

MAGLUMI[®] GAD65 (CLIA)

USO INDICADO

El kit es un inmunoensayo por quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de anticuerpos contra la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD65) en suero humano con el analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia totalmente automático de la serie MAGLUMI (se incluyen Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La glutamato descarboxilasa o ácido glutámico descarboxilasa (GAD, por sus siglas en inglés) es una enzima que cataliza la descarboxilación de glutamato a GABA y CO₂. En los mamíferos, la GAD existe en dos isoformas codificadas por dos genes diferentes: GAD1 y GAD2. Estas isoformas son GAD67 y GAD65, con pesos moleculares de 67 y 65 kDa, respectivamente. GAD1 y GAD2 se expresan en el cerebro donde el GABA se utiliza como neurotransmisor; GAD2 se expresa también en el páncreas¹.

GAD65 y GAD67 sintetizan GABA en diferentes ubicaciones en la célula, en diferentes momentos del desarrollo y con diferentes propósitos funcionales. GAD67 se reparte uniformemente en toda la célula mientras que GAD65 se localiza en las terminales nerviosas. Se piensa que esta diferencia refleja una diferencia funcional: GAD67 sintetiza GABA para la actividad neuronal no relacionada con la neurotransmisión, como la sinaptogénesis y la protección contra lesiones neuronales. Esta función requiere una presencia amplia y ubicua del GABA. GAD65, sin embargo, sintetiza GABA para la neurotransmisión y, por lo tanto, sólo es necesario en las terminales nerviosas y en las sinapsis. A fin de ayudar en la neurotransmisión, GAD65 forma un complejo con la Heat Shock Cognate 70 (HSC70), la proteína de cadena de cisteína (CSP, por sus siglas en inglés) y la de transporte vesicular de GABA (VGAT) que, como un complejo, ayuda a envolver el GABA en vesículas para su liberación durante la neurotransmisión. GAD67 se transcribe durante el desarrollo temprano, mientras que GAD65 no se transcribe sino hasta más tarde en la vida. Esta diferencia de desarrollo entre GAD67 y GAD65 refleja las propiedades funcionales de cada isoforma. GAD67 es necesaria durante todo el proceso de desarrollo para el normal funcionamiento celular, mientras que GAD65 no se necesita sino hasta un poco más tarde en el desarrollo cuando la inhibición sináptica es más prevalente²⁻³.

La mayoría de los pacientes diabéticos de tipo 1 (70 – 80 %) tienen autoanticuerpos contra GAD65, que a menudo aparecen años antes de la aparición clínica de la enfermedad, proporcionando un útil marcador predictivo de la progresión de la diabetes autoinmunitaria. La presencia de autoanticuerpos contra GAD65 ha demostrado ser un fuerte marcador predictivo para la aparición eventual de diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM, por sus siglas en inglés)⁴. La medición de anticuerpos contra GAD65 también se puede utilizar para distinguir pacientes diabéticos dependientes de insulina de pacientes diabéticos no dependientes de insulina cuando la historia clínica es ambigua⁴. Los autoanticuerpos contra GAD65 a menudo son notablemente elevados en pacientes con el síndrome de la persona rígida (también conocido como síndrome del hombre rígido), una afección que está asociada con fluctuaciones de rigidez y espasmos paroxísticos del tronco y de las piernas⁵.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de GAD65 es un inmunoensayo por quimioluminiscencia tipo sándwich.

La muestra (o calibrador/control, si corresponde), el búfer y las microperlas magnéticas recubiertas con antígeno GAD65 purificado se mezclan bien y se incuban, formando complejos anticuerpo-antígeno. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y luego se realiza un ciclo de lavado. Luego se agrega SPA marcado con ABEI y se incuba para formar complejos tipo sándwich. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y luego se realiza otro ciclo de lavado. Posteriormente, se agrega el Sustrato 1+2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, por sus siglas en inglés), que es proporcional a la concentración de GAD65 presente en la muestra (o calibrador/control, si procede).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF.: 130205005M)	50 pruebas (REF.: 130605005M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con antígeno GAD65 purificado, que contienen BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Contiene suero bovino y anticuerpo policlonal anti-GAD65, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Contiene suero bovino y anticuerpo policlonal anti-GAD65, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Búfer	Contiene suero bovino, NaN ₃ (<0,1 %).	6,5 ml	4,0 ml
Marca de ABEI	SPA marcado con ABEI, que contiene BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	22,5 ml	12,5 ml
Control de calidad interno	Contiene suero bovino y anticuerpo policlonal anti-GAD65, NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se proporcionan listos para usar.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Por favor, realice los pedidos de los accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método ha sido estandarizado con la Primera Preparación de Referencia 97/550 de la OMS.

