



# BÜHLMANN GanglioCombi<sup>®</sup> MAG ELISA

su fermentiniais žymenimis IgG/IgM mišinys, IgG ir IgM

Anti-gangliozidų ir -MAG antikūnų  
aptikimas ELISA metodu  
(HNK-1 ("MAG"), GM1, GT1a, GD1a, GD1b ir GQ1b)

*In vitro* diagnostikai

EK-GCM      2 x 96 testai

Išleidimo data: 2026-05-04  
Versija A3



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

# LIETUVIŠKAI

## PASKIRTIS

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA yra *in vitro* diagnostikos analizė, skirta pusiau kiekybiškai nustatyti IgG ir (arba) IgM antikūnus prieš atrinktus nervų antigenus / epitopus pacientų serumo mėginiuose su įtariamomis arba nustatytas autoimuninėmis periferinėmis neuropatijomis. Tyrimo rezultatai gali būti naudojami kartu su kitais klinikiniais ir laboratoriniais duomenimis patvirtinant autoimuninės periferinės neuropatijos diagnozę.

Tik laboratoriniam naudojimui sveikatos priežiūros specialistams. Neautomatizuota.

## NUMATOMAS TAIKYMAS

Trys fermentiniai žymenys, pateikti rinkinyje, įgalina tris skirtingus testavimo algoritmus:

1. Tyrimas su IgG/IgM konjugato mišiniu (toliau vadinamas mišiniu) leidžia patikrinti, ar nėra antineuroninių antikūnų, rodančių autoimuninę neuropatiją.
2. Tyrimas su individualiais IgG ir (arba) IgM konjugatais leidžia nustatyti antikūnų izotipus.
3. Atliekant laboratorinį tyrimą, jeigu to reikia, pradinė mėginių atranka naudojant mišinį (1 parinktį) gali būti papildoma mišinio teigiamų mėginių diferencijavimu naudojant atskirus IgG ir IgM konjugatus (2 parinktį).

## TYRIMO PRINCIPAS

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA leidžia išmatuoti gangliozido ir mielino susijusių glikoproteinų (MAG) antikūnus serume. Mikrotitravimo plokštelė padengta gangliozidais: GM1, GT1a, GD1a, GD1b, GQ1b ir chemiškai susintetintu MAG glikoproteino HNK-1 epitopu (1 nuoroda). Paciento serumai, kontroliniai mėginiai ir kalibratorius dedami į mikrotitravimo plokštelės šulinėlius. Po 2 valandų inkubacijos 2-8 °C temperatūroje ir plovimo etapų, aptikimo antikūnai (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM), konjuguoti su krienų peroksidaze (HRP), aptinka antigangliozidą ir (arba) anti-MAG antikūnus, prisijungusius prie plokštelėje esančių imobilizuotų gangliozidų arba HNK-1. Po dar 2 valandų inkubavimo ir tolesnių plovimo etapų pridamas chromogeninis HRP substratas, tetrametilbenzidas (TMB) (susidaro mėlyna spalva), po to sustabdoma reakcija (pakeičiama į geltoną spalvą). Sugertis matuojama esant 450 nm.

Išmatuota absorbcija yra proporcinga tam tikrame mėginyje esančių antikūnų titrui. Antikūnų titrai išreiškiami kalibratoriaus procentais ir gali būti priskirti titrų kategorijoms (neigiama, pilka zona, teigiama).

## PATEIKTI REAGENTAI IR PARUOŠIMAS

Reagentai	Kiekis	Kodas	Pristatymas
<b>Mikrotitro plokštelė</b> iš anksto padengtas gangliozidais ir HNK-1	2 x12 x 8 šulinėlių juostelės su rėmeliu	B-GCM-MP	Paruoštas naudojimui
<b>Plokštės sandariklis</b>	6 vienetai		
<b>Plovimo buferio koncentratas (10x)</b> su konservantais	2 buteliukai x 100 mL	B-GCO-WB	Praskieskite su 900 mL dejonizuoto vandens
<b>Inkubavimo buferis</b> su konservantais	1 butelis x 100 mL	B-GCO-IB	Paruoštas naudojimui
<b>Kalibratorius</b> liofilizuoti su konservantais	1 mėgintuvėlis	B-GCO-CA	Įpilkite 1,5 mL inkubacinio buferio
<b>Neigiama, žema ir vidutinė kontrolės</b> <sup>1</sup> liofilizuoti su konservantais	3 mėgintuvėliai	B-GCO-CONSET	Įpilkite 1,5 mL inkubacinio buferio
<b>Fermentinis žymuo IgG/IgM mišinys</b> anti-žmogaus IgG ir IgM antikūnai, konjuguoti su HRP buferinėje matricoje su konservantais	2 mėgintuvėliai x 11 mL	B-GCO-ELGM	Paruoštas naudojimui
<b>Fermentinis žymuo IgG</b> anti-žmogaus IgG antikūnas, konjuguotas su HRP buferinėje matricoje su konservantais	1 mėgintuvėlis x 11 mL	B-GCO-ELG	Paruoštas naudojimui
<b>Fermentinis žymuo IgM</b> anti-žmogaus IgM antikūnas, konjuguotas su HRP buferinėje matricoje su konservantais	1 mėgintuvėlis x 11 mL	B-GCO-ELM	Paruoštas naudojimui
<b>TMB Substratas</b> TMB citrato buferyje	2 mėgintuvėliai x 11 mL	B-TMB	Paruoštas naudojimui
<b>Stop tirpalas</b> 0,25 M sieros rūgštis	2 mėgintuvėliai x 11 mL	B-ST5	Paruoštas naudojimui <b>Ardanti medžiaga</b>

1 lentelė

<sup>1</sup> Kontrolėse yra specifinių anti-GM1 antikūnų kiekių. Faktinį vidutinį OD (optinį tankį) ir % santykį žr. papildomame kokybės kontrolės duomenų lape.

## REAGENTŲ LAIKYMAS IR TINKAMUMO LAIKAS

Sandarūs/ Neatidaryti reagentai	
Laikyti 2-8 °C temperatūroje. Nenaudokite reagentų pasibaigus galiojimo laikui, nurodytam etiketėse.	
Atidaryti reagentai/ ištirptinti reagentai	
Mikrotitro plokštelė	Nepanaudotas juostelės nedelsdami gražinkite į folijos maišelį, kuriame yra sausiklio pakuotės, ir vėl užsandarinkite per visą užtrauktuko sandariklio kraštą. 2-8 °C temperatūroje laikyti iki 6 mėnesių.
Skiestas plovimo buferis	2-8 °C temperatūroje laikyti iki 6 mėnesių.
Inkubacijos buferis	
Fermentiniai žymenys	
TMB substratas	
Kalibratorius	
Kontrolės	
Stop tirpalas	18-28 °C temperatūroje laikyti iki 6 mėnesių.

2 lentelė

## REIKALINGOS, BET NETIEKIAMOS MEDŽIAGOS

- Tikslios pipetės su vienkartiniais antgaliais: 10 µL, 20 µL, 100 µL ir 1000 µL
- Vienkartiniai polistireno arba polipropileno mėgintuvėliai mėginių skiedimams ruošti
- 1000 mL talpos cilindras plovimo buferiui praskiesti
- Mikrotitravimo plokštelės ploviklis
- Sugeriamasis popieriaus
- Mikrotitravimo plokštelių purtyklė
- Mikrotitravimo plokštelės skaitytuvas absorbcijai prie 450 nm matuoti

## ATSARGUMO PRIEMONĖS

### Saugos priemonės

- Šio rinkinio kalibratoriuje ir kontrolėje yra žmogaus kilmės komponentų. Nors buvo ištirta ir nustatyta, kad HBV, HCV ir ŽIV1/2 yra neigiami, su reagentais turi būti elgiamasi taip, lyg jie galėtų perduoti infekcijas, ir turi būti tvarkomi laikantis geros laboratorinės praktikos (GLP), taikant tinkamas atsargumo priemones.
- Šiame rinkinyje yra komponentų, klasifikuojamų pagal Reglamentą (EB) Nr. 1272/2008:
  - Stop tirpale yra sieros rūgštis (konc. 2,5-5 %), todėl reagentai gali sudirginti odą (H315), stipriai sudirginti akis (H319) ir ėsdinti metalus (H290).
  - Kalibratoriuje, kontrolėje ir fermentiniuose žymenyse yra 2-metil-4-izotiazolin-3-ono hidroklorido (konc. ≥ 0,0015%), todėl reagentai gali sukelti alergines odos reakcijas (H317).
  - Inkubavimo buferyje ir plovimo buferyje yra gentamicino sulfato, todėl reagentai gali sukelti alerginę odos reakciją (H317).
- Venkite reagentų sąlyčio su oda, akimis ar gleivinėmis. Jei atsirado kontaktas, nedelsiant nuplaukite dideliu kiekiu vandens; kitu atveju gali atsirasti dirginimas / nudegimai.
- Reagentai ir chemikalai turi būti tvarkomi kaip pavojingos atliekos pagal nacionalines biologinio pavojaus saugos gaires arba reglamentą.

### Techninės atsargumo priemonės

- Prieš atlikdami testą, atidžiai perskaitykite instrukcijas. Jei reagentai bus neteisingai skiedžiami, modifikuojami arba laikomi kitomis sąlygomis nei nurodytos šioje naudojimo instrukcijoje, tai turės neigiamos įtakos testo veikimui.

### ELISA procedūra

#### Reagentų temperatūra

- Prieš pradėdami tyrimo procedūrą, paruoškite reagentus. 3-9 žingsniai: 3-9 etapuose naudojami reagentai turi būti šalti (2-8 °C) ir laikomi šaltai pipetuojant ir plaunant. Rekomendacija: Paruoškite plovimo buferį dieną prieš atlikdami tyrimą ir padėkite į šaldytuvą nakčiai.
- Atlikite visus plovimo veiksmus su šaltu (2-8 °C) plovimo buferiu.
- Pradėdami tyrimo procedūrą, pašildykite TMB substratą ir stop tirpalą iki kambario temperatūros (18-28 °C).

