



クラスⅢ生化学・免疫・内分泌検査用シリーズ
アルカリ性フォスファターゼアイソザイムキット

アクセス オスターゼ

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合は、保証の対象とはなりません。
- **4. 本品は、Access イムノアッセイアナライザー、Access2 イムノアッセイシステム、Access2 イムノアッセイシステム PRO、ユニセル (UniCel) DxI 800 / 600 システム用の試薬です。ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでからご使用ください。

形状・構造等(キットの構成)

1. 構成試薬

ラベル	構成試薬名	主要成分
R1	試薬パック	
R1a	固相試薬	磁性粒子結合抗マウス IgG ヤギポリクローナル抗体
R1b	抗体試薬	抗ヒト BAP マウスモノクローナル抗体
R2	基質液	ルミジェン PPD (4-メトキシ-4-(3-フォスフェイトフェニル)スピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-アダマンタン]ジナトリウム塩)

2. その他の試薬

ラベル	試薬名	主要成分
R3	洗浄液	トリス緩衝液
S0	キャリブレーション	ウシ血清アルブミン
S1,S2,S3,S4,S5		ウシ血清アルブミン、ヒト骨型アルカリフォスファターゼ (約 7,15,30,60,120 µg/L : キャリブレーション濃度はロットにより異なります)
-		検体希釈液

使用目的

血清または血漿中の骨型アルカリフォスファターゼ (BAP) の測定

測定原理

【測定法】 化学発光酵素免疫測定法

【測定原理】¹

検体中の BAP がマウス抗 BAP モノクローナル抗体結合磁性粒子と免疫複合体を形成します。洗浄後、化学発光基質 (ルミジェン PPD) を加え酵素反応を行います。ルミジェン PPD の分解による発光量は検体中の BAP 濃度を反映するため、これを測定することにより BAP 濃度を求めます。

操作上の注意

1. 測定には血清又は抗凝固剤にヘパリンを用いた血漿を使用してください。
2. 静脈穿刺についての感染予防措置に従い採血してください²。
3. 常に検体は密栓してください²。
4. 遠心分離後、直ちに上清をふた付きのチューブに 500 µL 以上分注し、直ちにふたをしっかりと閉じてください。遠心分離を行う場合は、十分に凝固させてから実施してください。遠心分離の条件は、採血管の推奨条件に従ってください²。
5. 遠心分離後、すぐに上清をふた付きのチューブに 500 µL 以上分注し、直ちにふたをしっかりと閉じてください。24~48 時間以内に測定する場合は 2~8℃で保存してください。また、長期保存 (2 箇月以内) の場合は -70℃で凍

結してください。粒子状物質を含む混濁した検体は測定前に遠心分離してください。

6. フィブリン残渣や細胞物質は分析前に取り除いてください。
7. 採血管及び血清分離剤は、製造メーカーや製造時期、製造ロット等により差がみられることがありますので、各施設において適切なものを選択してください。
8. 検体容器と装置デッドボリュームに加え、本品 1 測定につき検体 25 µL を使用します。検体最小必要量については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。
9. 装置のデフォルト測定単位は µg/L です。
10. 干渉物質
CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) ガイドライン EP-7P (Interference Testing in Clinical Testing) に基づいて求めた干渉物質の影響は下記の通りです。
(1) 非抱合型ビリルビン 40 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(2) 抱合型ビリルビン 20 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(3) ヘモグロビン 500 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(4) トリグリセリド 2,000 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(5) 総タンパク 3.0~15.6 g/dL まで測定値に影響ありません。
(6) 100 U/L 小腸型 ALP 活性は、本品では 1.8 µg/L と測定されます。
(7) 100 U/L 胎盤型 ALP 活性は、本品では 0.3 µg/L と測定されます。
(8) 肝型 ALP の反応性
肝疾患患者血清と Paget 病患者血清を電気泳動し、肝型 ALP 又は BAP が >95% を示したものを試料とし、下記の二つの方法で評価しました。
1) Moss と Whitby³ により述べられた第一の方法は、その肝型 ALP 試料中の内因性 BAP の影響を最小限にする熱不活化法を用いるもので、100 U/L 肝型 ALP 活性は本品では 2.5~5.8 µg/L と測定されました。
2) Price ら⁴ により示された第二の方法は、試料の前処理を行わず、本品と total ALP (TAP) (EIA) による slope 法を用いました。前述の肝型 ALP 試料と BAP 試料の本品の測定値を y 軸に、TAP 活性値を x 軸にとり、それぞれの試料の値をプロットして肝型 ALP と BAP 試料の slope 値を求めました。
100 U/L 肝型 ALP 活性は、本品では 5.5 µg/L と測定されます。
100 U/L BAP (電気泳動で BAP >95% の試料の TAP 測定値) は、本品では 37.5 µg/L と測定されます。

用法・用量(操作方法)

1. 試薬の調製方法

試薬	調製法	開封後の貯法・有効期間
R1 試薬パック	調製は不要です。装置に搭載する前に、パックを泡立たないよう静かに数回転倒混和してください。測定に使用する前に少なくとも 2 時間は 2~10℃ に冷やしてください。	開封後、2~10℃で 42 日間安定です。
R2 基質液	調製は不要です。未開封状態で、15~30℃ (室温) に少なくとも 18 時間以上 (最長 14 日間まで) 放置してから使用してください。	開封後、装置に搭載した状態で 14 日間安定です。

2. その他の試薬の調製方法

試薬 (別売)	調製法	開封後の貯法・有効期間
R3 洗浄液	調製は不要です。	開封後、15~30℃で、ラベルに記載された有効期限前日まで安定です。
S0~S5 キャリブレーション ※濃度はロットにより異なります。	調製は不要です。泡立たないよう静かに数回転倒混和してから使用してください。	開封して使用後、直ちに閉栓し、直立させて 2~10℃で保管した場合、58 日間安定です。
QC1, QC2 コントロール	調製は不要です。泡立たないよう静かに数回転倒混和してから使用してください。	開封して使用後、直ちに閉栓し、直立させて 2~10℃で保管した場合、58 日間安定です。

3. その他測定に必要なもの

- **精度管理用コントロール (別売)
製品番号 37309 : アクセス オスターゼ QC セット
- 反応チューブ
製品番号 81901 : アクセス用反応チューブ
製品番号 386167 : UniCel DxI 800 用ヴェッセル
- **検体希釈液 (検体希釈時のみ使用) (別売)
製品番号 81908 アクセス検体希釈液
製品番号 A79783 : DxI 用検体希釈液パック A (dSDA)

4. 操作方法

試料の取扱い、装置への測定項目設定、測定依頼、測定結果解釈については、装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

(1) キャリブレーション

測定の際には、有効な検量線(キャリブレーションカーブ)が必要です。
アクセス オスターゼ キャリブレータ(別売)に同梱のキャリブレーションカード情報を装置に登録後、S0～S5 を検体と同様に操作し検量線を作成します。キャリブレータは 6 濃度とも二重測定です。
キャリブレータの濃度はロット毎に異なります。各濃度はキャリブレータカードを参照してください。キャリブレーション理論、キャリブレータ登録、キャリブレータ測定依頼、キャリブレーションデータ解釈などの詳細については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。検量線は 42 日間有効です。

(2) 検体の測定

機器に付設する表示画面で検体の情報及び測定項目を入力した後、ラック又はサンプルトレイにセットした検体を機器に架設し、本装置を操作すると次の分析操作が行われます。

- 1) 検体に、固相液、抗体液を加え、反応させる。
- 2) 洗浄後、基質液を加え、反応させる。
- 3) 発光強度($\lambda_{\text{max}}=540\text{ nm}$)を測定する。
- 4) 検量線から、検体中の BAP 濃度を算出する。

検体の測定開始から約 30 分後に最初の結果が得られます。

5. 精度管理

精度管理用試料は患者試料の特質を反映し、免疫化学検査装置の性能をモニタリングするために必要なものです。アクセス オスターゼ QC セット又は市販の少なくとも 2 濃度以上の精度管理用試料を用いて、1 日 1 回以上測定してください⁵。調製及び保存条件は製造元の取扱説明書に従ってください。各施設においては、適切な性能を保証するために精度管理用試料の平均値及び許容範囲を設定してください。精度管理用試料の値が許容範囲に入らなかった場合は検査結果が無効である可能性があります。その検査においては、精度管理用試料が前回、許容範囲に入っていた時点で遡って、全てを再測定してください。精度管理用試料の結果値の評価については、本装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

測定結果の判定方法

1. 判定基準

(1) 社内検討データ^{6,7,8}

参考基準範囲:	男性	: 3.7~20.9 µg/L
	閉経前女性	: 2.9~14.5 µg/L
	閉経後女性	: 3.8~22.6 µg/L

上記参考基準範囲を 95%タイルで統計処理したものは次のとおりです。

男性	: 20.1 µg/L 以下
閉経前女性	: 14.3 µg/L 以下
閉経後女性	: 22.4 µg/L 以下

(2) 国内データ^{9,10}

参考基準範囲:	男性	: 7.9~23.2 µg/L (n=770)
	閉経前女性	: 6~18 µg/L (n=797)
	閉経後女性	: 8~26 µg/L (n=165)

