



# BÜHLMANN GanglioCombi<sup>®</sup> *Light* ELISA

s enzymovými značkami IgG/IgM Mix, IgG a IgM

Detekce protilátek anti-gangliosid  
metodou ELISA  
(GM1, GD1b, a GQ1b)

*Pro in vitro* diagnostiku

EK-GCL-S      96 testů

Datum vydání: 2026-05-04  
Verze A2



Výrobce

**BÜHLMANN Laboratories AG**

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch, Švýcarsko

Tel.: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch



## URČENÉ POUŽITÍ

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA je *in vitro* diagnostický test k semikvantitativnímu stanovení protilátek IgG a, nebo IgM proti vybraným nervovým antigenům/epitopům ve vzorcích séra od pacientů se suspektní nebo diagnostikovanou autoimunitní periferní neuropatií. Výsledky testu lze použít k podpoře diagnózy autoimunitních periferních neuropatií ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Pouze k laboratornímu použití zdravotnickým personálem. Neautomatizováno.

## ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Tři enzymové značky dodávané v sadě umožňují tři různé testovací algoritmy:

1. Testování pomocí směsi konjugátů IgG/IgM (dále jen "směs") umožňuje vyšetřit přítomnost antineurálních protilátek naznačujících autoimunitní neuropatii.
2. Testování s jednotlivými konjugáty IgG a/nebo IgM umožňuje stanovit izotyp protilátek.
3. Při laboratorním zpracování může po počátečním screeningu vzorků pomocí směsi (možnost 1) následovat v případě potřeby diferenciací vzorků pozitivních na směs pomocí jednotlivých konjugátů IgG a IgM (možnost 2).

## PRINCIP TESTU

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA umožňuje selektivní měření protilátek proti gangliosidům v séru. Mikrotitrační destička je potažena gangliosidy: GM1, GD1b a GQ1b.

Do jamek mikrotitrační destičky se přidají séra pacientů, kontroly a kalibrátor. Po 2 hodinách inkubace při 2-8 °C a promytí detekční protilátky (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) konjugované s křenovou peroxidázou (HRP) detekují anti-gangliosidy navázané na gangliosidy imobilizované na destičce. Po 2 hodinách inkubace při 2-8 °C a promytí se detekčními protilátkami (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) konjugovanými s křenovou peroxidázou (HRP) detekují protilátky proti gangliosidům a/nebo anti-MAG navázané na imobilizované gangliosidy nebo HNK-1 na destičce. Po dalších 2 hodinách inkubace a dalších promývacích krocích se přidá chromogenní substrát HRP, tetrametylbenzidin (TMB) (tvorba modré barvy) a následuje zastavení reakce (změna na žlutou barvu). Absorbance se měří při 450 nm. Naměřená absorbance je úměrná titru protilátek přítomných v daném vzorku. Titry protilátek se vyjadřují jako % poměru ke kalibrátoru a lze je přiřadit ke kategoriím titrů (negativní, šedá zóna, pozitivní).

## DODÁVANÉ REAGENCIE A PŘÍPRAVA

Reagencie	Množství	Kat.č.	Příprava
<b>Mikrotitrační destička</b> předem potažená gangliosidy	stripy 12 x 8 jamek v rámečku	B-GCL-MP	Připraveno k použití
<b>Lepicí fólie</b>	3 kusy		
<b>Konzentrát promývacího roztoku (10x)</b> s konzervačními látkami	1 láhve x 100 mL	B-GCO-WB	Zředte 900 mL deionizované vody
<b>Inkubační roztok</b> s konzervačními látkami	1 láhev x 100 mL	B-GCO-IB	Připraveno k použití
<b>Kalibrátor</b> lyofilizované s konzervačními látkami	1 lahvička	B-GCO-CA	Přidejte 1,5 mL inkubačního roztoku
<b>Kontroly negativní, nízká a střední<sup>1</sup></b> lyofilizované s konzervačními látkami	3 lahvičky	B-GCO-CONSET	Přidejte 1,5 mL inkubačního roztoku
<b>Směs IgG/IgM označená enzymem</b> protilátky proti lidskému IgG a IgM konjugované s HRP v matrici pufru s konzervačními látkami.	1 lahvičky x 11 mL	B-GCO-ELGM	Připraveno k použití
<b>Enzymová značka IgG</b> protilátka proti lidskému IgG konjugovaná s HRP v roztoku s konzervačními látkami	1 lahvička x 11 mL	B-GCO-ELG	Připraveno k použití
<b>Enzymová značka IgM</b> protilátka proti lidskému IgM konjugovaná s HRP v roztoku s konzervačními látkami	1 lahvička x 11 mL	B-GCO-ELM	Připraveno k použití
<b>Substrát TMB</b> TMB v citrátovém pufru	1 lahvičky x 11 mL	B-TMB	Připraveno k použití
<b>Zastavovací roztok</b> 0,25 M kyselina sírová	1 lahvičky x 11 mL	B-ST5	Připraveno k použití <b>Žiravina</b>

Tabulka 1

<sup>1</sup> Kontroly obsahují množství protilátek anti-GM1 specifické pro danou šarži. Skutečné průměrné hodnoty OD a % poměru jsou uvedeny v doplňkovém listu pro kontrolu kvality.

## SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST REAGENCIÍ

Zapečetěná / neotevřená činidla	
Skladujte při teplotě 2-8 °C. Nepoužívejte činidla po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.	
Otevřená / zředěná činidla	
Mikrotitrační destička	Nepoužité stripy ihned vraťte do fóliového sáčku s vysoušecími balíčky a znovu je uzavřete podél celého okraje zipu. Skladujte až 6 měsíců při teplotě 2-8 °C.
Zředěný promývací roztok	Skladujte až 6 měsíců při teplotě 2-8 °C.
Inkubační roztok	
Enzymové značky	
Substrát TMB	
Kalibrátor	
Kontroly	
Zastavovací roztok	Skladujte až 6 měsíců při teplotě 18-28 °C.

Tabulka 2

## POŽADOVANÉ MATERIÁLY NEDODÁVANÉ SE SOUPRAVOU

- Přesné pipety s jednorázovými špičkami: 10 µL, 20 µL, 100 µL a 1000 µL
- Jednorázové polystyrenové nebo polypropylenové zkumavky pro přípravu ředění vzorků
- 1000 mL láhev pro ředění promývacího roztoku
- Podložka pod mikrotitrační destičky
- Blotovací papír
- Třepačka mikrotitračních destiček
- Čtečka mikrotitračních destiček pro měření absorbance při 450 nm

## UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ

### Bezpečnostní opatření

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Kalibrátor a kontroly této soupravy obsahují složky lidského původu. Přestože byly testovány a sledovány negativními na HBV, HCV a HIV1/2, mělo by se s činidly zacházet, jako s potenciálně infekčními, a mělo by se s nimi zacházet v souladu se správnou laboratorní praxí (SLP) za použití vhodných bezpečnostních opatření.
- Tato sada obsahuje součásti klasifikované v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008:
  - Zastavovací roztok obsahuje kyselinu sírovou (konc. 2,5-5 %), proto může dráždit kůži (H315), způsobit vážné podráždění očí (H319) a může být korozivní pro kovy (H290).
  - Kalibrátor, kontroly a enzymové značky obsahují 2-methyl-4-isothiazolin-3-on hydrochlorid (koncentrace  $\geq 0,0015$  %), proto mohou činidla vyvolat alergické kožní reakce (H317).
  - Inkubační roztok a promývací roztok obsahují gentamicin sulfát, proto mohou tato činidla vyvolat alergickou kožní reakci (H317).
- Zabraňte kontaktu činidel s kůží, očima nebo sliznicemi. Dojde-li ke kontaktu s činidlem, okamžitě je omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k podráždění/popálení.
- S činidly a chemikáliemi se musí zacházet jako s nebezpečným odpadem podle národních bezpečnostních směrnic nebo nařízení o biologickém nebezpečí.

### Technická opatření

- Před provedením testu si pečlivě přečtěte pokyny. Pokud jsou činidla nesprávně naředěna, upravena nebo skladována za jiných podmínek, než je uvedeno v tomto návodu k použití, bude to mít nepříznivý vliv na výsledky testu.

### ELISA postup

#### Teplota činidel

- Před zahájením postupu analýzy si připravte činidla. Kroky 3-9: Reagencie používané v krocích 3-9 musí být chlazené (2-8 °C) a při pipetování a promývání musí být uchovávány v chladu. Doporučení: Doporučujeme připravit promývací roztok den před provedením testu a umístit jej přes noc do chladničky.

- Všechny promývací kroky provádějte se studeným (2-8 °C) promývacím roztokem.
- Na začátku postupu analýzy upravte substrát TMB a zastavovací roztok na pokojovou teplotu (18-28 °C).

#### Kroky promývání

- Promývací kroky 3, 6 a 9 mají zásadní význam pro odstranění zbytků vzniklých při výrobním procesu a/nebo potenciálně nenavázaných protilátek v jamkách.
- Důrazně se doporučuje automatická promývačka pracující v "režimu desek", tj. každý procesní krok (dávkování/aspirace) se provede postupně na všech stripech, než přístroj pokračuje dalším promývacím cyklem.
- Po posledním promývacím cyklu se ujistěte, že jsou všechny jamky zcela prázdné.

