

# 抗酒石酸酸性磷酸酶5b定量测定试剂盒（酶联免疫法）

货号：SB-TR201A

## 【产品名称】

通用名称：抗酒石酸酸性磷酸酶 5b 定量测定试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：TRACP 5b Assay Kit（ELISA）

## 【包装规格】

规格：96 人份/ 盒

## 【预期用途】

用于定量检测人血清中抗酒石酸酸性磷酸酶含量。

## 【简介】

大量的抗酒石酸酸性磷酸酶（TRACP）是由骨吸收的破骨细胞和有活力的巨噬细胞所释放的。在血液循环中的 TRACP 有 TRACP 5b 和 TRACP 5a 二种形式，TRACP 5b 来源于破骨细胞，而 TRACP 5a 来源于巨噬细胞。

由破骨细胞刚分泌到血液中的 TRACP 5b 是有活性的酶，但当 TRACP 5b 在血液循环中被清除之前已无活性，并被降解为碎片。这样 TRACP 5b 不会因肝、肾功能受损而在血液中积蓄。血清中 TRACP 5b 均来源于破骨细胞，此酶在昼夜的活性水平变化不明显，且不受进食的影响，故可在一天的任何时候都可以采集样本进行检验。

BoneTRAP®检测试剂盒是检测由破骨细胞刚释放出的 TRACP 5b 活性的特异性测定方法。它可用作骨吸收的指示剂及在绝经后妇女或已进行抗骨吸收治疗（HRT 和 bisphosphonates）的骨质疏松患者骨吸收变化监测的辅助手段(4, 6-18)。In vitro, TRACP 5b activity reflects the number of osteoclasts/TRACP 5b 活性反映破骨细胞数量 (15,19)，因此应用于此试剂盒在进行人的破骨细胞培养时，可用于检测破骨细胞的数量。

此检测的优点：

所测定的 TRACP 5b 活性是由破骨细胞专一释放的。

不受 TRACP 5a 或其它磷酸酶的干扰。

溶血不影响结果。

不受昼夜变化的影响。

不受肝脏、肾脏功能紊乱的影响。

不受进食的影响。

酶标板容易拆卸，方便使用。

## 【检验原理】

测试孔内已包被抗 TRACP 单克隆抗体→加入校准液、质控品和样品→加入释放剂→有活性的 TRACP 5b 从结合蛋白质上离解→TRACP 5b 与孔内包被的抗 TRACP 单克隆抗体结合 →加入底物 pNPP 温育→加入终止液终止反应→在酶标仪上检测结果。

## 【主要组成成份】

1. MICROPLAT 酶标板：12×8 孔（带干燥剂于铝包装中），F-形底，已包被单克隆抗—TRACP 抗体（小鼠）和 BSA，即用。
2. 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。
3. CAL 校准品：2×6 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。每瓶准确的定标值标于瓶子的标签上。
4. 冲洗缓冲液：1×4 0 ml TBS/Tween，浓缩 2 5 倍，pH 7.65 - 7.85，包含 < 1 % Germall®II。

5. 样本稀释液: 1×15ml, 氯化钠溶液, 即用, 包含 < 1 % Germall®II。
6. 释放剂: 1×8ml, pH 6.9 – 7.1, 即用, 包含 < 1 % Germall®II。
7. 底物缓冲液: 2×10 ml, 醋酸钠缓冲液, pH 5.95 – 6.05, 即用, 包含 < 1 % Germall®II。
8. 底物: 4 片, 包含对硝基苯磷酸盐(pNPP)。
9. NaOH 终止液: 1×6ml, 0.32 M 氢氧化钠, 即用, Xi, 有刺激, S 26-37-60。

#### 【储存条件及有效期】

试剂盒未开封保存于 2-8℃至有效期  
微板开封保存于 2-8℃在有干燥剂的袋中 6 周  
质控品已复溶保存于-18℃以下 6 周  
标准品已复溶保存于-18℃以下 6 周  
底物缓冲液开封保存于 2-8℃6 周  
缓冲液已稀释保存于 2-8℃6 周  
样本稀释液开封保存于 2-8℃6 周  
释放液开封保存于 2-8℃6 周  
终止液开封保存于 2-8℃6 周

#### 【适用仪器】

适用于具有 450nm、650nm 波长的所有全自动、半自动酶标仪。

#### 【样本要求】

用血清或 EDTA 抗凝的血浆。样本不允许被微生物污染, 样本在室温下可保存 8 小时; 在 2-8℃可保存 3 天; 在-20℃可保存 2 个月; 要长期保存时, 应将样本放在-80℃下保存。样本需不加稀释而使用。样本如果超出检测范围时应按 1: 5 进行稀释。

#### 【检验方法】

##### 1. 自备试剂和材料

- 1.1. 使用双蒸水。使用去离子水会对试验有干扰。
- 1.2. 可微调的加样器。
- 1.3. 用于稀释洗液和样本的干净的玻璃或塑料容器。
- 1.4. 匹配的洗板设备 (如多道连续分配移液器或 ELISA 洗板机)。
- 1.5. 37℃孵育箱。
- 1.6. 振荡器, 850-950 rpm, 振幅 4mm。
- 1.7. 405 nm 滤光片的酶标仪。

##### 2. 试剂准备。

试验操作前, 必须将所有试剂盒中的试剂恢复至室温。计算所需要酶标板的孔数:

- 2.1. 酶标板。每次取出所需用的酶标板孔条后, 其余部分应与干燥剂一块放回原装铝包装中, 密封。
- 2.2. 冲洗缓冲液。1 份 25 倍浓缩的冲洗缓冲液加 24 份重双蒸水混合 (例如, 10 ml 缓冲液 (25×) 混合 240 ml 水)。7 ml 稀释的冲洗液用于 8 孔。
- 2.3. 校准品。用 0.5ml 双蒸水复溶冻干的校准品, 稀释 15 分钟。
- 2.4. 质控品。用 0.5ml 双蒸水复溶冻干的质控品, 稀释 15 分钟。
- 2.5. 底物液。每片底物用 5ml 底物缓冲液溶解, 用前新鲜配制。底物液不能保存。

##### 3.A. 操作过程

- 3.1. 打开铝箔袋, 按照样本数量取出所需的酶标板孔条。  
酶标板孔立即可用且不需预冲洗。注意! 酶标板是 12×8 孔。
- 3.2. 分别加入校准液、质控液和所有的待检样本各 100μl, 且为双份 (孔)。
- 3.3. 在每孔中加入 50μl 释放剂。
- 3.4. 置室温, 用孵育密封纸将酶标板密封, 放在开着的振荡器上 (850-950 rpm) 温育 60 分钟 (+/-5 分钟)。
- 3.5. 孵育后, 每孔每次加入 300μl 的冲洗缓冲液, 洗板 4 次。注意所有的孔都应充满, 并

在冲洗后要在滤纸上拍干。不要让孔干燥！操作时不能停顿！

3.6. 在每孔中加入 100 $\mu$ l 底物试剂。

3.7. 用孵育密封纸将酶标板密封，在 37 $^{\circ}$ C ( $\pm 1^{\circ}$  C) 下温育 60 分钟 ( $\pm 5$  min)。

3.8. 在每孔中加入 25 $\mu$ l 终止液终止反应。

为确保反应充分需轻轻振荡。在读 OD 值之前从底板清洁酶标板，小心不要让气泡进入孔内。

加入终止液后应在 15 分钟内比色读取结果。

### 3. B. 检验程序表格

	校 准	质 控	样 本
样本稀释液	——	——	——
校准品	100 $\mu$ l		——
质控品	——	100 $\mu$ l	——
样 本	——	——	100 $\mu$ l
释放剂	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l
在 850——950rpm 的振荡器上室温温育 60 分钟 ( $\pm 5$ 分钟)，每孔 300 $\mu$ l 洗液洗涤 4 次			
底物	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
37 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟 ( $\pm 5$ 分钟)			
终止液	25 $\mu$ l	25 $\mu$ l	25 $\mu$ l
405nm 读取吸光度			

#### 【参考值 (参考范围)】

TRACP 5b 的期望值来源于 239 例健康献血员的血清样本所检测的结果 (如下表所示)。

组别	例数	平均年龄 (范围)	TRACP 5b (U/L) 均值 $\pm$ SD
健康绝经前妇女	144	39.5 (22-54)	2.59 $\pm$ 0.78
健康年轻男性	32	36.0 (22-54)	3.06 $\pm$ 0.88
健康绝经后妇女	46	60.3 (41-81)	3.19 $\pm$ 0.85
健康老人	17	68.5 (55-79)	3.31 $\pm$ 0.72

对于绝经前妇女 (女性) 和年轻男性 (男性) 的正常值上限为均值 + 2SD:

组别	正常值上限: 均值 + 2SD
健康绝经前妇女	4.15U/L
健康年轻男性	4.82U/L

#### 【检验结果的解释】

##### 结果计算 (有效性)

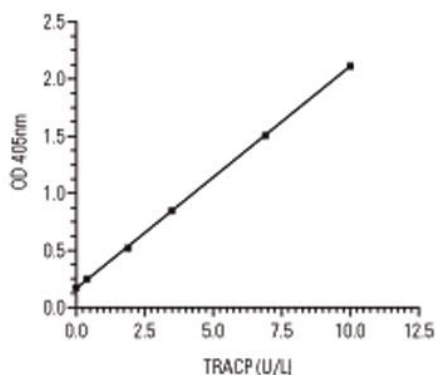
在波长为 405nm 处读取 OD 值。

以校准液所测平均 OD 值为纵坐标，酶活力值为横坐标绘制校准曲线。校准曲线可用线性回归方程求出。

检测范围为 0.5-10U/L。样本活性低于测定范围时，报告结果标明 < 0.5U/L，样本活性高于测定范围时，报告结果标明 > 10 U/L，且该值不能进行推断得出，而要稀释样本以后再进行检验 (1:5 的比例)。

质控和样本的 TRACP 5b 活性可以从校准线上读出。如果使用稀释的样本，则稀释因素必须在考虑范围内。

校准线举例说明:



批号特异性数据 (Lot-specific Data)  
参阅质量控制报告。

有效性判断标准

1. 0 U/L 校准品的平均 OD 值应 < 0.400。
2. 质控的活力值须在指定范围内。参阅质量控制报告中的指定范围。
3. 校准曲线相关系数( $r^2$ )须  $\geq 0.99$ 。

**如果检测结果达不到说明书要求，要重新进行检验！**

**【检验方法的局限性】**

方法学结果/局限性解释

TRACP 5b 的活力增加提示骨吸收增加。

结果在参考值范围之内，不能完全排除骨代谢没有异常，因此所有的结果应该结合临床数据和其它的诊断指标来解释。

高浓度的血红蛋白不影响检测结果。

高脂浓度有可能降低 OD 值，干扰 TRACP 5b 的活性。

**【产品性能指标】**

**A. 精确度**

样本	批内差异 (n=21)			样本	批间差异 (n=11)		
	mean OD U/L	SD	CV (%)		mean OD U/L	SD	CV (%)
质控品	3.0	0.18	6.0	质控品	3.3	0.19	5.8
N° 1	2.6	0.25	9.6	N° 1	2.5	0.23	9.2
N° 2	3.1	0.43	13.9	N° 2	4.2	0.35	8.3
N° 3	7.1	0.47	6.6	N° 3	7.0	0.62	8.9
				N° 4	7.2	0.38	5.4
				N° 5	2.6	0.23	8.8
				N° 6	16.1	1.16	7.2

**B. 回收率**

分别添加 3 份一定量的 TRACP 5b 活性至 3 份不同的血清，测定平均回收率为 100.9 % (SD = 11.3 %)

**C. 稀释线性**

利用不同活性的血清 (n=5) 测定线性。高 TRACP 5b 活性的样本可以用样品稀释液以 1:5 的

比例稀释。

#### D. 检测底限

本试剂盒的检测极限为 < 0.5 U/L。

#### 【注意事项】

1. 避免交叉污染，不要调换每个小瓶和其配套的瓶盖。
2. 试剂使用后应立即密封以避免蒸发和微生物污染。
3. 使用后，试剂须按指定方式保存以确保有效期。
4. 使用后，试剂盒中的组成部分应放回原包装保存，以避免与其它体系或批号试剂盒中的试剂混淆。
5. 过期试剂不得使用。
6. \* 必须重视当地职业安全与健康规章。
7. \* 动物来源的试剂（见试剂盒内容）应被看作有潜在传染性的，且使用时要进行必要的防范。
8. \* R 22：有害，不可食用。

R 36/38：对眼睛和皮肤有刺激。

R 52/53：对水生生物有害，可能对水生环境造成长期的不利影响。

S 26：如不慎接触到眼睛，立即用大量清水冲洗并寻求专业医师帮助。

S 36：穿着适当的防护服。

S 37：戴适当的手套。

S 60：这些材料和容器须作为有害废物处理。

冲洗缓冲液，样品稀释液，释放剂和底物缓冲液均含有 Germall®II (diazolidinyl urea)：可能产生过敏反应。

#### 【参考文献】

1. Yaziji H, Janckila AJ, Lear SC, Martin AW, Yam LT 1995 Immunohistochemical detection of tartrate-resistant acid phosphatase in non-hematopoietic human tissues. *Am J Clin Pathol* 104:397-402.
2. Lam KW, Li CY, Yam LT, Desnick RJ 1981 Comparison of the tartrate-resistant acid phosphatase in Gaucher's disease and leukemic reticuloendotheliosis. *Clin Biochem* 14:177-181.
3. Janckila AJ, Neustadt DH, Nakasato YR, Halleen JM, Hentunen T, Yam LT 2002 Serum tartrate-resistant acid phosphatase isoforms in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 320:49-58.
4. 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.
5. Hannon RA, Clowes JA, Eagleton AC, Al Hadari AA, Eastell R, Blumsohn A 2004 Clinical performance of immunoreactive tartrate resistant acid phosphatase isoform 5b as a marker of bone resorption. *Bone* 34:187-194.
6. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Väänänen HK 2000 Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 15:1337-1345.
7. 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.
8. Albertini B, Casez JP, Cheneval JP, Wauters JP, Jaeger PH 2002 Low levels of 25-hydroxy-vitamin D3 (25OHD) and high serum tartrate resistant acid phosphatase 5b (TRAP 5b) activity in hemodialysis patients: relationship to secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 13:571A-572A.
9. Halleen JM 2003 Tartrate-resistant acid phosphatase 5B is a specific and sensitive marker of bone resorption (Review). *Anticancer Res* 23(2A):1027-1029.
10. Chu P, Chao TY, Lin YF, Janckila AJ, Yam LT 2003 Correlation between histomorphometric parameters of bone resorption and serum type 5b tartrate-resistant acid phosphatase in uremic patients on maintenance hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 41:1052-1059.

11. Reichel H, Esser A, Roth HJ, Schmidt-Gayk H 2003 Influence of PTH Assay Methodology on Differential Diagnosis of Renal Bone Disease. *Nephrol Dial Transplant* 18:759-768.
12. Mehlhorn AT, Rechl H, Stemberger AW, Gradinger R 2002 Immunological and histochemical determination of TRAP 5b to measure osteoclast activity under antiosteolytic treatment. *Calcif Tissue Int* 70, Abstract P21.
13. Stepan JJ, Burckhardt P 2002 Serum activity of type 5b ACP and biochemical markers of type I collagen degradation in osteoporotic men with Klinefelter's syndrome treated with an intravenous ibandronate. *Calcif Tissue Int* 70, Abstract P79.
14. Halleen JM, Nenonen AM, Alatalo SL, Ivaska KK, Cheng S, Schmidt-Gayk H, Uusi-Rasi K, Heinonen A, Kannus P, Sievänen H, Väänänen HK 2003 Comparison of serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b with other markers of bone turnover in monitoring alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 18(Suppl.1), Abstract SA104.
15. Rissanen JP, Hentunen TA, Halleen JM 2003 Development and characterization of a novel human in vitro bone resorption assay useful for preclinical testing of drug candidates. *J Bone Miner Res* 18(suppl.1), Abstract SA256.
16. Terpos T, Viniou N, de la Fuente J, Meletis J, Voskaridou E, Karkantaris C, Vaiopoulos G, Palermos J, Yataganas X, Goldman J, Rahemtulla 2003 Pamidronate is superior to ibandronate in decreasing bone resorption, interleukin-6 and beta 2-microglobulin in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 70:34-42.
17. Truniger R, Popp AWE, Perrelet R, Noesberger A, Lippuner K 2003 Effects of a 12 months risedronate treatment on biochemical markers of bone turnover and on serum osteoprotegerin and soluble receptor activator of NF-kB ligand in postmenopausal osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 18(suppl. 1), Abstract SU341.
18. Voskaridou E, Terpos E, Spina G, Palmeros J, Rahemtulla A, Loutradi A, Loukopoulos D 2003 Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol* 1234:730-737.
19. Alatalo SL, Halleen JM, Hentunen TA, Mönkkönen J, Väänänen HK 2000 Rapid screening method for osteoclast differentiation in vitro that measures tartrate-resistant acid phosphatase 5b activity secreted into the culture medium. *Clin Chem* 46:1751-1754.

**【生产企业】**

生产者名称：英国 Immunodiagnostic Systems Limited(IDS Ltd)  
生产者/生产场所地址：10 Didcot Way,Boldon Business Park,Boldon,Tyne&Wear,NE35 9PD,UK  
联系方式：+44 (0) 191 519 0660  
传真：+44 (0) 191 519 0760  
网址：www.idsltd.com

售后服务机构：北京荣志海达生物科技有限公司  
地址：北京市海淀区永定路 88 号长银大厦 12 层 B12 室  
电话：+86 10 58895646 +86 20 32293178  
传真：+86 10 58895611 +86 20 32293177  
电子邮箱：info@rz-biotech.com  
网址：www.rz-biotech.com

**【医疗器械注册证书编号】**

国食药监械（进）字 2006 第 3401246 号

**【产品标准编号】**

YZB / ENG 0280-2006

**【说明书批准及修改日期】**

**仅供参考，请以原版英文说明书为准！**