

# MAGLUMI® Набір реагентів для визначення гіалуронової кислоти

## ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір використовується для кількісного визначення вмісту гіалуронової кислоти (ГК) *in vitro* в сироватці крові людини методом імунохемілюмінесцентного аналізу (ІХЛА) за допомогою повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI (зокрема, 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 ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

Гіалуронова кислота (ГК; спряжена з основою гіалуронатом) або гіалуронан – це аніонний несольфатований глікозаміноглікан, який входить до складу сполучної, епітеліальної та нервової тканини. Унікальність ГК порівняно з іншими глікозаміногліканами полягає у відсутності сульфатування її молекул, синтезуванні не в апараті Гольджі, а в плазматичній мембрані, а також у великій молекулярній масі, яка може досягати мільйонів одиниць<sup>1</sup>. У тілі людини середньою вагою 70 кг(kg) міститься прибіл. 15 г гіалуронану, третина якого поновлюється (розпадається або синтезується) щодня<sup>2</sup>. З гіалуронової кислоти також складається позаклітинна капсула стрептококів групи А, вважається, що вона є одним із факторів вірулентності<sup>3-4</sup>.

Гіалуронову кислоту синтезують гіалуронансинтази класу інтегральних мембранних білків, три типи яких є в хребетних: HAS1, HAS2 та HAS3. Ці ферменти подовжують молекулу гіалуронану, послідовно приєднуючи глюкуронову кислоту та N-ацетилглюкозамін до утвореного полісахариду, який через клітинну мембрану витискується в позаклітинний простір транспортним білком сімейства ABC<sup>5</sup>. ГК розкладається ферментами гіалуронідазами. В організмі людини є щонайменше сім типів гіалуронідазоподібних ферментів, деякі з яких характеризуються пухлинопрігнічувальною активністю. Продукти розкладання – олігосахариди й низькомолекулярний гіалуронан – мають властивості стимулювання ангиогенезу. Крім того, за даними останніх досліджень, у разі пошкодження тканини або трансплантації шкіри фрагменти гіалуронану, на відміну від нативного полісахариду з великою молекулярною масою, можуть запускати реакцію запалення в макрофагах і дендритних клітинах<sup>6-7</sup>.

Фіброз печінки, який розвивається внаслідок хронічного запалення її паренхіми, – це складний і динамічний процес, що характеризується накопиченням компонентів позаклітинного матриксу, підвищенням синтезу матриксу клітинами, вивільненням цитокінів та внутрішньою перебудовою тканини. Золотим стандартом оцінювання фіброзу печінки вважається біопсія, яка, проте, має низку негативних властивостей, як-от інвазивність і потенційна небезпечність<sup>8-9</sup>. Зараз для визначення ступеня тяжкості фіброзу печінки активно використовуються біомаркери. Найперспективнішим із них вважається гіалуронова кислота (ГК). ГК у печінці синтезується переважно зрчастими клітинами, а розкладається синусоїдальними ендотеліальними клітинами. Частина ГК із тканини через лімфатичні протоки потрапляє в системний кровоток, де переважно руйнується синусоїдальними ендотеліальними клітинами печінки, які приєднуються за допомогою гіалуронатних рецепторів, а потім розкладається в лізосомах. У пацієнтів із прогресуючими захворюваннями печінки й зниженням функції синусоїдальних ендотеліальних клітин виявляють підвищені рівні ГК у сироватці крові, що зумовлено зменшенням кількості цих рецепторів і ГК, яка руйнується в ендотеліальних клітинах<sup>10-12</sup>.

## ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

В основі тесту на ГК лежить конкурентний імунохемілюмінесцентний аналіз.

Зразок (або калібратор / контрольний зразок, якщо застосовно), вільний антиген НАВР (Hyaluronic Acid Binding Protein – зв'язувальний білок ГК), магнітні мікросфери, укріті очищеною ГК, ретельно перемішуються й перебуває й інкубується для утворення імунокомплексів. Після осадження в магнітному полі зливається супернатант і виконується цикл відмивання для видалення залишків незв'язаного матеріалу. На наступному етапі додається анти-НАВР із міткою АВЕІ і виконується інкубація для утворення імунокомплексів. Після осадження в магнітному полі зливається супернатант і виконується ще один цикл відмивання. Після цього додаються стартери 1 і 2 для запуску швидкої хемілюмінесцентної реакції. Інтенсивність світлового сигналу вимірюється фотоелектронним помножувачем у відносних світлових одиницях (ВСО) і є зворотно пропорційною до концентрації гіалуронової кислоти в досліджуваному зразку (або в калібраторі / контрольному зразку, якщо застосовно).

## СКЛАД НАБОРУ

### Надані матеріали

Компоненти	Вміст	100 тестів (REF: 130209001M)	50 тестів (REF: 130609001M)
<b>Магнітні мікросфери</b>	Магнітні мікросфери, укріті очищеним антигеном ГК, містять бичачий сироватковий альбумін, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
<b>Калібратор низького рівня</b>	Містить бичачий сироватковий альбумін і антиген ГК, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
<b>Калібратор високого рівня</b>	Містить бичачий сироватковий альбумін і антиген ГК, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
<b>Антиген НАВР</b>	Вільний антиген НАВР, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	10,5 мл (mL)	6,5 мл (mL)
<b>Мітка АВЕІ</b>	Анти-НАВР із міткою АВЕІ, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	12,5 мл (mL)	7,5 мл (mL)
<b>Внутрішній контроль якості</b>	Містить бичачий сироватковий альбумін і антиген ГК, NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %).	2,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)

Усі реагенти надаються в готовому до використання стані.

### Необхідні аксесуари, які не входять до комплекту постачання

#### Серія MAGLUMI:

Реакційні модулі (пробірки)	REF: 630003
Стартовий реагент 1+2	REF: 130299004M, 130299027M
Концентрат для промивання	REF: 130299005M

Аксесуари можна замовити в компанії Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) або її вповноважених представників.

## КАЛІБРУВАННЯ

Відстеження: цей метод було стандартизовано шляхом порівняння з речовиною, що використовується компанією SNIBE для внутрішнього контролю якості.

Застосування спеціально призначених калібраторів дає змогу адаптувати значення відносних світлових одиниць (BCO) до відповідної референсної кривої. Результати визначаються за калібрувальною кривою, яка будується залежно від використовуваного інструмента на підставі калібрування за двома точками й референсної кривої (за 10 калібруваннями), що надається на чипі радіочастотної ідентифікації реагенту.

Повторне калібрування потрібно виконати в таких випадках:

- після кожної заміни партії (реагенту або стартера 1 і 2);
- щотижня й / або перед початком використання нового набору реагентів (рекомендовано);
- після технічного обслуговування інструмента;
- якщо показники контрольних зразків виходять за межі норми.

## КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Необхідно дотримуватись урядових нормативів або сертифікаційних вимог щодо інтервалів контролю якості.

Внутрішній контроль якості застосовується лише до систем MAGLUMI. Інструкції з використання й цільові показники наведено в розділі **Контроль якості для ГК (ХЛА)**. Оцінка результатів має здійснюватися виходячи з власних стандартів і досвіду користувача.

Докладну інформацію щодо введення значень для контролю якості можна знайти в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

Для моніторингу ефективності системи й графіків змін потрібні матеріали для контролю якості серійного виробництва. З контрольними зразками слід поводитися так само, як і зі зразками пацієнта. Рівень ефективності вважається задовільним, якщо значення аналізованих компонентів не виходять за межі допустимого діапазону регулювання, визначеного для системи, або користувацького діапазону, відповідно до схеми контролю якості, складеної у внутрішній лабораторії. Якщо контроль якості показав, що результати виходять за межі норми або встановленого лабораторією діапазону, такі значення не слід заносити до звітів. У такому випадку слід:

- перевірити, чи не сплив термін придатності матеріалів;
- переконатися, що було проведено планове технічне обслуговування;
- упевнитися, що було дотримано інструкцій із використання під час виконання тестів;
- виконати тест повторно, використовуючи свіжі контрольні зразки;
- за потреби звернутися по допомогу до місцевої служби технічної підтримки або дистриб'юторів.

## ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- Використовуються стандартні пробірки або пробірки з розділювальним гелем. Кров потрібно збирати асептичним методом, з дотриманням загальноприйнятих застережень щодо венепункції.
- Перш ніж починати центрифугування, переконайтеся, що процес коагуляції в сироватці повністю завершився. Деякі зразки, особливо взяті в пацієнтів, які приймають антикоагулянти або препарати проти тромбофлебіту, можуть потребувати більше часу для коагуляції.
- Якщо почати центрифугування до повної коагуляції, присутність фібрину в зразку може призвести до отримання хибних результатів. Зразки не мають містити фібрин або інші тверді домішки.
- Для аналізу не мають використовуватися гемолізовані або високоліпімічні зразки, як і зразки, що містять тверді домішки або мають явні ознаки мікробного забруднення. Усі зразки потрібно перевіряти на наявність бульбашок повітря; для забезпечення оптимального результату бульбашки потрібно видалити перед початком аналізу.
- Не піддавайте зразки багатократному заморожуванню й розморожуванню. Зразки сироватки можна заморожувати й розморожувати тільки двічі. Після розморожування зразки необхідно ретельно перемішати.
- Центрифуговані зразки з ліпідним шаром на поверхні потрібно перенести в чашу для зразків або в допоміжну пробірку. Переносити очищені зразки до пробірки слід дуже обережно, щоб до неї не потрапив ліпідний матеріал.
- Усі зразки (узяті в пацієнта й контрольні) мають бути проаналізовані протягом 3 годин після завантаження в систему MAGLUMI. З усіма питаннями щодо умов збереження зразків у системі можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.
- Зразки, очищені від розділювача, клітин та згустків, можуть зберігатися до 24 годин при температурі 2–8 °C.
- У замороженому стані зразки зберігаються до 2 місяців при температурі –20 °C або нижчій. Після зберігання зразки потрібно ретельно перемішати перед аналізом (у вихровому змішувачі).
- Перед відправленням зразки рекомендовано очистити від розділювача сироватки, еритроцитів і згустків. Зразки, призначені для перевезення, мають бути упаковані й промарковані відповідно до застосованих вимог державного, федерального й міжнародного законодавства стосовно транспортування клінічних зразків й інфікованих речовин. Зразки мають транспортуватися в замороженому стані.
- Об'єм зразка, потрібний для одноразового визначення ГК, становить 60 мкл (µL).

## ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ДЛЯ КОРИСТУВАЧІВ

- **IVD**
- Призначено для діагностики *in vitro*.
- Дотримуйтеся вказівок на вкладиші з інструкцією з використання. Інакше достовірність результатів тесту не гарантується.

### Застереження щодо безпеки

- **УВАГА.** Цей виріб передбачає обробку біологічних матеріалів людини. Усі людські біологічні матеріали слід вважати потенційно інфікованими й поводитися з ними відповідно до вимог стандарту 29 CFR 1910.1030 «Професійні ризики, пов'язані з патогенами, що передаються з кров'ю». Під час роботи з матеріалами, що містять або можуть містити інфіковані речовини, слід застосовувати 2-й рівень біологічного захисту або інші відповідні методики біологічної безпеки.
- Усі зразки, біологічні реагенти й матеріали, що використовуються під час проведення тестів, мають вважатися такими, що ймовірно можуть переносити інфекції. Зважаючи на це, утилізувати їх потрібно з дотриманням прийнятих у вашому закладі правил. Утилізацію матеріалів слід здійснювати в безпечний і прийнятний спосіб відповідно до нормативних вимог, виконання яких є пріоритетнішим.
- Цей виріб містить азид натрію. Вміст і контейнери мають бути утилізовані відповідно до вимог місцевих, регіональних і державних нормативів.
- Докладні відомості наведено в паспорті безпечності речовини, що надається на вимогу.

### Застереження щодо роботи із системою

- Не використовуйте набір реагентів після закінчення терміну його придатності.
- Не використовуйте компоненти з різних партій або від різних реагентів одночасно.
- Перед першим завантаженням у систему набір реагентів потрібно перемішати, щоб повернути магнітні мікросфери, які осіли під час

транспортування, до стану суспензії.

- Інструкції щодо перемішування магнітних мікросфер наведено в розділі цього вкладиша, присвяченому підготовці реагентів.
- Щоб запобігти забрудненню, потрібно вдягати чисті рукавички під час роботи з набором реагентів і зразками.
- З часом на прокладці можуть накопичуватися висохлі залишки рідин. Сольовий осад, що утворюється внаслідок цього, не впливає на результат аналізу.
- З усіма питаннями щодо умов роботи із системою можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.

## ЗБЕРІГАННЯ Й СТАБІЛЬНІСТЬ

- У герметичній упаковці: зберігати при температурі 2–8 °C до кінця терміну придатності.
- У відкритому стані при 2–8 °C: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- У середині системи: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- Для забезпечення максимально ефективного використання набору рекомендовано ставити відкриті набори в холодильник після завершення всіх аналізів протягом дня. Якщо контрольні зразки перебувають у межах норми, можна продовжувати користуватися набором навіть після закінчення терміну зберігання у відкритому стані або в системі.
- Зберігайте набір у вертикальному положенні, щоб у майбутньому полегшити повернення магнітних мікросфер до стану суспензії.
- Бережіть від прямих сонячних променів.

## ПОРЯДОК ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

### Підготовка реагентів

- Ресуспензування магнітних мікросфер відбувається автоматично після завантаження набору, чим забезпечується повне рівномірне відновлення суспензії перед використанням.
- Для отримання максимально ефективних результатів потрібно точно дотримуватись інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI. Кожний параметр тестування визначається за допомогою чипа радіочастотної ідентифікації на наборі реагентів. Докладну інформацію наведено в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

## РОЗВЕДЕННЯ

Можливість автоматичного розведення в аналізаторі для цього набору реагентів не передбачена.

