

MAGLUMI® Набір реагентів для визначення антитіл до декарбоксилази глутамінової КИСЛОТИ

ПРИЗНАЧЕННЯ

Цей набір реагентів призначений для кількісного визначення антитіл до декарбоксилази глутамінової кислоти (GAD65) в сироватці крові людини *in vitro* методом імунохемілюмінесцентного аналізу з використанням повністю автоматизованих імунохемілюмінесцентних аналізаторів серії MAGLUMI (в т.ч. Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus і MAGLUMI X8).

СТИСЛИЙ ОПИС І ПОЯСНЕННЯ ПРИНЦИПУ АНАЛІЗУ

Глютамат декарбоксилаза або декарбоксилаза глутамінової кислоти (GAD) – це фермент, який каталізує декарбоксилювання глютамату з утворенням гама-аміномасляної кислоти (GABA) і CO₂. У ссавців є дві ізоформи глутамінової кислоти, синтез яких кодують два різні гени – GAD1 і GAD2. Молекулярна вага ізоформ GAD67 і GAD65 становить 67 і 65 КДа відповідно. Експресія генів GAD1 і GAD2 відбувається в головному мозку, де GABA виконує функцію нейромедіатора. Експресія GAD2 відбувається також у підшлунковій залозі¹. GAD65 і GAD67 синтезують GABA в різних ділянках клітини на різних стадіях розвитку і для функціонально різних цілей. GAD67 поширений рівномірно по всій клітці, а GAD65 локалізується в нервових закінченнях. Це, як вважають, відображає функціональну відмінність: GAD67 синтезує GABA для реалізації функції нейрона, не пов'язаної з нейротрансмісією, зокрема, для синаптогенезу і захисту нейронів від пошкоджень. Для реалізації цієї функції необхідно широке поширення і повсюдна наявність GABA. На відміну від цього, GAD65, синтезує GABA для нейротрансмісії, тому його наявність необхідна тільки в нервових закінченнях і синапсах. Для сприяння нейротрансмісії GAD65 утворює комплекс з протеїном, спорідненим з білком теплового шоку 70 (HSC70), білком з цистеїновим ланцюжком (CSP) і везикулярним переносником GABA (VGAT). Утворення цього комплексу сприяє упакуванню GABA у везикули для вивільнення в процесі нейротрансмісії. Транскрипція GAD67 відбувається на ранніх стадіях розвитку, а транскрипція GAD65 починається лише на пізнішому етапі. Ця відмінність пов'язана з різними функціональними властивостями ізоформ GAD67 і GAD65. GAD67 необхідна на всіх етапах розвитку для нормального функціонування клітин, а необхідність в GAD65 виникає тільки на пізніших стадіях розвитку, коли синаптичне гальмування стає більш поширеним^{2,3}.

Аутоімунні антитіла до GAD65, які наявні у більшості (70-80%) пацієнтів з діабетом 1 типу і часто з'являються за кілька років до початку клінічної стадії захворювання, є корисним маркером для прогнозування розвитку аутоімунного діабету. Було продемонстровано, що наявність аутоімунних антитіл до GAD65 є значущим прогностичним маркером можливого початку інсулінозалежного діабету (IDDM)⁴. Визначення рівня антитіл до GAD65 може також використовуватися для того, щоб відрізнити інсулінозалежний діабет від інсулінонезалежного при неоднозначному анамнезі⁴. Підвищення рівня аутоімунних антитіл до GAD65 часто виявляється у пацієнтів з синдромом скутості м'язів (який називають також "синдромом скутості тіла"), – захворювання, при якому час від часу виникає скутість м'язів і пароксизмальні спазми тулуба і ніг⁵.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Для кількісного визначення GAD65 з використанням даного набору застосовується "сендвіч"-метод імунохемілюмінесцентного аналізу. Пробу (або, у відповідних випадках, калібратор/контроль), буферний розчин, і мікрочастинки, які мають магнітні властивості, покриття яких містить очищені антигени GAD65, ретельно змішують і перебуває й інкубується. При цьому утворюються комплекси антиген-антитіло. Після осадження в магнітному полі надосадову рідину декантують і виконують цикл промивання. Потім додають SPA, мічені ABEI, і інкубують для утворення "сендвіч"-комплексів. Після осадження в магнітному полі надосадову рідину декантують і виконують ще один цикл промивання. Потім додають Starter 1+2, які ініціюють хемілюмінесцентну реакцію. Світловий сигнал вимірюється фотоелектронним помножувачем. Результат вимірювання, виражений у відносних одиницях люмінесценції (RLU), є пропорційним концентрації GAD65 у пробі (або, у відповідних випадках, в калібраторі/контролі).