El test de prueba de calibradores específicos permite que los valores RLU se ajusten a la curva maestra asignada. Los resultados se determinan 069 GAD65-IFU-es, V12.2, 2022-02

mediante una curva de calibración que es específica del instrumento y generada por una calibración de 2 puntos, y se proporciona una curva maestra (10 calibraciones) mediante el reactivo CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, por sus siglas en inglés).

Se recomienda la recalibración si se produce cualquiera de las siguientes condiciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o sustrato 1+2).
- Cada 2 semana y/o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de requerir servicio del instrumento.
- Si los resultados del control se encuentran fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Respete la frecuencia de control de calidad que se señale en las regulaciones gubernamentales o en los requisitos de autorización.

El control de calidad interno solo corresponde para el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor diana, consulte la **Información de control de calidad de GAD65 (CLIA)**. El usuario debe juzgar los resultados según sus propias normas y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y el gráfico de tendencias, son necesarios materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad con las mismas medidas aplicables a las muestras del paciente. El nivel satisfactorio de rendimiento se obtiene cuando los valores obtenidos del análisis se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, tal cual queda determinado por un plan adecuado de control de calidad interno del laboratorio. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos ni dentro de los valores establecidos por el laboratorio, no informe los resultados. Lleve a cabo lo siguiente:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Compruebe que se haya llevado a cabo el servicio de mantenimiento requerido.
- Asegúrese de que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Repita el ensayo con muestras de control de calidad nuevas.
- Si es necesario, póngase en contacto con sus distribuidores o técnicos locales para recibir asistencia.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándares o tubos que contengan gel de separación. Recoja la sangre asépticamente siguiendo las precauciones universales para venopunción.
- Asegúrese de que se haya efectuado la formación completa del coágulo en las muestras de suero antes de llevar a cabo la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, pueden presentar un mayor tiempo de coagulación.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Las muestras no deben contener fibrina ni otra sustancia particulada.
- No use muestras hemolizadas o sumamente lipémicas ni muestras que contengan material particulado o que tengan una evidente contaminación microbiana. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimine las burbujas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite repetir los ciclos de congelamiento y descongelamiento. La muestra sérica se puede congelar y descongelar solo dos veces. Las muestras deben mezclarse cuidadosamente después de la descongelación.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben ser trasladadas a un recipiente para muestras o a un tubo secundario. Debe tenerse cuidado en transferir únicamente la muestra aclarada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de los pacientes y controles) deben ser analizadas dentro de las 3 horas siguientes tras ser instaladas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio SNIBE para un análisis más detallado de las limitaciones de almacenamiento de muestras del sistema.
- Las muestras removidas del separador, las células o los coágulos se pueden almacenar hasta por 5 días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- Las muestras se pueden almacenar hasta por 2 meses congeladas a -20 °C o a temperaturas inferiores. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes de su uso (mezclador Vórtex).
- Antes del envío de las muestras, se recomienda que estas se retiren del separador de suero, los glóbulos rojos o coágulos. Cuando se despachan, las muestras deben ser envasadas y etiquetadas de acuerdo con las regulaciones estatales, federales e internacionales aplicables al transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas. Las muestras deben ser enviadas congeladas.
- El volumen de muestra requerido para una sola determinación de GAD65 es 50 µl.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga las instrucciones del folleto cuidadosamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si se presenta cualquier desviación de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **ATENCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras de origen humano. Se recomienda que todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manejarse de acuerdo con la norma 29 CFR 1910.1030 sobre Exposición ocupacional a patógenos de transmisión hemática. Se deben utilizar prácticas de Bioseguridad Nivel 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos
- Todas las muestras, los reactivos y los materiales biológicos utilizados en el ensayo deben ser considerados como potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben ser eliminados de conformidad con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y cumpla con los requisitos reglamentarios vigentes.
- Este producto contiene azida sódica. La eliminación del contenido y de los recipientes debe realizarse conforme a todas las normas locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a petición.

