

MAGLUMI™ — гиалуроновая кислота (ХЛИА)

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный комплект реагентов предназначен для проведения хемилюминесцентного иммуноанализа *in vitro* с целью количественного определения гиалуроновой кислоты (НА) в сыворотке крови человека с помощью автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI (включая модели Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000 и Maglumi 4000 Plus).

КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Гиалуроновая кислота (ГК, гиалуронат), также называемая гиалуронан, представляет собой анионный, несulfатированный гликозаминогликан, широко распространенный во всех соединительных, эпителиальных и нервных тканях. Она уникальна среди гликозаминогликанов тем, что несulfатна, образуется в плазматической мембране вместо аппарата Гольджи и может быть очень большой, причем ее молекулярная масса часто достигает миллионов¹. Средний человек с массой тела 70 кг (154 фунта) имеет примерно 15 граммов гиалуронана в организме, одна треть которого обновляется (деградирует и синтезируется) каждый день². Гиалуроновая кислота также является компонентом стрептококковой внеклеточной капсулы группы А и, как полагают, играет роль в вирулентности³⁻⁴.

Гиалуроновая кислота синтезируется классом интегральных мембранных белков, называемых гиалуронан-синтазами, из которых позвоночные имеют три типа: HAS1, HAS2, и HAS3. Эти ферменты удлиняют гиалуронан путем многократного добавления глюкозуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина к зарождающему полисахариду, поскольку он экструдируется с помощью ABC-транспортера через клеточную мембрану во внеклеточное пространство⁵. Гиалуроновая кислота деградирует с помощью семейства ферментов, называемых гиалуронидазами. У людей существует по меньшей мере семь типов гиалуронидазоподобных ферментов, некоторые из которых являются опухолевыми супрессорами. Продукты деградации гиалуронана, олигосахаридов и гиалуронанов с очень низкой молекулярной массой проявляют проангиогенные свойства. Кроме того, недавние исследования показали, что фрагменты гиалуронана, а не природная молекула с высокой молекулярной массой, могут вызывать воспалительные реакции в макрофагах и дендритных клетках при повреждении ткани и при трансплантации кожи⁶⁻⁷.

Фиброз печени, являющийся результатом хронического воспаления паренхимы печени, представляет собой сложный динамический процесс, включающий увеличение компонентов внеклеточного матрикса, активацию клеток, продуцирующих матричные материалы, выделение цитокинов и ремоделирование тканей. Биопсия печени является общепринятым стандартным методом для оценки фиброза печени, однако эта процедура является инвазивной и потенциально опасной⁸⁻⁹. Для оценки тяжести фиброза печени были разработаны неинвазивные маркеры. Среди них наиболее перспективным является сывороточная гиалуроновая кислота (ГК). В печени гиалуроновая кислота в основном синтезируется клетками гепатоцеллюлярных клеток и деградируется синусоидальными эндотелиальными клетками. Некоторая часть ткани гиалуроновой кислоты входит в общую циркуляцию через лимфатику и в основном поглощается синусоидальными эндотелиальными клетками в печени через гиалуронатные рецепторы и деградирует в лизосомах. Сниженная функция синусоидальных эндотелиальных клеток при прогрессирующих заболеваниях печени может повышать уровень гиалуроновой кислоты в сыворотке крови, уменьшая количество рецепторов гиалуроната и уменьшая деградацию гиалуроновой кислоты в эндотелиальных клетках¹⁰⁻¹².

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Анализ на гиалуроновою кислоту представляет собой конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ.

Проба (либо, в соответствующих случаях, калибратор/контроль), свободный антиген НАВР (гиалуронат-связывающий белок), магнитные микрочастицы, покрытые очищенной гиалуроновою кислотой, тщательно перемешиваются и инкубируются при температуре 37 °C для формирования комплексов. После осаждения частиц в магнитном поле надосадочная жидкость фильтруется, а затем выполняется цикл промывки для удаления несвязанных веществ. Затем добавляются антитела к НАВР, меченые аминобутил-этил-изоплюминолом (АВЕI), после чего смесь инкубируется для формирования комплексов. После осаждения частиц в магнитном поле надосадочная жидкость фильтруется, а затем выполняется еще один цикл промывки. После этого добавляются стартовые реагенты 1 и 2 для начала хемилюминесцентной реакции, сопровождающейся вспышками света. Световой сигнал измеряется в течение трех секунд в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи фотоумножителя. Полученное количество ОСЕ обратно пропорционально концентрации гиалуроновою кислоты в анализируемой пробе (либо, в соответствующих случаях, в калибраторе/контроле).

СОСТАВ КОМПЛЕКТА

Предоставляемые материалы

Компонент	Состав	100 тестов (номер по каталогу: 130209001M)	50 тестов (номер по каталогу: 130609001M)
Магнитные микрочастицы	Магнитные микрочастицы, покрытые очищенным антигеном гиалуроновою кислоты, содержащие бычий сывороточный альбумин (БСА) и NaN ₃ (<0,1 %)	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор низкой концентрации	Содержит БСА, антиген гиалуроновою кислоты и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор высокой концентрации	Содержит БСА, антиген гиалуроновою кислоты и NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 мл	2,0 мл
Антиген НАВР	Свободные антигены НАВР, содержащие БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	10,5 мл	6,5 мл
Моноклональные антитела, меченые АВЕI	Антитела к НАВР, меченые АВЕI; в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 мл	7,5 мл
Внутренний контроль качества	Содержит БСА, антиген гиалуроновою кислоты и NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 мл	2,0 мл

Все реагенты поставляются готовыми к использованию.

Необходимые дополнительные принадлежности, не входящие в комплект поставки

Анализаторы серии MAGLUMI:

Реакционный модуль	Номер по каталогу: 630003
Стартовые реагенты 1 и 2	Номер по каталогу: 130299004M
Промывочный концентрат	Номер по каталогу: 130299005M
Раствор для проверки светового сигнала	Номер по каталогу: 130299006M

Дополнительные принадлежности заказываются у компании Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) или ее официальных представителей.

КАЛИБРОВКА

Обеспечение отслеживаемости: данный анализ был стандартизован относительно внутреннего референсного стандарта компании SNIBE.

Проверка калибраторов для определенных анализов позволяет получить значение ОСЕ для корректировки заданной основной кривой. Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, которая выстраивается в процессе двухточечной калибровки, и основной калибровочной кривой (10 калибровок), считанной с метки для радиочастотной идентификации реагента (RFID-метка).

Повторную калибровку рекомендуется проводить в следующих случаях:

- Перед началом использования новой партии (реагентов для анализа или стартовых реагентов 1 и 2).
- Каждую неделю и/или перед началом использования нового комплекта реагентов (рекомендуется).
- После проведения необходимого обслуживания системы.
- При выходе контроля за рамки установленного диапазона ожидаемых значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Периодичность проведения процедур контроля качества установлена нормативными актами или аккредитационными требованиями.

Внутренний контроль качества предназначен только для систем MAGLUMI. Инструкции по применению и целевые значения содержатся в документе **со сведениями о контроле качества хемилюминесцентного иммунологического анализа (ХЛИА) на гиалуроновую кислоту**. При интерпретации результатов пользователь должен ориентироваться на собственные стандарты и знания. Подробная информация о вводе значений для контроля качества содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Для контроля работы системы и построения диаграмм трендов необходимо использовать имеющиеся на рынке материалы для контроля качества. Правила обращения с пробами для контроля качества аналогичны правилам, установленным для проб пациентов. Считается, что система функционирует удовлетворительно, если получаемые значения концентрации анализа находятся в пределах допустимого контрольного диапазона, установленного для системы, или в пределах диапазона, установленного конкретной лабораторией в соответствии с надлежащей внутренней схемой контроля качества. Результаты процедур контроля качества, выходящие за пределы диапазона ожидаемых значений или диапазона измерения, установленного конкретной лабораторией, не включаются в отчет. Выполните следующие действия:

- Убедитесь, что не истек срок годности материалов.
- Убедитесь, что выполнялось необходимое техническое обслуживание.
- Убедитесь, что анализ был выполнен в соответствии со всеми инструкциями.
- Выполните анализ повторно, используя свежие пробы для контроля качества.
- При необходимости обратитесь за помощью в местную службу технической поддержки или к официальному дистрибьютору компании.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

- Используйте стандартные пробирки для проб или пробирки с разделительным гелем. Забор крови выполняется асептически с соблюдением универсальных мер предосторожности при венепункции.
- Центрифугирование выполняется только после полного образования тромба (сгустка крови) в образцах сыворотки. Некоторые образцы, особенно взятые у пациентов, получающих антикоагулянтную или тромболитическую терапию, могут демонстрировать повышенное время свертывания.
- При выполнении центрифугирования образцов до полного образования тромба возможно получение неверных результатов анализа из-за наличия фибрина. Пробы не должны содержать фибрин и другие твердые частицы.
- Не используйте гемолизированные образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или большое количество липидов либо демонстрирующие признаки микробного загрязнения. Проверяйте все образцы на предмет наличия в них пузырьков воздуха и удаляйте пузырьки перед проведением анализа для получения оптимальных результатов.
- Избегайте повторного размораживания и замораживания образцов. Цикл заморозки-разморозки образцов сыворотки можно повторять только два раза. После размораживания образцы должны быть тщательно перемешаны.
- Если после центрифугирования проба покрылась липидным слоем, ее следует перенести в кювету для анализа или дополнительную пробирку. Необходимо следить за тем, чтобы при переносе очищенной пробы молекулы липидов не попали в кювету или пробирку.
- Анализ любых проб (контролей или образцов, взятых у пациентов) должен быть выполнен в течение 3 часов после загрузки пробы в систему MAGLUMI. За более подробной информацией о хранении проб в аппарате обращайтесь в сервисный центр компании SNIBE.
- После отделения разделительного геля, клеток крови или сгустков пробы можно хранить до 24 часов при температуре от 2 до 8 °С.
- В замороженном состоянии пробы можно хранить до 2 месяцев при температуре не выше -20 °С. После хранения пробы необходимо тщательно перемешать перед использованием (с помощью вортекса).
- Перед транспортировкой рекомендуется отделить образцы от разделительного геля, эритроцитов или образовавшихся сгустков. При транспортировке образцов упаковка и маркировка должны соответствовать требованиям национальных и международных нормативных документов, регулирующих транспортировку клинических образцов и инфицированных веществ. Образцы необходимо транспортировать в замороженном состоянии.
- Для проведения одного анализа на содержание гиалуроновой кислоты требуется проба объемом 60 мкл.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

IVD

- Для диагностики *in vitro*.
- Следуйте всем инструкциям на вкладыше внутри упаковки. При несоблюдении любых инструкций на листке-вкладыше точность и надежность результатов анализа нельзя гарантировать.

Меры по обеспечению безопасности

- **ВНИМАНИЕ!** Использование этого продукта подразумевает выполнение определенных действий с образцами биологических материалов человека. Рекомендуется считать все биологические материалы человеческого происхождения потенциальными источниками инфекций и обращаться с ними в соответствии с требованиями раздела 29 Свода федеральных нормативных актов США (CFR), часть 1910.1030 «Occupational exposure to bloodborne pathogens» (Контакт с передающимися с кровью патогенными микроорганизмами на рабочем месте). При обращении с инфицированными или потенциально инфицированными материалами необходимо соблюдать меры по обеспечению 2-го уровня биологической безопасности или другие аналогичные процедуры по обеспечению безопасности.
- Все пробы, биологические реагенты и материалы, используемые для проведения этого анализа, должны считаться потенциально инфицированными материалами. Их утилизация должна осуществляться в соответствии с правилами, установленными в конкретном медицинском учреждении. Утилизация всех материалов должна осуществляться с соблюдением всех надлежащих процедур и мер безопасности в соответствии с действующими нормативными требованиями.
- Этот продукт содержит азид натрия. Утилизация содержимого и всех емкостей должна осуществляться с соблюдением всех соответствующих местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Необходимая информация содержится в паспортах безопасности, которые предоставляются по запросу.

Меры предосторожности при работе с реагентами

- Не используйте комплект реагентов по истечении срока годности.
- Компоненты разных комплектов реагентов или реагенты из разных партий не являются взаимозаменяемыми.
- Перед первой загрузкой комплекта реагентов в систему реагенты необходимо перемешать для ресуспендирования магнитных частиц, осевших при транспортировке.