СКЛАД НАБОРУ

Матеріали, які постачаються

Компоненти	Склад	100 тестів (REF: 130205005M)	50 тестів (REF: 130605005M)
Мікрочастинки, які мають магнітні властивості	Мікрочастинки, які мають магнітні властивості, покриття яких містить очищені антигени GAD65, BSA і NaN ₃ (<0,1%).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор низький	Містить сироватку крові великої рогатої худоби, поліклональні антитіла до GAD65 і NaN ₃ (<0,1%).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор високий	Містить сироватку крові великої рогатої худоби, поліклональні антитіла до GAD65 і NaN ₃ (<0,1%).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Буферний розчин	Містить сироватку крові великої рогатої худоби і NaN ₃ (<0,1%).	6,5 мл (mL)	4,0 мл (mL)
ABEI, який використовується як мітка	Містить SPA, мічені ABEI, BSA і NaN ₃ (<0,1%).	22,5 мл (mL)	12,5 мл (mL)
Зразок для внутрішнього контролю якості	Містить сироватку крові великої рогатої худоби, поліклональні антитіла до GAD65 і NaN ₃ (<0,1%).	2,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)

Всі реагенти постачаються в готовій до використання формі.

Необхідне приладдя, яке не входить в комплект постачання

Серія MAGLUMI:

Реакційні модулі (пробірки)	REF: 630003
Стартовий реагент 1+2	REF: 130299004M, 130299027M

Концентрат для промивання	REF: 130299005M
Оптичний контроль	REF: 130299006M
Реакційна колба	REF: 130105000101

Приладдя можна замовити у компанії Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) або у наших уповноважених представників.

КАЛІБРУВАННЯ

Простежуваність: Цей метод стандартизовано за 1-м міжнародним еталонним реагентом 97/550 BOO3.

Контроль з використанням спеціальних калібраторів дозволяє підлаштувати задану основну вимірвальну характеристику за отриманими значеннями RLU. Результати визначаються за допомогою індивідуальної калібрувальної функції аналізатора, для задання якої використовується двочоткова процедура калібрування (10 калібрувань), і основної вимірвальної характеристики, яка зчитується з мікросхеми радіочастотної дистанційної ідентифікації (RFID) на реагенті.

Перекалібрування рекомендується проводити в таких випадках:

- Після кожної зміни партії (реагенту або Starter 1+2).
- Що 2 тижні та/або при кожному використанні нового набору реагентів (рекомендується).
- Після того, як виникла необхідність в технічному обслуговуванні аналізатора.
- У випадку, якщо результати контролю виходять за межі очікуваного діапазону.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Необхідно дотримуватися вимог державних нормативних документів або вимог акредитації, які стосуються періодичності контролю якості.

Зразок для внутрішнього контролю якості можна використовувати тільки з системою MAGLUMI. Інструкції з використання і цільове значення наведені в **інформаційному листку даних контролю якості "GAD65 (CLIA)"**. Отримані результати користувач має співвідносити з діючими стандартами та наявними знаннями.

Докладні відомості щодо введення значень, пов'язаних з контролем якості, наведені в інструкції з експлуатації повністю автоматизованих імунохемілюмінесцентних аналізаторів MAGLUMI.

Для контролю ефективності системи і трендів характеристики необхідно використовувати наявні на ринку матеріали для контролю якості. Усі зразки, які використовуються для контролю якості, належить обробляти так само, як проби, отримані у пацієнтів. Задовільний рівень ефективності досягається, коли отримані значення концентрації речовини, яка визначається при аналізі, знаходяться в допустимих межах контролю аналізатора або в межах діапазону, встановленого в лабораторії відповідно до внутрішньої процедури контролю якості. Якщо результати контролю якості виходять за межі діапазону очікуваних значень або діапазону значень, встановленого в лабораторії, не повідомляйте про результати аналізу. Виконайте зазначені нижче дії:

- Переконайтеся в тому, що термін придатності матеріалів не сплинув.
- Перевірте, чи було виконано необхідне технічне обслуговування.
- Перевірте, чи був проведений аналіз відповідно до інструкцій з використання.
- Повторно виконайте аналіз зі свіжими зразками для контролю якості.
- У разі потреби зверніться за допомогою до місцевих провайдерів технічної підтримки або дистриб'юторів.

ЗБИРАННЯ І ПІДГОТОВКА ПРОБ

- Для збирання проб використовуйте стандартні пробірки для проб або пробірки, які містять розділюючий гель. Кров для аналізу необхідно брати, дотримуючись вимог асептики і уживаючи універсальних запобіжних заходів при венопункції.
- Перед центрифугуванням необхідно переконатися в тому, що у пробах сироватки повністю сформувався згусток зсілої крові. У деяких пробах, особливо, отриманих у пацієнтів, які приймають антикоагулянти або тромболітики, утворення згустка зсілої крові може тривати довше.
- Результати аналізу проб, центрифугування яких було виконано до того, як повністю сформувався згусток зсілої крові, можуть бути помилковими через наявність фібрину. Не допускається наявність у пробах фібрину та інших дрібних частинок.
- Для проведення аналізу не можна використовувати гемолізовані або сильно ліпемічні проби, а також проби, які містять дрібні частинки або мають явні ознаки мікробного забруднення. Проконтролюйте відсутність повітряних бульбашок у всіх пробах. Якщо бульбашки наявні, їх необхідно видалити до проведення аналізу, щоб отримати оптимальні результати.
- Не піддавайте проби багаторазовому заморожуванню і розморожуванню. Проби сироватки крові дозволяється заморожувати і розморожувати не більше двох разів. Після розморожування проби необхідно ретельно перемішати.
- Центрифуговані проби з ліпідним шаром зверху необхідно перенести в емність для проб або допоміжну пробірку. Необхідно ужити заходів для передання лише освітленої проби без ліпемічного матеріалу.
- Аналіз всіх проб (отриманих у пацієнтів або контрольних) необхідно виконати протягом 3 годин з моменту поміщення їх в аналізатор MAGLUMI. Більш детальні відомості щодо обмежень, які стосуються знаходження проб в аналізаторі, можна отримати, звернувшись до сервісного відділу компанії SNIBE.
- Проби, які не містять сепаратора, клітин крові або згустка зсілої крові, можна зберігати до 5 діб при температурі 2-8°C.
- В замороженому стані при -20°C або більш низькій температурі проби можна зберігати до 2 місяців. Проби, які перебували на зберіганні, необхідно ретельно перемішати перед аналізом (використовуючи вихровий міксер).
- Перед відправкою проб рекомендується видалити з них сепаратор сироватки, еритроцити або згусток зсілої крові. Проби, які пересилаються, мають бути упаковані і марковані етикетками відповідно до чинних державних, федеральних та міжнародних нормативних актів, які регулюють транспортування клінічних проб та інфекційних матеріалів. Проби необхідно пересилати в замороженому стані.
- Об'єм проби, необхідний для одноразового кількісного визначення GAD65, становить 50 мкл (µL).

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ ДЛЯ КОРИСТУВАЧІВ

IVD

- Для проведення діагностичних аналізів *In Vitro*.
- Необхідно неухильно дотримуватися інструкцій, наведених у вкладці в цьому пакуванні. При будь-якому відхиленні від інструкцій, наведених у цій вкладці, надійність результатів аналізу не гарантується.

Заходи безпеки

- **ЗАСТЕРЕЖЕННЯ:** В процесі використання цього продукту необхідно працювати з біологічними пробами, отриманими у пацієнтів. Рекомендується вважати всі матеріали, отримані у пацієнтів, потенційно інфекційними і поводитися з ними відповідно до 29 CFR 1910.1030 "Професійний контакт з патогенами, які передаються через кров". В процесі роботи з матеріалами, які фактично чи ймовірно містять збудники інфекцій, необхідно дотримуватися вимог 2-го рівня біологічної безпеки або інших відповідних практичних методів біологічного захисту.
- Всі проби, біологічні реагенти і матеріали, які використовуються для проведення аналізу, слід вважати такими, що потенційно можуть являти собою переносники збудників інфекції. Тому утилізувати їх необхідно відповідно до практичних методів утилізації, встановлених у вашому закладі. Утилізація всіх матеріалів має здійснюватися прийнятним безпечним способом і у відповідності до вимог діючих нормативних документів.
- До складу даного продукту входить азид натрію. Утилізацію компонентів і пакувань необхідно здійснювати відповідно до вимог усіх

місцевих, регіональних і загальнодержавних нормативних документів.

- Необхідні відомості подані в листках даних з безпеки, які надаються за запитом.

Запобіжні заходи в процесі поводження з матеріалами

- Не використовуйте набори реагентів, термін придатності яких сплинув.
- Не використовуйте реагенти з інших наборів або партій для заміни компонентів набору реагентів.
- В процесі доставки мікрочастинки, які мають магнітні властивості, осідають, тому перед тим, як перший раз установлювати набір реагентів в аналізатор, необхідно ресуспензувати ці мікрочастинки шляхом перемішування.
- Вказівки щодо перемішування суспензії мікрочастинок наведені в розділі "Підготовка реагенту" вкладки в цьому пакуванні.
- Щоб запобігти забрудненню, працювати з набором реагентів і пробами необхідно в чистих рукавичках.
- З часом на перегородці можуть з'явитися висохлі залишки рідин. Зазвичай вони являють собою висохлі солі, які не впливають на ефективність аналізу.
- Більш детально запобіжні заходи, яких необхідно ужити в процесі роботи з аналізатором, описані в технічній інформації компанії SNIBE.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- В запечатаному стані: Зберігати при температурі 2-8°C до закінчення терміну придатності.
- В розпечатаному стані при 2-8°C: Стабільність зберігається не менше 4 тижнів.
- При знаходженні в аналізаторі: Стабільність зберігається не менше 4 тижнів.
- Для забезпечення максимальної якості рекомендується поміщати розпечатані набори в холодильник після виконання аналізів, проведених протягом робочого дня. Після закінчення терміну, встановленого для використання розпечатаних наборів або наборів, установлених в аналізатор, можна продовжувати використовувати набір реагентів за умови, що результати контролю знаходяться в межах очікуваних діапазонів.
- Зберігати у вертикальному положенні, щоб полегшити виконання у подальшому належного ресуспензування мікрочастинок, які мають магнітні властивості.
- Захищати від сонячного світла.

ПОРЯДОК ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Підготовка реагенту

- В процесі ресуспензування, яке виконується автоматично після установлення набору реагентів в аналізатор, забезпечується повне відновлення гомогенної суспензії мікрочастинок, які мають магнітні властивості, перед використанням.
- Для забезпечення належної ефективності аналізу необхідно неухильно дотримуватися інструкції з експлуатації повністю автоматизованих імунохемилюмінесцентних аналізаторів серії MAGLUMI. Кожний параметр аналізу визначається шляхом зчитування з мікросхеми радіочастотної дистанційної ідентифікації (RFID) на реагенті. Більш докладні відомості наведені в інструкції з експлуатації повністю автоматизованих імунохемилюмінесцентних аналізаторів серії MAGLUMI.

РОЗБАВЛЕННЯ ПРОБ

При використанні даного набору реагентів розбавлення проб в аналізаторі не передбачено.

Проби, концентрація яких перевищує діапазон вимірювання, можна розбавляти вручну. Результат, отриманий після ручного розбавлення, необхідно помножити на коефіцієнт розбавлення. Перед розбавленням вручну необхідно вибрати відповідний розріджувач або звернутися за консультацією до компанії SNIBE.

ОБМЕЖЕННЯ

- Необхідною умовою отримання достовірних результатів аналізу є кваліфіковане виконання роботи і неухильне дотримання інструкцій.
- Результат аналізу може бути спотворений через бактеріальне забруднення або теплову інактивацію проб.
- Результат в межах очікуваного діапазону не виключає наявності захворювання, і його слід інтерпретувати спільно з результатами інших діагностичних процедур.
- Результати аналізу відображаються в кількісному вигляді. Однак, діагноз захворювання не слід обґрунтовувати виключно результатами одного аналізу, необхідно враховувати також клінічні дані у поєднанні з медичним висновком.
- Будь-яке терапевтичне рішення також необхідно приймати на індивідуальній основі.
- Наявність антимішачих антитіл людини (НАМА) у пробах, отриманих у пацієнтів, може спричинити помилкове завищення або зниження результатів аналізу. Попри наявність реагентів, які нейтралізують НАМА, при дуже високих концентраціях цих антитіл в сироватці крові вони можуть іноді впливати на результати.

РЕЗУЛЬТАТИ

Розрахунок результатів

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію GAD65 в кожній пробі, використовуючи калібрувальну функцію, для задання якої застосовується двоточкова процедура калібрування основної вимірювальної характеристики. Результати відображаються в МО/мл (IU/mL). Більш докладні відомості наведені в інструкції з експлуатації повністю автоматизованих імунохемилюмінесцентних аналізаторів серії MAGLUMI.

Інтерпретація результатів

Очікуваний діапазон для кількісного визначення GAD65 було визначено шляхом обстеження 200 практично здорових суб'єктів в Китаї, в результаті чого отримані наведені нижче очікувані значення:

<17 МО/мл (IU/mL) (95^й процентиль).

Через відмінності у популяціях населення і методах тестування результати, отримані в різних лабораторіях, можуть не співпадати. Рекомендується в кожній лабораторії встановити свій діапазон очікуваних значень.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

Точність результатів, отриманих з використанням даного набору для кількісного визначення GAD65, було визначено відповідно до інструкції CLSI EP5-A2. Три пули сироватки крові людини і 1 контрольну пробу з різними концентраціями речовини, яка визначається при аналізі, двічі аналізували в двох незалежних циклах в день протягом 20 днів. Отримані результати представлені в узагальненому вигляді в таблиці нижче:

Проба	Середнє значення (МО/мл (IU/mL)) (N=80)	В циклі		Між циклами		Загалом	
		SD (МО/мл (IU/mL))	CV, %	SD (МО/мл (IU/mL))	CV, %	SD (МО/мл (IU/mL))	CV, %
1-й пул сироватки	20,007	0,954	4,77	0,960	4,80	1,354	6,77
2-й пул сироватки	51,629	1,858	3,60	0,247	0,48	1,874	3,63
3-й пул сироватки	101,911	2,212	2,17	1,202	1,18	2,543	2,50
Контроль	33,260	1,496	4,50	0,643	1,93	1,629	4,90

Граничне значення нульового рівня (LoB)

Граничне значення нульового рівня даного набору для кількісного визначення GAD65 дорівнює 1,0 МО/мл (IU/mL).

Діапазон вимірювання

1,0-280 МО/мл (IU/mL) (визначається граничним значенням нульового рівня і максимумом основної вимірювальної характеристики). Результати нижче граничного значення нульового рівня відображаються як <1,0 МО/мл (IU/mL). Результати, які перевищують діапазон вимірювання, відображаються як >280 МО/мл (IU/mL).

Порівняльна характеристика методу

Було виконано 105 аналізів проб з концентраціями в діапазоні від 1,284 до 255,213 МО/мл (IU/mL) з використанням даного набору для кількісного визначення GAD65 (y) і іншого наявного на ринку засобу імуноаналізу (x). Дані, отримані шляхом обробки результатів методом лінійної регресії, можна представити в узагальненому вигляді наступним чином: $y=0,975x+0,4089$, $r^2=0,965$.

Клінічна специфічність і чутливість

Чутливість і специфічність методу за результатами аналізу 196 зразків сироватки (96 зразків, узятих у пацієнтів із нещодавно діагностованим діабетом 1 типу й наданих компанією BBI Solutions, і 100 зразків, отриманих від донорів крові) становлять відповідно 73 % і 96 %.

Аналітична специфічність

Специфічність аналізу було визначено шляхом додавання GAD67 (280 МО/мл (IU/mL)) в зазначених концентраціях до двох проб сироватки крові. Спотворень результатів аналізу не було виявлено.

Вплив ендогенних речовин

Перелічені нижче речовини в концентраціях, які не перевищують наведених значень, не впливають на результати аналізу, отримані з використанням цього набору реагентів:

- Білірубін 60 мг/дл (mg/dL)
- Гемоглобін 16 мг/дл (mg/dL)
- Тригліцерид 1250 мг/дл (mg/dL)

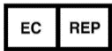
ПОСИЛАННЯ НА ЛІТЕРАТУРУ

1. Erlanger MG, Tillakaratne NJ, Feldblum S, Patel N, Tobin AJ (July 1991). "Two genes encode distinct glutamate decarboxylases". *Neuron*. 7 (1): 91–100.
2. Pinal CS, Tobin AJ (1998). "Uniqueness and redundancy in GABA production". *Perspectives on Developmental Neurobiology*. 5 (2–3): 109–18.
3. Jin H, Wu H, Osterhaus G, Wei J, Davis K, Sha D, Floor E, Hsu CC, Kopke RD, Wu JY (April 2003). "Demonstration of functional coupling between gamma -aminobutyric acid (GABA) synthesis and vesicular GABA transport into synaptic vesicles". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100 (7): 4293–8.
4. Tisch, R., & McDevitt, H. (1996). Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell*, 85(3), 291-297.
5. Dalakas, M. C., Li, M., Fujii, M., & Jacobowitz, D. M. (2001). Stiff person syndrome quantification, specificity, and intrathecal synthesis of GAD65 antibodies. *Neurology*, 57(5), 780-784.



Шеньчжень Нью Індастріз Біомедікал Інжинірінг Ко., Лтд.

№23 Джіньсіу Еаст Роад, Пінгшан Дістрікт, 518122 Шеньчжень, Китайська Народна Республіка
Тел: +86 755 21536601 Факс: +86 755 28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany
Тел.: +49-40-2513175 Факс: +49-40-255726



Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «Кратія Медтехніка», вул. Багговутівська, 17-21, 04107, м. Київ, Україна.

Тел.: 0 800 21-52-32 (безоплатно можуть

телефонувати абоненти фіксованого та мобільного телефонного зв'язку з будь-якої точки України).

Електронна пошта: uarep@cratia.ua

ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ

	Див. інструкцію з використання		Виробник
	Температурний діапазон (зберігати при температурі 2–8 °C)		Кінцева дата терміну придатності
	Вмісту достатньо для <n> тестів		Бережіть від прямих сонячних променів
	Цим боком догори		Уповноважений представник в Європейському союзі
	Медичний виріб для діагностики in vitro		Склад набору
	Номер за каталогом		Код партії
	Знак відповідності технічним регламентам		

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: червень 2020 року.