





## Metodeblad for ADAP Multiplex Total Antibody Assay (4plex:T1D)

Glutamic acid decarboxylase (GAD65) antistof,  
Islet Antigen 2 (IA2) antistof,  
Insulin (IAA) antistof,  
Zinc transporter 8 (ZnT8) antistof

Udgiver	Steno Diabetes Center Copenhagen, Steno Laboratorium
Forfatter	VHIR0002
Gældende fra	24.03.2026
Version	8
Næste Revision	24.03.2028
Indikation	Måling af autoantistoffer anvendes til type 1-diabetes (T1D) diagnose, men kan også være en metode til screening for personer med høj risiko for at udvikle T1D. Udover alderen og sværhedsgrad af hyperglykæmi er tilstedeværelse af autoantistoffer et kriterium for at diagnosticere T1D. Ved screening er det mest antallet af autoantistoffer, der vurderes at have prognostisk værdi.
Forberedelse af patient	Ingen særlige forholdsregler.
Præanalytiske fejlkilder	Prøven må ikke tages i Li-heparin glas, da heparin kan inhibere PCR reaktionen.
Prøvemateriale	Serum fra veneblod udtaget i prøverør m/u koagulationsaktivator og m/u separationsgel. Mængde serum: 0,3 - 0,5 mL.

Udgiver	Steno Diabetes Center Copenhagen, Steno Laboratorium	
Prøvehåndtering og forsendelse	Prøvehåndtering	Centrifugeres i 5 min. ved 3000 g ved max 20°C
	Prøvemateriale	Serum
	Henstand inden centrifugering	1 time (±0,5 time)
	Holdbarhed (afpipetteret)	Stuetemperatur: op til 21 dage 2-8°C: op til 21 dage -20°C: op til 21 dage -80°C: langtidsopbevaring
	Forsendelse fra ekstern Fra Herlev KBA	Afpipetteret i 1,8 mL kryorør Centrifugeret i serumglas, med Sumetzberger rørpost
Akkreditering	Analysen er akkrediteret i henhold til EN/ISO 15 189   	
Resultatvurdering	Negativ ( $\Delta Ct < \text{cutoff} - 1 \times \text{SD}$ ) Inkonklusiv ( $\text{cutoff} - 1 \times \text{SD} \leq \Delta Ct \leq \text{cutoff} + 1 \times \text{SD}$ ) (svares negativ i EQA) Positiv ( $\Delta Ct > \text{cutoff} + 1 \times \text{SD}$ )	
Referenceinterval	-	
Detektionsgrænse (U/mL)	Cutoff ligger ved 99. percentil af et raskt referenceprøvesæt	
Svartid (rutine)	4-6 uger	
Analysefrekvens	Hver 3-6 uge	

Udgiver	Steno Diabetes Center Copenhagen, Steno Laboratorium		
IUPAC	Autoantistof	NPU-navn (labterm)	IUPAC
	<i>Glutamic acid decarboxylase</i> (GAD65a)	P-Glutamate decarboxylase 2-antistof; arb.k. (proc.)	NPU63170
	<i>Islet antigen 2</i> (PTPRN(IA-2))	P-Receptor-type tyrosine-protein phosphatase-like N-antistof; arb.k. (proc.)	NPU63169
	<i>Insulin</i> (IAAa)	P-insulin-antistof; arb.k. (proc.)	NPU63168
	<i>Zinc transporter 8</i> (ZnT8a)	P-Zink transporter 8 C-terminal-antistof; arb.k. (proc.)	NPU63167
	<i>Gad65a, IA2a, IAA, ZnT8a</i>	P-Pancreas ø-celle (ICA)-antistof; arb.k. (proc.)	NPU63171
Apparatur	PCR Cycler: ProFlex PCR System, Applied biosystems Q-PCR Thermocycler: QuantStudio 7Pro, Applied biosystems Pipetteringsrobot til prøvehåndtering: BRAVO robot, Agilent. EpMotion, Eppendorf		
Firmaadresse	Enable Biosciences 510 Myrtle Ave Suite 101 South San Francisco CA 94080 <a href="mailto:info@enablebiosciences.com">info@enablebiosciences.com</a> ISO 13485 certificeret		
Metode/ analyseprincip	ADAP T1Define 2.0 serumsystemet er et assay til at påvise ø-autoantistoffer i serum-, plasma- og fuldblodsprøver. ADAP T1Define-systemet er baseret på den patenterede antistofdetektion ved agglutination-PCR (ADAP) teknologi <sup>1,2</sup> . Nukleinsyre-mærkede antigener danner template til en PCR, hvis de bliver bundet og aggregeret af antistofferne. Assayens qPCR producerer en Ct værdi til hver prøve, som bliver regnet om til en $\Delta$ Ct, som bliver sammenlignet med en cutoff værdi. Cutoff er lagt ved den 99. percentile af en rask testpopulation.		

Udgiver	Steno Diabetes Center Copenhagen, Steno Laboratorium														
Intermediær impræcision	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Intermediær impræcision for qPCR svar fra ADAP assay med QuantStudio Pro7</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Materiale: serum POOL (n=13-19, henover 3 LOT)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>POOL CV% (<math>\Delta Ct</math> niveau)</td> </tr> <tr> <td>GAD65</td> <td>11,6 (6,4)</td> </tr> <tr> <td>IA2</td> <td>14,2 (6,2)</td> </tr> <tr> <td>IAA</td> <td>5,3 (6,6)</td> </tr> <tr> <td>ZnT8</td> <td>7,3 (7,5)</td> </tr> </table>	Intermediær impræcision for qPCR svar fra ADAP assay med QuantStudio Pro7		Materiale: serum POOL (n=13-19, henover 3 LOT)			POOL CV% ( $\Delta Ct$ niveau)	GAD65	11,6 (6,4)	IA2	14,2 (6,2)	IAA	5,3 (6,6)	ZnT8	7,3 (7,5)
Intermediær impræcision for qPCR svar fra ADAP assay med QuantStudio Pro7															
Materiale: serum POOL (n=13-19, henover 3 LOT)															
	POOL CV% ( $\Delta Ct$ niveau)														
GAD65	11,6 (6,4)														
IA2	14,2 (6,2)														
IAA	5,3 (6,6)														
ZnT8	7,3 (7,5)														
Interferens/fejlkilder	Der er ingen kendt interferens baseret på ikterus eller lipæmi for autoantistof målinger med ADAP metoden. Hæmolyse er testet og har ingen interefens.														
Kvalitetskontrol	Egen fremstillet serum POOL, svag-stærk positiv for alle fire autoantistoffer. Interne kontroller: positiv og negativ kontrol fra Enable Biosciences Eksterne kontroller: Diabetes markører fra UK Neqas, program 3877 UK. 6 udsendelser i 2 niveauer pr. år. Deltagelse i Islet autoantibody standardization program (IASP) minimum hvert andet år.														
Pris	2164,08 DKK														
Historisk forløb	01.03.2024: ADAP Multiplex Total Antibody Assay (4plex:T1D antibodies serum) kit														
Referencer	<ol style="list-style-type: none"> <li>Sensitive detection of multiple islet autoantibodies in type 1 diabetes using small volumes by agglutination-PCR (de Jesus Cortez <i>et al.</i>, PLOS ONE 2020)</li> <li>Multiplex agglutination-PCR (ADAP) autoantibody assays compared to radiobinding autoantibodies in type 1 diabetes and celiac disease. (Lind <i>et al.</i>, Journal of Immunological Methods 2022)</li> </ol>														