Зразки, концентрація яких виходить за межі діапазону вимірювання, можуть бути розведені вручну. Після розведення вручну потрібно помножити результат на коефіцієнт розведення. Використовуйте відповідні розріджувачі або зверніться до компанії SNIBE щодо виконання розведення вручну.

## ОБМЕЖЕННЯ

- Запорукою отримання достовірних результатів є досконале володіння технікою аналізу й чітке дотримання всіх інструкцій.
- Бактеріальне зараження або теплова інактивація зразків може спотворити результати дослідження.
- Якщо показники перебувають у межах норми, це не виключає наявності захворювання, тому під час інтерпретації слід враховувати результати інших діагностичних процедур.
- Результати тестів надаються в кількісному вираженні. Однак діагноз не має ґрунтуватися виключно на результатах окремого тесту – потрібно враховувати інші клінічні показники й медичний висновок.
- Усі рішення щодо лікування також мають прийматися з урахуванням умов кожного окремого випадку.
- Зразки, що містять людські антимішачі антитіла (human anti-mouse antibodies, HAMA), можуть давати хибно завищені або занижені значення. У разі надто високої концентрації HAMA в сироватці результати можуть спотворюватися навіть попри додавання агентів для нейтралізації HAMA.

## РЕЗУЛЬТАТИ

### Розрахунок результатів

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію ГК у кожному зразку на основі калібрувальної кривої, яка будується за методом двоточкового калібрування референсної кривої. Одиницею вимірювання для результатів є нг/мл (ng/mL). Докладну інформацію наведено в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

### Інтерпретація результатів

Після обстеження 125 клінічно здорових осіб у Китаї було визначено допустимі норми для тестів на ГК, значення яких наведено нижче: < 100 нг/мл (ng/mL) (95-й перцентиль).

Можливі розбіжності в результатах різних лабораторій, що пояснюються відмінностями в складі популяції й методиках дослідження. Рекомендовано в кожній лабораторії визначити власний діапазон нормальних значень.

## ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Точність

Точність для тестів на ГК визначалася відповідно до вимог документа EP5-A2, виданого Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). У двох окремих паралельних випробуваннях протягом 20 днів досліджувалися 3 пули з людською сироваткою й 1 контрольний зразок із різною концентрацією аналізованих компонентів. Результати представлено в наведеній нижче таблиці:

Зразок	Середнє (нг/мл) (ng/mL) (N = 80)	У межах випробування		Між випробуваннями		Загалом	
		Станд. відх. (нг/мл (ng/mL))	% коеф. вар.	Станд. відх. (нг/мл (ng/mL))	% коеф. вар.	Станд. відх. (нг/мл (ng/mL))	% коеф. вар.
Пул із сироваткою 1	61,705	4,210	6,82	1,605	2,60	4,506	7,30
Пул із сироваткою 2	185,759	11,540	6,21	4,396	2,37	12,349	6,65
Пул із сироваткою 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

### Межа холостої проби

Межа холостої проби для тестів на ГК становить 5,0 нг/мл (ng/mL).

### Діапазон вимірювання

5,0–2000 нг/мл (ng/mL) (визначається за межею холостої проби й максимумом референсної кривої). Значення, нижчі за межу холостої проби, позначаються у звітах як < 5,0 нг/мл (ng/mL). Значення, що виходять за верхню межу діапазону вимірювання, позначаються

як > 2000 нг/мл (ng/mL).

#### Порівняння методик

100 зразків із різним вмістом ГК – від 5,161 до 1953,967 нг/мл (ng/mL) – було досліджено за допомогою тесту на ГК (y) й іншої імунологічної проби серійного виробництва (x). Дані щодо лінійної регресії підсумовано таким чином:  $y=0,962x+1,4648$ .  $r^2=0,9843$ .

#### Аналітична специфічність

Специфічність аналізу визначалася додаванням ламініну (1000 нг/мл (ng/mL)) до двох зразків сироватки з указаною концентрацією. Факту спотворення результатів не виявлено.

#### Вплив ендогенних факторів

Речовини, концентрація яких не перевищує вказані нижче значення, не впливають на результат аналізу:

- Білірубін 60 мг/дл (mg/dL)
- Гемоглобін 2000 мг/дл (mg/dL)
- Тригліцерид 1250 мг/дл (mg/dL)

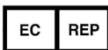
#### ПОСИЛАННЯ

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. (7th edn), 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, Lymp 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.



#### Шеньчжень Нью Індастріз Біомедікал Інжинірінг Ко., Лтд.

№23 Джінксіу 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: ua@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.