

谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

【产品名称】

通用名称：谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：GAD Ab ELISA Kit

【包装规格】

96人份/盒

【预期用途】

谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）检测试剂盒（酶联免疫法），用于定量测定人血清中谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）的含量。

胰岛β细胞抗原的自身抗体是1型糖尿病（1型DM）的重要血清学标志物。被这些抗体识别的抗原包括胰岛素，谷氨酸脱羧酶（GAD₆₅ kDa 同种型），胰岛细胞抗原 IA-2 或 ICA-512 和锌转运体 8（ZnT8）。

【检验原理】

本试剂盒应用酶联免疫法定量测定人血清中谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）水平。检验原理主要是依据GAD-Ab的Y型结构，两侧臂的抗原结合点，一侧同包被微孔的固相抗原GAD相结合，另一侧则同依次加入的生物素化的液相抗原GAD相结合，形成桥式结构。随后加入的过氧化物酶标记的亲本素同生物素化的GAD结合。洗掉未结合的酶标记物，添加底物TMB后产生蓝色，添加终止液后终止反应显黄色，使用酶标仪在405nm和450nm波长下测定吸光度值（OD值），计算样品浓度。

【主要组成成分】

产品组成：微孔板，生物素标记的GAD₆₅，复溶缓冲液，酶结合物，酶结合物稀释液，底物液(TMB)，浓缩洗涤液，终止液，校准品，阳性质控品，阴性质控品。具体成分见下表。

产品主要成分：

组分名称	组分规格	主要成分
微孔板	96孔	包被有GAD ₆₅ 的微孔板，每个孔架包含12条，每条8孔的孔板。
校准品	6×0.7mL	5，18，35，120，250，2000 U/mL，GAD-Ab阳性的兔血清稀释于人血清
阳性质控品	1 x 0.7mL	GAD-Ab阳性的兔血清稀释于人血清
阴性质控品	1 x 0.7mL	GAD-Ab阴性的人血清

生物素标记的GAD ₆₅	3小瓶	冻干的生物素化的重组人GAD ₆₅
生物素标记的GAD ₆₅ 复溶缓冲液	2x15mL	磷酸盐缓冲液
酶结合物（SA-POD）	1x0.7mL	过氧化物酶标记的链霉亲和素
酶结合物稀释液	1x15mL	磷酸盐缓冲液
底物液(TMB)	1x15mL	四甲基联苯胺
浓缩洗涤液	1x125mL	Tris缓冲液
终止液	1x12mL	含0.25mol/L硫酸

试剂盒需要但试剂盒中未提供的材料

- 能调剂 25μL 和 100μL 的移液器。
- 能够按量配给多种体积以复溶或稀释试剂的方法。
- 纯水。
- ELISA 孔板振荡器 500 次/分（非定轨振荡器）。
- ELISA 孔板盖。

【储存条件及有效期】

- 未开封试剂盒置于2~8℃可保存12个月。（详见试剂盒）。
- 微孔板：剩下的微孔板放入自封袋中在2℃~8℃最多可稳定16周。
- 生物素标记的GAD₆₅：复溶后的生物素标记的GAD₆₅在2℃~8℃最多可稳定3天。
- 酶结合物：已稀释的酶结合物在2℃~8℃最多可稳定16周。
- 洗涤液：已稀释的洗涤液在2℃~8℃可保存至试剂盒有效期。
- 生产日期及失效日期见标签。

【适用仪器】

酶标仪（含405nm，450nm波长）

【样本要求】

1. 待分析血清应该在经过分离后不久进行检测或贮存（最好分成等份）于-20℃或更低温度。单次检测 50μL 样本足够（一式两份 25μL 测定）。
2. 应该避免重复冻融或贮存温度升高。
3. 请勿使用脂血或溶血血清样本。
4. 请勿使用血浆进行检测。
5. 需要时，在室温下解冻测试血清并轻轻混合以确保均匀性。
6. 检测前用离心机分离血清（最好用微型离心机在 10-15000g 转速时离心 5 分钟），去除微粒物质。如果血清浑浊或包含微粒，请勿省略离心处理步骤。

【检验方法】

使用前使所有试剂在室温（20-25℃）下搁置至少30分钟。

1.	加入 25μL 患者血清、校准品、阴性质控品和阳性质控品到各自孔中，一式两份，一个孔留空（见步骤 12）。
2.	盖上孔架，在室温条件下用 ELISA 孔板振动器（500 次/分）振动孔板 1 小时。
3.	用 ELISA 孔板洗涤器抽出试剂并用稀释后的浓缩洗涤液清洗孔板 3 次。如果孔板洗涤器不可用，迅速倒扣孔架于适当托盘上以丢弃孔内物质。手动洗涤三次并在清洁干燥的吸收剂表面轻轻敲击倒扣的孔板。
4.	用移液器加入 100μL 复溶的生物素标记的 GAD ₆₅ 于每个孔内（留空的孔除外）。添加过程中避免物质飞溅到孔外。
5.	盖住孔架，在室温条件下用 ELISA 孔板振动器（500 次/分）孵育 1 小时。
6.	重复清洗步骤 3。
7.	用移液器加入 100μL 稀释的酶结合物于每个孔中（留空的孔除外）。
8.	盖上孔架，在室温条件下用 ELISA 孔板振动器（500 次/分）孵育 20 分钟。
9.	重复清洗步骤 3。如手动执行清洗，在轻敲倒扣的孔板使其干燥前，用纯水执行额外清洗步骤（去除泡沫）。
10.	用移液器加入 100μL 底物液于每个孔内（包括留空的孔），在室温条件下暗室孵育 20 分钟，不进行振动。
11.	用移液器加入 100μL 终止液于每个孔内（包括留空的孔），盖住孔架并用孔板振动器振动大约 5 秒钟。确保每个孔的底物孵育相同。
12.	用酶标仪在 450nm 和 405nm 条件下读取每个孔的吸光度，空白对比只包含 100μL 底物液和 100μL 终止液的孔。

质量控制：

1. 阴性质控品与空白值的OD值之差在450nm下如小于0.1，则表明阴性质控品是在正确的范围内，并且建议检测能够有效的进行。
2. 2000U/mL浓度的校准品OD值能够在405nm下读取（如在405nm下OD≥1.4），并且通过乘以合适的系数能够转化为450nm下的吸光度值。2000U/mL浓度的校准品与空白值在450nm下的OD值之差大于4.0，表明良好的检测性能。

【阳性判断值】

临界值	U/mL
阴性	<5U/mL
阳性	≥5U/mL

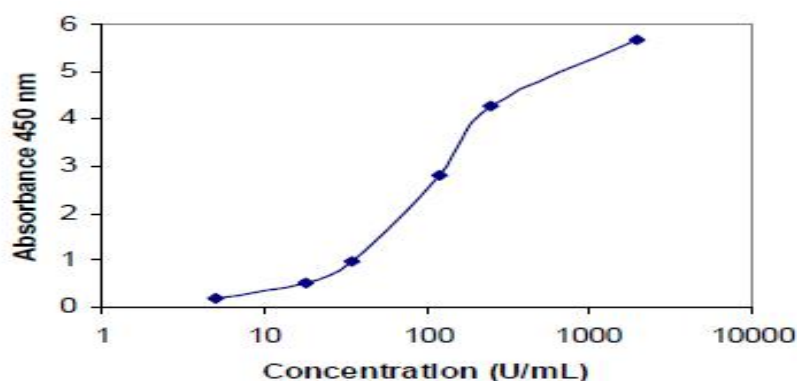
【检验结果的解释】

以校准品浓度为 X 轴（对数标尺）和以校准品的吸光度为 Y 轴（线性标尺）建立校准曲线。从校准曲线上可以读出患者血清的 GAD-Ab 浓度[RSR 绘成对数/线性样条曲线（曲线平滑系数=0）]。可使用其他数据处理系统。可赋予阴性质控品数值 0.5U/mL 来辅助电脑分析检测结果。大多数测试血清的值会低于 250U/mL 而且不必总包括 2000U/mL 校准品。可用 GAD-Ab 阴性血清或试剂盒阴性质控品或 RSR 提供的额外稀释剂稀释抗体浓度高的样本。例如，20μL 样本加上 180μL 稀释剂得到

10 倍稀释液。其他稀释液（例如 100 倍）可以从 10 倍稀释液制备或视情况而定。根据试剂盒校准品（按照 NIBSC 97/550 标准化的），一些血清的稀释不会呈线性。