### Plovimo žingsniai

- 3, 6 ir 9 plovimo etapai yra labai svarbūs norint pašalinti gamybos proceso likučius ir (arba) galimai nesurištus antikūnus šuliniuose.
- Primygtinai rekomenduojama naudoti automatinį plovimo įrenginį, veikiantį „plokštelės režimu“, t. y. kiekvienas proceso etapas (išpilstymas/išsiurbimas) turi būti atliekamas visoms juostelėms, nuosekliai, prieš instrumentui tęsiant kitą plovimo ciklą.
- Įsitinkite, kad po paskutinio plovimo ciklo visi šulinėliai yra visiškai tušti.

### Substrato inkubacija

- 11 veiksmas: purtykite mikrotitravimo plokštelės inkubuojant su substratu. Priklausomai nuo plokštelių purtyklės modelio, rekomenduojame 400-600 rpm. Tirpalas turi judėti šuliniuose, bet neturi išsilieti.

### Rinkinio komponentai

- Komponentų negalima naudoti pasibaigus galiojimui laikui, nurodytam etiketėse.
- Nemaišykite skirtingų reagentų partijų.
- Reikia dėti visas pastangas siekiant užtikrinti, kad tarp reagentų, mėginių ar tarp šulinėlių nebūtų kryžminio užteršimo.
- Mikrošulinėlių pakartotinai naudoti negalima.

## MĖGINIŲ ĖMIMAS IR SANDĖLIAVIMAS

Procedūrai reikia atitinkamai < 0,1 mL kraujo arba < 50 µL serumo.

Surinkite kraują į paprastus venų punkcijos mėgintuvėlius be jokių priedų ir išvengsite hemolizės. Paruoškite serumą pagal gamintojo instrukcijas. Nupilkite serumą.

Serumo mėginiai gali būti laikomi 2-8 °C temperatūroje iki aštuonių savaičių, 28 °C temperatūroje – iki vienos savaitės ir ≤ -20 °C temperatūroje – iki 25 mėnesių. Užšaldytus mėginius prieš naudojimą reikia atšildyti ir kruopščiai sumaišyti švelniai sukant arba vartant.

Rekomenduojame paruošti serumo mėginių padalijimus prieš užšaldant, kad būtų išvengta pasikartojančių užšaldymo/atšildymo ciklų.

## TYRIMO PROCEDŪRA

### Galimi du pasirinkimai:

- (1) Mišinio izotipų (IgG ir IgM) aptikimas: 7 veiksmė pridėkite fermentinio žymens mišinį
- (2) IgG arba IgM izotipų aptikimas: 7 veiksmė pridėkite arba fermentinį žymenį IgG, arba fermentinį žymenį IgM

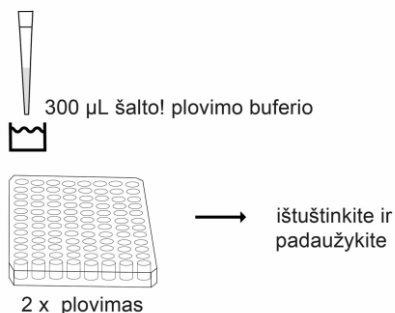
*Pastaba: TMB substrato tirpalą atšildykite iki kambario temperatūros (18-28 °C).*

1. Atskieskite mėginius 1:50 inkubaciniu buferiu. Naudokite pvz. 20 µL serumo + 980 µL šalto! (2-8 °C) inkubacinio buferio. Kruopščiai sumaišykite maišydami ir palikite atskiestus mėginius, taip pat atskiestą kalibratorių ir kontrolines medžiagas 2-8 °C temperatūroje 30 minučių prieš dozuoiant pipete (žr. 4a ir b veiksmus).

2. Paruoškite plokštelės rėmą su pakankamai juostelių, kad galėtumėte ištirti reikiamą kalibratorių, kontrolinių elementų ir mėginių skaičių. Nuimkite perteklines juosteles nuo rėmo ir nedelsdami vėl įdėkite į folijos maišelį su sausiklio pakuotėmis. Laikykite šaldytuve.

*Pastaba: 3-9 žingsniuose naudokite šaltus reagentus.*

3. Du kartus išplaukite šulinėlius, naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto! (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštę ant sugeriančio popieriaus, kad visiškai pašalintumėte likusį skystį.



*Pastaba: nedelsdami pereikite prie kitų veiksmų.*

- 4a. Pipete įlašinkite 100 µL kalibratoriaus į duobutę A1 (žr. 1A pav., 1 variantui, arba 1B pav., 2 variantui).
- 4b. Į šulinėlį B1 pipete įpilkite 100 µL vidutinės kontrolinės medžiagos, į A2 šulinėlį žemos kontrolės ir neigiamos kontrolinės medžiagos į šulinėlį B2 (žr. 1A arba 1B pav.).

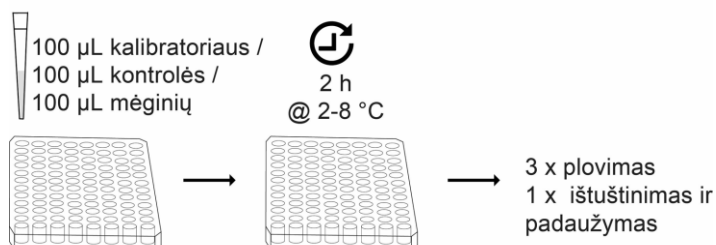
*Pastaba dėl 1 varianto: Jei naudojamos daugiau nei trys juostelės per paleidimą, kalibratorius ir kontroliniai elementai gali būti bandomi dviem egzemplioriais (žr. 1A pav.).*

*Pastaba dėl 2 varianto: IgG ir IgM izotipams kalibratorius ir kontroliniai elementai turi būti paleisti atskirai (žr. 1B pav.).*

- 4c. 100 µL praskiesto 1 mėginio pipete dozuokite į C1-H1 šulinėlius (žr. 1A arba 1B pav.).
- 4d. 100 µL praskiesto 2 mėginio pipete dozuokite į C2-H2 šulinėlius (žr. 1A arba 1B pav.).
- 4e. 100 µL praskiestų mėginių 3-24 (1 variantui) arba 3-12 (2 variantui) pipete dozuokite į kitus šulinėlius (žr. 1A arba 1B pav.).

*Pastaba dėl 2 varianto: Pakartokite 1-12 mėginių pipetavimą ta pačia tvarka į likusias duobutes, kad būtų galima atlikti tyrimą su antruoju izotipu.*

5. Uždenkite plokštę plokštelės sandarikliu ir inkubuokite 2 valandas (± 5 min.) 2-8 °C temperatūroje (plokštelės nejudinkite).
6. Nuimkite plokštelės sandariklį. Ištuštinkite duobutes ir tris kartus išplaukite, naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto! (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštelę ant sugeriančio popieriaus, kad visiškai pašalintumėte plovimo buferį.

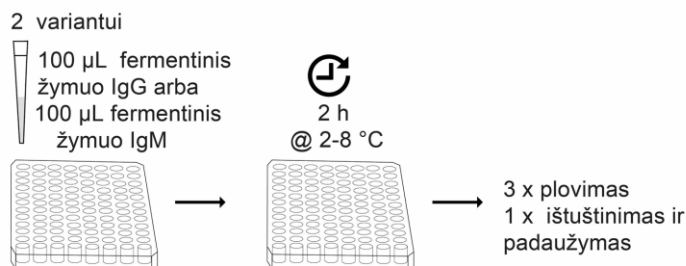
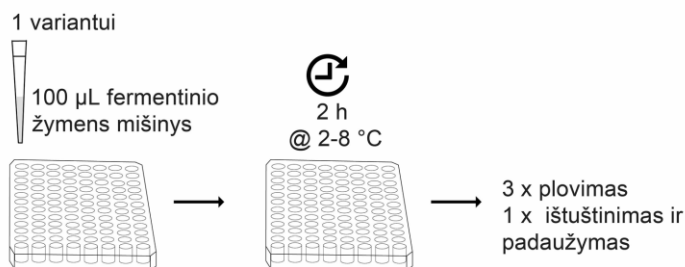


## 1 variantui: Mišinio-izotipo aptikimas

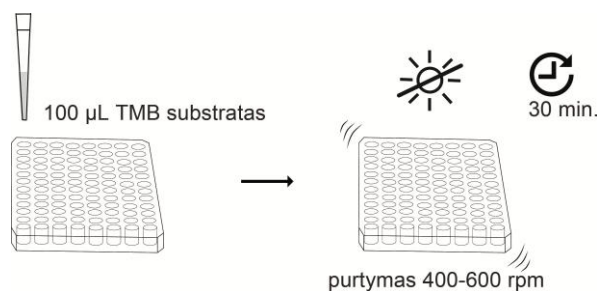
7. Į šulinėlius įpilkite 100 µL mišinio.

## 2 variantui: IgM ir IgG izotipų aptikimas

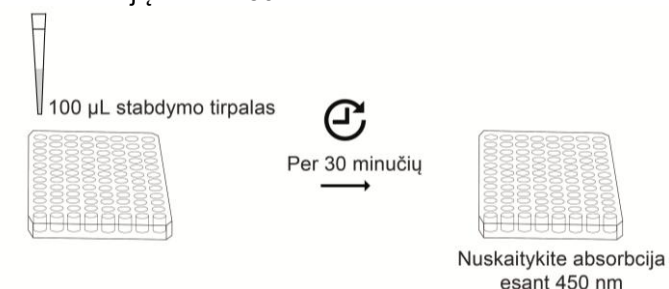
7. Į atitinkamus šulinėlius įpilkite 100 µL arba fermentinio žymens IgG arba IgM (žr. 1B pav.).
8. Uždenkite plokštę plokštelės sandarikliu ir inkubuokite 2 valandas (± 5 min.) 2-8 °C temperatūroje (plokštelės nejudinkite).
9. Nuimkite plokštelės sandariklį. Ištuštinkite duobutes ir tris kartus išplaukite, naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto! (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštelę ant sugeriančio popieriaus.



10. Į kiekvieną šulinėlį įpilkite 100 µL TMB substrato tirpalo (atšildyto iki kambario temperatūros).
11. Uždenkite plokštę plokštelės sandarikliu, apsaugokite plokštę nuo šviesos ir inkubuokite ant lėkštelės purtyklės, nustatytos 400-600 rpm., 18-28 °C temperatūroje 30 ± 2 min.



12. Į visus šulinėlius įpilkite 100 µL stop tirpalo. Pipetės antgaliu pašalinkite oro burbuliukus. Per 30 minučių pereikite prie 13 veiksmo.
13. Mikrotitravimo plokštelės skaitytuvu nuskaitykite absorbciją esant 450 nm.



## KOKYBĖS KONTROLĖ

Norint sėkmingai naudoti gaminį, būtina gerai suprasti šią naudojimo instrukciją. Patikimi rezultatai bus gauti tik naudojant tikslius laboratorinius metodus ir tiksliai laikantis šios naudojimo instrukcijos.

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA rinkinyje yra trys kontrolės: neigiama, žema ir vidutinė kontrolė. Kontrolės turi priskirtus verčių diapazonus (% Santykio), nurodytus su kiekvienu rinkiniu pateiktame KK duomenų lape. Norint gauti tinkamus rezultatus, kontroliniai matavimai turi būti nurodytose verčių intervaluose. Be rinkinio kontrolės, vidinei kokybės kontrolei rekomenduojame naudoti serumo telkinius.

Kalibratoriumi rekomenduojama minimali OD<sub>450nm</sub> vertė 1,2. Veikimo charakteristikos turi neviršyti nustatytų ribų. Jei tyrimo atlikimas neatitinka nustatytų ribų, o pakartojimas pašalina technikos klaidas, patikrinkite šias problemas: i) temperatūros kontrolę (3-9 veiksmuose naudojami reagentai laikomi 2-8 °C temperatūroje); ii) termometrų pipetavimo ir laiko matavimo prietaisų tikslumą; iii) ELISA skaitytuvo nustatymus; iv) reagentų galiojimo laikus; v) laikymo ir inkubavimo sąlygas; vi) TMB substrato tirpalo spalvą (turėtų būti bespalvė); vii) vandens grynumą; viii) įsiurbimo ir plovimo metodus.

## STANDARTIZAVIMAS IR METROLOGINIS ATSEKAMUMAS

Nėra tarptautiniu ar nacionaliniu mastu pripažintų etaloninių medžiagų ar etaloninių matavimo procedūrų antigangliozidų ar -MAG antikūnams serumo mėginiuose. BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA yra standartizuotas pagal viduje nustatytą etaloninę medžiagą. Kalibratoriaus reikšmės yra priskiriamos pagal vertės perdavimo protokolą (2 nuoroda), kad būtų užtikrintas metrologinis atsekamumas, ir nurodomos savavališkais „% Santykio“ vienetais.

Nustatyta, kad produkto kalibratorių bendros neapibrėžties 95 % pasikliautinis intervalas yra 29,3 % IgG antikūnams ir 37,6 % IgM antikūnams.

## TYRIMO REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

- Kiekvienoje duobutėje (kalibratoriaus, kontrolinės medžiagos ir mėginių) užrašykite absorbciją (OD) esant 450 nm.
- Jei buvo atlikti keli kalibravimo ir kontroliniai matavimai, apskaičiuokite verčių vidurkį.

Rezultatai išreiškiami kaip mėginių absorbcijos ir kalibratoriaus (vidutinės) absorbcijos santykis.

### Izotipų mišinys

% mėginių ar kontrolinių medžiagų absorbcija  
santykis:  $\frac{\text{mėginių ar kontrolinių medžiagų absorbcija}}{\text{kalibratoriaus absorbcija}} \times 200$

### IgG ir IgM izotipai

% mėginių ar kontrolinių medžiagų absorbcija  
santykis:  $\frac{\text{mėginių ar kontrolinių medžiagų absorbcija}}{\text{kalibratoriaus absorbcija}} \times 100$

Daugumoje mikroplokštelių skaitytuvų yra programos, skirtos rezultatams apskaičiuoti kaip % santykį.

Pastaba: 7 ir 8 lentelėse pateikti rezultatai yra pavyzdžiai ir pateikiami tik demonstravimo tikslais.

## APRIBOJIMAI

- Didelio procentinio santykio rezultatai (> 100 %) atskiriems gangliozidams gali sukelti kryžminį reaktyvumą su kitais gangliozidais tame pačiame mėginyje. Kryžminis reaktyvumas paprastai rodo didelį skirtumą tarp tyrimų. Todėl rezultatų aiškinimas turėtų būti atliekamas tik kartu su ekspertu/specialistu.
- Dėl autoimuninių antikūnų polireaktyvumo ir geografinio paplitimo skirtumų tyrimo rezultatus turėtų naudoti tik ekspertas/specialistas klinikiniam neuropatijos aiškinimui paremti, atsižvelgiant į paciento klinikinį vaizdą (3 nuoroda).
- Šis testas nebuvo patvirtintas plazmaferezei.
- Intraveniniai imunoglobulinai (IVIg) gali turėti įtakos tyrimo rezultatams.

## ATSKAITINIAI INTERVALAI IR RIBINĖ VERTĖ

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA atskaitos intervalas buvo nustatytas pagal CLSI C28-A3, naudojant 120 serumo mėginių iš savarankiškai deklaruotų sveikų asmenų. Anti-gangliozidų ir anti-MAG antikūnų pasiskirstymo dažnis normalių kraujo donorų organizme buvo suskirstytas į tirių kategorijas: neigiamas (< 30 % santykis), pilkoji zona (30-50 % santykis) ir teigiamas (> 50 % santykis). Rezultatai apibendrinti 9 lentelėje. Teigiamumo ribinė vertė yra 50 % santykis.

## REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Antigenas	IgG/IgM mišinys		
	Vertės (% santykis)		
	< 30	30-50	> 50
HNK-1	Neigiamas	Žr. anotaciją **/**	Žr. anotaciją **/**
GM1		Tirkite iš naujo vėliau	Teigiamas
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

3 lentelė

Antigenas	IgG		
	Vertės (% santykis)		
	< 30	30-50	> 50
HNK-1	Neigiamas	Žr. anotaciją *	Žr. anotaciją *
GM1		Tirkite iš naujo vėliau	Teigiamas
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

4 lentelė

Antigenas	IgM		
	Vertės (% santykis)		
	< 30	30-50	> 50
HNK-1	Neigiamas	Žr. anotaciją **	Teigiamas (žr. anotaciją**)
GM1		Tirkite iš naujo vėliau	Tegiamas
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

5 lentelė

Tyrimo rezultatai turėtų būti interpretuojami kartu su informacija, gauta iš klinikinio paciento įvertinimo ir kitų diagnostinių procedūrų.

\* MAG neuropatija dažniausiai siejama su IgM izotipo anti-MAG antikūnų buvimu (4 nuoroda).

\*\* Rezultatai nuo 30 % iki 50 % (pilka zona) arba > 50 % (teigiami) HNK-1, gauti naudojant mišinį arba fermentinį žymenį IgM, gali būti pakartotinai tiriami naudojant anti-MAG Antibodies ELISA (EK-MAG).

## VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

### Metodo palyginimas

#### BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA su anti-MAG Antibodies ELISA

Metodų palyginimo tyrimas atliktas pagal CLSI gaires EP09-A3 ir EP12-A2. Šimtas dvidešimt du (122) mėginiai buvo išmatuoti naudojant 2 BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA ir 2 anti-MAG Antibodies ELISA partijas. Buvo nustatytas diagnostinis (kappa) suderinamumas, neigiamas procentinis suderinamumas ir teigiamas suderinamumas susitarimas. Suderinamumai pateikti 10 lentelėje.

### Laboratorinis tikslumas

**Skirta antigangliozidams: 5,7 – 13,2 % CV**

**Skirta anti-MAG: 14,4 – 36,5 % CV**

Laboratorijos tikslumas buvo nustatytas pagal CLSI gairę EP05-A3, naudojant standartizuotą 20 dienų x 2 paleidimų x 2 pakartojimų tyrimo planą. Buvo ištirti trys (3) jungtiniai paciento serumo mėginiai. Rezultatai apibendrinti 11 lentelėje.

### Atkuriamumas

**Skirta antigangliozidams: 7,7 – 19,1 % CV**

**Skirta anti-MAG: 23,5 – 33,2 % CV**

Atkuriamumas buvo nustatytas pagal CLSI gairę EP05-A3, naudojant 3 prietaisus/partijas/operatorius x 5 dienas x 5 pakartojimus, kurie sudaro tyrimo planą. Buvo ištirti trys (3) jungtiniai paciento serumo mėginiai. Rezultatai apibendrinti 12 lentelėje.

**Tuščioji riba (LoB) ≤ aptikimo riba (LoD): ≤ 30 % santykis**

LoB ir LoD buvo nustatyti pagal CLSI gairę EP17-A2, naudojant neparametrinę analizę. Rezultatai apibendrinti 13 lentelėje.

### Didelės dozės “kablo” efektas

Jokių apribojimų dėl didelės dozės kablo efekto matavimo diapazonui nepastebėta.

## Kryžminis reaktyvumas

Sisteminio kryžminio reaktyvumo nepastebėta mėginiam iš pacientų, sergančių įvairiomis autoimuninėmis ligomis (14 lentelė) ir iš pacientų, sergančių kitais neurologiniais sutrikimais (15 lentelė).

## KLINIKINIS VEIKIMAS

Klinikinis efektyvumas buvo įvertintas apibendrinant recenzuojamos mokslinės literatūros analizę. Šeši (6) tyrimai buvo skirti BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA klinikiniam veikimui diagnozuojant autoimunines periferines neuropatijas (nuoroda 5-10). Analizės rezultatai ir tyrimo detalės pateikti atitinkamai 6 ir 16 lentelėse.

N periferinė neuropatija	201 (102 vaikų GBS, 14 CIDP, 44 GBS, 41 anti-MAG neuropatija)
N kontrolės	493 (104 DC, 254 NC, 135 HC)
Jautrumas (95 % CI)	68,1 % (39,6 – 87,5 %)
Specifiškumas (95 % CI)	88,0 % (72,3 – 95,3 %)
ROC AUC	0,85

6 lentelė

GBS, Guillain-Barré sindromas; DC, ne neurologinių ligų kontrolė; NC, neurologinė kontrolė; HC, sveika kontrolė; CIDP, lėtinė uždegiminė demielinizuojanti polineuropatija; CI, pasikliautinis intervalas; ROC AUC, plotas po imtuvo veikimo charakteristikos kreive

## TRUKDŽIASIOS MEDŽIAGOS

Tyrimo jautrumas geriamiems ir injekciniams vaistams, taip pat endogeninėms medžiagoms buvo įvertintas pagal CLSI gairę EP07-A3. Rezultatų paklaida  $\geq \pm 20$  % Santykis buvo laikoma trukdžiu.

Nebuvo nustatyta jokių trukdžių šioms medžiagoms iki nurodytų koncentracijų: intraveninis imunoglobulinas (20 mg/mL), rituksimabas (3 mg/mL), kladribinas (273 ng/mL), interferonas alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentinas (26,7 µg/mL), ibuprofenas (0,22 mg/mL), chlorambucilis (1,96 µg/mL), prednizonas (99 ng/mL), prednizolonas (1,2 µg/mL), reumatoidinis faktorius (2340 IU/mL), hemoglobinas (10 mg/mL), hemolizatas (10 mg/mL), trigliceridas (15 mg/mL), konjuguotas bilirubinas (20 µg/mL), nekonjuguotas bilirubinas (150 µg/mL).

## LENTELĖS IR PAVEIKSLAI

### Mikrotitravimo plokštelės nustatymas: IgG/IgM-mišinio žymuo

		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	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	CTRL Med	CTRL Neg	B
HNK-1															C
GM1															D
GT1a															E
GD1a															F
GD1b															G
GQ1b															H

12 sera IgG/ IgM Mix

1A paveikslas: ≤ 24 serumai/rinkinyje (2 MP/rinkinyje)

### Mikrotitravimo plokštelės nustatymas: IgG ir IgM žymuo

		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	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	CTRL Med	CTRL Neg	B
HNK-1															C
GM1															D
GT1a															E
GD1a															F
GD1b															G
GQ1b															H

6 sera IgG                      6 sera IgM

1B paveikslas: 2 profiliai/serume, ≤ 12 serumai/rinkinyje (2 MP/rinkinyje)

### Rezultatų pavyzdžiai

#### A IgG/IgM-mišinio žymuo

B-GCO-ELGM	Absorbicija (OD450)	Santykis [%]
Kalibratorius	2,250	
Kalibratoriaus vidurkis	2,276	200
Vidutinė kontrolė	1,834	
Vidutinės kontrolės vidurkis	1,880	164
Žema kontrolė	0,513	
Žemos kontrolės vidurkis	0,510	45
Neigiama kontrolė	0,040	
Neigiamos kontrolės vidurkis	0,041	4
Mėginys 1 HNK-1	0,299	26
Mėginys 1 GM1	0,264	23
Mėginys 1 GT1a	0,500	44
Mėginys 1 GD1a	0,200	18
Mėginys 1 GD1b	1,018	90
Mėginys 1 GQ1b	0,228	20

7 lentelė

#### B IgG ir IgM žymuo

Fermentinis žymuo	Absorbicija (OD450)		Santykis [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibratorius	2,488	2,411		
Kalibratoriaus vidurkis	2,446	2,201	100	100
Vidutinė kontrolė	1,879	1,734		
Vidutinės kontrolės vidurkis	1,987	1,818	78	77
Žema kontrolė	0,452	0,501		
Žemos kontrolės vidurkis	0,716	0,609	24	24
Neigiama kontrolė	0,045	0,048		
Neigiamos kontrolės vidurkis	0,037	0,042	2	2
Mėginys 1 HNK-1	0,423	0,621	17	27
Mėginys 1 GM1	2,001	2,102	81	91
Mėginys 1 GT1a	0,521	0,237	21	10
Mėginys 1 GD1a	1,984	0,821	80	36
Mėginys 1 GD1b	0,473	1,923	19	83
Mėginys 1 GQ1b	0,094	0,911	4	40

8 lentelė

## LENTELĖS IR PAVEIKSLAI

### Atskaitos intervalas

Analitė	% normalių kraujo donorų kategorijose			Atskaitos riba (90 % CI)
	< 30 % santy- kis	30 - 50 % santy- kis	> 50 % santy- kis	
anti-MAG IgG	96,7	2,5	0,8	25 (15,7 - 39,5)
anti-MAG IgM	99,2	0,8	0,0	20 (18,6 - 28,4)
anti-MAG IgGM	86,7	10,0	3,3	44 (34,8 - 52,9)
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-GT1a IgG	90,0	6,7	3,3	44 (35,9 - 113,1)
anti-GT1a IgM	97,5	2,5	0,0	16 (10,3 - 31,8)
anti-GT1a IgGM	85,0	10,0	5,0	50 (42,4 - 140,3)
anti-GD1a IgG	91,7	5,0	3,3	42 (26,2 - 108,2)
anti-GD1a IgM	100,0	0,0	0,0	8 (6,6 - 12,4) <sup>F</sup> 18 (6,6 - 24,3) <sup>M</sup>
anti-GD1a IgGM	88,3	5,8	5,8	53 (35,0 - 118,7)
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 moterų pogrupis. M vyrų pogrupis