Precauciones de manipulación

- No utilice los kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No intercambie los componentes de reactivos de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit requiere ser mezclado para volver a dejar en estado de suspensión las microperlas magnéticas que se han asentado durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre la mezcla de las microperlas magnéticas, consulte la sección de Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, utilice guantes limpios cuando manipule un kit de reactivos y las muestras.
- Con el tiempo, pueden secarse líquidos residuales en la superficie del diafragma. Estas son generalmente sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para una discusión detallada de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenado a entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Abierto a entre 2 °C y 8 °C: La estabilidad mínima es de 4 semanas.

- Dentro: La estabilidad mínima es de 4 semanas.
- Para asegurar el mejor desempeño del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador tras finalizar el trabajo de prueba del día. Todavía es posible seguir utilizando el kit más allá del período de apertura o del período que permanece dentro si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Mantenga el kit en posición vertical durante el almacenamiento para facilitar la resuspensión posterior adecuada de las microperlas magnéticas.
- Mantenga el kit lejos de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza automáticamente cuando el kit se carga correctamente, asegurando que las microperlas magnéticas estén totalmente resuspendidas de manera homogénea antes de su uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

En este kit de reactivos no está disponible la dilución de las muestras mediante el analizador.

Las muestras con concentraciones superiores al intervalo de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Por favor, elija diluyentes aplicables o solicite asesoría a SNIBE antes de una dilución manual.

LIMITACIONES

- Para obtener resultados confiables es necesaria una técnica habilidosa y el apego estricto a las instrucciones.
- La contaminación bacteriana o la inactivación por el calor de las muestras puede afectar los resultados del test.
- Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de enfermedades y debe ser interpretado junto con otros procedimientos de diagnóstico.
- Los resultados del test se informan cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de un único test, sino que debe determinarse en relación con los resultados clínicos en asociación con el juicio médico.
- Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
- Las muestras de pacientes con anticuerpos humanos antirratón (HAMA, *Human Anti-Mouse Antibodies*) pueden arrojar valores erróneos elevados o disminuidos. Aunque se añaden agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones séricas extremadamente altas de HAMA pueden influir ocasionalmente en los resultados.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de GAD65 en cada muestra por medio de una curva de calibrado que es generada por un procedimiento de curva maestra de calibración de 2 puntos. Los resultados se informan en unidades de IU/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de GAD65 se obtuvo mediante el análisis de 200 personas aparentemente sanas en China, y arrojó el siguiente valor esperado:

<17 IU/ml (percentil 95°).

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en el método de prueba y en la población. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos esperados.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Precisión

La precisión del ensayo de GAD65 se determinó de conformidad con CLSI EP5-A2. Se analizaron 3 *pools* de suero humano y 1 *pool* de control con diferente concentración de analito, en duplicado en dos ejecuciones independientes por día, durante 20 días de prueba. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (IU/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		DE (IU/ml)	% CV	DE (IU/ml)	% CV	DE (IU/ml)	% CV
Pool 1 con suero	20,007	0,954	4,77	0,960	4,80	1,354	6,77
Pool 2 con suero	51,629	1,858	3,60	0,247	0,48	1,874	3,63
Pool 3 con suero	101,911	2,212	2,17	1,202	1,18	2,543	2,50
Control	33,260	1,496	4,50	0,643	1,93	1,629	4,90

Límite de blanco (LoB)

El LoB para el ensayo de GAD65 es 1,0 IU/ml.

Rango de medición

1,0 – 280 IU/ml (definido por el límite de blanco y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite de blanco se informan como <1,0 IU/ml. Los valores por encima del rango de medida se informan como >280 IU/ml.

Comparación de métodos

Se analizaron un total de 105 muestras en el rango de 1,284 y 255,213 IU/ml mediante el ensayo de GAD65 (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen del siguiente modo: $y=0,975x+0,4089$, $r^2=0,965$.

Especificidad clínica y Sensibilidad

Se probaron 196 sueros (96 sueros de pacientes con diabetes tipo I recién diagnosticada en la empresa BBI Solutions y 100 sueros de donantes de sangre) y los resultados mostraron la sensibilidad de 73 % y la especificidad de 96 % para el ensayo.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo mediante el agregado de GAD67 (280 IU/ml) a dos muestras de suero en las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 60 mg/dl
- Hemoglobina 16 mg/dl
- Triglicérido 1250 mg/dl

REFERENCIAS

1. Erlander 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.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIONES DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a entre 2 °C y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener lejos de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote