



BÜHLMANN GanglioCombi[®] *Light* ELISA

med enzymmärkt IgG/IgM-mix, IgG och IgM

Detektering av antigangliosidantikroppar
med ELISA
(GM1, GD1b, och GQ1b)

För *in vitro*-diagnostisk användning

EK-GCL-S 96 tester

Utgivningsdatum: 2026-05-04
Version A2

 Tillverkare

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Schweiz
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

SVENSKA

AVSEDD ANVÄNDNING

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA är ett *in vitro*-diagnostiskt test för semikvantitativ bestämning av IgG- och/eller IgM-antikroppar mot valda neurala antigener/epitoper i serumprover från patienter med misstänkta eller diagnostiserade autoimmuna perifera neuropatier. Analysresultatet kan användas som stöd för att ställa diagnos av autoimmuna perifera neuropatier i kombination med andra kliniska fynd och laborieprover. Endast för användning på laboratorium av hälso- och sjukvårdspersonal. Ej automatiserad.

ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

De tre enzymkonjugaten, som ingår i kittet, kan användas för tre olika testalgoritmer:

1. Test med IgG/IgM-konjugatmix (härefter kallad enzymmix) för screening av antineurala antikroppar indikativa för automimmun neuropati.
2. Test med separata IgG- och/eller IgM-konjugat för bestämning av antikroppstyp.
3. Vid laboratoriskt forskningsbruk kan initial provscreening med IgG/IgM-konjugatmix (testalternativ 1) vid behov åtföljas av differentiering av positiva prover med separata IgG- och IgM-konjugat (testalternativ 2).

ANALYSPRINCIP

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA möjliggör selektiv mätning av gangliosidantikroppar i serum. Brunnarna i den medföljande mikrotiterplattan är bestrukna med gangliosider: GM1, GD1b och GQ1b.

Patientserum, kontroller och kalibratorer tillsätts i mikrotiterbrunnarna. Efter 2 timmars inkubering (vid 2-8 °C) och tvättsteg detekteras antigangliosider bundet till immobiliserade gangliosider med pepparrotsperoxidämärkta (HRP) antikroppar mot humant IgG/IgM, IgG och/eller IgM. Efter ytterligare 2 timmars inkubation och tvättsteg tillsätts det kromogena HRP-substratet tetrametylbensidin (TMB) (blå färgbildning) följt av stopplösning (förändring till gul färg). Absorbtionen mäts vid 450 nm.

Den uppmätta absorbansen är proportionell mot titern av antikroppar i ett givet prov. Antikroppstitrar uttrycks som %-ratios av kallibratorn och tilldelas titerkategorier (negativ, gråzon, positiv).

MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH FÖRBEREDELSE

Reagenser	Mängd	Kod	Rekonstituering
Mikrotiterplatta förpreparerad med gangliosider	12 x 8 brunnar i en strip med ram	B-GCL-MP	Bruksfärdig
Förslutningsfilm	3 st.		
Tvättbuffert-koncentrat (10x) med konserveringsmedel	1 flaska x 100 mL	B-GCO-WB	Spädning med 900 mL avjoniserat vatten
Inkubationbuffert med konserveringsmedel	1 flaska x 100 mL	B-GCO-IB	Bruksfärdig
Kalibrator frystorkad med konserveringsmedel	1 flaska	B-GCO-CA	Tillsätt 1,5 mL inkubationsbuffert
Kontroller negativ-, låg- och medium¹ frystorkad med konserveringsmedel	3 flaskor	B-GCO-CONSET	Tillsätt 1,5 mL inkubationsbuffert
Enzymmärkt IgG/IgM-mix anti-human IgG- och IgM antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-GCO-ELGM	Bruksfärdig
Enzymmärkt IgG anti-human IgG-antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-GCO-ELG	Bruksfärdig
Enzymmärkt IgM anti-human IgM-antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-GCO-ELM	Bruksfärdig
TMB-substrat TMB i citratbuffert	1 flaska x 11 mL	B-TMB	Bruksfärdig
Stopplösning 0,25 M svavelsyra	1 flaska x 11 mL	B-ST5	Bruksfärdig Korrosivt ämne

Tabell 1

¹ Kontrollerna innehåller lotspecifika nivåer av anti-GM1-antikroppar. Se QC-databladet för faktiskt medelvärde OD och % Ratio.

LAGRING OCH HÅLLBARHET FÖR REAGENS

Förslutna/öppnade reagens	
Förvara vid 2-8 °C. Använd inte reagensen efter att utgångsdatumet som är tryckt på etiketten har passerat.	
Öppnade/rekonstituerade reagens	
Mikrotiterplatta	Lägg omedelbart tillbaka oanvända remsor i foliepåsen som innehåller torkmedel och förslut noggrant längs hela förseglingen. Förvara i upp till 6 månader vid 2-8 °C.
Utspädd tvättbuffert	Förvara i upp till 6 månader vid 2-8 °C.
Inkubationsbuffert	
Enzymkonjugat	
TMB-substrat	
Kalibrator	
Kontroller	
Stopplösning	Förvara i upp till 6 månader vid 18-28 °C.

Tabell 2

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Precisionspipetter med engångsspetsar: pipetter om 10 µL, 20 µL, 100 µL och 1000 µL
- Provrör i polystyren eller polypropylen för engångsbruk för beredning av provspädningar
- 1000 mL cylinder för spädning av tvättbuffert
- Tvätt för mikrotiterplatta
- Blottingpapper
- Skak för mikrotiterplatta
- Plattläsare för mikrotiterplatta för mätning av absorptions vid 450 nm

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Försiktighetsåtgärder

- Detta test är endast avsett för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Kalibratoren och kontroller i detta kit innehåller komponenter av mänskligt ursprung. Även om reagensen har testats och uppvisat negativa resultat för HBV, HCV och HIV1/2, ska de hanteras som potentiellt smittsamt material i enlighet med god laboratorised och lämpliga försiktighetsåtgärder ska vidtas.
- Detta kit innehåller komponenter som klassificeras i enlighet med förordning (EG) nr 1272/2008:
 - Stopplösningen innehåller svavelsyra (konc. 2,5-5 %) och reagensen kan orsaka hudirritation (H315), allvarlig ögonirritation (H319) och kan vara korrosivt för metaller (H290).
 - Kallibratoren, kontrollerna och enzymkonjugaten innehåller 2-metyl-4-isotiazolin-3-on-hydroklorid (konc. $\geq 0,0015$ %) och reagenserna kan därmed orsaka allergisk hudreaktion (H317).
 - Inkubationsbufferten och tvättbufferten innehåller gentamicinsulfat och reagenserna kan därmed orsaka allergisk hudreaktion (H317).
- Undvik att reagensen kommer i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Vid kontakt, skölj omedelbart med rikliga mängder vatten, annars kan irritation/brännskador uppstå.
- Reagens och kemikalier ska behandlas som farligt avfall i enlighet med nationella bestämmelser och riktlinjer gällande biologiska faror.

Tekniska försiktighetsåtgärder

- Läs instruktionerna noga innan testet utförs. Testets prestanda kan påverkas negativt om reagensen späds på felaktigt sätt, ändras eller lagras under andra förhållanden än de som anges i denna bruksanvisning.

ELISA-procedur

Reagenstemperatur

- Förbered reagensen innan analysproceduren påbörjas. Steg 3-9: Reagens som används i steg 3-9 måste vara kalla (2-8 °C) och ska hållas kylda under pipettering och tvättning. Rekommendation: Förbered tvättbufferten dagen innan analysen ska utföras och ställ den i kylan över natten.
- Utför alla tvättsteg med kall (2-8 °C) tvättbuffert.

- Låt TMB-substrat och stopplösning uppnå rumstemperatur (18-28 °C) när analysproceduren startas.

Tvättsteg

- Tvättsteg 3, 6 och 9 är avgörande för att avlägsna rester som uppstått från produktionsprocessen och/eller potentiellt obundna antikroppar i brunnarna.
- En automatisk tvättare som körs i "plattläge" rekommenderas, dvs. varje processteg (dispensering/aspiration) utförs sekventiellt på alla remsor innan instrumentet fortsätter med nästa tvättcykel.
- Säkerställ att alla brunnar är helt tomma efter den sista tvättcykeln.

Substratinkubation

- Steg 11: Skaka mikrotiterplattorna under inkubation med substrat. Beroende på plattskaksmodell rekommenderas 400-600 rpm. Lösningen ska röra sig i brunnarna men får inte spillas ut.

Kitkomponenter

- Komponenterna får inte användas efter att utgångsdatumet som är tryckt på etiketterna passerat.
- Blanda inte reagens från olika lotter.
- Åtgärder ska vidtas för att säkerställa att ingen korskontaminering uppstår mellan reagens, prover eller mellan brunnar.
- Mikrobrunnar kan inte återanvändas.

PROVINSAMLING OCH LAGRING

Proceduren kräver $< 0,1$ mL blod eller < 50 µL serum.

Samla in blod i vanliga rör för venpunktion utan tillsatser och undvik hemolys. Utför serumberedning i enlighet med tillverkarens instruktioner. Dekanter serumet.

Serumprover kan förvaras vid 2-8 °C i upp till åtta veckor, vid 28 °C i upp till en vecka och vid ≤ -20 °C i upp till 25 månader. Frysta prover ska tinas och blandas väl genom en försiktig roterande rörelse eller genom att vända dem upp och ned innan de används.

Vi rekommenderar att serumprover förbereds i aliquoter innan frysning för att undvika upprepade frys- och tiningscyklar.

ANALYSPROCEDUR

Det finns två testalternativ:

- (1) Detektion av mix-isotyper (IgG och IgM): tillsätt enzymmärkt IgG/IgM-mix i steg 7
- (2) Detektion av IgG eller IgM-isotyper: tillsätt antingen enzymmärkt IgG eller enzymmärkt IgM i steg 7

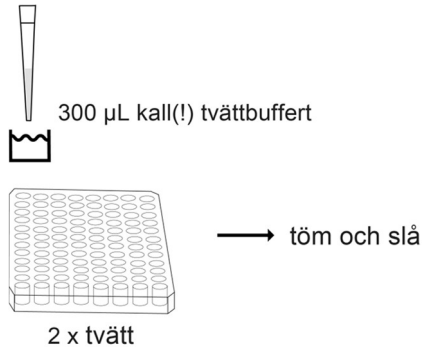
Obs: Låt TMB-substratlösningen uppnå rumstemperatur (18-28 °C).

1. Späd proverna 1:50 med inkubationsbuffert. Använd t.ex. 10 µL serum + 490 µL kall(!) (2-8 °C) inkubationsbuffert. Blanda väl genom vortexing och låt utspädda prover, beredd kalibrator och kontroller stå vid 2-8 °C i 30 minuter före pipettering (se steg 4a och b).

- Bered en plattram med tillräckliga remsor för att testa det aktuella antalet kalibratorer, kontroller och prover. Avlägsna överflödiga remsor från ramen och lägg omedelbart tillbaka dem i foliepåsen tillsammans med torkmedelspåsar. Förvara i kyl.

Obs: Använd kalla reagens i steg 3 till 9.

- Tvätta brunnarna två gånger med minst 300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper för att avlägsna all återstående vätska.



Obs: Fortsätt omedelbart till nästa steg.

- Pipettera 100 µL kallibrator till brunn A1 (se figur 1A för testalternativ 1 och figur 1B för testalternativ 2).
- Pipettera 100 µL kontroll medium till brunn B1, kontroll låg till brunn A2 och kontroll negativ till brunn B2 (se figur 1A eller 1B).