#### Inkubace substrátu

- Krok 11: Během inkubace se substrátem mikrotitrační destičky protřepejte. V závislosti na modelu třepačky destiček doporučujeme 400-600 otáček za minutu. Roztok by se měl v jamkách pohybovat, ale nesmí se přelévat.

#### Součásti sady

- Složky se nesmí používat po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.
- Nezaměňujte různé šarže činidel.
- Je třeba vynaložit veškeré úsilí, aby nedošlo ke křížové kontaminaci mezi činidly, vzorky nebo jamkami.
- Mikrotitrační jamky nelze použít opakovaně.

## ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

K postupu je zapotřebí < 0,1 mL krve, resp. < 50 µL séra.

Krev odebírejte do obyčejných venepunkčních zkumavek bez jakýchkoli přísad a zabraňte hemolýze. Přípravu séra proveďte podle pokynů výrobce. Sérum dekantujte.

Vzorky séra lze skladovat při teplotě 2-8 °C až osm týdnů, při 28 °C až týden a při  $\leq -20$  °C až 25 měsíců. Zmrazené vzorky je třeba před použitím rozmrazit a důkladně promíchat jemným otáčením nebo převrácením.

Doporučujeme připravit alikvoty vzorků séra před zmrazením, aby se předešlo opakovaným cyklům zmrazení/rozmrazení.

## POSTUP TESTU

### Existují dvě možnosti:

- (1) Detekce směsných izotypů (IgG a IgM): v kroku 7 přidejte směs enzymové značky.
- (2) Detekce izotypů IgG nebo IgM: přidejte buď enzymovou značku IgG, nebo enzymovou značku IgM v kroku 7.

*Poznámka: Roztok substrátu TMB upravte na pokojovou teplotu (18-28 °C).*

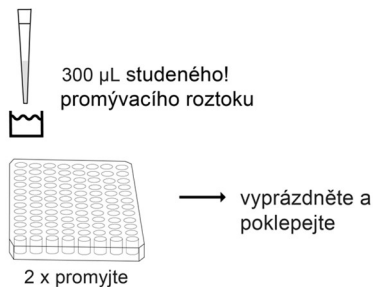
1. Vzorky nařeďte v poměru 1:50 s inkubačním roztokem. Použijte např. 10 µL séra + 490 µL studeného(!) (2-8 °C) inkubačního pufru. Důkladně promíchejte vortexováním a naředěné vzorky i rekonstituovaný kalibrátor a kontroly

nechte před pipetováním 30 minut při teplotě 2-8 °C (viz krok 4a a b).

2. Připravte si rámeček s dostatečným počtem stripů pro testování požadovaného počtu kalibrátorů, kontrol a vzorků. Odstraňte přebytečné stripy z rámečku a neprodleně je znovu uzavřete do fóliového sáčku spolu s vysoušedlem. Uchovávejte v chladu.

*Poznámka: V krocích 3 až 9 použijte studená činidla.*

3. Jamky dvakrát promyjte alespoň 300  $\mu$ L studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na papír, abyste zcela odstranili zbývající tekutinu.



*Poznámka: Okamžitě přejděte k dalším krokům.*

- 4a. Do jamky A1 napipetujte 100  $\mu$ L kalibrátoru (viz obrázek 1A pro možnost 1 nebo obrázek 1B pro možnost 2).
- 4b. Do jamky B1 napipetujte 100  $\mu$ L střední kontroly, do jamky A2 nízkou kontrolu a do jamky B2 negativní kontrolu (viz obrázek 1A nebo 1B).

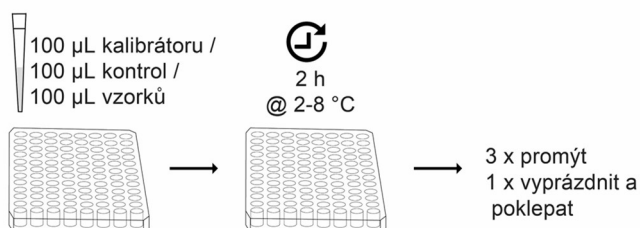
*Poznámka k variantě 1: Pokud se v jedné sérii používají více než tři stripy, lze kalibrátor a kontroly testovat duplicitně (viz obrázek 1A).*

*Poznámka k variantě 2: Kalibrátor a kontroly by se měly testovat odděleně pro izotypy IgG a IgM (viz obrázek 1B).*

- 4c. Do jamek C1-E1 (viz obrázek 1A nebo 1B) napipetujte 100  $\mu$ L naředěného vzorku 1.
- 4d. Do jamek F1-H1 (viz obrázek 1A nebo 1B) napipetujte 100  $\mu$ L naředěného vzorku 2.
- 4e. Do následujících jamek (viz obrázek 1A nebo 1B) napipetujte 100  $\mu$ L naředěných vzorků 3-24 (pro možnost 1) nebo 3-12 (pro možnost 2).

*Poznámka k variantě 2: pro testování s druhým izotypem opakujte pipetování vzorků 1-12 ve stejném pořadí do zbývajících jamek.*

5. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin ( $\pm$  5 min) při teplotě 2-8 °C (destičkou netřepejte).
6. Sejměte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a třikrát je promyjte pomocí nejméně 300  $\mu$ L studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír, aby se promývací roztok zcela odstranil.

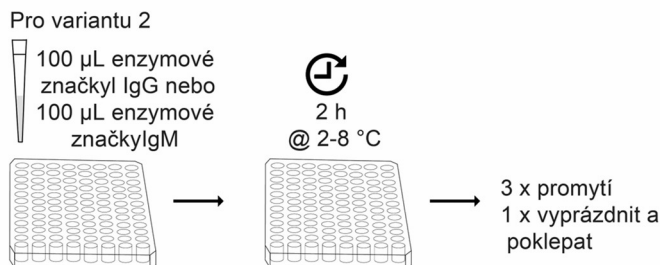
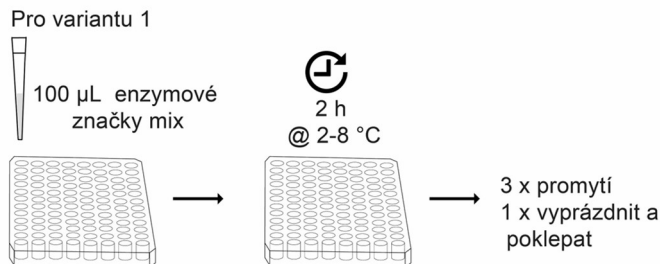


### Pro variantu 1: Detekce mix-izotypu

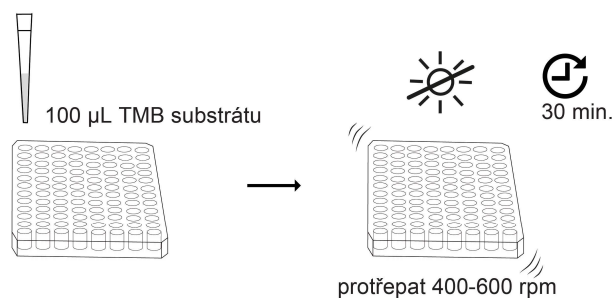
7. Do jamek přidejte 100  $\mu$ L směsi.

### Pro variantu 2: Detekce izotypů IgG nebo IgM

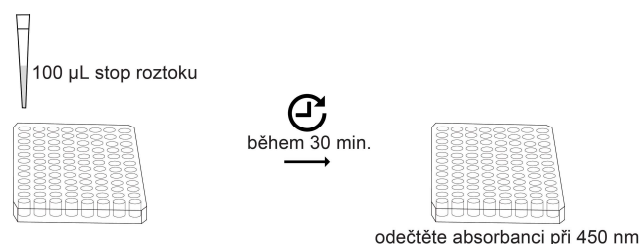
7. Do příslušných jamek přidejte 100  $\mu$ L enzymem značeného IgG nebo IgM (viz obrázek 1B).
8. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin ( $\pm$  5 min) při teplotě 2-8 °C (destičkou netřepejte).
9. Sejměte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a třikrát je promyjte pomocí nejméně 300  $\mu$ L studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír.



10. Do každé jamky přidejte 100  $\mu$ L roztoku substrátu TMB (ekvibrovaného na pokojovou teplotu).
11. Přikryjte destičku lepicí fólií, chraňte ji před světlem a inkubujte na třepačce nastavené na 400-600 otáček za minutu při teplotě 18-28 °C po dobu 30  $\pm$  2 minut.



12. Do všech jamek přidejte 100  $\mu$ L zastavovacího roztoku. Odstraňte vzduchové bubliny špičkou pipety. Do 30 minut přejděte ke kroku 13.
13. Odečtěte absorbanci při 450 nm ve čtečce mikrotitračních destiček.



## KONTROLA KVALITY

Důkladné seznámení s tímto návodem k použití je nezbytné pro úspěšné používání výrobku. Spolehlivých výsledků lze dosáhnout pouze za použití přesných laboratorních technik a přesného dodržování tohoto návodu k použití.

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA se dodává se třemi kontrolami: negativní, nízká a střední. Kontroly mají přiřazené rozsahy hodnot (% Poměr) uvedené na listu s údaji o kontrole kvality dodávaném s každou soupravou. Pro získání platných výsledků musí být kontrolní měření v uvedeném rozmezí hodnot.

Kromě kontrolních souprav doporučujeme pro interní kontrolu kvality používat sérum.