アジア地域共有基準範囲設定国際プロジェクトで得られた健康人データのうち、日本国内に限定したデータで、年齢は 20~60 才でほぼ均等に分布しています。調整 Box-Cox ベキ乗変換によるパラメトリック法で求めました。

基準値は種々の要因から各検査室によって異なる可能性があるため、個々の検査室に適した基準値を設定してください。

2. 判定上の注意

- (1) 測定結果が検量線を超える値の場合は、キャリブレータ濃度(S5)以上と報告してください。また、希釈する場合は、検体と検体希釈液(別売)を 1:2、1:4 又は 1:9 で希釈し、再測定してください。測定結果が測定範囲下限値以下の場合、測定下限値以下と報告してください。
- (2) 測定において、検体中の自己抗体やヒト抗マウス抗体(HAMA)などによる干渉が存在することがあります。症状、病歴、その他の検査データ及び他の適切な情報を含む患者の総体的な臨床所見を基に測定結果の解釈をしてください^{11,12}。
- (3) 肝型 ALP 活性は本品測定においては 100 U/L で 2.5~5.8 µg/L と測定されます。肝型 ALP 活性が極めて高値の血清検体は、測定結果が高くなる可能性があります。
- (4) 代謝性骨疾患患者において、疾患活動性が低レベルであった場合、BAP 濃度は本品の基準範囲内に低下する場合があります。

臨床的意義^{13,14,15}

アルカリフォスファターゼ(ALP)アイソザイムの一種である BAP(骨型 ALP)は、骨形成を担う骨芽細胞の膜酵素であり、骨芽細胞から産出されます。BAP の血中レベルは骨芽細胞の機能状態(数や活動性)を反映するといわれ、骨 Paget 病、原発性副甲状腺機能亢進症、甲状腺機能亢進症、骨軟化症などの代謝性疾患や、原発性骨腫瘍、前立腺癌や乳癌などの造骨腫瘍の骨転移な

どで血清中の BAP の値が上昇します。また、慢性腎不全に伴う腎性骨異常養症の診断の指標としても有用であり、骨粗鬆症など、骨回転の異常を伴う疾患や骨疾患治療薬の治療効果のモニタリングとして用いられています。

性能^{3,4,8}

【感度試験】

1. 7.6~10.5 µg/L の管理検体を試料として操作した場合の測定値は、既知濃度の $\pm 20\%$ 以内です。
2. 69.0~95.0 µg/L の管理検体を試料として操作した場合の測定値は、既知濃度の $\pm 20\%$ 以内です。

【特異性試験】

8.0~12.0 µg/L、20.0~29.0 µg/L、38.0~52.0 µg/L の表示値を示す 3 種類の標準検体を測定するとき、測定値はそれぞれ表示値の $\pm 20\%$ 以内です。

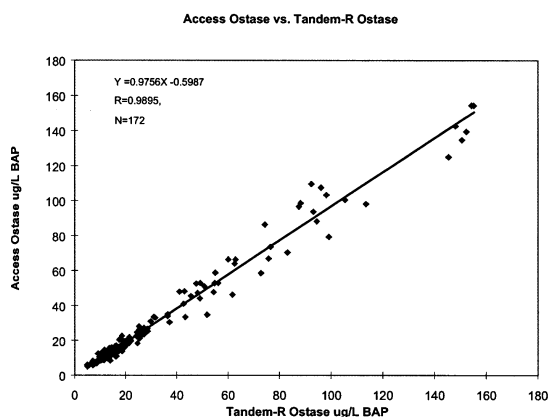
【同時再現性試験】

同一検体を 3 回以上同時に測定するとき、測定値の CV 値は 10.0%以下です。

【測定範囲】 0.1~108 µg/L

【標準物質】 社内調製品

【相関性試験】



使用上又は取扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意

- (1) システムでのご使用にあたっては、システム取扱説明書をよくお読みください。
- (2) システム上、測定範囲上限値はキャリブレータ最大濃度値となります。
- (3) 検体、キャリブレータ、コントロールは HIV、HBV、HCV 等の感染のおそれがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋やゴーグルを着用し、また口によるピッシングを行わないでください¹⁶。
- (4) 本品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要であれば医師の手当てを受けてください¹⁷。
- (5) 本品は、ProClin™ 300※を含有しており、皮膚等を刺激する場合があります。もし、皮膚や衣服に付いた場合は速やかに水で洗い流してください。皮膚に炎症を生じた場合は医師の手当てを受けてください。
※The Dow Chemical Company の商標

2. 使用上の注意

- (1) 本品は凍結しないでください。凍結された試薬は使用できません。
- (2) 開封後の試薬パックを転倒混和しないでください。
- (3) 試薬を注ぎ足して使用しないでください。
- (4) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- (5) 開封後の本品を別の装置に搭載しないでください。
- (6) 基質液は空気酸化の影響を受けやすいので、ふたをしっかり閉め、ボトルの移し替えは避けてください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 試薬及び器具等を廃棄する際は、廃棄物の規定に従って処理してください。
- (2) 本品には、アジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください¹⁷。

貯蔵方法・有効期間

試薬	製品名	貯法	有効期間
R1 試薬パック	アクセス オスターゼ 試薬パック	2～10℃	12 箇月
R2 基質液	アクセス 基質液(別売)	2～8℃	12 箇月

(使用期限: 外装に記載してあります)

包装単位

試薬	製品番号	製品名	包装
R1 試薬パック	A74682	アクセス オスターゼ 試薬パック	50 テスト×10
R2 基質液	81906	アクセス 基質液 (別売)	130 mL×4
R3 洗浄液	A16792	アクセス用洗浄液Ⅱ (別売)	1,950 mL×4
	A16793	UniCel DxI 800 用洗浄液Ⅱ (別売)	10 L
S0-S5 キャリブプレート	37305	アクセス オスターゼ キャリブプレート (別売)	2.5 mL / バイアル
QC1, QC2 コントロール	37309	アクセス オスターゼ QC セット	4 mL / バイアル

主要文献

1. Hill CS and Wolfert RL. The preparation of monoclonal antibodies which react preferentially with human bone alkaline phosphatase and not liver alkaline phosphatase. Clin Chim Acta 1989, 186:315-320.

2. Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, GP44-A4. 2010. Clinical and Laboratory Standards Institute.

3. Moss D and Whitby L. A simplified heat-inactivation method for investigating alkaline phosphatase isoenzymes in serum. Clin Chim Acta 1975, 61:63.

4. Price C, Mitchell C, Moriarty J, Gray M and Noonan K. Mass versus activity of an immunometric assay for bone alkaline phosphatase in serum. Ann Clin Biochem 1995, 32:405.

5. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC & QA. ASCP Press, Chicago, IL, 1989.

6. Garnero P and Delmas P. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. J Clin Endocrin Metab 1993, 77: 1046-1053.

7. Kress BC, Mizrahi IA, Armour KW, Marcus R, Emkey RD, Santora AC 2nd. Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. Clin Chem 1999, 45: 1009-1017.

8. ベックマン・コールター株式会社 社内データ

9. 市原清志. II. 基準範囲を求める統計手法の実践. 基準範囲の実践マニュアル Ver.1.0. JJCLA 2012; 37 ; Suppl.1: 15-35.

10. 市原清志. III. 我が国の基準範囲 1. 中央測定方式による共有基準範囲の設定. 基準範囲の実践マニュアル Ver.1.0. JJCLA 2012; 37; Suppl.1: 36-54.

11. Kricka, L. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 2000, 46: 1037.

12. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002, 48: 613–621.

13. 石井光一: 各論: 各種マーカーとその特徴 A. 骨形成マーカー 2.BAP. 西澤良記・三浦雅一・稲葉雅章編. 骨代謝マーカー 改訂版 ―これだけは知っておきたい骨代謝マーカーの基礎と適正使用法―. p.29-33. 医薬ジャーナル社, 東京, 2010.

14. 太田博明. 骨形成マーカー「骨型アルカリフォスファターゼ」測定の意義と測定法に関する新たな進展. Modern Media 2012. 58: 143-148.

15. 倉澤健太郎, 茶木修, 平原史樹. 全自動化学発光免疫測定装置 Access を用いた血中骨型アルカリフォスファターゼの検討. 医学と薬学 2006: 55: 279-284.

16. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health: Biosafety in microbiological and biomedical laboratories 6th edition. 2020. Available <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.

17. Manual Guide – Safety Management, No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts. April 30, 1976. Atlanta GA: Centers for Disease Control.

問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社 お客様サポートセンター

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー
TEL: 0120-566-730

製造販売業者の氏名又は名称及び住所

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー