



BÜHLMANN GanglioCombi[®] *Light* ELISA

ze znakowanymi enzymami IgG/IgM Mix, IgG i IgM

Wykrywanie przeciwciał anti-gangliozydowych
metodą ELISA
(GM1, GD1b i GQ1b)

Do diagnostyki *in vitro*

EK-GCL-S 96 testów

Data wydania: 2026-05-04
Wersja A2

 **Producent**

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

PRZEZNACZENIE

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA to oznaczenie do diagnostyki *in vitro* służące do półilościowego oznaczania przeciwciał IgG i/lub IgM przeciwko wybranym antygenom/epitopom nerwowym w próbkach surowicy pacjentów z podejrzeniem lub rozpoznaniem autoimmunologicznych neuropatii obwodowych. Wyniki testu mogą służyć jako pomoc w diagnozowaniu autoimmunologicznych neuropatii obwodowych w połączeniu z innymi wynikami klinicznymi i laboratoryjnymi. Wyłącznie do zastosowań laboratoryjnych przez pracowników służby zdrowia. Nie automatyczny.

ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

Trzy enzymatyczne znaczniki, dostarczone w zestawie umożliwiają trzy różne algorytmy testowania:

1. Badanie z użyciem mieszaniny koniugatów IgG/IgM (dalej zwana mieszaniną) pozwala na przesiewowe stwierdzenie obecności przeciwciał antyneuronalnych sugerujących neuropatię o podłożu autoimmunologicznym.
2. Badanie pojedynczych koniugatów IgG i/lub IgM pozwala na określenie izotypu przeciwciała.
3. W przypadku prac laboratoryjnych wstępne badanie przesiewowe próbek przy użyciu mieszaniny (opcja 1), po którym próbki z wynikiem pozytywnym można różnicować przy użyciu poszczególnych koniugatów IgG i IgM (opcja 2).

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA umożliwia selektywny pomiar przeciwciał gangliozydowych w surowicy. Płytkę do mikromiareczkowania jest pokryta gangliozydami: GM1, GD1b i GQ1b.

Surowice pacjentów, kontrole i kalibrator są dodawane do dołków płytki do mikromiareczkowania. Po 2 godzinach inkubacji w temperaturze 2-8 °C i etapach przemywania, przeciwciała detekcyjne (anty-IgG/IgM, anty-IgG, anty-IgM) skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP) wykrywają przeciwciała anty-gangliozydowe związane z unieruchomionymi gangliozydami na płytce. Po kolejnych 2 godzinach inkubacji i dalszych etapach przemywania, dodaje się chromogeniczny substrat HRP, tetrametylobenzydynę (TMB), (tworzenie się niebieskiego zabarwienia) po czym następuje zatrzymanie reakcji (zmiana koloru na żółty). Absorbencję mierzy się przy 450 nm. Zmierzona absorbancja jest proporcjonalna do miana przeciwciał obecnych w danej próbce. Miana przeciwciał są wyrażone jako % stosunki kalibratora i mogą być przypisane do kategorii miana (negatywne, szara strefa, pozytywne).

DOSTARCZONE ODCZYNNIKI I ICH PRZYGOTOWANIE

Odczynniki	Ilość	Kod	Rekonstrukcja
Płytkę do mikromiareczkowania wstępnie opłaszczona gangliozydami	12 x 8 dołkowe paski z ramką	B-GCL-MP	Gotowy do użycia
Folia do płytek	3 sztuki		
Koncentrat buforu płuczącego (10x) z środkami konserwującymi	1 butelka x 100 mL	B-GCO-WB	Rozcieńczyć z 900 mL wody dejonizowanej
Bufor inkubacyjny z środkami konserwującymi	1 butelka x 100 mL	B-GCO-IB	Gotowy do użycia
Kalibrator zliofilizowane ze środkami konserwującymi	1 fiołka	B-GCO-CA	Dodać 1,5 mL buforu inkubacyjnego
Kontrola Negatywna, Niska i Średnia ¹ zliofilizowane ze środkami konserwującymi	3 fiołki	B-GCO-CONSET	Dodać 1,5 mL buforu inkubacyjnego
Mieszanina IgG/IgM znakowana enzymem anty-ludzkie przeciwciała IgG i IgM skoniugowane z HRP w matrycy buforowej ze środkami konserwującymi	1 fiołka x 11 mL	B-GCO-ELGM	Gotowy do użycia
Znakowane enzymem IgG anty-ludzkie przeciwciała IgG skoniugowane z HRP w matrycy buforowej ze środkami konserwującymi	1 fiołka x 11 mL	B-GCO-ELG	Gotowy do użycia
Oznakowany enzym IgM anty-ludzkie przeciwciała IgM skoniugowane z HRP w matrycy buforowej ze środkami konserwującymi	1 fiołka x 11 mL	B-GCO-ELM	Gotowy do użycia
Substrat TMB TMB w buforze cytrynianowym	1 fiołka x 11 mL	B-TMB	Gotowy do użycia
Roztwór zatrzymujący reakcję 0,25 M kwas siarkowy	1 fiołka x 11 mL	B-STs	Gotowy do użycia Środek żrący

Tabela 1

¹ Kontrole zawierają specyficzne dla partii poziomy przeciwciał anty-GM1. Rzeczywistą średnią OD i stosunek % można znaleźć w dodatkowym arkuszu danych QC.

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Zamknięte odczynniki / nieotwarte odczynniki	
Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykiecie.	
Otwarte / rekonstruowane odczynniki	
Płytki do mikromiareczkowania	Niezużyte stripy natychmiast włożyć z powrotem do torebki foliowej zawierającej saszetki ze środkiem osuszającym i ponownie szczelnie zamknąć wzdłuż całej krawędzi torebki. Przechowywać do 6 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.
Rozcieńczony bufor płuczający	Przechowywać do 6 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.
Bufor inkubacyjny	
Enzymatyczne znaczniki	
Substrat TMB	
Kalibrator	
Kontrole	Przechowywać do 6 miesięcy w temperaturze 18-28 °C.
Roztwór zatrzymujący reakcję	

Tabela 2

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

- Automatyczne pipety z jednorazowymi końcówkami: 10 µL, 20 µL, 100 µL i 1000 µL
- Jednorazowe probówki polistyrenowe lub polipropylenowe do przygotowywania rozcieńczeń próbek
- 1000 mL cylinder do rozcieńczania buforu płuczającego
- Płuczka do płytek do mikromiareczkowania
- Bibuła matująca
- Wytrząsarka do płytek do mikromiareczkowania
- Czytnik płytek do mikromiareczkowania do pomiaru absorbancji przy 450 nm.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Środki ostrożności

- Niniejszy test jest przeznaczony wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Kalibrator i kontrole tego zestawu zawierają składniki pochodzenia ludzkiego. Chociaż testy na obecność HBV, HCV i HIV1/2 dały wynik ujemny, to z odczynnikami należy obchodzić się tak, jakby były zdolne do przenoszenia infekcji, czyli zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP), stosując odpowiednie środki ostrożności.
- Zestaw zawiera składniki sklasyfikowane zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:
 - Roztwór zatrzymujący reakcję zawiera kwas siarkowy (stęż. 2,5-5 %), w związku z tym, odczynniki mogą wywoływać podrażnienie skóry (H315), silne podrażnienie oczu (H319), i mogą powodować korozję metali (H290).
 - Kalibrator, kontrole i enzymatyczne znaczniki zawierają chlorowodorek 2-metylo-4-izotiazolin-3-onu (stęż. ≥ 0,0015 %), w związku z tym, odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317).

- Bufor inkubacyjny i bufor płuczający zawierają siarczan gentamycyny, w związku z tym, odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317).
- Unikać kontaktu odczynników ze skórą, oczami lub błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu, natychmiast przemyć narażone miejsce dużą ilością wody; w przeciwnym razie może dojść do podrażnienia/oparzeń.
- Odczynniki i chemikalia należy traktować jako odpady niebezpieczne zgodnie z krajowymi wytycznymi lub przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa biologicznego.

Techniczne środki ostrożności

- Należy zapoznać się z instrukcją przed wykonaniem testu. Niewłaściwe rozcieńczanie, modyfikowanie lub przechowywanie odczynników w warunkach innych niż opisane w niniejszej instrukcji będzie miało negatywny wpływ na wydajność testu.