典型结果（仅作为范例，不用于实际结果计算）

校准品	A450nm	浓度 U/mL	A405nm	浓度 U/mL
B1	0.199	5	0.061	5
B2	0.527	18	0.164	18
B3	0.975	35	0.301	35
B4	2.794	120	0.843	120
B5	4.264	250	1.254	250
B6	5.671	2000	1.668	2000
阴性质控品	0.035	0	0.012	0
阳性质控品	1.374	49.2	0.418	49.6



【检验结果的局限性】

本检测结果仅供临床参考，如需确诊病例请结合临床症状及其他检测手段，不得作为临床诊断或排除的唯一依据。

【产品性能指标】

临床特异性和灵敏度

在DASP 2005 研究中，谷氨酸脱羧酶抗体（GAD-Ab）测定试剂盒达到了98%（n=100）特异性和92%（n=50）灵敏度。

最低检测限

检测试剂盒阴性质控品 20 次，计算均值和标准差。在+2 标准差时检测下限是 0.57U/mL。

批间精密度

样本	U/mL (n=20)	CV (%)
A	97	5.7

B	2.1	5.2
C	2.7	6.4

批内精密度

样本	U/mL (n=25)	CV (%)
1	97	7.3
2	20	8.5
3	7.0	3.5

线性范围：5.0~85.0U/mL，相关系数（R）≥0.9900

干扰样本对检测的影响





除了1型糖尿病，其他自身免疫疾病患者的血清分析表明自身抗体对甲状腺球蛋白或甲状腺过氧化物酶（n=10）或TSH受体（n=20）对此检测无干扰。一份对dsDNA（n=10）呈现阳性的样本和一份对类风湿因子（n=30）呈现阳性的样本对GAD-Ab呈阳性。





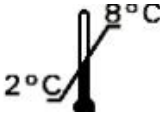


当样本加入以下材料时没有观察到干扰情况；5mg/mL血红蛋白，20mg/dL胆红素或3000mg/dL脂肪乳剂。

【注意事项】

- 1、本品仅供体外诊断使用，操作应严格按照说明书进行。
- 2、所有试验需在20-25℃下进行，应避免由日光照射机器或周围仪器发热引起的高温。
- 3、用采用新的吸头用于阳性质控品、阴性质控品、校准品和单独的样本。
- 4、不能混用其他制造商的产品。
- 5、取出需要数量的微孔板，剩下的微孔板放入自封袋，保存于2~8℃。
- 6、酶反应物加入微孔后，酶标板需立即放置于黑暗处。
- 7、操作前应仔细阅读本说明书并严格按照其指示操作，否则可能会导致错误的检测结果。
- 8、废弃样本和废液的处理应遵照相应的生物安全和有毒有害物质管理规定。

【标识的解释】

符号	含义
	欧洲委员会符合性说明书
	体外诊断医疗器械
	产品编号
	批号

	参阅使用说明
	生产商
	规格
	有效日期
	储存温度
	阴性质控
	阳性质控

【参考文献】

1. H. Brooking et al, A Sensitive non-isotopic assay for GAD₆₅ autoantibodies, Clinica Chimica Acta 2003 331:55-59
2. S. Chen et al. Sensitive non-isotopic assays for autoantibodies to IA₂ and to a combination of both IA₂ and GAD₆₅., Clinica Chimica Acta 2005 357:74-83
3. E. Nilson et al, Calcium addition to EDTA plasma eliminates falsely positive results in the RSR GADAb ELISA., Clinica Chimica Acta 388 (2008) 130-134
4. K. Rahmati et al, A Comparison of Serum and EDTA Plasma in the Measurement of , Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies (GADA) and Autoantibodies , to Islet Antigen-2 (IA-2A) Using the RSR Radioimmunoassay (RIA) and , Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kits., Clin. Lab. 2008 54:227-235
5. C. Törn et al, Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2., Diabetologia 2008 51:846-852

【基本信息】

注册人/生产企业名称：阿斯尔有限公司RSR Limited

住所：7 Robin Lane, High Bentham, Lancaster, LA2 7AB

生产地址：Parc Ty Glas, Llanishen Cardiff, CF14 5DU, United Kingdom

联系方式：

传真：

网址：

售后服务单位名称：

联系方式：

代理人名称：天津阿斯尔生物科技有限公司

住所：天津滨海高新区华苑产业区海泰发展六道6号海泰绿色产业基地J座312室

联系方式：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准及修改日期】