在 HIV-1、HIV-2、乙肝病毒、丙肝病毒或其它感染因子。将这些试剂作为有潜在感染性的生物样品来处理 (23)。
- 6、Xn.有害: 叠氮化钠 (NaN₃) ≥0.1%(w/w) (洗液 A 浓度 0.3%)



R 22: 吞服有害。

S 46: 如不慎吞服, 立即寻求医师帮助, 并出示该容器和标签。

应要求要提供该材料安全数据说明 (MSDS) 。

- 7、叠氮化钠可与铅和铜反应形成高爆炸性的金属叠氮化合物, 处理时用大量的水进行冲洗, 以避免形成叠氮化合物。
- 8、该试剂盒中的终止液含有的 1N NaOH 具有腐蚀性, 应避免接触皮肤和眼睛, 不要摄入或吸入。工作时要戴眼镜、手套和工作帽。
- 9、操作中要避免微生物污染试剂。

贮存与稳定性

- 试剂在 2-8℃ 中保存，在此温度中可稳定到试剂盒标签上所标定的有效期。
- 洗液和终止液可贮存在 2-30℃ 中，在此温度中可稳定到瓶上标签所标定的日期。
- 所有试剂在使用之前应恢复至室温（18-25℃）。使用后除冲洗液外的所有试剂应及时放回至 2-8℃ 中保存。
- 质控物的测定浓度应恢复到指定的范围内。
- 未使用完的微孔板条应放在带有干燥剂的塑料口袋中封存，并置于 2-8℃ 下保存。
- 不要使用超过有效期的试剂

标本采集与准备

- 病人不需要特殊准备。
- 抽取静脉血。
- 待血液凝固，离心分离血清。
- 标本收集时要避免溶血。
- 骨碱性磷酸酶检测需采用血清标本。不能采用血浆。
- 如血清标本将在采集后 24-48 小时内进行测定，应置于 2-8℃ 中保存。
- 血清标本需长期保存（2 个月以上）应置于 -70℃ 下。
- 混浊血清标本或含有颗粒物的标本，在测定前应进行离心处理。



自备器料

- 固定或可调的高精（±1%）移液器：50、100和150 μL。可选择多道高精移液器与一次性V型水槽用于加入抗BAP测试的结合物、底物和终止液。
- 50、100 和 150 μL 的吸头
- 稀释样品的试管
- 洗板机
- 洗耳球
- 蒸馏水
- 计时器
- 贮存洗液的容器
- 酶标仪（405nm 主要波长，600-650nm 减去本底）和数据处理软件。
- 水平酶标板震荡器（500rpm 至 900rpm）

关于试剂处理系统、数据处理系统和液体处理装置的完整信息，请联系您的当地销售代表。

试剂准备

- 所有试剂在使用之前应恢复至室温（18-25℃）。
- 每次使用之前应轻轻地将试剂摇匀或振荡。
- 每个样品、标准品或质控品都应单独使用清洁干净的吸头，以防污染。
- 冲洗液：将浓缩洗液 A 加入 500 ml 的蒸馏水中混匀以配置冲洗液。

操作程序

- OCTEIA Ostase BAP测定是在室温下进行。要求所有试剂和样品要恢复至室温（18-25℃），并在使用前混匀。
- 0标准液/稀释液、标准品和质控品在同一块酶标板上要进行复孔检测。
- 因为每次孵化的终止是在反应进行中（也就是抗体结合或底物周转）所完成的，所以分析结果

的可靠性取决于每孔孵化的时间是否保持一致。

检测步骤如下：

- 1、标记测试孔条/框并将孔条正确安放于酶标板框内。6个标准，2个质控品应进行双份检测。
- 2、吸 50 μ L 0 标准品/标准品 B-F/质控品/患者样本 至对应的孔底部。
- 3、吸 100 μ L 结合物加入孔内。
- 4、在室温（18-25 $^{\circ}$ C），置于开动的震荡器（500-900 次/分）上孵化 1 小时。
- 5、依下述方法洗板 3 次。
 - a) 吸出第一排的液体。
 - b) 在第 1 排中加入 300 μ L 洗液。
 - c) 在随后的检测孔中，重复 a 和 b 的操作。
 - d) 重复 a 和 c 的操作 2 次。
- 6、各孔内加 150 μ L 底物。紧接着进行下一步操作。
- 7、在室温（18-25 $^{\circ}$ C），置于开动的震荡器（500-900 次/分）上孵化 13-15 分钟。紧接着立即进行下一步操作。
- 8、各孔内加 100 μ L 终止液，混匀。
- 9、在主波长 405nm，次波长 600-650 nm 的酶标仪上读取结果（或吸光度）。加入终止液后 1 小时内应读取结果。
- 10、按照“仪器和结果计算”的描述进行结果计算。

操作要点

- 1、**洗板**：酶免测定洗板要充分，以确保去除未能形成复合物以外的物质。因此，为了获得可靠的结果，要充分清洗每一个孔，在最后一次清洗时、彻底去除残留的洗液是常重要的。
- 2、**稀释**：如果样品的检测浓度高于标准曲线上限，要应用试剂盒中提供的 0 标准液/样品稀释液进行稀释，然后重新检测，并将测定结果乘以稀释倍数。每个稀释的样品在检测前要充分混匀，高于标准曲线上限样品的推荐稀释比例为 1: 3; 1: 5 或 1: 10。

然而，**稀释**高于标准曲线上限的 BAP 样本，使该稀释后样本的读数高于 10 μ g BAP/L。

- 3、**孵化**：因吸光度是与温度和试剂孵化的时间成函数关系，所以在所有检测孔中保持底物加入后有相同的孵化时间是十分重要的。故从底物开始加入到结束时，中间不能停顿，以确保加入底物所用的时间和加入终止液所用的时间是一致的。为了获得最好的结果，此二种试剂的加入时间不应大于 90 秒，总底物孵化时间不应超过 15 分钟。
- 4、**吸取**：为方便起见，多次释放或多通道的移液器可用于标记液、洗液、底物和终止液的吸取。吸取标准液、质控液和病人样品的移液器要用固定或可调的高精度（ $\pm 1\%$ ）移液器，每一次吸取样品以后吸头应该更换，从而避免潜在的样品携带遗留物和对试剂或标本的污染。
- 5、**不同批号的试剂不能混用。**

仪器和结果计算

可使用计算机辅助系统或在线形图纸上手进行结果计算。

计算机辅助方法

推荐采用一个点对点的曲线图。将标准品复孔的平均值（包括 0 标准品在内）连接成一条直线的点对点软件提供程序的良好结果和计算方法。关于计算机辅助数据处理的其它信息，请联系您的当地销售代表。

手工作图

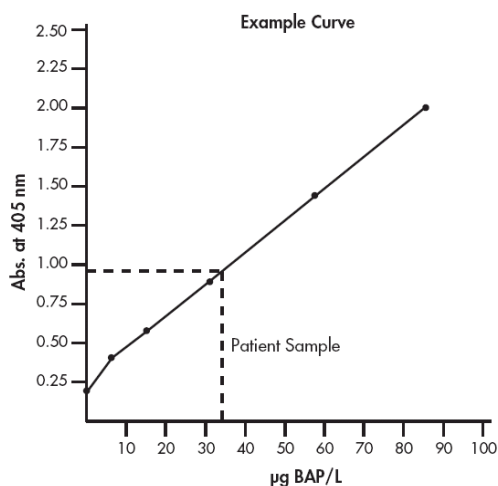
在线性图纸上以每个标准品的平均吸光度为纵坐标、BAP 浓度为坐标进行手工画图。通过刻度点描一条点对点的曲线。不用强行将曲线描为直线。

要测定质控品和患者样本中 BAP 浓度，要在从样本检测的吸光度扩展一条水平线至刻度曲线。在水平线和曲线的交接点，画一条垂直于横坐标的垂直线并读 BAP 的浓度值。

如果某个样本的复孔值的吸光度大于标准品的最大吸光度，该样本必须稀释后再重新检测。稀释后样本观察的浓度必须乘以稀释倍数。

数据举例				
孔号	种类	吸光度405nm	平均吸光度	BAP $\mu\text{g/L}$
1	标准品 0	0.193		
2		0.187	0.190	0.0
3	标准品 1	0.401		
4		0.402	0.402	7.2
5	标准品 2	0.595		
6		0.572	0.584	15.5
7	标准品 3	0.908		
8		0.866	0.887	31.9
9	标准品 4	1.499		
10		1.460	1.479	58.4
11	标准品 5	2.000		
12		2.051	2.026	85.8
13	患者样本	0.911	33.0	

曲线举例



质量控制与结果的可接受性

好的实验室在每批检测时，都要带有质控样品进行检测，以确认所用试剂成分的有效性和操作方法的规范性。OCTEIA Ostase®BAP 试剂盒已包含能用来校正测试性能的质控品。

- 1、质控品浓度的回收率应当落在指定的范围内。
- 2、每个标准品和质控品在 405 nm 处所测吸光度的变异系数 (CV) 应当小于 10%。

操作的局限性

HAMA干扰：某些个体有小鼠蛋白抗体 (HAMA)，这可能在免疫测定中被小鼠来源的抗体结和

而引起干扰。特别是，已报道来自在治疗中或进行输入性小鼠单克隆抗体诊断的患者的血清样本可能在该测试中产生错误的结果。所以，对于这类患者的OCTEIA Ostase BAP结果应该仅与其它诊断程序结果和患者临床评估提供的信息结合以考虑。

肝BAP的免疫活性在OCTEIA Ostase BAP测定中进行检测：肝BAP活性100 M/L在OCTEIA Ostase BAP测定中得到的结果为2.8 to 6.2 μ g/L。血清样本的肝BAP活性明显上升在OCTEIA Ostase BAP测定中产生升高的结果。有低水平的疾病活性的代谢性骨紊乱患者可能有符合OCTEIA Ostase BAP测定中期望值的骨特异性ALP水平。

期望值（参考范围）

期望值和临床研究部分的 BAP 结果来源于 Tandem-R Ostase 测定。相关性研究显示，本试剂盒（OCTEIA Ostase BAP 试剂盒）与 Tandem-R Ostase 试剂盒两者的检测结果有很好的一致性（ $y=1.02x+0.28$, $r=0.9700$, $n=136$ ）

Tandem-R Ostase 方法在包括 6 个检测场所的明显健康成人（20 至 89 岁）的研究中进行评估。以下表格显示了男性（N=217）、绝经前女性（N=228）和绝经后女性（N=529）的平均 BAP 浓度、标准偏差（SD）、中值和第 95 百分点值。

明显健康成人的 BAP 浓度*

	例数	BAP 均值 (μ g/L)	SD (标准差)	BAP 中值 (μ g/L)	BAP 第 95 百分点的值 (μ g/L)
男性	217	12.3	4.3	11.6	20.1
绝经前女性	228	8.7	2.9	8.5	14.3
绝经后女性	529	13.2	4.7	12.5	22.4

*结果来源于 Tandem-R Ostase 试剂盒的放射免疫测定

上述结果显示，绝经后妇女的 BAP 均值高于绝经前妇女的 BAP 均值（ $P \leq 0.0001$ ），平均 BAP 浓度的升高反映了绝经后妇女骨重建增加，这与绝经后妇女相比绝经前妇女的雌激素不足有关。但是，正如数据所示，绝经前、后妇女 BAP 数值的分布有相当大的重叠部分。

性能特性

批内精密度

通过包含不同浓度 BAP 的 4 种血清检测批内精密度。每种血清以双份检测 20 份。数据如下：

血清	1	2	3	4
双份检测数	20	20	20	20
平均值 μ g/L	7.4	27.3	52.7	79.5
标准方差	0.48	0.78	1.35	3.54
%CV	6.5	2.9	2.6	4.5

批间精密度

通过 4 种血清分为 20 份以双孔检测，测定其批间精密度如下：

血清	A	B	C	D
双份检测数	20	20	20	20
平均值 μ g/L	8.4	29.2	55.6	81.1
标准方差	0.47	1.88	2.03	4.92
%CV	5.8	6.4	3.7	6.1

回收率和稀释度

将不同量的含有升高的 BAP 水平的血清样本加入至包含内源 BAP 的人血清中，且该样本以 3 倍进行检测。

值	期望浓度	实际浓度	%回收率*
$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$
14.0	24.6	24.8	100.9
39.9	50.5	48.8	96.6
59.2	69.8	66.0	94.6
92.2	102.8	92.6	90.1

*%回收率等于观察到的浓度除以期望浓度乘以 100。

将含有升高的 BAP 浓度的血清样本用 0 标准液/稀释液进行稀释并且以多倍进行检测。

稀释度	期望浓度	实际浓度	%回收率*
	$\mu\text{g/L}$	$\mu\text{g/L}$	
纯的	N/A	54.6	N/A
1:4	27.3	27.9	102.3
1:6	18.2	17.4	95.4
1:8	13.7	12.7	92.8

*%回收率等于观察到的浓度除以期望浓度乘以 100。

干扰物

- 血红蛋白，以 500mg/dL 的浓度检测，发现对 OSTEIA Ostase BAP 测定无干扰。
- 非结合的和结合的胆红素，以 40mg/dL 和 20mg/dL 的浓度分别进行检测，对 OSTEIA Ostase BAP 测定无干扰。
- 甘油三酸酯，以 2000mg/dL 的浓度进行检测，对 OSTEIA Ostase BAP 测定无干扰。
- 总蛋白，以 3-14g/dL 之间的浓度进行检测，对 OSTEIA Ostase BAP 测定无干扰。
- 100U/L 的肠 ALP 在 OSTEIA Ostase BAP 测定中产生 1 $\mu\text{g/L}$ 。
- 100U/L 的胎盘 ALP 在 OSTEIA Ostase BAP 测定中没有产生可检测到的结果。

肝 ALP 反应

利用来自肝病和变形性骨炎患者的血清样本检测 OSTEIA™ Ostase®BAP 测定中的肝 ALP 反应。样本通过电泳进行筛查并显示含有大于 95%的肝 ALP 或 BAP。

利用两种方法评估肝ALP活性。第一种方法（Moss和Whitby描述的）采用热灭活方法以提高肝ALP并最小化样本中内源性BAP的影响。应用该方法，100U/L肝ALP活性在OSTEIA™ Ostase®BAP测定中产生2.8-3.4 $\mu\text{g/L}$ 的结果。

第二种方法（Price, et al 描述的），采用slope法（OSTEIA™ Ostase®BAP测定vs.总ALP），且样本没有经过预处理。研究中，OSTEIA™ Ostase®BAP定量测定肝ALP，且以BAP样本（y轴）和每个样本的总ALP（x轴）绘制曲线。从该斜线中获得肝ALP或BAP的值如下：

- 100 U/L肝ALP活性在 OSTEIA Ostase BAP 测定中产生6.2 $\mu\text{g/L}$ 的结果。
- 100 U/L BAP活性在 OSTEIA Ostase BAP 测定中产生36.9 $\mu\text{g/L}$ 的结果。

药物干扰

不同浓度的药物加入 3 份不同的包含 BAP 的血清中，并以 4 份进行检测。该药物和最高浓度的检测如下。该检测基于 NCCLSGuideline EP-7P(临床测试的干扰检测)。

醋氨酚 20mg/dL

阿伦磷酸钠	5mg/dL
阿司匹林	50mg/dL
鲑鱼降钙素	112mg/dL
钙	20mg/dL
雌激素	400mg/Dl
依替膦酸二钠	105mg/dL
布洛芬	40mg/dL
帕米膦酸二钠	18mg/dL
孕酮	25mg/dL
维生素 D	80,500IU/dL

在 OSTEIA Ostase BAP 测定中，这些药物对血清中 BAP 的回收率无干扰。

最小检测浓度

OCTEIA Ostase BAP 测定中 BAP 的最小检测浓度检测为 0.7 μ g BAP/L。最小检测浓度定义为 20 个双份检测的 0 标准品/稀释液的平均吸光度减去两倍标准偏差 SD 值所对应的 BAP 浓度。

仅供参考，请以原版英文说明书为准！



Immunodiagnostic Systems Ltd (IDS Ltd).

UK Immunodiagnostic Systems Ltd (IDS Ltd), 10 Didcot Way, Boldon Business Park, Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD Tel: +44 (0) 191 519 0660 • Fax: +44 (0) 191 519 0760 • e-mail: marketing@idsltd.com • www.idsltd.com

USA Immunodiagnostic Systems Inc (IDS Inc.), P.O. Box 17063, Fountain Hills, AZ 85269-7063 Tel: 480-836-7435 • Fax: 480-836-7437 • e-mail: info@idsinc.us.com • www.idsinc.us.com

Germany Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH), Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main Tel: +49 (0) 69 3085-5025 • Fax: +49 (0) 69 3085-5100 • e-mail: info@ids-de.com • www.ids-de.com

France Immunodiagnostic Systems EURL (IDS EURL), 116 avenue du General Leclerc, 75014 Paris Tel: +33 (0)1 56 53 39 32 • Fax: +33 (0)1 56 53 93 31 • e-mail: info@ids-eurl.com • www.ids-eurl.com

中国总代理: 北京荣志海达生物科技有限公司，北京市海淀区永定路88号长银大厦12层B12室 • 电话: +86 10 58 895646 +86 20 32 29 3178 • 传真: +86 10 58895611 +86 20 32 29 3177 • 电子邮箱: info@rz-biotech.com • 网址: www.rz-biotech.com