Pro kalibrátor se doporučuje minimální hodnota OD<sub>450nm</sub> 1,2. Výkonnostní charakteristiky by měly být ve stanovených mezích. Pokud provedení testu nesplňuje stanovené meze a opakování vyloučilo chyby v technice, zkontrolujte následující problémy: i) kontrola teploty (čididla použitá v kroku 3-9 udržovaná při 2-8 °C) ii) přesnost teploměřů, pipetovacích a časovacích zařízení; iii) nastavení čtečky ELISA; iv) datum spotřeby činidel; v) podmínky skladování a inkubace; vi) barva roztoku substrátu TMB (měl by být bezbarvý); vii) čistota vody; viii) metody odsávání a promývání.

## STANDARDIZACE A METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Neexistují žádné mezinárodně nebo národně uznávané referenční materiály nebo referenční postupy pro měření protilátek proti gangliosidům ve vzorcích séra. BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA je standardizována podle interně stanoveného referenčního materiálu. Hodnoty kalibrátoru jsou přiřazeny podle protokolu o přenosu hodnot (ref. 1), aby byla zaručena metrologická návaznost, a jsou uvedeny v arbitrárních jednotkách "% poměru".

Byl stanoven 95 % interval spolehlivosti kombinované nejistoty kalibrátorů produktů na 29,3 % pro protilátky IgG a 37,6 % pro protilátky IgM.

## VÝPOČET VÝSLEDKŮ TESTŮ

- Zaznamenejte absorbanci (OD) při 450 nm pro každou jamku (kalibrátor, kontroly a vzorky).
- Pokud bylo provedeno více kalibračních a kontrolních měření, zprůměrujte hodnoty.

Výsledky jsou vyjádřeny jako poměr absorbance vzorků a (zprůměrované) absorbance kalibrátoru.

### Směs izotypů

absorbance vzorků nebo kontrol

% Poměr:  $\frac{\text{absorbance vzorků nebo kontrol}}{\text{absorbance kalibrátoru}} \times 200$

### IgG a IgM izotypy

absorbance vzorků nebo kontrol

% Poměr:  $\frac{\text{absorbance vzorků nebo kontrol}}{\text{absorbance kalibrátoru}} \times 100$

Programy pro výpočet výsledků jako % poměru jsou k dispozici na většině čteček mikrotitračních destiček.

*Poznámka: Výsledky uvedené v tabulkách 5 a 6 jsou příklady a slouží pouze jako ukázka.*

## OMEZENÍ

- Vysoké výsledky % poměru (> 100 %) pro jednotlivé gangliosidy mohou mít za následek zkříženou reaktivitu s jinými gangliosidy v rámci téhož vzorku. Křížová reaktivita bude obvykle vykazovat vysokou variabilitu mezi jednotlivými testy. Interpretace výsledků by proto měla být prováděna pouze společně s odborníkem/specialistou.
- Vzhledem k polyreaktivě autoimunitních protilátek a rozdílům v geografické prevalenci by výsledky testů měly být použity pouze jako podpora klinické interpretace neuropatie odborníkem/specialistou v kombinaci s klinickým obrazem pacienta (ref. 2).
- Tento test nebyl validován pro plazmaferézu.
- Intravenózní imunoglobuliny (IVIg) mohou ovlivnit výsledky testu.

## REFERENČNÍ INTERVALY A MEZNÍ HODNOTY

Referenční interval BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA byl stanoven podle CLSI C28-A3 se 120 vzorky séra od subjektivně zdravých osob. Frekvence distribuce anti-gangliosidových protilátek u normálních dárců krve byla rozdělena do kategorií titrů: negativní (poměr < 30 %), šedá zóna (poměr 30-50 %) a pozitivní (poměr > 50 %). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 7. Hraniční hodnota pro pozitivitu je 50 %.

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Antigen	IgG/IgM směs		
	IgG IgM		
	Hodnoty (poměr v %)		
	< 30	30-50	> 50
GD1b	Negativní	Opakovaný test v pozdějším termínu	Pozitivní
GQ1b			
GM1			

Tabulka 3

Výsledky testů by měly být interpretovány ve spojení s informacemi dostupnými z klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.

## VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

### Přesnost v rámci laboratoře: 5,7 – 13,2 % CV

Přesnost v rámci laboratoře byla stanovena podle pokynu CLSI EP05-A3 za použití standardizovaného plánu studie 20 dní x 2 série x 2 opakování. Byly testovány tři (3) sružené vzorky séra pacientů. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 8.

### Opakovatelnost: 7,7 - 19,1 % CV

Opakovatelnost byla stanovena podle pokynů CLSI EP05-A3 s použitím plánu studie 3 přístroje/skupina/operátor x 5 dní x 5 opakování. Testovány byly tři (3) sružené vzorky séra pacientů. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 9.