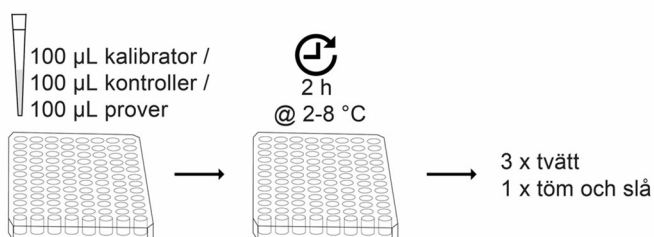
Obs: För testalternativ 1 kan duplikat av kalibrator och kontroller testas om fler än tre remsor används per körning (se figur 1A).

Obs: För testalternativ 2 ska kalibrator och kontroller köras separat för IgG- och IgM- isotyper (se figur 1B).

- Pipettera 100 µL utspätt patientserum 1 till brunnarna C1-E1 (se figure 1A eller 1B).
- Pipettera 100 µL utspätt patientserum 2 till brunnarna F1-H1 (se figure 1A eller 1B).
- Pipettera 100 µL utspätt prov 3-24 (för testalternativ 1) eller 3-12 (för testalternativ 2) till efterföljande brunnar (se figur 1A eller 1B).

Obs: För testalternativ 2 ska pipetteringen för prov 1-12 upprepas i samma ordning till de kvarvarande brunnarna vid test med den andra isotypen.

- Täck plattan med en förslutningsfilm och inkubera i 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C (skaka inte plattan).
- Ta bort förslutningsfilmen. Töm brunnarna och tvätta tre gånger med minst 300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper för att avlägsna all tvättbuffert.



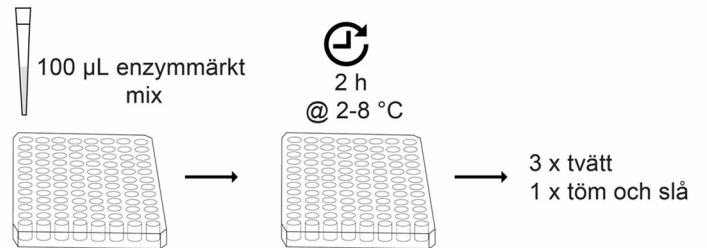
För testalternativ 1: Detektion av mix-isotyper

- Tillsätt 100 µL enzym-mix till brunnarna.

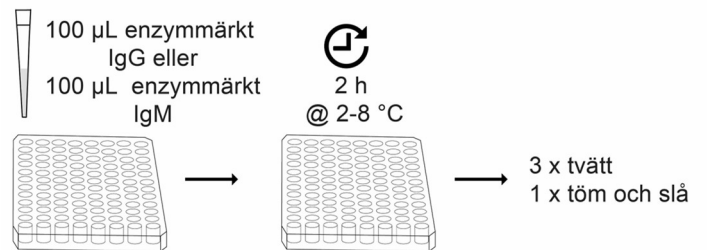
För testalternativ 2: Detektion av IgG- eller IgM-isotyper

- Tillsätt 100 µL av antingen enzymmärkt IgG eller enzymmärkt IgM till respektive brunnar (se figur 1B).
- Täck plattan med en förslutningsfilm och inkubera i 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C (skaka inte plattan).
- Ta bort förslutningsfilmen. Töm brunnarna och tvätta tre gånger med minst 300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper.

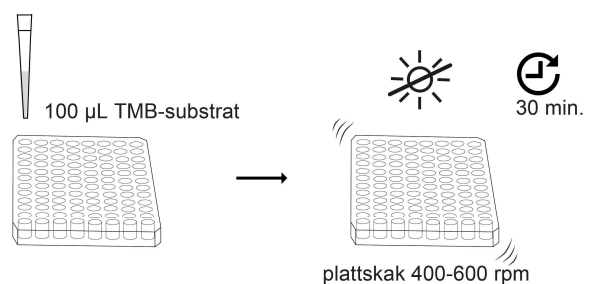
Testalternativ 1



Testalternativ 2

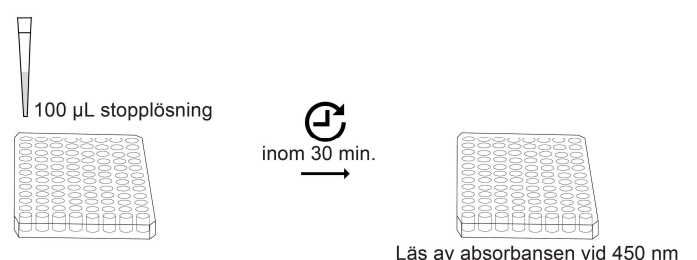


- Tillsätt 100 µL TMB-substratlösning (som balanserats till rumstemperatur) i varje brunn.
- Täck plattan med en förslutningsfilm, skydda plattan från ljus och inkubera på en plattskak som ställts in till 400-600 rpm vid 18-28 °C i 30 ± 2 minuter.



- Tillsätt 100 µL stopplösning i brunnarna. Avlägsna luftbubblor med en pipettspets. Fortsätt till steg 13 inom 30 minuter.

- Läs av absorbansen vid 450 nm i en plattläsare.



KVALITETSKONTROLL

Det är viktigt att förstå bruksanvisningen för optimal användning av produkten. Det är endast möjligt att uppnå tillförlitliga resultat genom att använda exakta laborietekniker och att noga följa bruksanvisningen.

Tre kontroller medföljer BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA-kittet: negativ, låg och medium. Kontrollösningarna har tilldelade värdeområden (% Ratio) som anges i QC-databladet som medföljer varje kit. Kontrollmätningarna måste vara inom de angivna värdeområdena för att erhålla giltiga resultat.

Utöver kontrollerna i kittet rekommenderar vi användning av serumpooler för intern kvalitetskontroll.

Ett minimalt OD450_{nm}-värde på 1,2 rekommenderas för kalibratorn.

Prestandaegenskaper bör ligga inom fastställda gränser. Om analysens prestanda inte uppfyller de fastställda gränserna och upprepning har exkluderat fel i tekniken, kontrollera följande: i) temperaturkontroll (reagens som används i steg 3-9 ska förvaras vid 2-8 °C); ii) noggrannhet för termometrar, pipetterings- och tidtagningsevenheter; iii) ELISA-läsarens inställningar; iv) utgångsdatum för reagens; v) lagrings- och inkubationsförhållanden; vi) färgen på TMB-substratlösningen (ska vara färglös); vii) vattnets renhet; viii) aspirations- och tvättmetoder.

STANDARDISERING OCH METROLOGISK SPÅRBARHET

Det finns inte något internationellt eller nationellt erkänt referensmaterial eller referensmetodsprotokoll för antigangliosider i serumprov. BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA har standardiserats mot internt referensmaterial. Kalibratorvärdena tilldelas enligt ett värdeöverföringsprotokoll (ref. 1) för att garantera metrologisk spårbarhet och anges i godtyckliga "% Ratio"-enheter. För den kombinerade osäkerheten hos kalibratorprodukter bestämdes 95-procent konfidensintervall till 29,3 % för IgG-antikroppar och 37,6 % för IgM-antikroppar.

BERÄKNING AV TESTRESULTAT

1. Registrera absorbansen (OD) vid 450 nm för varje brunn (kalibrator, kontroller och prov).
2. Beräkna medelvärdet av värdena om flera kalibrerings- och kontrollmätningar utförs.

Resultaten uttrycks som ratio av provens absorbans och kalibratorns (genomsnittliga) absorbans.

Mix-isotyper

provers eller kontrollers absorbans
% Ratio: $\frac{\text{provers eller kontrollers absorbans}}{\text{kalibratorns absorbans}} \times 200$

IgG- och IgM-isotyper

provers eller kontrollers absorbans
% Ratio: $\frac{\text{provers eller kontrollers absorbans}}{\text{kalibratorns absorbans}} \times 100$

Program för att beräkna resultat som % Ratio finns tillgängliga på de flesta mikroplattläsare.

Obs: Resultaten som presenteras i tabell 5 och 6 är exempel endast i demonstrationssyfte.

BEGRÄNSNINGAR

- Höga % Ratio-resultat (> 100 %) för enskilda gangliosider kan resultera i korsreaktivitet med andra gangliosider inom samma prov. Korsreaktiviteten uppvisar vanligen hög variation inom analyserna. Tolkningen av resultaten bör därför endast göras tillsammans med en expert/specialist.
- På grund av polyreaktiviteten hos autoimmuna antikroppar och skillnader i geografisk prevalens bör analysresultaten endast användas för att stödja klinisk expert/specialist-tolkning av neuropati i kombination med patientens kliniska bild (ref. 2).
- Testet har inte validerats för plasmaferes.
- Intravenösa immunglobuliner (IVIg) kan påverka testresultaten.

REFERENSINTERVALLER OCH CUT-OFF

Referensintervall för BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA fastställdes enligt CLSI C28-A3 med 120 serumprover från självdeklarerade friska individer. Distributionsfrekvensen för antigangliosidantikroppar hos normala blodgivare klassificerades i titerkategorier: negativ (< 30 % Ratio), gråzon (30-50 % Ratio) och positiv (> 50 % Ratio)). Resulten sammanfattas i tabell 7. Gränsvärdet för positivt resultat är 50 % Ratio.

TOLKNING AV RESULTAT

Antikropp	IgG/IgM Mix IgG IgM		
	Värden (% Ratio)		
	< 30	30-50	> 50
GD1b	Negativ	Ytterligare test vid senare tidpunkt	Positiv
GQ1b			
GM1			

Tabell 3

Testresultaten ska tolkas i kombination med tillgänglig information från klinisk bedömning och andra diagnostiska procedurer.

PRESTANDAEGENSKAPER

Inom-laborie-precision: 5,7 – 13,2 % CV

Inom-laborie-precision fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med hjälp av det standardiserade studieupplägget 20 dagar x 2 körningar x 2 replikat. Tre (3) poolade patientserumprover testades. Resulten sammanfattas i tabell 8.

Reproducerbarhet: 7,7 – 19,1 % CV

Reproducerbarheten fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med ett studieupplägg av 3 instrument/loter/operatörer x 5 dagar x 5 replikat. Tre (3) poolade patientserumprover testades. Resulten sammanfattas i tabell 9.

Blankgräns (LoB) ≤ Detektionsgräns (LoD): ≤ 30 % Ratio
LoB och LoD fastställdes enligt CLSI-guideline EP17-A2 med icke-parametrisk analys. Resulten sammanfattas i tabell 10.

Hög dos hook effekt

Ingen begränsning på grund av hög dos hook effekt inom mätområdet observerades.

Krossreaktivitet

Ingen systematisk korsreaktivitet observerades för prover från patienter med olika autoimmuna sjukdomar (tabell 11) eller från patienter med andra neurologiska sjukdomar (tabell 12).

KLINISK PRESTANDA

Den kliniska prestandan bedömdes genom beskrivande analys av fackgranskad vetenskaplig litteratur. Fem (5) studier innefattade den kliniska prestandan hos BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA vid diagnos av autoimmuna perifera neuropatier (ref. 3-7). Resultat av analys och studiedetaljer finns i tabell 4 respektive tabell 13.

N perifer neuropati	160 (102 pediatriiska GBS, 14 CIDP, 44 GBS)
N kontroller	375 (104 DC, 142 NC, 129 HC)
Sensitivitet, medelvärde (95% KI)	57.0 % (38.6 – 75.4 %)
Specificitet, medelvärde (95% KI)	79.8 % (66.8 – 93.2 %)

Tabell 4

GBS. Guillain-Barrés syndrom; DC, kontroll icke-neurologisk sjukdom; NC, kontroll neurologisk sjukdom; HC, kontroll frånvaro av sjukdom; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserande polyneuropati; KI, konfidensintervall

INTERFERERANDE ÄMNEN

Analysens känslighet för orala- samt injicerbara läkemedel och för endogena substanser utvärderades enligt CLSI-guideline EP07-A3. Systematiskt fel i resultat $\geq \pm 20$ % Ratio ansågs som interferens.

Ingen interferens detekterades med följande ämnen upp till de angivna koncentrationerna: intravenöst immunglobulin (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), klorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), reumatoid faktor (2340 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglycerid (15 mg/mL), konjugerat bilirubin (20 µg/mL) och okonjugerat bilirubin (150 µg/mL).

TABELLER OCH FIGURER

Uppsättning mikrotiterplatta: Märkt IgG/IgM-mix

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

24 sera IgG/ IgM Mix

Figur 1A: ≤ 24 serum/kit (1 MP/kit)

Uppsättning mikrotiterplatta: Märkt IgG & IgM

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

12 sera IgG 12 sera IgM

Figur 1B : 2 profiler/serum ≤ 12 serum/kit (1 MP/kit)

Resultatexempel

A Märkt IgG/IgM-mix

B-GCO-ELGM	Absorbans (OD450)	Ratio [%]
Kalibrator	1,415	
Kalibrator genomsnittlig	1,445	200
Kontroll medium	0,498	69
Kontroll medium genomsnittlig	0,482	67
Kontroll låg	0,195	27
Kontroll låg genomsnittlig	0,191	26
Kontroll negativ	0,090	12
Kontroll negativ genomsnittlig	0,100	14
Prov 1 GM1	0,544	76
Prov 1 GD1b	0,745	104
Prov 1 GQ1b	0,090	13

Tabell 5

B Märkt IgG & IgM

Enzymkonjugat	Absorbans (OD450)		Ratio [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrator	1,789	2,576		
Kalibrator genomsnittlig	1,833	2,527	100	100
Kontroll medium	1,267	1,743	69	68
Kontroll medium genomsnittlig	1,237	1,764	67	69
Kontroll låg	0,567	0,938	30	37
Kontroll låg genomsnittlig	0,584	0,942	32	37
Kontroll negativ	0,061	0,098	3	4
Kontroll negativ genomsnittlig	0,051	0,095	3	4
Prov 1 GM1	0,171	3,814	9	150
Prov 1 GD1b	1,021	0,354	56	14
Prov 1 GQ1b	0,378	0,208	21	8

Tabell 6

Referensintervall

Analyt	% normala blodgivare i kategorierna			Referensgräns (90% KI)
	< 30 %Ratio	30 - 50 %Ratio	> 50 %Ratio	
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) ^K 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)

K kvinnlig undergrupp. M manlig undergrupp

Tabell 7

TABELLER OCH FIGURER

Inom-laboratorie-precision

Provbeskrivning			Inom-laboratorie-precision			
Analyt	Enzym-konjugat (isotyp)	Förväntad kategori [% Ratio]	N	Medel [% Ratio]	SD [% Ratio]	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

Tabell 8

Reproducerbarhet

Provbeskrivning			Reproducerbarhet			
Analyt	Enzymkonjugat (isotyp)	Förväntad kategori [%Ratio]	N	Medel [%Ratio]	SD [%Ratio]	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

Tabell 9

LoD och LoB

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

Tabell 10

Korsreaktivitet

Tilldelad antikropp	Diagnos	#
Antineutrofila cytoplasmaantikroppar (ANCA)	Vaskulit	3
	Övriga (ANCA-positivt betecknade prover)	10
Antinukleära antikroppar (ANA)	Systemisk lupus erythematosus	5
	Reumatoid artrit	9
	Sjögrens syndrom	6
	Övriga (ANA-positivt betecknade prover)	3
Antikroppar mot tyreoglobulin (anti-Tg)	Autoimmun tyreoidit	5
Antikroppar mot ribonukleoprotein	Blandad bindvävssjukdom	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimmun perifer neuropati	1
Antikroppar mot acetylkolin-receptor och antikroppar mot muskel-specifikt tyrosinkinase	Myasthenia gravis	7

Tabell 11

Perifera neuropatier	#
Alkohol	1
Diabetes	5
Perifer neuropati – efterliknande sjukdomar	#
Amyotrofisk lateral skleros (ALS)	15
Sarkoidos	4
Waldenströms makroglobulinemi (WM)	4
Chagas sjukdom	5

Tabell 12

Klinisk prestanda

Studie	Positiva kontroller (fall)	Negativa kontroller	Epitop	Sensitivitet	Specifitet
Hashemilar et al., 2014	Pediatrisk GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Pediatrisk 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

Tabell 13

GBS, Guillain-Barrés syndrom; DC, Kontroll icke-neurologisk sjukdom; NC, kontroll neurologisk sjukdom; HC, kontroll frånvaro av sjukdom; MFS, Miller Fishers syndrom; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserande polyneuropati

KORT PROTOKOLL

Viktigt: Det korta protokollet ersätter inte den detaljerade informationen som finns i denna bruksanvisning.

Före testdagen

Beredning av tvättbuffert

Späd tvättbuffertkoncentratet
1:10 med avjoniserat vatten

Rekommendation: Förbered tvättbufferten dagen innan analysen ska utföras och ställ den i kylan över natten.

Testdagen

Beredning av prover/kontroller/kalibratorer

Späd ut serumproverna 1:50 med (kall!)
inkubationsbuffert och blanda noga
genom att vortexa dem

Rekonstituera kontrollerna och
kalibratören genom att tillsätta
1,5 mL inkubationsbuffert

låt stå i 30 minuter vid 2-8 °C

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA

Förpreparerad mikrotiterplatta

tvätt 2 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kall!) tvättbuffert

100 μL kalibrator, kontroller eller
serumprover (1:50)

inkubera 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C

tvätt 3 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kall!) tvättbuffert

tillsätt 100 μL enzymkonjugat

inkubera 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C

tvätt 3 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kall!) tvättbuffert

tillsätt 100 μL TMB-substrat (omgivande temperatur)!

*inkubera 30 minuter (± 2 min) vid 18-28 °C
på en plattskak $\sim 400-600$ rpm*

tillsätt 100 μL stopplösning (omgivande temperatur)!

➔ Läs av absorbansen vid 450 nm (inom 30 minuter)

TID TILL RESULTAT: 5 TIMMAR

REFERENSER

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).

ÄNDRINGSLOGG

Datum	Version	Ändring
2026-05-04	A2	Förtydligande av <i>Avsedd användning</i> genom tillägg av information om testautomatisering, testpopulation och avsedd användare. Revision av kapitlen <i>Kort protokoll</i> och <i>Symboler</i> . Uppdatering av kapitlen <i>Varningar och försiktighetsåtgärder</i> (delkapitlet <i>Försiktighetsåtgärder</i>), <i>Provinsamling och lagring</i> samt <i>Tabeller och figurer</i> . Uppdatering av eIFU-symbolen på framsidan (gäller endast den engelska versionen av dokumentet).

HÄNDELSERAPPORTERING I EU-MEDLEMSSTATER

Om en allvarlig händelse sker i samband med användning av denna enhet ska detta utan fördröjning rapporteras till tillverkaren och till behörig myndighet i ditt land.

LEVERANSSKADOR

Meddela din distributör om produkten är skadad vid mottagandet.

SYMBOLER

BÜHLMANN använder symboler och märkningar som beskrivs i ISO 15223-1.

För definition av symboler, se symbolordlistan på: www.buhmannlabs.ch/support/downloads/

Dessutom används följande symboler och märkningar:

Symbol	Förklaring
MP	Mikrotiterplatta
BUF WASH 10X	Tvättbuffertkoncentrat (10x)
BUF INC	Inkubationsbuffert
CAL	Kalibrator
CONTROL -	Kontroll negativ
CONTROL L	Kontroll låg
CONTROL M	Kontroll medium
EL IgG	Enzymmärkt-IgG
EL IgM	Enzymmärkt-IgM
EL MIX	Enzymmärkt IgG/IgM-mix
SUBS TMB	TMB-substrat
SOLN STOP	Stopplösning