- Инструкции по смешиванию магнитных микрочастиц содержатся в разделе данного листка-вкладыша, посвященном подготовке реагентов.
- Во избежание загрязнения при работе с комплектами реагентов и пробами используйте чистые перчатки.
- Со временем при высыхании жидкости, попавшей на мембрану флакона, образуется налет. Обычно этот сухой осадок представляет собой кристаллы солей и не влияет на эффективность анализа.
- Подробное описание мер предосторожности, которые необходимо соблюдать при эксплуатации системы, содержится в информации по обслуживанию, предоставляемой компанией SNIBE.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- До вскрытия упаковки: хранить при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить при температуре от 2 до 8 °С: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Хранение в аппарате: минимальный срок, в течение которого образец сохраняет стабильность, составляет 4 недели.
- Для максимального сохранения свойств реагентов рекомендуется хранить открытые комплекты реагентов в холодильнике после завершения рабочего дня. Если контроли находятся в пределах диапазона ожидаемых значений, можно использовать комплекты реагентов после вскрытия упаковки или загрузки в систему по истечении установленных сроков.
- Храните реагенты в вертикальном положении, чтобы облегчить ресуспендирование магнитных микрочастиц.
- Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Подготовка реагентов

- Ресуспендирование магнитных микрочастиц выполняется автоматически после успешной загрузки комплекта реагентов, что обеспечивает образование полностью гомогенной взвеси частиц до их использования.
- Для надлежащего выполнения анализов необходимо строго следовать инструкциям, изложенным в руководстве по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI. Каждый параметр исследования определяется с помощью RFID-метки, расположенной на комплекте реагентов. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

РАЗВЕДЕНИЕ

Для этого комплекта реагентов не предусмотрено разведение проб с помощью анализатора.

Пробы, концентрация которых превышает верхний предел диапазона измерений, можно разводить вручную. После разведения вручную умножьте результат на коэффициент разбавления. Для ручного разведения необходимо использовать подходящие разбавители. При необходимости предварительно проконсультируйтесь со специалистами компании SNIBE.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Для получения достоверных результатов анализа должны проводиться квалифицированными специалистами в точном соответствии с инструкциями.
- Заражение бактериями или термоинактивация проб может повлиять на результаты анализов.
- Результаты анализа, находящиеся в пределах диапазона ожидаемых значений, не исключают вероятности наличия заболевания, поэтому их следует интерпретировать с учетом результатов других диагностических процедур.
- Результаты анализов выражаются в количественном виде. Диагноз не должен быть основан на результате одного анализа — решение должно выноситься врачом с учетом всех имеющихся медицинских (клинических) данных.
- При принятии решений относительно лечения следует учитывать все обстоятельства конкретной ситуации.
- Анализ проб пациентов, содержащих человеческие антимышьи антитела (НАМА), может давать ложно повышенные или ложно пониженные результаты. Несмотря на добавление веществ, нейтрализующих человеческие антимышьи антитела (НАМА), очень высокая концентрация этих антител в сыворотке крови в некоторых случаях может повлиять на результаты анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вычисление результатов

Анализатор автоматически рассчитывает значение концентрации гиалуроновой кислоты в каждой пробе с помощью двухточечной основной калибровочной кривой, которая строится в процессе калибровки. Результаты выражаются в нг/мл. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Интерпретация результатов

Диапазон ожидаемых значений для анализа гиалуроновой кислоты был получен путем исследования образцов, взятых у 125 практически здоровых жителей Китая, и включал следующее ожидаемое значение: <100 нг/мл (95-й процентиль)

Различия между результатами, полученными в разных лабораториях, могут быть обусловлены различными характеристиками пациентов и используемыми методами анализа. Каждой лаборатории рекомендуется установить собственный референсный диапазон.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прецизионность

Прецизионность анализа гиалуроновой кислоты определялась в соответствии с процедурой, описанной в протоколе EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Три пула образцов сыворотки крови человека и один контрольный материал, содержащие аналит в разной концентрации, исследовались в двух параллельных независимых анализах ежедневно в течение 20 дней. Результаты в обобщенном виде представлены в таблице ниже.

Проба	Среднее значение (нг/мл) (N = 80)	В пределах серии		Между сериями		Всего	
		Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (нг/мл)	КВ (%)
Пул образцов сыворотки крови 1	61,705	4,210	6,82	1,605	2,60	4,506	7,30
Пул образцов сыворотки крови 2	185,759	11,540	6,21	4,396	2,37	12,349	6,65
Пул образцов сыворотки крови 3	1026,529	27,556	2,68	30,143	2,94	40,841	3,98
Контроль	205,808	9,535	4,63	7,589	3,69	12,186	5,92

Предел холостой пробы (LoB)

Предел холостой пробы для анализа гиалуроновой кислоты составляет 5,0 нг/мл.