## Ratio Mez blanku (LoB) ≤ Mez detekce (LoD): ≤ 30 % Poměr

LoB a LoD byly stanoveny podle pokynu CLSI EP17-A2 pomocí neparametrické analýzy. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 10.

## Hook efekt

Nebylo pozorováno žádné omezení způsobené Hook efektem na rozsah měření.

## Zkřížená reaktivita

U vzorků od pacientů s různými autoimunitními chorobami (tabulka 11) a od pacientů s jinými neurologickými poruchami nebyla pozorována žádná systematická zkřížená reaktivita (tabulka 12).

## KLINICKÝ VÝKON

Klinický výkon byl hodnocen na základě deskriptivní analýzy recenzované vědecké literatury. Pět (5) studií se zabývalo klinickým výkonem BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA v diagnostice autoimunitních periferních neuropatií (ref. 3-7). Výsledky analýzy a podrobnosti studie jsou uvedeny v tabulce 4, resp. v tabulce 13.

N periferní neuropatie	160 (102 pediatrická GBS, 14 CIDP, 44 GBS)
N kontroly	375 (104 DC, 142 NC, 129 HC)
Senzitivita, průměr (95% CI)	57,0 % (38,6 – 75,4 %)
Specifická, průměr (95% CI)	79,8 % (66,8 – 93,2 %)

Tabulka 4

GBS, Guillainův-Barrého syndrom; DC, kontrola bez neurologického onemocnění; NC, neurologická kontrola; HC, zdravá kontrola; CIDP, chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie; CI, interval spolehlivosti

## INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Citlivost testu na perorální a injekční léčiva a na endogenní látky byla hodnocena podle pokynů CLSI EP07-A3. Za interferenci byla považována odchylka ve výsledcích  $\geq \pm 20$  % Poměr.

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami až do uvedených koncentrací: intravenózní imunoglobulin (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentin (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), chlorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), revmatoidní faktor (2340 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolyzát (10 mg/mL), triglyceridy (15 mg/mL), konjugovaný bilirubin (20 µg/mL), nekonjugovaný bilirubin (150 µg/mL).

## TABULKY A OBRÁZKY

### Nastavení mikrotitračních destiček: Označení směsi IgG/IgM

		IgG/IgM Mix												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Calibrator & Controls	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	A	
	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	B	
GD1b													C	
GQ1b	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	D	
GM1													E	
GD1b													F	
GQ1b	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	G	
GM1													H	

24 sera IgG/ IgM Mix

Obrázek 1A: ≤ 24 sér / sada (1 MP / sada)

### Nastavení mikrotitračních destiček: Značení IgG a IgM

		IgG						IgM						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Calibrator & Controls	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	A	
	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	B	
GD1b													C	
GQ1b	1	3	5	7	9	11	1	3	5	7	9	11	D	
GM1													E	
GD1b													F	
GQ1b	2	4	6	8	10	12	2	4	6	8	10	12	G	
GM1													H	

12 sera IgG                      12 sera IgM

Obrázek 1B : 2 profily / sérum, ≤ 12 sér / sada (1 MP / sada)

### Příklad výsledků

#### A Označení směsi IgG/IgM

B-GCO-ELGM	Absorbance (OD450)	Poměr [%]
Kalibrátor	1,415	
Kalibrátor prům.	1,445	
Kalibrátor prům.	1,430	200
Střední kontrola	0,498	69
Střední kontrola prům.	0,482	67
Střední kontrola prům.	0,490	68
Nízká kontrola	0,195	27
Nízká kontrola prům.	0,191	26
Nízká kontrola prům.	0,193	27
Negativní kontrola	0,090	12
Negativní kontrola prům.	0,100	14
Negativní kontrola prům.	0,095	13
Vzorek 1 GM1	0,544	76
Vzorek 1 GD1b	0,745	104
Vzorek 1 GQ1b	0,090	13

Tabulka 5

### B Označení IgG & IgM

Označení enzymu	Absorbance (OD450)		Poměr [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrátor	1,789	2,576		
Kalibrátor prům.	1,833	2,527		
Kalibrátor prům.	1,836	2,551	100	100
Střední kontrola	1,267	1,743	69	68
Střední kontrola prům.	1,237	1,764	67	69
Střední kontrola prům.	1,252	1,753	68	69
Nízká kontrola	0,567	0,938	30	37
Nízká kontrola prům.	0,584	0,942	32	37
Nízká kontrola prům.	0,571	0,940	31	37
Negativní kontrola	0,061	0,098	3	4
Negativní kontrola prům.	0,051	0,095	3	4
Negativní kontrola prům.	0,056	0,097	3	4
Vzorek 1 GM1	0,171	3,814	9	150
Vzorek 1 GD1b	1,021	0,354	56	14
Vzorek 1 GQ1b	0,378	0,208	21	8

Tabulka 6

### Referenční interval

Analyt	% normální dárci krve v kategoriích			Referenční limit (90% CI)
	< 30 % poměr	30 - 50 % poměr	> 50 % poměr	
anti-GM1 IgG	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
anti-GM1 IgM	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)
anti-GM1 IgGM	95,0	4,2	0,8	34 (23,3 – 49,5)
anti-GD1b IgG	97,5	1,7	0,8	21 (14,5 – 33,0)
anti-GD1b IgM	99,2	0,0	0,8	15 (6,3 – 15,5) <sup>F</sup> 9 (6,4 – 54,7) <sup>M</sup>
anti-GD1b IgGM	95,0	3,3	1,7	30 (22,3 – 71,6)
anti-GQ1b IgG	97,5	2,5	0,0	24 (14,6 – 33,4)
anti-GQ1b IgM	99,2	0,8	0,0	8 (6,2 – 17,8)
anti-GQ1b IgGM	95,0	4,2	0,8	31 (23,1 – 46,7)

F podskupina žen. M podskupina mužů

Tabulka 7

## TABULKY A OBRÁZKY

### Přesnost v rámci laboratoře

Popis příkladu			V rámci laboratoře Precision			
Analyt	Enzymová značka (Izotyp)	Předpok. kategorie [%poměr]	N	Prům. [%poměr]	SD [%poměr]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	80	48	3,5	7,2
		> 50	80	91	6,2	6,8
	IgG	30-50	80	40	5,1	12,9
		> 50	80	106	13,1	12,4
anti-GQ1b Ab	IgM	30-50	80	45	2,6	5,7
		> 50	80	85	6,7	7,8
	IgG	30-50	80	43	5,7	13,2
		> 50	80	80	6,9	8,6

Tabulka 8

### Opakovatelnost

Vzorový popis			Opakovatelnost			
Analyt	Enzymová značka (Izotyp)	Předpok. kategorie [%poměr]	N	Prům. [%poměr]	SD [%poměr]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	75	51	4,9	9,7
		> 50	75	94	7,2	7,7
	IgG	30-50	75	39	5,6	14,5
		> 50	75	106	17,1	16,1
anti-GQ1b Ab	IgM	30-50	75	48	3,9	8,2
		> 50	75	92	9,9	10,7
	IgG	30-50	75	42	8,1	19,1
		> 50	75	78	12,0	15,4

Tabulka 9

### LoD a LoB

Analyt	LoB [% poměr]	LoD [% poměr]
Anti-GM1 IgM Ab	5	21
Anti-GM1 IgG Ab	6	15
Anti-GQ1b IgM Ab	3	16
Anti-GQ1b IgG Ab	8	18

Tabulka 10

### Zkřížená reaktivita

Přirazená protilátka	Diagnóza	#
Anti-neutrofilní cytoplazmatická protilátka (ANCA)	Vaskulitida	3
	Ostatní (ANCA pozitivní vzorky)	10
Antijaderné protilátky (ANA)	Systémový lupus erythematosus	5
	Revmatoidní artritida	9
	Sjögrenův syndrom	6
	Ostatní (ANA poz. vzorky)	3
Protilátky proti tyreoglobulinu (anti-Tg)	Autoimunitní tyreoiditida	5
Protilátky proti ribonukleoproteinům	Směšené onemocnění pojivové tkáně	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimunitní periferní neuropatie	1
Protilátky proti acetylcholinovému receptoru a proti svalově specifické tyrozinkináze	Myasthenia gravis	7

Tabulka 11

Periferní neuropatie	#
Alkoholické	1
Diabetické	5
Periferní neuropatie imitující poruchy	#
Amyotrofická laterální skleróza (ALS)	15
Sarkodióza	4
Waldenströmova makroglobulinemie (WM)	4
Chagasova choroba	5

Tabulka 12

### Klinický výkon

Studie	Pozitivní kontroly (Případy)	Negativní kontroly	Epitopy	Sensitivita	Specifita
Hashemilar et al., 2014	Pediatric ká GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Pediatric ká GBS (n = 57)	NC (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		DC (n = 35)			
Khandelwal et al., 2006	GBS (n = 13)	HC (n = 19)	GM1	0,31	0,74
Uetz-von Allmen et al., 1998	GBS, CIDP (n = 19, 14)	NC (n = 100)	GM1	0,30	0,93
		HC (n = 110)			
Spatola et al., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97

Tabulka 13

GBS, Guillainův-Barrého syndrom; DC, kontrola bez neurologického onemocnění; NC, neurologická kontrola; HC, zdravá kontrola; MFS, Millerův Fisherův syndrom; CIDP, chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie.

## KRÁTKÝ PROTOKOL

Pozor: Krátký protokol není náhradou za podrobné informace popsané v tomto návodu.

### Před dnem testování

#### Příprava promývacího pufru

Koncentrát promývacího pufru  
naředíte 1:10 deionizovanou vodou

*Doporučení: Promývací pufr si  
připravte den před testem a  
uložte jej na noc do chladničky.*

### Den testování

#### Příprava vzorků/kontrol/kalibrátorů

Zředte vzorky séra v poměru 1:50  
(studeným!) inkubačním pufrům a  
důkladně promíchejte na třepačce

Rekonstituujte kontroly a  
kalibrátor přidáním 1,5 mL  
inkubačního pufru

*nechte 30 minut při teplotě 2-8 °C*

#### BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA

Předem potažená mikrotitrační destička

*promyjte 2 x s  $\geq 300 \mu\text{L}$  (studeného!) Promývacího  
roztoku*

100  $\mu\text{L}$  kalibrátoru, kontrol nebo  
vzorků séra (1:50)

*incubate 2 hours ( $\pm 5$  min) at 2-8 °C  
promyjte 3 x s  $\geq 300 \mu\text{L}$  (studeného!) Promývacího  
roztoku*

přidejte 100  $\mu\text{L}$  enzymové značky

*inkubujte 2 hodiny ( $\pm 5$  min) při 2-8 °C  
promyjte 3 x s  $\geq 300 \mu\text{L}$  (studeného!) Promývacího  
roztoku*

přidejte 100  $\mu\text{L}$  TMB substrátu (pokojevá teplota)!

*inkubujte 30 min ( $\pm 2$  min) při 18-28 °C  
na třepačce ~400-600 rpm*

přidejte 100  $\mu\text{L}$  zastavovacího roztoku (pokojevá teplota)!

➔ Odečtěte absorbanci při 450 nm (do 30 minut)

**DOBA DO ZÍSKÁNÍ VÝSLEDKU: 5 HODIN**

## REFERENCE

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Protein standardization V: Value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46**, 1470–1479 (2008).
2. Bourque, P. R. et al. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clinica Chimica Acta* **449**, 37–42 (2015).
3. Hashemilar, M. et al. Evaluating the status of antiganglioside antibodies in children with Guillain-Barré syndrome. *Neuroimmunomodulation* **21**, 64–68 (2013).
4. Sharma, M. B. et al. The presence of Mycoplasma pneumoniae infection and GM1 ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome. *J. Infect. Dev. Ctries.* **5**, 459–464 (2011).
5. Uetz-von Allmen, E. et al. Antiganglioside GM1 antibodies and their complement activating capacity in central and peripheral nervous system disorders and in controls. *Eur. Neurol.* **39**, 103–110 (1998).
6. Spatola, M., Du Pasquier, R., Schlupe, M. & Regeniter, A. Serum and CSF GQ1b antibodies in isolated ophthalmologic syndromes. *Neurology* **86**, 1780–1784 (2016).
7. Khandelwal, D. et al. IgM anti-GM1 antibody titers in patients with monomelic amyotrophy. *Neurol. India* **54**, 399–401 (2006).

## ZMĚNY

Datum	Verze	Změna
2026-05-04	A2	Zpřesnění bodu <i>Určené použití</i> doplněním informací o automatizaci testování, testované populaci a zamýšleném uživateli. Revize kapitol <i>Krátký protokol</i> a <i>Symboly</i> . Aktualizace kapitol <i>Upozornění a opatření</i> (bod <i>Bezpečnostní opatření</i> ), <i>Odběr a skladování vzorků</i> a <i>Tabulky a obrázky</i> . Aktualizace symbolu eIFU na titulní stránce (platí pouze pro anglickou verzi dokumentu).

## HLÁŠENÍ INCIDENTŮ V ČLENSKÝCH STÁTECH EU

Pokud se v souvislosti s tímto prostředkem vyskytne jakákoli závažná událost, neprodleně ji nahláste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

## POŠKOZENÍ ZÁSILKY

Pokud jste tento výrobek obdrželi poškozený, oznamte to prosím svému distributorovi.

## SYMBOLY

BÜHLMANN používá symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1.

Definice symbolů naleznete ve slovníku symbolů na adrese: [www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/](http://www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/)

Kromě toho se používají následující symboly a značky:

Symbol	Vysvětlení
MP	Mikrotitrační destička
BUF WASH 10X	Konzentrát promývacího roztoku (10x)
BUF INC	Inkubační roztok
CAL	Kalibrátor
CONTROL -	Kontrola negativní
CONTROL L	Kontrola nízká
CONTROL M	Kontrola střední
EL IgG	Enzymová značka IgG
EL IgM	Enzymová značka IgM
EL MIX	Směs IgG/IgM označená enzymem
SUBS TMB	Substrát TMB
SOLN STOP	Zastavovací roztok

