

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒使用说明书

【产品名称】

通用名称：血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒

英文名称：Serum CrossLaps® ELISA

【包装规格】

96 人份/盒

【预期用途】

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒(Serum CrossLaps® ELISA)用于人血清及血浆中 I 型胶原 C 端肽降解产物的定量检测。

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒(Serum CrossLaps® ELISA)用酶联免疫法定量测定人血清和血浆中 I 型胶原 C 端肽降解产物。

除上面指定用途以外，IDS 公司对此试剂盒的任何其他使用及其因此导致的后果不予负责，对未按照本手册所示方法而错误使用本试剂不予负责。此外，IDS 公司对由使用者或第三方依据血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒的结果所做诊断或结论，以及其解释所导致的后果不予负责。

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析可作为人骨吸收的指标而用于体外诊断，并有助于

A. 监测骨吸收在以下情况下的变化

- 1) 绝经妇女的抗骨吸收治疗
 - a) 用激素和类激素药物进行激素替代疗法(HRT)
 - b) 二磷酸盐治疗
- 2) 被诊断为骨量减少的个体抗骨吸收治疗
 - a) 用激素和类激素药物进行激素替代疗法(HRT)
 - b) 二磷酸盐治疗

B. 预测接受抗骨吸收治疗的绝经妇女的骨密度(BMD)应答

- a) 用激素和类激素药物进行激素替代疗法(HRT)
- b) 二磷酸盐治疗

使用范围

未确立此检测用于预测骨质疏松的发展或未来骨折的风险。

未确立此检测用于甲状腺机能亢进或甲状腺机能亢进。

当用于监测治疗时，影响骨吸收的患者临床状况如骨转移，甲状腺机能亢进或甲状腺机能亢进，会干扰检测结果。

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒检测结果应该与临床研究结果和其它诊断结果结合使用，且不应作为起始或改变治疗方案的唯一决定因素。

不要互相换算血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒和尿 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒的测定值。

【检测的概述和说明】

I 型胶原占骨有机基质90%以上，并主要在骨中合成(1)。骨骼更新时，I型胶原被降解，短肽片段进入血液。这些片段可用血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒检测。已有文献报道用竞争性 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析测定尿(2)及血清(3)中 I 型胶原特异降解片段。有文献报道夹心式酶联免疫分析有助于患骨代谢疾病的病人抗骨吸收治疗后的研究(3—17)。

【检验原理】

血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒(Serum CrossLaps® ELISA)是基于两种高度特异的氨基酸序列 EKAHD-β-GGR 的单克隆抗体，其中天冬氨酸残基(D)为β异构体。为了在血清 I 型胶原 C 端肽酶联免疫吸附分析试剂盒中获得特异信号，两条 EKAHD-β-GGR 链必须相互交联。标准品，质控

和待测样本加入有链霉抗生物素蛋白(Streptavidin) 包被的微孔板中, 然后加入生物素标记抗体和过氧化物酶偶联抗体的混合物, CrossLaps[®] 抗原, 生物素标记抗体 和过氧化物酶偶联抗体形成复合物, 此复合物通过生物素标记抗体结合于链霉抗生物素蛋白包被的微孔板表面。经一步法室温孵育后, 倒空并清洗微孔板。加入生色底物, 加入硫酸终止显色反应。最后测量吸光度。

【主要组成成份】

1. 链霉抗生物素蛋白(Streptavidin) 包被的微孔板 (MTP)

链霉抗生物素蛋白预包被的条形微孔板(12条 x 8孔), 置于一塑料框架中。

2. CrossLaps[®]标准A(瓶A)

一瓶(至少1.5 mL/瓶)可直接使用的含有蛋白质稳定剂和防腐剂的PBS缓冲的溶液。

3. CrossLaps[®]标准B—F (瓶B—瓶F)

五瓶(至少0.4mL/瓶)可直接使用的CrossLaps[®] 标准品, (溶于含有蛋白质稳定剂和防腐剂的PBS缓冲溶液中)。准确浓度标在各瓶上。

4. CrossLaps[®]质控 (瓶CO1-2)

两瓶(0.5mL/瓶)可直接使用的脱盐人源尿抗原 (溶于含蛋白质稳定剂和防腐剂的PBS缓冲溶液中)。请参考所附数据表中质控的浓度范围。

5. 生物素标记抗体 (1号瓶)

一瓶(0.25mL)生物素标记的鼠抗I型胶原C端肽降解产物的特异性单克隆抗体浓缩液 (溶于含蛋白质稳定剂和防腐剂的缓冲溶液中)。

6. 过氧化物酶偶联抗体 (2号瓶)

一瓶(0.25mL)过氧化物酶偶联的鼠抗I型胶原C端肽降解产物的特异性单克隆抗体浓缩液(溶于含蛋白质稳定剂和防腐剂的缓冲溶液中)。

7. 孵育缓冲液(3号瓶)

一瓶(至少19mL)可直接使用的含有蛋白质稳定剂、去污剂和防腐剂的缓冲溶液。

8. 底物溶液 (瓶TMB)

一瓶(至少12 mL)可直接使用的四甲基联苯胺(TMB)底物(溶于酸性缓冲液中)。请注意该生色底物可带浅蓝色。

9. 终止液 (瓶ST)

一瓶(至少12 mL)可直接使用的0.18 mol/L硫酸溶液。

10. 清洗溶液 (瓶W)

一瓶(至少20mL)含有去污剂和防腐剂的浓缩清洗缓冲液。

11. 封口膜

孵育时密封微孔板的粘性薄膜。

【储存条件及有效期】

收到血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒后在2—8°C保存。试剂在此条件下稳定至包装盒上所标有效日期。

【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】

静脉取血样, 避免溶血。采样后3小时内分离血清。建议立即冷冻样本(<-18°C)。

为获得最佳结果, 建议抽取早晨空腹血样。

为了对个体患者进行监测, 后续样本应该在与基线样本相同的条件下采集。

当分析血浆样本时, 可使用肝素或EDTA抗凝的血浆。

【检验方法】

所需的仪器及试剂(未提供)

- 制备抗体混合溶液和清洗溶液的容器。
- 准确移取50—200μL的微量移液器

| | | | | | | | | |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| 1 | 0.423 | 0.428 | 0.396 | 0.460 | 0.445 | 0.430 | 0.024 | 6 |
| 2 | 0.461 | 0.523 | 0.500 | 0.535 | 0.539 | 0.512 | 0.032 | 6 |
| 3 | 0.850 | 0.731 | 0.761 | 0.782 | 0.764 | 0.778 | 0.045 | 6 |
| 4 | 0.377 | 0.468 | 0.455 | 0.499 | 0.440 | 0.448 | 0.045 | 10 |
| 5 | 0.918 | 0.834 | 0.791 | 0.781 | 0.714 | 0.808 | 0.075 | 9 |
| 6 | 0.268 | 0.249 | 0.246 | 0.257 | 0.258 | 0.255 | 0.009 | 3 |
| 7 | 0.431 | 0.457 | 0.468 | 0.494 | 0.506 | 0.471 | 0.030 | 6 |
| 8 | 0.666 | 0.587 | 0.670 | 0.595 | 0.728 | 0.655 | 0.063 | 10 |
| 9 | 0.323 | 0.357 | 0.341 | 0.409 | 0.345 | 0.355 | 0.033 | 9 |
| 10 | 0.419 | 0.520 | 0.541 | 0.491 | 0.470 | 0.488 | 0.047 | 10 |
| 11 | 0.353 | 0.472 | 0.429 | 0.464 | 0.400 | 0.424 | 0.049 | 12 |

【检验结果的解释】

结果处理

可使用二次方程曲线拟合。

也可以计算样本平行孔吸光度的平均值，构建六个标准品A—F的吸光度平均值（纵坐标）对相应CrossLaps[®]浓度（横坐标）的标准曲线，依此用内插法确定质控和待测样本中CrossLaps[®]的浓度。

结果举例

| 标准品/ 质控CO/ 待测样本 | CrossLaps [®] 浓 度 (ng/ml) | A ₄₅₀₋₆₅₀ 吸光度1/ 吸光度2 | A ₄₅₀₋₆₅₀ 平均值 | 内推 CrossLaps [®] 浓 度 (ng/ml) |
|-----------------------|--|------------------------------------|-----------------------------|--|
| 标准A | 0.000 | 0.041 / 0.040 | 0.041 | |
| 标准B | 0.120 | 0.128 / 0.125 | 0.127 | |
| 标准C | 0.339 | 0.324 / 0.313 | 0.319 | |
| 标准D | 0.700 | 0.644 / 0.631 | 0.638 | |
| 标准E | 1.442 | 1.276 / 1.265 | 1.272 | |
| 标准F | 2.172 | 1.904 / 1.969 | 1.937 | |
| 质控CO 1 | | 0.286 / 0.296 | 0.291 | 0.305 |
| 样本1 | | 0.216 / 0.215 | 0.216 | 0.216 |
| 样本2 | | 0.373 / 0.398 | 0.386 | 0.416 |
| 样本3 | | 0.859 / 0.886 | 0.873 | 0.982 |

请注意：以上数据仅为举例，不可用于计算其它实验的结果。

【检验方法的局限性】

HAMA 干扰

个别人具有抗鼠免疫球蛋白抗体(HAMA)，在采用鼠单克隆抗体进行的免疫分析，如血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析中会产生干扰。在少数情况下，HAMA的含量超出了血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒中封闭试剂的封闭限度，导致假阳性结果。因此，血清CrossLaps[®]值应同病人的临床评估信息结合使用。

测试了牛磺胆红素、血红蛋白和脂类对用血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒检测血清中CrossLaps[®]的干扰。在下列浓度以下没有干扰：

- 牛磺胆红素 600mg/L
- 血红蛋白 10 g/L
- 脂类 10 g/L

【产品性能指标】

检测极限： 0.020ng/mL CrossLaps[®]

此值为高于空白(CrossLaps[®] 标准A)21个测定平均值三个标准偏差所对应的浓度。

精确度

血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒(Serum CrossLaps[®] ELISA)的精确度用三个血清样本进行评估。结果总结如下:

批间CV(n=12)

| 平均值(ng/mL) | SD(ng/mL) | CV(%) |
|--------------|-------------|-------|
| 0.273 | 0.022 | 6.1 |
| 0.393 | 0.021 | 5.4 |
| 0.488 | 0.032 | 6.5 |

批内CV(n=21)

| 平均值(ng/mL) | SD(ng/mL) | CV(%) |
|--------------|-------------|-------|
| 0.242 | 0.013 | 5.4 |
| 0.375 | 0.019 | 5.0 |
| 0.476 | 0.024 | 5.1 |

稀释/线性

血清 I 型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒 (Serum CrossLaps[®] ELISA) 的线性范围在0.020 ng/mL 到3.380ng/mL CrossLaps[®] 。

CrossLaps[®] 浓度为0.460—0.668ng/mL的血清样本用标准A稀释后， CrossLaps[®] 的浓度用血清I型胶原C端肽酶联免疫吸附分析试剂盒测定 。原血清样本的浓度设为100% 。

以下的数由3轮实验结果计算得出:

| 稀释 | | |
|-------|---------|------------|
| 血清(%) | 标准A (%) | 回收率 (%期望值) |
| 100 | 0 | 100 |
| 90 | 10 | 103 |
| 80 | 20 | 103 |
| 70 | 30 | 101 |
| 60 | 40 | 102 |
| 50 | 50 | 105 |
| 40 | 60 | 109 |
| 30 | 70 | 107 |
| 20 | 80 | 97 |
| 10 | 90 | 100 |
| 平均值 | | 103 |

【注意事项】

- 所有试剂和实验室设备应按感染物品处理丢弃。
- 试剂盒应在有效期限之内使用， 不要将不同批号的试剂混合。

【参考文献】

1. Burgeson RE. New collagens, new concepts. Annu Rev Cell Biol 4:551-77;1988
2. Bonde M, Garnero P, Fledelius C, Qvist P, Delmas PD, Christiansen C. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of Type I collagen. J Bone Miner Res 12:1028-1034; 1997
3. Garnero P, Gineyts E, Riou JP, Delmas PD. Assessment of bone resorption with a new marker of collagen degradation in patients with metabolic bone disease. J Clin Endocrinol & Metab 79:780-5; 1994
4. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (CrossLaps[®]) - follow up on hormone

- replacement therapy and osteoporosis risk assessment. *J Clin Endocrinol & Metab* 80:864-8;1995
5. Pedersen BJ, Ravn P, Bonde M. Type I Collagen C-telopeptide Degradation products as Bone Resorption Markers. *J Clin LigandAssay* 21; 2: 118-127; 1998
 6. Rosenquist C, Fledelius C, Christgau S, Pedersen BJ, Bonde M, Qvist P, Christiansen C. SerumCrossLaps® ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. *Clin. Chem.*44;11: 2281-2289; 1998
 7. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, Herling C, Qvist P, Christiansen C. Clinical evaluation of the Serum CrossLaps® ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen Ctelopeptides. *Clin Chem* 44:11; 2290-2300; 1998
 8. Bjarnason,N.H. & Christiansen,C. Early Response in Biochemical Markers Predicts Longterm Response in Bone Mass During Hormone Replacement Therapy in Early Postmenopausal Women. *Elsevier* 26, 561-569 (2000).
 9. Buclin T,Rochat MC,Burckhardt P,Azria M,Attinger M. Bioavailability and biological efficacy of a new oral formulation of salmon calcitonin in healthy volunteers. *J Bone Miner Res* 17, 8-1478 (2002).
 10. Christgau,S.; Bitsch-Jensen,O.; Bjarnason,N.H.; Gamwell Henriksen,E.; Qvist,P.; Alexandersen,P.; Bang Henriksen,D. Serum CrossLaps for Monitoring the Response in Individuals Undergoing Antiresorptive Therapy. *Elsevier* 26, 505-511 (2000).
 11. Delmas PD. Markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis with antiresorptive drugs. *Osteoporos Int* 11, S66-S76 (2000).
 12. Delmas,P., Hardy,P. & Dain,M.P. Monitoring Individual Response to Hormone Replacement Therapy with Bone Markers. *Elsevier* 26, 553-560 (2000).
 13. Fink,E.; Cormier,C.; Steinmetz,P.; Kindermans,C.; Bouc,Le Y.; Souberbielle,J.C. Differences in the Capacity of Several Biochemical Bone Markers to Assess High Bone Turnover in Early Menopause and Response to Alendronate Therapy. *Osteoporos. Int.* 11, 295-303 (2000).
 14. Ravn P,Neugebauer G,Christiansen C. Association between pharmacokinetics of oral ibandronate and clinical response in bone mass and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Bone* 30, 320-324 (2002).
 15. Ravn,P. & Clemmesen,B. Biochemical Markers Can Predict the Response in Bone Mass During Alendronate Treatment in Early Postmenopausal Women. *Bone* 24, 237-244 (1997).
 16. Reginster JY,Henrotin Y,Christiansen C,Gamwell-Henriksen E,Bruyere,Collette J,Christgau S. Bone resorption in post-menopausal women with normal and low BMD assessed with biochemical markers specific for telopeptide derived degradation products of collagen type I. *Calcif Tissue Int* 69, 130-137 (2001).
 17. Rosen,H.N.; Moses,A.C.; Garber,J.; Iloputaife,I.D.; Ross,D.S.; Lee,S.L.; Greenspan,S.L. Serum CTX: A New Marker of Bone Resorption That Shows Treatment Effect More Often Than Other Markers Because of Low coefficient of Variability and Large Changes with Bisphosphonate Therapy. *Calcify Tissue Into* 66, 100-103 (2000).
 18. 18. S. Christgau, O. Bitch-Jensen, N. Hanover Bjarnason, E. Gamwell Henriksen, P. Qvist, P. Alexandersen and D. Bang Henriksen. Serum CrossLaps for Monitoring the Response in Individuals Undergoing Antiresorptive Therapy. *Bone* Vol. 26. No. 5 505-511 (2000)
 19. 19. Christiansen C, Tanko LB, Warming L, Moelgaard A, Christgau S, Qvist P, Baumann M, Wiczorek L, and Hoyle N. 2003. Dose dependent effects on bone resorption and formation of intermittently administered intravenous Ibandronate. *Osteoporos Int*.

20. 20. Chailurkit,L.O., S.Aunphongpuwanart, B.Ongphiphadhanakul, W.Jongjaroenprasert, S.Sae-Tung, and R.Rajatanavin. 2004. Efficacy of intermittent low dose alendronate in Thai postmenopausal osteoporosis. *Endocr Res* 30:29-36
21. 21. Qvist,P., M.Munk, N.Hoyle, and C.Christiansen. 2004. Serum and plasma fragments of C-telopeptides of type I collagen (CTX) are stable during storage at low temperatures for 3 years. *Clin Chim Acta* 350:167-173
22. 22. Reginster,J.Y., K.M.Wilson, E.Dumont, B.Bonvoisin, and J.Barrett. 2005. Monthly Oral Ibandronate is Well Tolerated and Efficacious in Postmenopausal Women: Results From the Monthly Oral Pilot Study. *J Clin Endocrinol Metab*
23. 23. Rosen,H.N., R.A.Parker, S.L.Greenspan, I.D.Iloputaife, L.Bookman, D.Chapin, I.Perlmutter, B.Kessel, P.Qvist, and M.Rosenblatt. 2004. Evaluation of Ability of Biochemical Markers of Bone Turnover to Predict a Response to Increased Doses of HRT. *Calcif Tissue Int*
24. 24. Tanko,L.B., Y.Z.Bagger, P.Alexandersen, J.P.Devogelaer, J.Y.Reginster, R.Chick, M.Olson, H.Benmamar, L.Mindeholm, M.Azria, and C.Christiansen. 2004. Safety and Efficacy of a Novel Salmon Calcitonin (sCT) Technology-Based Oral Formulation in Healthy Postmenopausal Women: Acute and 3-Month Effects on Biomarkers of Bone Turnover. *J Bone Miner Res* 19:1531-1538
25. 25. Warming,L., P.Ravn, D.Spielman, P.Delmas, and C.Christiansen. 2004. Trimegestone in a low-dose, continuous-combined hormone therapy regimen prevents bone loss in osteopenic postmenopausal women. *Menopause* 11:337-342.
26. 26. Warming,L., P.Ravn, T.Nielsen, and C.Christiansen. 2004. Safety and efficacy of drospirenone used in a continuous combination with 17beta-estradiol for prevention of postmenopausal osteoporosis. *Cimacteric* 7:203-111
27. 27. Warming,L., P.Ravn, and C.Christiansen. 2005. Levonorgestrel and 17beta-estradiol given transdermally for the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Maturitas* 50:78-85.

【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 3401261 号

【产品标准编号】

YZB/DAM 0136-2006

【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！