



BÜHLMANN GanglioCombi[®] *Light* ELISA

ar enzīmu marķieriem IgG/IgM Mix, IgG un IgM

Anti-gangliozīdu antivielu noteikšana
ar ELISA
(GM1, GD1b un GQ1b)

In vitro diagnostikai

EK-GCL-S 96 testi

Publicēšanas datums: 2026-05-04
Versija A2



Ražotājs

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch, Šveice

Tel.: +41 61 487 12 12

Fakss: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

PAREDZĒTAIS LIETOJUMS

The BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA ir *in vitro* diagnostikas tests daļēji kvantitatīvai IgG un/vai IgM antivielu noteikšanai pret izraudzītiem nervu antigēniem/epitopiem pacientu seruma paraugos ar aizdomām par autoimūnām perifērām neiropatijām vai ar jau diagnosticētām šādām slimībām. Analīzes rezultātus var izmantot autoimūno perifēro neiropatiju diagnozes apstiprināšanai kopā ar citiem klīniskiem un laboratoriskiem datiem.

Paredzēts, ka to lietos tikai veselības aprūpes speciālisti laboratorijā. Nav automatizēts.

PAREDZĒTAIS PIELIETOJUMS

Komplektā iekļautie trīs enzīmu marķieri ļauj izmantot trīs dažādus testēšanas algoritmus:

1. Testēšana ar IgG/IgM konjugātu maisījumu (turpmāk tekstā – maisījumu) ļauj noteikt, vai ir antivielas, kas liecina par autoimūnu neiropatiju.
2. Testēšana ar atsevišķiem IgG un/vai IgM konjugātiem ļauj noteikt antivielu izotipu.
3. Laboratorijas apstrādei sākotnējam parauga skrīnings, izmantojot maisījumu (1. iespēja), ja nepieciešams, var sekot maisījuma pozitīvo paraugu diferenciacija, izmantojot atsevišķus IgG un IgM konjugātus (2. iespēja).

PĀRBAUDES PRINCIPS

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA tests ļauj selektīvi noteikt gangliozīdu antivielas serumā. Mikrotitrēšanas plate ir pārklāta ar gangliozīdiem: GM1, GD1b un GQ1b.

Mikrotitrēšanas plates iedobēs pievieno pacientu serumus, kontroles un kalibratoru. Pēc 2 stundu inkubācijas 2-8 °C temperatūrā un mazgāšanas posmiem noteikšanas antivielas (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM), kas konjugētas ar mārutku peroksīdāzi (HRP), nosaka antigangliozīdu saistīšanos ar imobilizētajiem gangliozīdiem uz plates. Pēc vēl 2 stundu ilgas inkubācijas un turpmākajiem mazgāšanas posmiem pievieno hromogēno HRP substrātu, tetrametilbenzidīnu (TMB) (veidojas zila krāsa), kam seko apturēšanas reakcija (mainās uz dzeltenu krāsu). Absorbciju mēra pie 450 nm.

Izmērītā absorbcija ir proporcionāla attiecīgajā paraugā esošo antivielu titram. Antivielu titrus izsaka kā kalibrētāja attiecību %, un tos var iedalīt titru kategorijās (negatīvs, pelēkā zona, pozitīvs).

NODROŠINĀTIE REAĢENTI UN SAGATAVOŠANA

Reaģenti	Daudzums	Kods	Sagatavošana
Mikrotitrēšanas plate iepriekš pārklāti ar gangliozīdiem	12 x 8 iedobes josla ar rāmi	B-GCL-MP	Gatavs lietošanai
Plašu hermētiķis	3 gabali		
Mazgāšanas buferšķīdums koncentrāts (10x) ar konservantiem	1 pudele x 100 mL	B-GCO-WB	Atšķaida ar 900 mL dejonizēta ūdens
Inkubācijas buferšķīdums ar konservantiem	1 pudele x 100 mL	B-GCO-IB	Gatavs lietošanai

Reaģenti	Daudzums	Kods	Sagatavošana
Kalibrators liofilizēts ar konservantiem	1 flakons	B-GCO-CA	Pievienojiet 1,5 mL inkubācijas buferšķīduma
Kontrole negatīvā, zemā un vidējā¹ liofilizēts ar konservantiem	3 flakoni	B-GCO-CONSET	Pievienojiet 1,5 mL inkubācijas buferšķīduma
Enzīmu marķieru IgG/IgM maisījums anti-cilvēka IgG un IgM antivielas, kas konjugētas ar HRP bufera matricā ar konservantiem	1 flakons x 11 mL	B-GCO-ELGM	Gatavs lietošanai
Enzīma marķieris IgG anti-cilvēka IgG anti- viela, kas konjugēta ar HRP bufera matricā ar konservantiem	1 flakons x 11 mL	B-GCO-ELG	Gatavs lietošanai
Enzīma marķieris IgM anti-cilvēka IgM anti- viela, kas konjugēta ar HRP bufera matricā ar konservantiem	1 flakons x 11 mL	B-GCO-ELM	Gatavs lietošanai
TMB substrāts TMB citrāta buferšķīdumā	1 flakons x 11 mL	B-TMB	Gatavs lietošanai
Stop šķīdums 0,25 M sērskābe	1 flakons x 11 mL	B-STTS	Gatavs lietošanai Korozīvs līdzeklis

1. tabula

¹ Kontroles satur vairākus specifiskus anti-GM1 antivielu līmeņus. Skatiet papildu kvalitātes kontroles datu lapu, lai uzzinātu faktisko vidējo OD un % attiecību.

REAĢENTU UZGLABĀŠANA UN DERĪGUMA TERMIŅŠ

Aizzīmogoti/neatvērti reaģenti	
Uzglabāt 2-8 °C temperatūrā. Neizmantojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetēm.	
Atvērti/sagatavoti reaģenti	
Mikrotitrēšanas plate	Nekavējoties atlieciet atpakaļ neizmantotās joslas folijas maisiņā, kurā ir desikantu iepakojumi un atkārtoti aiztaisiet gar visu rāvējslēdzēja blīvējuma malu. Uzglabāt līdz 6 mēnešiem 2-8 °C temperatūrā.
Atšķaidīts mazgāšanas buferšķīdums	Uzglabāt līdz 6 mēnešiem 2-8 °C temperatūrā.
Inkubācijas buferšķīdums	
Enzīmu marķieri	
TMB substrāts	
Kalibrators	
Kontroles	
Stop šķīdums	Uzglabāt līdz 6 mēnešiem 18-28 °C temperatūrā.

2. tabula

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NAV NODROŠINĀTI

- Mikropipetes ar vienreizlietojamiem uzgaļiem: 10 µL, 20 µL, 100 µL un 1000 µL pipetes
- Vienreizlietojamās polistirola vai polipropilēna mēģenes paraugu atšķaidījumu sagatavošanai

- 1000 mL cilindrs mazgāšanas buferšķīduma atšķaidīšanai
- Mikrotitrēšanas plašu mazgātājs
- Blotēšanas papīrs
- Mikrotitrēšanas plates kratītājs
- Mikrotitrēšanas plates lasītājs absorbcijas mērīšanai pie 450 nm

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

Drošības pasākumi

- Šis tests ir paredzēts vienīgi *in vitro* diagnostikai.
- Šī komplekta kalibrators un kontrolierīces satur cilvēka izcelsmes sastāvdaļas. Lai gan HBV, HCV un HIV1/2 testi ir negatīvi, ar reaģentiem jārikojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekcijas, un ar tiem jārikojas saskaņā ar labu laboratorijas praksi (GLP), izmantojot atbilstošus piesardzības pasākumus.
- Šis komplekts satur sastāvdaļas, kas klasificētas saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 1272/2008:
 - Stop šķīdums satur sērskābi (konc. 2,5-5 %), tāpēc reaģenti var izraisīt ādas kairinājumu (H315), nopietnu acu kairinājumu (H319) un koroziju ar metāliem (H290).
 - Kalibrētājs, kontroles un enzīmu marķieri satur 2-metil-4-izotiazolin-3-ona hidrohlorīdu (konc. $\geq 0,0015\%$), tāpēc reaģenti var izraisīt alerģiskas ādas reakcijas (H317).
 - Inkubācijas buferšķīdums un mazgāšanas buferšķīdums satur gentamicīna sulfātu, tāpēc reaģenti var izraisīt alerģisku ādas reakciju (H317).
- Izvairieties no reaģentu saskares ar ādu, acīm vai gļotādu. Ja notiek saskare, nekavējoties mazgāt ar lielu daudzumu ūdens, pretējā gadījumā var rasties kairinājums / apdegumi.
- Reaģenti un ķīmikālijas jāapstrādā kā bīstamie atkritumi saskaņā ar valsts bioloģiskās drošības vadlīnijām vai noteikumiem.

Tehniskie piesardzības pasākumi

- Pirms testa veikšanas rūpīgi izlasiet instrukcijas. Ja reaģenti tiek nepareizi atšķaidīti, modificēti vai uzglabāti apstākļos, kas nav aprakstīti šajā lietošanas instrukcijā, tas negatīvi ietekmē testa veikspēju.

ELISA procedūra

Reaģentu temperatūra

- Pirms analīzes procedūras sākšanas sagatavojiet reaģentus. 3.-9 solis: posmā izmantotajiem reaģentiem jābūt aukstiem (2-8 °C), un arī pipetēšanas un mazgāšanas laikā tiem jābūt aukstiem. Ieteikums: sagatavo mazgāšanas buferšķīdumu dienu pirms analīzes veikšanas un ievieto to ledusskapī uz nakti.
- Visus mazgāšanas soļus veikt ar aukstu (2-8 °C) mazgāšanas buferšķīdumu.
- Analīzes procedūras sākumā TMB substrātu un Stop šķīdumu uzsildīt līdz istabas temperatūrai (18-28 °C).

Mazgāšanas posmi

- 3., 6. un 9. mazgāšanas posms ir ļoti svarīgs, lai likvidētu ražošanas procesā radušās atliekas un/vai potenciāli nesaistītas antivielas iedobēs.

- Ieteicams izmantot automātisko mazgāšanas mašīnu, kas darbojas "plašu režīmā", t. i., katrs procesa posms (dozēšana/aspirācija) tiek veikts visām sloksnēm secīgi, pirms instruments turpina nākamo mazgāšanas ciklu.
- Pārlicinieties, ka pēc pēdējā mazgāšanas cikla visas iedobes ir pilnīgi tukšas.

Substrāta inkubēšana

- 11. solis: inkubācijas laikā sakratiet mikrotitrēšanas plates ar substrātu. Atkarībā no plašu kratītāja modeļa ieteicams izvēlēties 400-600 apgriezienu minūtē. Šķīdumam ir jāpārvietojas iedobēs, bet tas nedrīkst pārplūst.

Komplekta sastāvdaļas

- Sastāvdaļas nedrīkst izmantot pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetēm.
- Nesajaukt dažādas reaģentu partijas.
- Jānodrošina, lai starp reaģentiem, paraugiem vai iedobēm nenotiktu savstarpēja piesārņošana.
- Mikroiedobes nevar izmantot atkārtoti.

PARAUGU SAVĀKŠANA UN UZGLABĀŠANA

Procedūrai nepieciešams attiecīgi < 0,1 mL asiņu vai < 50 µL seruma.

Ņemiet asinis parastās venipunktūras mēģenēs bez jebkādam piedevām un izvairieties no hemolizes. Veikt seruma sagatavošanu saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Dekantējiet serumu.

Seruma paraugus var uzglabāt 2-8 °C temperatūrā līdz astoņām nedēļām, 28 °C temperatūrā līdz vienai nedēļai un ≤ -20 °C temperatūrā līdz 25 mēnešiem. Sasaldēti paraugi pirms lietošanas jāatkausē un rūpīgi jāsamaisa, viegli pagriežot vai apgriežot.

Pirms sasaldēšanas ieteicams sagatavot seruma paraugu alikvotas, lai izvairītos no atkārtotiem sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem.

TESTĒŠANAS PROCEDŪRA

Ir divas iespējas:

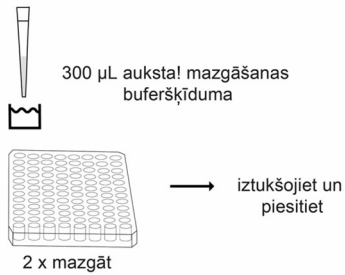
- (1) Jauktu izotipu (IgG un IgM) noteikšana: 7. solī pievienojiet enzīma marķieru maisījumu.
- (2) IgG vai IgM izotipu noteikšana: 7. solī pievienot vai nu enzīma marķieri IgG vai enzīma marķieri IgM.

Piezīme: TMB substrāta šķīdumu uzsildīt līdz istabas temperatūrai (18-28 °C).

1. Atšķaidiet paraugus 1:50 ar inkubācijas buferšķīdumu. Izmantojiet, piemēram, 10 µL seruma + 490 µL auksta (!) (2-8 °C) inkubācijas buferšķīdumu. Rūpīgi sajauciet (sakratot) un pirms pipetēšanas atstājiet atšķaidītos paraugus, kā arī sagatavoto kalibratoru un kontroles 30 minūtes 2-8 °C temperatūrā (skatīt 4.a un 4.b soli).
2. Sagatavojiet plates rāmi ar pietiekamu joslu skaitu, lai testētu vajadzīgo skaitu kalibratoru, kontroļu un paraugu. Noņemiet liekās joslas no rāmiša un nekavējoties ievietojiet to atpakaļ folijas maisiņā kopā ar desikanta iepakojumiem. Uzglabāt ledusskapī.

Piezīme: 3.-9. posmā izmantojiet aukstus reaģentus.

3. Izskalojiet iedobes divas reizes, izmantojot vismaz 300 μL auksta(!) (2-8 °C) skalošanas buferšķīduma uz iedobi. Iztukšojiet iedobes un stingri piesitiet plāksnīti pie blotinga papīra, lai pilnībā noņemtu atlikušo šķidrumu.



Piezīme: Nekavējoties pāreijiet uz nākamajiem soļiem.

- 4a. Ar pipeti iepiliniet 100 μL kalibratora iedobē A1 (skatīt 1.A attēlu 1. variantam vai 1.B attēlu 2. variantam).
- 4b. Ar pipeti iepiliniet 100 μL vidējas kontroles parauga B1 iedobē, zemas kontroles parauga A2 iedobē un negatīvas kontroles parauga B2 iedobē (skatīt 1A vai 1B attēlu).