Procedura testu ELISA

Temperatura odczynników

- Należy przygotować odczynniki przed rozpoczęciem procedury oznaczania. Etapy 3-9: Odczynniki użyte w etapach 3-9 muszą być zimne (2-8 °C) i utrzymywane w niskiej temperaturze podczas pipetowania i płukania. Zalecenie: Przygotować bufor płuczający dzień przed wykonaniem testu i zostawić na noc w lodówce.
- Wszystkie etapy płukania wykonać za pomocą zimnego (2-8 °C) buforu płuczającego.
- Substrat TMB i roztwór zatrzymujący reakcję doprowadzić do temperatury pokojowej (18-28 °C) na początku procedury oznaczania.

Etapy płukania

- Etapy płukania 3, 6 i 9 są kluczowe dla usunięcia pozostałości powstałych w wyniku procesu produkcyjnego i/lub potencjalnie niezwiązanych przeciwciał w studzienkach.
- Zdecydowanie zaleca się automatyczną myjkę działającą w trybie "plate mode", tj. każdy etap procesu (dozowanie/zasysanie) jest wykonywany na wszystkich paskach, sekwencyjnie, zanim urządzenie przejdzie do następnego cyklu płukania.
- Należy upewnić się, że wszystkie studzienki są całkowicie opróżnione po ostatnim cyklu płukania.

Inkubacja substratu

- Etap 11: Podczas inkubacji z substratem należy wstrząsnąć płytkami do mikromiareczkowania. W zależności od modelu wytrząsarki do płytek, zaleca się wytrząsanie przy 400-600 rpm. Roztwór powinien poruszać się w studzienkach, ale nie może się rozlewać.

Elementy zestawu

- Składników nie wolno używać po upływie daty ważności wydrukowanej na opakowaniu.
- Nie mieszać odczynników o różnych numerach partii.
- Należy dążyć do wszelkich starań, aby nie doszło do zanieczyszczenia krzyżowego między odczynnikami, próbkami lub między studzienkami.
- Mikrostudzienki nie mogą być użyte ponownie.

POBIERANIE PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Procedura wymaga odpowiednio < 0,1 mL krwi lub < 50 µL surowicy.

W celu uniknięcia hemolizy, pobrać krew do zwykłych probówek bez żadnych dodatków. Przygotować surowicę zgodnie z zaleceniami producenta. Zdekantować surowicę.

Próbki surowicy można przechowywać do ośmiu tygodni w temperaturze 2–8 °C, do tygodnia w temperaturze 28 °C oraz do 25 miesięcy w temperaturze ≤ -20 °C. Zamrożone próbki należy przed użyciem rozmrozić i dokładnie wymieszać poprzez delikatne obracanie lub odwracanie.

Zaleca się rozporcjowanie próbek surowicy przed zamrożeniem w celu uniknięcia powtarzających się cykli zamrażania/rozmarzania.

ROCEDURA WYKONANIA TESTU

Istnieją dwie opcje:

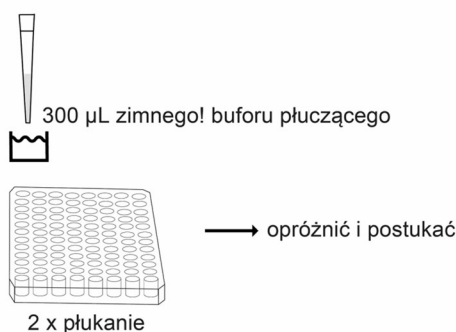
- (1) Detekcja mieszanych izotypów (IgG i IgM): dodać mieszaninę enzymatycznych znaczników w punkcie 7
- (2) Detekcja izotypów IgG lub IgM: dodać znakowany enzymem IgG lub znakowany enzymem IgM w punkcie 7

Uwaga: Zrównoważyć roztwór substratu TMB do temperatury pokojowej (18-28 °C).

- Rozcieńczyć próbki w stosunku 1:50 z buforem inkubacyjnym. Należy użyć np. 10 µL surowicy + 490 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu inkubacyjnego. Dokładnie wymieszać przez worteksowanie i pozostawić rozcieńczone próbki, jak również rekonstruowany kalibrator i kontrole w temperaturze 2-8 °C na 30 minut przed pipetowaniem (należy odnieść się do punktu 4a i b).
- Przygotować ramkę płytki z wystarczającą ilością pasków do przetestowania wymaganej liczby kalibratorów, kontroli i próbek. Usunąć nadmiar pasków z ramki i bezzwłocznie zamknąć je ponownie w torebce foliowej wraz ze środkiem pochłaniającym wilgoć. Przechowywać w warunkach chłodniczych.

Uwaga: W etapach 3 do 9 użyć zimnych odczynników.

- Przepłukać studzienki dwukrotnie, używając co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę, aby usunąć całkowicie pozostały płyn.



Uwaga: Natychmiast przejść do kolejnych etapów.

- 4a. Dodać 100 µL kalibratora do studzienki A1 (odnieść się do ryciny 1A dla opcji 1 lub ryciny 1B dla opcji 2).
- 4b. Dodać 100 µL kontroli średniej do studzienki B1, kontroli niskiej do studzienki A2 i kontroli negatywnej do

studzienki B2 (odnieść się do ryciny 1A lub 1B).

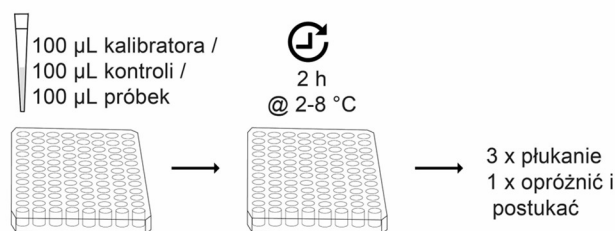
Uwaga dla opcji 1: Jeżeli używanych jest więcej niż trzy paski na serię, kalibrator i kontrole mogą być testowane w duplikatach (odnieść się do ryciny 1A).

Uwaga dla opcji 2: Kalibrator i kontrole powinny być testowane oddzielnie dla izotypów IgG i IgM (patrz rycina 1B).

- 4c. Dodać 100 µL rozcieńczonej próbki 1 do studzienek C1-E1 (odnieść się do ryciny 1A lub 1B).
- 4d. Dodać 100 µL rozcieńczonej próbki 2 do studzienek F1-H1 (odnieść się do ryciny 1A lub 1B).
- 4e. Dodać 100 µL rozcieńczonych próbek 3-24 (dla opcji 1) lub 3-12 (dla opcji 2) do kolejnych studzienek (odnieść się do ryciny 1A lub 1B).

Uwaga dla opcji 2: Powtórzyć pipetowanie próbek 1-12 w tej samej kolejności do pozostałych studzienek w celu testowania drugiego izotypu.

5. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (± 5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytki).
6. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać trzy razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i mocno stuknąć płytką o bibułę w celu całkowitego pozbycia się buforu płuczącego.

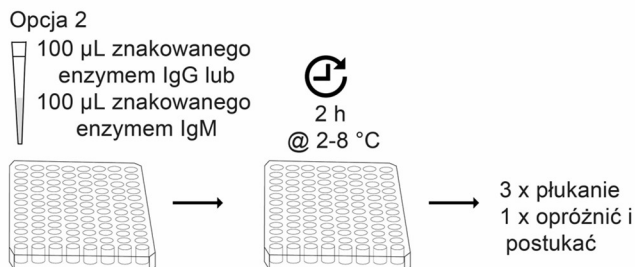
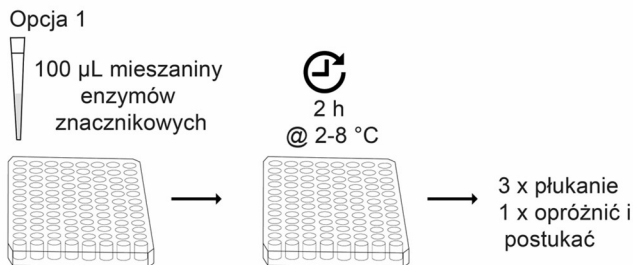


Dla opcji 1: Detekcja mieszaniny izotypów

7. Dodać 100 µL mieszaniny do studzienek.

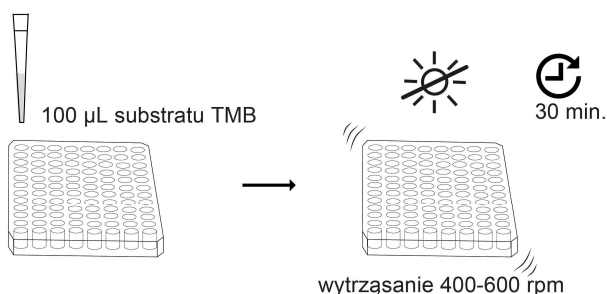
Dla opcji 2: Detekcja izotypów IgG lub IgM

- 7'. Dodać 100 µL znakowanego enzymem IgG lub IgM do odpowiednich studzienek (odnieść się do ryciny 1B).
8. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (± 5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytki).
9. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać trzy razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę.



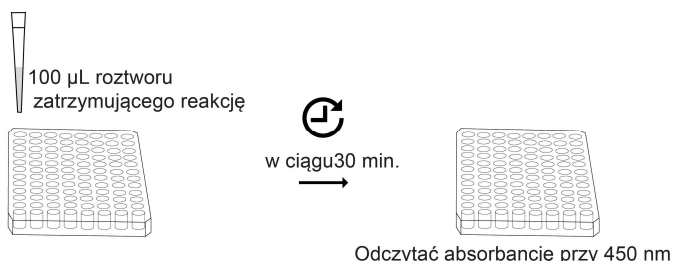
10. Dodać 100 µL roztworu substratu TMB (zrównoważonego do temperatury pokojowej) do każdej studzienki.

11. Przykryć płytkę folią do płytek, chronić płytkę przed światłem i inkubować na wyrząsarce do płytek przy 400-600 rpm, w temperaturze 18-28 °C przez 30 ± 2 minuty.



12. Dodać 100 µL roztworu zatrzymującego reakcję do wszystkich studzienek. Usunąć bąble powietrza przy pomocy końcówki od pipety. Przejść do etapu 13 w ciągu 30 minut.

13. Odczytać absorbancję przy 450 nm przy użyciu czytnika do płytek.



KONTROLA JAKOŚCI

Dokładne zrozumienie niniejszej instrukcji jest konieczne do prawidłowego użytkowania produktu. Wiarygodne wyniki można uzyskać tylko przy użyciu precyzyjnych technik laboratoryjnych i dokładnego przestrzegania niniejszej instrukcji.

Zestaw BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA zawiera trzy kontrole: negatywną, niską i średnią. Kontrolom przypisano zakresy wartości (stosunek %) wskazane w

arkuszu danych QC dostarczonym z każdym zestawem. Pomiary kontrolne muszą mieścić się we wskazanych zakresach wartości, aby uzyskać prawidłowe wyniki. Oprócz kontroli z zestawu, zaleca się stosowanie pul surowicy do wewnętrznej kontroli jakości.

Dla kalibratora zalecana jest minimalna wartość OD_{450nm} wynosząca 1,2.

Charakterystyka wydajności powinna mieścić się w ustalonych granicach. Jeżeli wydajność testu nie spełnia ustalonych limitów, a powtarzalność wykluczyła błędy techniczne, należy sprawdzić następujące kwestie: i) kontrolowanie temperatury (odczynniki stosowane w etapach 3-9 przechowywać w temperaturze 2-8 °C); ii) dokładność termometrów, pipet i czasomierzy; iii) ustawienia czytnika ELISA; iv) daty ważności odczynników v) warunki przechowywania i inkubacji; vi) kolor roztworu substratu TMB (powinien być bezbarwny); vii) czystość wody; viii) metody aspiracji i płukania.

STANDARYZACJA I ZGODNOŚĆ METROLOGICZNA

Nie ma uznanych w skali międzynarodowej i krajowej referencyjnych materiałów ani referencyjnych procedur pomiarowych dla przeciwciał anti-gangliozydowych w próbkach surowicy. Zestaw BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA jest standaryzowany względem wewnętrznie ustalonego materiału referencyjnego. Wartości kalibratorów są przypisywane zgodnie z protokołem transferu wartości (ref. 1), w celu zagwarantowania spójności metrologicznej i są podawane w dowolnych jednostkach "stosunku %".

95 % przedział ufności łącznej niepewności kalibratorów produktu został określony jako 29,3 % dla przeciwciał IgG i 37,6 % dla przeciwciał IgM.

OBLICZANIE WYNIKÓW TESTU

- Odczytać absorbancję (OD) przy 450 nm dla każdej studzienki (kalibrator, kontrole i próbki).
- Jeżeli wykonano wiele pomiarów kalibratora i kontroli, należy uśrednić wyniki.

Wyniki wyrażone są jako stosunek absorbancji próbek do (uśrednionej) absorbancji kalibratora.

Mieszana izotypów

$$\text{Stosunek \%} = \frac{\text{absorbancja próbek lub kontroli}}{\text{absorbancja kalibratora}} \times 200$$

Izotypy IgG i IgM

$$\text{Stosunek \%} = \frac{\text{absorbancja próbek lub kontroli}}{\text{absorbancja kalibratora}} \times 100$$

Programy do obliczania wyników jako stosunek % są dostępne dla większości czytników mikropłytek.

Uwaga: Wyniki zaprezentowane w tabelach 5 i 6 są przykładami i są dostarczone tylko dla celów pokazowych.

OGRANICZENIA

- Wyniki o wysokim stosunku % (> 100 %) dla poszczególnych gangliozydów mogą powodować reaktywność krzyżową z innymi gangliozydami w tej samej próbce. Reaktywność krzyżowa będzie zazwyczaj wykazywała dużą zmienność między oznaczeniami. Interpretacja wyników powinna być zatem dokonywana wyłącznie z ekspertem/specjalistą.
- Ze względu na polireaktywność przeciwciał autoimmunologicznych i różnice w częstości występowania w poszczególnych regionach geograficznych, wyniki testów powinny być wykorzystywane wyłącznie do wspierania klinicznej interpretacji neuropatii przez eksperta/specjalistę w połączeniu z obrazem klinicznym pacjenta. (ref. 2).
- Niniejszy test nie został zwalidowany dla plazmaferezy.
- Dożylna immunoglobulina (IVIg) mogą wpływać na wyniki testów.

PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE I WARTOŚCI CUT-OFF

Przedział referencyjny dla testu BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA został ustalony zgodnie z CLSI C28-A3 dla 120 próbek surowicy od osób deklarujących się jako zdrowe. Częstość występowania przeciwciał antygangliozydowych u zdrowych dawców krwi została sklasyfikowana według kategorii miana: negatywne (< 30 % stosunek), szara strefa (stosunek 30-50 %) i pozytywne (> 50 % stosunek). Wyniki podsumowano w tabeli 7. Wartość cut-off dla wyniku pozytywnego wynosi stosunek 50 %.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Antygen	Mieszanka IgG/IgM		
	IgG IgM		
	Wartości (stosunek %)		
	< 30	30-50	> 50
GD1b	Negatywny	Przetestować ponownie w późniejszym czasie	Pozytywny
GQ1b			
GM1			

Tabela 3

Wyniki badań należy interpretować w połączeniu z informacjami dostępnymi z oceny klinicznej pacjenta i innych procedur diagnostycznych.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Precyzja wewnątrzlaboratoryjna: 5,7 – 13,2 % CV

Precyzję wewnątrzlaboratoryjną ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując standardowy schemat badania 20 dni x 2 serie x 2 powtórzenia. Analizowano trzy (3) połączone próbki surowicy. Wyniki podsumowano w tabeli 8.

Odtwarzalność: 7,7 – 19,1 % CV

Odtwarzalność ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując schemat badania 3 urządzenia/numery partii/operatorzy x 5 dni x 5 powtórzeń. Testowano trzy (3) połączone próbki surowicy. Wyniki podsumowano w tabeli 9.

Granica próby ślepej (LoB) ≤ Granica wykrywalności (LoD): ≤ 30 % stosunek

Wartości LoB i LoD ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP17-A2 przy użyciu analizy nieparametrycznej. Wyniki podsumowano w tabeli 10.

“Efekt haka” w wysokiej dawce

Nie zaobserwowano ograniczeń zakresu pomiarowego wynikających z efektu haka wysokiej dawki.

Reaktywność krzyżowa

Nie zaobserwowano systematycznej reaktywności krzyżowej dla próbek od pacjentów z różnymi chorobami autoimmunologicznymi (tabela 11) i od pacjentów z innymi zaburzeniami neurologicznymi (tabela 12).

WYDAJNOŚĆ KLINICZNA

Wydatność kliniczna została oceniona na podstawie podsumowującej analizy recenzowanej literatury naukowej. Pięć (5) badań dotyczyło wydajności klinicznej testu BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA w diagnostyce autoimmunologicznych neuropatii obwodowych (ref. 3-7). Wyniki analizy i szczegóły badania przedstawiono odpowiednio w tabeli 4 i tabeli 13.

N neuropatia obwodowa	160 (102 pediatryczne GBS, 14 CIDP, 44 GBS)
N kontrole	375 (104 DC, 142 NC, 129 HC)
Czułość, średnia (95% CI)	57,0 % (38,6 – 75,4 %)
Specyficzność, średnia (95% CI)	79,8 % (66,8 – 93,2 %)

Tabela 4

GBS, Guillain-Barré-Syndrom; DC, Kontrola chorób nieneurologicznych; NC, Kontrola Neurologiczna; HC, Zdrowa Kontrola; CIDP, Przewlekła zapalna polineuropatia demielinizacyjna; CI, przedział ufności

SUBSTANCJE INTERFERUJĄCE

Wrażliwość testu na farmaceutyki podawane doustnie i we wstrzyknięciach oraz na substancje endogenne oceniono zgodnie z wytycznymi CLSI EP07-A3. Błąd systematyczny wyników $\geq \pm 20$ % stosunku uznano za interferencję.

Nie wykryto interferencji z następującymi substancjami do podanych stężeń: immunoglobulina dożylna (20 mg/mL), rytuksymab (3 mg/mL), kładrybina (273 ng/mL), Interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentyna (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), chlorambucyl (1,96 µg/mL), prednizon (99 ng/mL), prednizolon (1,2 µg/mL), czynnik reumatoidalny (2340 IU/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolizat (10 mg/mL), triglicerydy (15 mg/mL), związana bilirubina (20 µg/mL), niezwiązana bilirubina (150 µg/mL).

TABELE I RYCINY

Precyzja wewnątrzlaboratoryjna

Opis próbki			Precyzja wewnątrzlaboratoryjna			
Analit	Enzymatyczny znacznik (izotyp)	Oczekiwana kategoria [% stosunek]	N	Średnia [% stosunek]	SD [% stosunek]	CV [%]
anty-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
anty-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

Tabela 8

Odtwarzalność

Opis próbki			Odtwarzalność			
Analit	Enzymatyczny znacznik (izotyp)	Oczekiwana kategoria [% stosunek]	N	Średnia [%stosunek]	SD [%stosunek]	CV [%]
anty-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
anty-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

Tabela 9

LoD i LoB

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

Tabela 10

Reaktywność krzyżowa

Przypisane przeciwciało	Rozpoznanie	#
Przeciwciała cytoplazmatyczne przeciwko neutrofilom (ANCA)	Zapalenie naczyń	3
	Inne (próbki ANCA oznaczone dodatnio)	10
Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)	Toczeń rumieniowaty układowy	5
	Reumatoidalne zapalenie stawów	9
	Zespół Sjogrena	6
	Inne (próbki ANA oznaczone dodatnio)	3
Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (anti-Tg)	Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy	5
Przeciwciała przeciw rybonukleoproteinie	Mieszana choroba tkanki łącznej	1
Anty-GQ1b, anty-GM1, anty-GD1b	Autoimmunologiczne neuropatie obwodowe	1
Przeciwciała przeciw receptorowi acetylocholinyl i kinaza tyrozynowa specyficzna dla mięśni	Miastenia gravis (Miastenia rzekomoporażna)	7

Tabela 11

Neuropatie obwodowe	#
Alkoholowa	1
Cukrzycowa	5
Zaburzenia imitujące neuropatię obwodową	#
Stwardnienie Zanikowe Boczne (ALS)	15
Sarkoidoza	4
Makroglobulinemia Waldenstroma (WM)	4
Choroba Chagasa	5

Tabela 12

Wydajność kliniczna

Badanie	Kontrole pozytywne (Przykłady)	Kontrole negatywne	Epitop	Czułość	Specyficzność
Hashem ilar et al., 2014	Pediatria GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Pediatria GBS (n = 57)	NC (n = 42) DC (n = 35)	GM1	0,82	0,33
					0,83
Khandel wal 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) HC (n = 110)	GM1	0,30	0,93
					0,95
Spatola et al., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97

Tabela 13

GBS, Guillain-Barré-Syndrom; DC, Kontrola chorób nieneurologicznych; NC, Kontrola Neurologiczna; HC, Zdrowa Kontrola; MFS, Miller Fisher Syndrom; CIDP, Przewlekła zapalna polineuropatia demielinizacyjna

KRÓTKI PROTOKÓŁ

Ważne: Krótki protokół nie zastępuje szczegółowych informacji zawartych w niniejszej instrukcji użytkownika

Dzień przed wykonaniem testu

Przygotowanie buforu płuczącego

Rozcieńczyć koncentrat buforu płuczącego wodą
dejonizowaną w stosunku 1:10

Zalecenie: Przygotować bufor
płuczący dzień przed wykonaniem
testu i zostawić na noc w lodówce.

Dzień wykonania testu

Przygotowanie próbek/kontroli/kalibratorów

Rozcieńczyć próbki surowicy 1:50 (zimnym!)
buforem inkubacyjnym i dokładnie
wymieszać przez worteksowanie

Odtworzyć kontrole i
kalibrator przez dodanie
1,5 mL buforu inkubacyjnego

pozostawić na 30 minut w temperaturze 2-8 °C

BÜHLMANN GanglioCombi® Light ELISA

Wstępnie powlekana płytka do mikromiareczkowania

przepłukać 2 x przy użyciu $\geq 300 \mu\text{L}$ (zimnego!)
buforu płuczącego

100 μL kalibratora, kontrole lub
próbki surowicy (1:50)

inkubować 2 godziny (± 5 min) w 2-8 °C
przepłukać 3 x przy użyciu $\geq 300 \mu\text{L}$ (zimnego!)
buforu płuczącego

dodać 100 μL enzymatycznych znaczników

inkubować 2 godziny (± 5 min) w 2-8 °C
przepłukać 3 x przy użyciu $\geq 300 \mu\text{L}$ (zimnego!)
buforu płuczącego

dodać 100 μL substratu TMB (temperatura otoczenia)!

inkubować 30 min (± 2 min) w 18-28 °C
na wytrząsarce do płytek przy $\sim 400-600$ rpm

dodać 100 μL roztworu zatrzymującego reakcję (temperatura otoczenia)!

➔ Odczytać absorbancję przy 450 nm (w ciągu 30 minut)

CZAS DO OTRZYMANIA WYNIKÓW: 5 GODZIN

REFERENCJE

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).

LISTA ZMIAN

Data	Wersja	Zmiana
2026-05-04	A2	Sprecyzowanie rozdziału <i>Przeznaczenie</i> przez dodanie informacji dotyczących automatyzacji testu, badanej populacji oraz użytkownika docelowego. Aktualizacja rozdziałów <i>Krótki protokół</i> i <i>Symbole</i> . Aktualizacja rozdziałów <i>Ostrzeżenia i środki ostrożności</i> (podrozdział <i>Środki ostrożności</i>), Pobieranie próbek i ich przechowywanie oraz <i>Tabele i ryciny</i> . Aktualizacja symbolu eIFU na pierwszej stronie oraz powiązanych informacji w rozdziale <i>Symbole</i> (dotyczy tylko wersji dokumentu w języku angielskim).

RAPORTOWANIE WYPADKÓW W PAŃSTWACH CZŁONKOWSKICH UE

W przypadku wystąpienia jakiegokolwiek poważnego wypadku z udziałem tego urządzenia, należy bezzwłocznie zgłosić to producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego.

USZKODZENIE PRZESYŁKI

Jeżeli produkt został uszkodzony należy poinformować o tym dystrybutora.

SYMBOLE

Firma BÜHLMANN stosuje symbole i oznaczenia wymienione i opisane w normie ISO 15223-1.

Definicje symboli można znaleźć w słowniczku symboli na stronie: www.buhmannlabs.ch/support/downloads/

Dodatkowo stosowane są następujące symbole i oznaczenia:

Symbol	Wyjaśnienie
MP	Płytko do mikromiarczkowania
BUF WASH 10X	Koncentrat buforu płuczającego (10x)
BUF INC	Bufor inkubacyjny
CAL	Kalibrator
CONTROL -	Kontrola Negatywna
CONTROL L	Kontrola Niska
CONTROL M	Kontrola Średnia
EL IgG	Znakowane enzymem IgG
EL IgM	Znakowane enzymem IgM
EL MIX	Znakowana mieszaniną enzymów IgG/IgM
SUBS TMB	Substrat TMB
SOLN STOP	Roztwór zatrzymujący reakcję