Диапазон измерения

От 5,0 до 2000 нг/мл (определяется пределом холостой пробы и верхним пределом основной кривой). Значения ниже предела холостой пробы определяются как <5,0 нг/мл. Значения, превышающие верхний предел диапазона измерений, определяются как >2000 нг/мл.

Сравнение методов

В общей сложности 100 проб в диапазоне от 5,161 до 1953,967 нг/мл были протестированы с использованием анализа гиалуроновой кислоты (y) и имеющегося на рынке иммуноанализа (x). Данные, полученные с помощью построенных линейных регрессий, можно представить в виде следующего уравнения: $y=0,962x+1,4648$. $r^2=0,9843$.

Аналитическая специфичность

Специфичность анализа определялась путем добавления ламинина (1000 нг/мл) к двум пробам сыворотки крови в указанной концентрации. Не было выявлено интерференции.

Эндогенная интерференция

Наличие перечисленных ниже веществ в концентрации, не превышающей указанных значений, не влияет на результаты данного анализа:

- Билирубин 60 мг/дл
- Гемоглобин 2000 мг/дл
- Триглицериды 1250 мг/дл

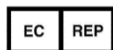
ЛИТЕРАТУРА

1. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB (1997). "Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover". J. Intern. Med. 242 (1): 27–33.
2. Stern R (2004). "Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway". Eur. J. Cell Biol. 83 (7): 317–25.
3. Sugahara K, Schwartz NB, Dorfman A (1979). "Biosynthesis of hyaluronic acid by Streptococcus" (PDF). J. Biol. Chem. 254 (14): 6252–6261.
4. Wessels MR, Moses AE, Goldberg JB, DiCesare TJ (1991). "Hyaluronic acid capsule is a virulence factor for mucoid group A streptococci" (PDF). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88 (19): 8317–8321.
5. Schulz T, Schumacher U, Prehm P (2007). "Hyaluronan export by the ABC transporter MRP5 and its modulation by intracellular cGMP". J. Biol. Chem. 282 (29): 20999–1004.
6. Matou-Nasri S, Gaffney J, Kumar S, Slevin M (2009). "Oligosaccharides of hyaluronan induce angiogenesis through distinct CD44 and RHAMM-mediated signalling pathways involving Cdc2 and gamma-adducin". Int. J. Oncol. 35 (4): 761–773.
7. Tesar BM, Jiang D, Liang J, Palmer SM, Noble PW, Goldstein DR (2006). "The role of hyaluronan degradation products as innate alloimmune agonists". Am. J. Transplant. 6 (11): 2622–2635.
8. Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DG, Petrik J, et al. (1998) Serum Hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. J Viral Hepat 5: 187-192.
9. Schiff ER, Schiff L (1993) Needle biopsy of the liver. Diseases of the Liver. (7thedn), Lippincott Co, Philadelphia.
10. Montazeri G, Estakhri A, Mohamadnejad M, et al. Serum hyaluronate as a non-invasive marker of hepatic fibrosis and inflammation in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. BMC gastroenterology, 2005, 5(1): 32.
11. Suzuki A, Angulo P, Lypm J, et al. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non - alcoholic fatty liver disease[J]. Liver International, 2005, 25(4): 779-786.
12. Tamaki S, Ueno T, Torimura T, et al. Evaluation of hyaluronic acid binding ability of hepatic sinusoidal endothelial cells in rats with liver cirrhosis[J]. Gastroenterology, 1996, 111(4): 1049-1057.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.16, Jinhui Road, Pingshan New District, Shenzhen, 518122, P.R. China (KHP)
Тел.: 0086-755-21536601 Факс: 0086-755-28292740



Lotus Global Co., Ltd.

1 Four Seasons Terrace, West Drayton, Middlesex London, UB7 9GG, United Kingdom
Тел.: 0044-20-75868010 Факс: 0044-20-79006187

РАСШИФРОВКА СИМВОЛОВ

	См. инструкцию по использованию		Производитель
	Допустимый температурный диапазон (температура хранения — от 2 до 8 °C)		Срок годности
	Содержимого достаточно для		Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей
	Этой стороной вверх		Официальный представитель в Европейском сообществе
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Состав комплекта
	Номер по каталогу		Код партии