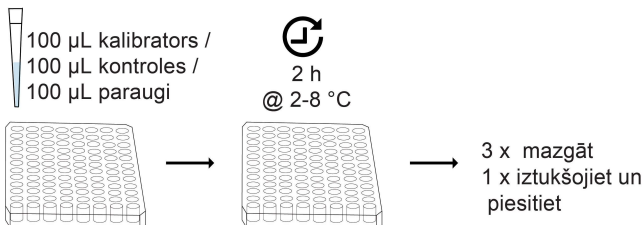
Piezīme 1. variantam: Ja vienā piegājienā izmanto vairāk nekā trīs joslas, kalibrētāju un kontroles var testēt dubultā (skatīt 1.A attēlu).

Piezīme 2. variantam: IgG un IgM izotipiem kalibrētājs un kontrole jāveic atsevišķi (skatīt 1.B attēlu).

- 4c. Ar pipeti iepiliniet 100 μL atšķaidīta 1. parauga iedobēs C1-E1 (skatīt 1A vai 1B attēlu).
- 4d. Ar pipeti iepiliniet 100 μL atšķaidīta 2. parauga iedobēs F1-H1 (skatīt 1A vai 1B attēlu).
- 4e. Ar pipeti iepiliniet 100 μL atšķaidītu paraugu 3-24 (1. variantam) vai 3-12 (2. variantam) nākamajās iedobēs (skatīt 1.A vai 1.B attēlu).

Piezīme 2. variantam: atkārtojiet 1.-12. parauga pipetēšanu tādā pašā secībā atlikušajās iedobēs, lai veiktu testēšanu ar otro izotipu.

5. Pārklājiet plati ar plāksņu hermētiķi un inkubējiet 2 stundas (± 5 min) 2-8 °C temperatūrā (plate nedrīkst kratīt).
6. Noņemiet plates hermētiķi. Iztukšojiet iedobes un mazgājiet trīs reizes, izmantojot vismaz 300 μL auksta(!) (2-8 °C) skalošanas buferšķīduma uz iedobi. Iztukšojiet iedobes un stingri piesitiet plāksni pie blotēšanas papīra, lai pilnībā noņemtu mazgāšanas buferšķīdumu.



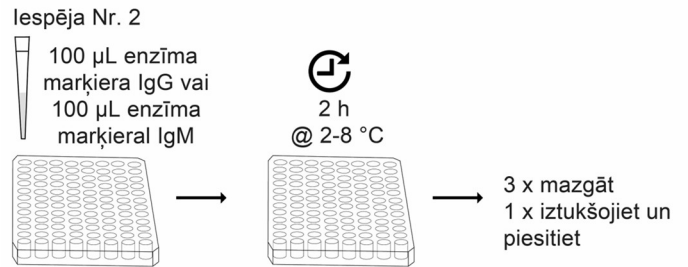
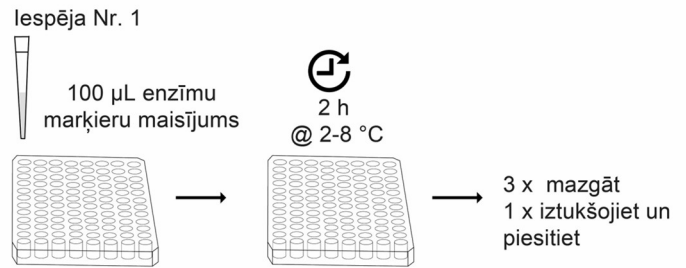
Iespēja Nr. 1: jaukta izotipa noteikšana

7. Pievienojiet iedobēs 100 μL maisījuma.

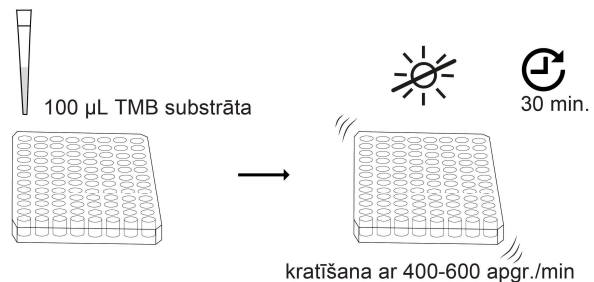
Iespēja Nr. 2: IgG vai IgM izotipu noteikšana

- 7'. Attiecīgajās iedobēs pievieno 100 μL vai nu ar enzīmu marķieri IgG, vai IgM (skatīt 1.B attēlu).
8. Pārklājiet plati ar plates hermētiķi un inkubējiet 2 stundas (± 5 min) 2-8 °C temperatūrā (plati nedrīkst kratīt).

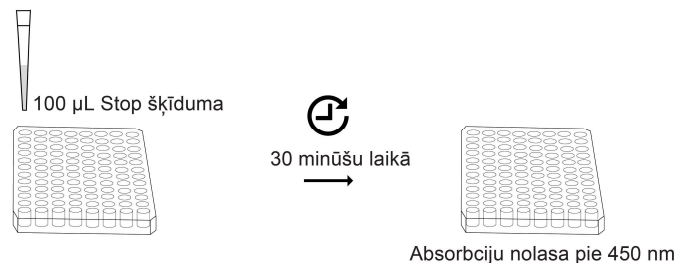
9. Noņemiet plates hermētiķi. Iztukšojiet iedobes un mazgājiet trīs reizes, izmantojot vismaz 300 μL auksta(!) (2-8 °C) skalošanas buferšķīduma uz iedobi. Iztukšojiet iedobes un stingri piesitiet plāksnīti pie blotēšanas papīra.



10. Katrā iedobē pievieno 100 μL TMB substrāta šķīduma (uzslidīts līdz istabas temperatūrai).
11. Plati pārklājiet ar plates hermētiķi, pasargājiet plati no gaismas un inkubējiet uz plates kratītāja ar 400-600 apgriezieniem minūtē 18-28 °C temperatūrā 30 \pm 2 minūtes.



12. Visās iedobēs pievieno 100 μL Stop šķīduma. Noņemiet gaisa burbuļus ar pipetes uzgali. Pāreijiet uz 13. posmu 30 minūšu laikā.
13. Mikrotitrēšanas plates lasītājā nolasi absorbciju pie 450 nm.



KVALITĀTES KONTROLE

Šīs lietošanas instrukcijas rūpīga izpratne ir nepieciešama, lai veiksmīgi lietotu produktu. Uzticamus rezultātus var iegūt tikai tad, ja tiek izmantotas precīzas laboratorijas metodes un precīzi ievērota šī lietošanas instrukcija.

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA komplektam ir trīs kontroles: negatīvā, zemā un vidējā kontrole. Kontrolēm ir piešķirti vērtību diapazoni (% attiecība), kas norādīti katram komplektam pievienotajā kvalitātes kontroles datu lapā. Lai iegūtu derīgus rezultātus, kontroles mērījumiem ir jāatbilst norādītajiem vērtību diapazoniem. Papildus komplekta kontrolēm iekšējai kvalitātes kontrolei mēs iesakām izmantot seruma kopas.

Kalibrētājam ieteicamā minimālā OD_{450nm} vērtība ir 1,2. Veiktspējas raksturlielumiem jābūt noteiktajās robežās. Ja analīzes veiktspēja neatbilst noteiktajām robežām un atkārtošana izslēdz tehnikas kļūdas, pārbaudiet šādus parametrus: i) temperatūras kontroli (3.-9. posmā izmantotie reaģenti tiek turēti 2-8 °C temperatūrā), ii) termometru, pipetēšanas un laika mērīšanas ierīču precizitāti, iii) ELISA lasītāja iestatījumus, iv) reaģentu derīguma termiņus, v) glabāšanas un inkubācijas apstākļus, vi) TMB substrāta šķīduma krāsu (jābūt bezkrāsainam), vii) ūdens tīrību, viii) aspirācijas un mazgāšanas metodes.

STANDARTIZĀCIJA UN METROLOĢISKĀ IZSEKOJAMĪBA

Nav starptautiski vai nacionāli atzītu atsaucē materiālu vai atsaucē mērīšanas procedūru antigangliozīda noteikšanai seruma paraugos. BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA tests ir standartizēts pēc iekšēji izveidota atsaucē materiāla. Kalibrēšanas vērtības tiek piešķirtas saskaņā ar vērtību pārneses protokolu (1. atsaucē), lai garantētu metroloģisko izsekojamību, un ir norādītas patvaļīgās "% attiecības" vienībās.

Tika noteikts, ka produktu kalibratoru kombinētās nenoteiktības 95 % ticamības intervāls ir 29,3 % IgG antivielām un 37,6 % IgM antivielām.

TESTA REZULTĀTU APRĒĶINS

- Reģistrējiet absorbciju (OD) pie 450 nm katrai iedobei (kalibratoram, kontrolēm un paraugiem).
- Ja ir veikti vairāki kalibrēšanas un kontroles mērījumi, aprēķiniet vidējās vērtības.

Rezultāti ir izteikti kā paraugu absorbcijas un kalibrētāja (vidējās) absorbcijas attiecība.

Izotipu maisījums

paraugu vai kontroles absorbcija
% attiecība: _____ x 200
kalibratora absorbcija

IgG un IgM izotipi

paraugu vai kontroles absorbcija
% attiecība: _____ x 100
kalibratora absorbcija

Lielākajai daļai mikroplašu lasītāju ir pieejamas programmas rezultātu aprēķināšanai kā % attiecību.

Piezīme: 5. un 6. tabulā sniegtie rezultāti ir piemēri, un tie sniegti tikai demonstratīviem nolūkiem.

IEROBEŽOJUMI

- Augsts % attiecība (> 100 %) atsevišķiem gangliozīdiem var izraisīt savstarpēju reaktivitāti ar citiem gangliozīdiem tajā pašā paraugā. Krusteniskā reaktivitāte parasti uzrāda lielas variācijas starp analīzēm. Tādēļ rezultātu interpretācija jāveic tikai kopā ar ekspertu/speciālistu.
- Ņemot vērā autoimūno antivielu polireaktivitāti un ģeogrāfiskās izplatības atšķirības, analīžu rezultāti jāizmanto tikai kā atbalsts neiropatijas klīniskai interpretācijai, ko veic eksperts/speciālists kopā ar pacienta klīnisko ainu (2. atsaucē).
- Šis tests nav apstiprināts plazmaferēzei.
- Intravenozi ievadīti imūnglobulīni (IVIg) var ietekmēt testa rezultātus.

ATSAUCES INTERVĀLI UN ROBEŽVĒRTĪBAS

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA atsaucē intervāls tika noteikts saskaņā ar CLSI C28-A3, izmantojot 120 seruma paraugus, kas iegūti no cilvēkiem, kas sevi atzinuši par veselīgiem. Anti-gangliozīdu antivielu izplatības biežums normāliem asins donoriem tika klasificēts titru kategorijās: negatīvs (< 30 % attiecība), pelēkā zona (30-50 % attiecība) un pozitīvs (> 50 % attiecība). Rezultāti ir apkopoti 7. tabulā. Pozitīvā testa robežvērtība ir 50 % attiecība.

REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA

Antigēns	IgG/IgM maisījums		
	IgG IgM		
	Vērtības (% attiecība)		
	< 30	30-50	> 50
GD1b	Negatīvs	Atkārtot testu vēlāk	Pozitīvs
GQ1b			
GM1			

3. tabula

Testa rezultāti jāinterpretē kopā ar informāciju, kas iegūta, veicot pacienta klīnisko novērtējumu un citas diagnostikas procedūras.

VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS

Precizitāte laboratorijas ietvaros: 5,7 - 13,2 % CV

Precizitāte laboratorijas ietvaros tika noteikta saskaņā ar CLSI vadlīnijām EP05-A3, izmantojot standartizētu 20 dienas x 2 mēģinājumi x 2 atkārtojumi pētījuma plānu. Tika testēti trīs (3) apvienoti pacientu seruma paraugi. Rezultāti apkopoti 8. tabulā.

Atkārtojamība: 7,7 – 19,1 % CV

Reproducējamība tika noteikta saskaņā ar CLSI vadlīnijām EP05-A3, izmantojot pētījuma plānu 3 instrumenti/partijas/operators x 5 dienas x 5 atkārtojumi. Tika testēti trīs (3) apvienoti pacientu seruma paraugi. Rezultāti apkopoti 9. tabulā.

Tukšā satura robeža (LoB) ≤ noteikšanas robeža (LoD): ≤ 30 % attiecība

LoB un LoD tika noteikti saskaņā ar CLSI vadlīniju EP17-A2, izmantojot neparametrisko analīzi. Rezultāti apkopoti 10. tabulā.

Augstas devas āķa efekts

Mērījumu diapazonā netika novērots ierobežojums, ko radītu augstas devas āķa efekts.

Savstarpējā reaktivitāte

Paraugiem, kas ņemti no pacientiem ar dažādām autoimūnām slimībām (11. tabula) un pacientiem ar citiem neiroloģiskiem traucējumiem (12. tabula), netika novērota sistemātiska savstarpēja reaktivitāte.

KLĪNISKIAS SNIEGUMS

Klīniskais sniegums tika novērtēts, veicot recenzētās zinātniskās literatūras aprakstošo analīzi. Piecos (5) pētījumos tika aplūkota BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA klīniskā veikspēja autoimūno perifēro neiropatiju diagnostikā (3.-7. atsauce). Analīzes rezultāti un sīkāka informācija par pētījumiem sniegta attiecīgi 4. tabulā un 13. tabulā.

N perifērā neiropatija	160 (102 bērnu GBS, 14 CIDP, 44 GBS)
N kontrole	375 (104 DC, 142 NC, 129 HC)
Jutīgums, vidējais (95% CI)	57,0 % (38,6 – 75,4 %)
Specifiskums, vidējais (95% CI)	79,8 % (66,8 – 93,2 %)

4. tabula

GBS, Guillain-Barré sindroms; DC, ne neiroloģiska slimības kontrole; NC, neiroloģiska kontrole; HC, veselīga kontrole; CIDP, hroniska iekaisuma demielinizējoša polineiropatija; CI, ticamības intervāls.

INTERFERĒJOŠĀS VIELAS

Saskaņā ar CLSI vadlīniju EP07-A3 tika novērtēta testa jutība pret orāli lietojamiem un injicējamiem farmaceitiskiem līdzekļiem, kā arī pret endogēnām vielām. Rezultātu novirze $\geq \pm 20\%$ attiecība tika uzskatīta par interferenci.

Netika konstatēti interferences ar šādām vielām līdz norādītajām koncentrācijām: intravenozi imūnglobulīns (20 mg/mL), rituksimabs (3 mg/mL), kladribīns (273 ng/mL), interferons alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentīns (26,7 µg/mL), ibuprofēns (0,22 mg/mL), hlorambucils (1,96 µg/mL), prednizons (99 ng/mL), prednizolons (1,2 µg/mL), reimatoīdais faktors (2340 IU/mL), hemoglobīns (10 mg/mL), hemolīšāts (10 mg/mL), triglicerīdi (15 mg/mL), konjugētais bilirubīns (20 µg/mL), nekonjugētais bilirubīns (150 µg/mL).

TABULAS UN ATTĒLI

Mikrotitrēšanas plates sagatavošana: IgG/IgM maisījuma marķieris

		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

1A attēls: ≤ 24 serumi / komplekti (1 MP / komplekts)

Mikrotitrēšanas plates sagatavošana: IgG un IgM marķieri

		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

1B attēls: 2 profili / serums, ≤ 12 serumi / komplekts (1 MP/komplekts)

Rezultātu piemērs

A IgG/IgM maisījuma marķieris

B-GCO-ELGM	Absorbciņa (OD450)	Attiecība [%]
Kalibrators	1,415	
Kalibrators vidējā vērtība	1,445	
Kalibrators vidējā vērtība	1,430	200
Vidējā kontrole	0,498	69
Vidēja kontrole vidējā vērtība	0,482	67
Vidēja kontrole vidējā vērtība	0,490	68
Zemā kontrole	0,195	27
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,191	26
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,193	27
Negatīvā kontrole	0,090	12
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,100	14
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,095	13
1 paraugs GM1	0,544	76
1 paraugs GD1b	0,745	104
1 paraugs GQ1b	0,090	13

5. tabula

B IgG un IgM marķieri

Enzīmu marķieris	Absorbciņa (OD450)		Attiecība [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrators	1,789	2,576		
Kalibrators vidējā vērtība	1,833	2,527		
Kalibrators vidējā vērtība	1,836	2,551	100	100
Vidējā kontrole	1,267	1,743	69	68
Vidēja kontrole vidējā vērtība	1,237	1,764	67	69
Vidēja kontrole vidējā vērtība	1,252	1,753	68	69
Zemā kontrole	0,567	0,938	30	37
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,584	0,942	32	37
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,571	0,940	31	37
Negatīvā kontrole	0,061	0,098	3	4
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,051	0,095	3	4
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,056	0,097	3	4
1 paraugs GM1	0,171	3,814	9	150
1 paraugs GD1b	1,021	0,354	56	14
1 paraugs GQ1b	0,378	0,208	21	8

6. tabula

Atsauces intervāls

Analizējamā viela	% normālu asins donoru kategorijās			Atsauces robežvērtība (90% CI)
	< 30 % attiecība	30 - 50 % attiecība	> 50 % attiecība	
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) ^F 9 (6,4 – 54,7) ^M
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 sievietes apakšgrupa. M vīriešu apakšgrupa

7. tabula

TABULAS UN ATTĒLI

Precizitāte laboratorijas ietvaros

Parauga apraksts			Precizitāte laboratorijas ietvaros			
Analizējamā viela	Enzīma marķieris (izotips)	Paredzamā kategorija [% attiecība]	N	Vidējais [% attiecība]	SD [% attiecība]	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

8. tabula

Atkārtojamība

Parauga apraksts			Atkārtojamība			
Analizējamā viela	Enzīma marķieris (izotips)	Paredzamā kategorija [% attiecība]	N	Vidējais [% attiecība]	SD [% attiecība]	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

9. tabula

LoD un LoB

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

10. tabula

Savstarpējā reaktivitāte

Norādītā anti-anti-anti	Diagnoze	#
Anti-neitrofilu citoplazmas anti-anti-anti (ANCA)	Vaskulīts	3
	Citi (ANCA pozitīvi paraugi)	10
Anti-nukleārās anti-anti-anti (ANA)	Sistēmiskā sarkanā vilkēde	5
	Reimatoīdais artrīts	9
	Sjorgena sindroms	6
	Citi (ANCA pozitīvi paraugi)	3
Anti-tiroglobulīna anti-anti-anti (anti-Tg)	Autoimūnais tiroidīts	5
Anti-ribonukleoproteīna anti-anti-anti	Jaukta saistaudu slimība	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimūnā perifērā neiropatija	1
Anti-acetil-holīns receptoru anti-anti-anti un pret muskuļiem specifiska tirozīnkināze	Myasthenia gravis	7

11. tabula

Perifēriskās neiropatijas	#
Alkoholiskais	1
Diabēta	5
Perifēro neiropatiju imitējoši traucējumi	#
Amiotrofiskā laterālā skleroze (ALS)	15
Sarkoidoze	4
Valdenštroma makroglobulinēmija (WM)	4
Čagasa slimība	5

12. tabula

Klīniskais sniegums

Pētījums	Pozitīvās kontroles (gadījumi)	Negatīvās kontroles	Epitops	Sensitivitāte	Specifiskums
Hashemilar u.c., 2014	Pediatriksais GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma u.c., 2011	Pediatriksais GBS (n = 57)	NC (n = 42) DC (n = 35)	GM1	0,82	0,33
					0,83
Khandelwal u.c., 2006	GBS (n = 13)	HC (n = 19)	GM1	0,31	0,74
Uetz-von Allmen u.c., 1998	GBS, CIDP (n = 19, 14))	NC (n = 100) HC (n = 110)	GM1	0,30	0,93
					0,95
Spatola u.c., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97

13. tabula

GBS - Gijēna-Barē sindroms; DC - neiroloģiskas slimības kontrole; NC - neiroloģiska kontrole; HC - veselīga kontrole; MFS - Millera-Fišera sindroms; CIDP - hroniska iekaisuma demielinizējoša polineuropātija.

ĪSS PROTOKOLS

Svarīgi: Īss protokols nav aizvietotājs detalizētajai informācijai, kas aprakstīta šajā lietošanas instrukcijā.

Pirms testēšanas dienas

Mazgāšanas buferšķīduma sagatavošana

Atšķaidiet mazgāšanas buferšķīduma koncentrātu attiecībā 1:10 ar dejonizētu ūdeni



Ieteikums: Sagatavo mazgāšanas buferšķīdumu dienu pirms analīzes veikšanas un ievieto to ledusskapī uz nakti.

Testēšanas dienā

Paraugu / kontrolmateriālu / kalibratoru sagatavošana

Atšķaidiet seruma paraugus attiecībā 1:50 ar (aukstu!) inkubācijas buferšķīdumu un rūpīgi sajauciet, izmantojot virpuļmaisītāju (vortex maisītāju)

Sagatavot kontroles un kalibratoru, pievienojot 1,5 mL inkubācijas buferšķīdumu



atstājiet 30 minūtes temperatūrā 2-8 °C

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA

Iepriekš pārklāta mikrotitrēšanas plate



mazgāšana 2 x ar $\geq 300 \mu\text{L}$ (auksta!) mazgāšanas buferšķīduma

100 μL kalibratora, kontroles vai seruma paraugi (1:50)



inkubēt 2 stundas ($\pm 5 \text{ min}$) 2-8 °C temperatūrā

mazgāšana 3x ar $\geq 300 \mu\text{L}$ (auksta!) mazgāšanas buferšķīduma

pievieno 100 μL enzīma marķiera(-us)



inkubēt 2 stundas ($\pm 5 \text{ min}$) 2-8 °C temperatūrā

mazgāšana 3 x ar $\geq 300 \mu\text{L}$ (auksta!) mazgāšanas buferšķīduma

pievienojiet 100 μL TMB substrāta (istabas temperatūrā)!



inkubē 30 minūtes ($\pm 2 \text{ min}$) 18-28 °C temperatūrā uz plašu kratītāja ~ 400-600 apgr./min.

pievienojiet 100 μL Stop šķīduma (istabas temperatūrā)!

➔ Absorbcijas nolasīšana pie 450 nm (30 minūšu laikā)

LAIKS LĪDZ REZULTĀTIEM: 5 STUNDAS

ATSAUCES

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., Schluiep, 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).

IZMAIŅU ŽURNĀLS

Datums	Versija	Izmaiņas
2026-05-04	A2	Precizēts <i>Paredzētais lietojums</i> , pievienojot informāciju par testēšanas automatizāciju, testēšanas populāciju un paredzēto lietotāju. Pārskatītas nodaļas <i>Īss protokols</i> un <i>Simboli</i> . Atjauninātas nodaļas <i>Brīdinājumi un piesardzības pasākumi (apakšnodaļa Drošības pasākumi)</i> , <i>Paraugu savākšana un uzglabāšana</i> un <i>Tabulas un attēli</i> . Atjaunināts eIFU simbols titullapā (attiecas tikai uz dokumenta versiju angļu valodā).

ZIŅOŠANA PAR INCIDENTIEM ES DALĪBVALSTĪS

Ja ir noticis kāds nopietns incidents saistībā ar šo ierīci, lūdzu, nekavējoties ziņojiet ražotājam un savas dalībvalsts kompetentajai iestādei.

PIEGĀDES BOJĀJUMI

Lūdzu, informējiet savu izplatītāju, ja šī prece tika saņemta bojāta.

SIMBOLI

BÜHLMANN izmanto simbolus un zīmes, kas uzskaitīti un aprakstīti ISO 15223-1.

Simbolu skaidrojumu skatīt simbolu vārdnīcā: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Papildus tiek izmantoti šādi simboli un zīmes:

Simbols	Skaidrojums
MP	Mikrotitrēšanas plate
BUF WASH 10X	Mazgāšanas bufera koncentrāts (10x)
BUF INC	Inkubācijas buferis
CAL	Kalibrators
CONTROL -	Kontrole - negatīvs
CONTROL L	Kontrole - zems
CONTROL M	Kontrole - vidējs
EL IgG	Enzīma marķieris IgG
EL IgM	Enzīma marķieris IgM
EL MIX	Enzīma marķieris IgG/IgM Mix
SUBS TMB	TMB substrāts
SOLN STOP	Stop šķīdums