9 lentelė

### Anti-MAG antikūnų palyginimo metodai

Apibūdinimas	N	Kappa agreement		NPA		PPA	
		Vertė	95 % CI	Vertė	95 % CI	Vertė	95 % CI
EK-GCM IgM su EK-MAG	122	0,88	0,80 - 0,97	100,0 %	94,6% - 100,0%	87,5%	75,9% - 94,8%
EK-GCM IgG/IgM mišinys su EK-MAG	122	0,87	0,78 - 0,96	97,0%	89,5% - 99,6%	89,3%	78,1% - 96,0%

10 lentelė

NPA: neigiamas procentinis suderinamumas

PPA: teigiamas procentinis suderinamumas

CI: patikimumo intervalas

### Laboratorinis tikslumas

Mėginio aprašymas			Laboratorinis tikslumas			
Analitė	Fermento etiketė (izotipas)	Numatyta kategorija [% santykis]	N	Vidurkis [% santykis]	SD [% santykis]	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
anti-MAG Ab	IgM	30-50	80	34	6,3	18,7
		> 50	80	72	10,4	14,4
	IgGM	30-50	80	27	9,6	35,3
		> 50	80	51	18,8	36,5

11 lentelė

### Atkuriamumas

Mėginio aprašymas			Atkuriamumas			
Analitė	Fermento etiketė (izotipas)	Numatyta kategorija [% santykis]	N	Vidurkis [% santykis]	SD [% santykis]	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
anti-MAG Ab	IgM	30-50	75	43	14,3	33,2
		> 50	75	98	23,1	23,5
	IgGM	30-50	75	42	10,6	25,0
		> 50	75	97	27,2	28,0

12 lentelė

### LoD ir LoB

Analitė	LoB [% santykis]	LoD [% santykis]
Anti-GM1 IgM Ab	5	21
Anti-GM1 IgG Ab	6	15
Anti-MAG IgM Ab	12	26
Anti-MAG IgG/IgM mišinys Ab	14	27
Anti-GQ1b IgM Ab	3	17
Anti-GQ1b IgG Ab	8	18

13 lentelė

### Kryžminis reaktyvumas

Priskirtas antikūnas	Diagnozė	#
Anti-neutrofilų citoplazminis antikūnas (ANCA)	Vaskulitas	3
	Kiti (ANCA teigiami pavyzdžiai)	10
Antibranduoliniai antikūnai (ANA)	Sisteminė raudonoji vilkligė	5
	Reumatoidinis artritas	9
	Sjogreno sindromas	6
	Kiti (ANA teigiami mėginiai)	3
Antikūnai prieš tiroglobulinus (anti-Tg)	Autoimuninis tiroiditas	5
Antikūnai prieš ribonukleoproteinus	Mišri jungiamojo audinio liga	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimuninės periferinės neuropatijos	1
Antikūnai prieš acetilcholiną ir specifinę tirozino kinazę	Myasthenia gravis	7

14 lentelė

Periferinės neuropatijos	#
Alkoholikas	1
Diabetikas	5
Periferinės neuropatijos imitacijos sutrikimai	#
Amiotrofinė lateralinė sklerozė (ALS)	15
Sarkoidozė	4
Waldenstrom makroglobulinemija (WM)	4
Chagaso liga	5

15 lentelė

## LENTELĖS IR PAVEIKSLAI

### Klinikinis veikimas

Tyrimas	Teigiamos kontrolės (atvejai)	Neigiamos kontrolės	Epitopas	Jautrumas	Specifiškumas
Hashemilar et al., 2014	Pediatriinis GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Pediatriinis GBS (n = 57)	NC (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		DC (n = 35)			0,83
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)			0,95
Spatola et al., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97
Delmont et al., 2019	MAG-neuropatija (n = 41)	NC (n = 112) HC (n = 6)	HNK-1 (MAG)	0,98	0,99

16 lentelė

GBS, Guillain-Barré sindromas; DC, ne neurologinių ligų kontrolė; NC, neurologinė kontrolė; HC, sveika kontrolė; MFS, Miller Fisher sindromas; CIDP, lėtinė uždegiminė demielinizuojanti polineuropatija

## TRUMPAS PROTOKOLAS

Svarbu: trumpas protokolai nepakeičia išsamos informacijos, pateiktos šioje naudojimo instrukcijoje.

### Prieš tyrimo dieną

#### Plovimo buferio paruošimas

Praskieskite plovimo buferio koncentratą santykiu 1:10 dejonizuotu vandeniu

Rekomendacija: paruoškite plovimo buferį dieną prieš tyrimą ir per naktį laikykite šaldytuve.

### Tyrimo diena

#### Mėginių/kontrolių/kalibratorių paruošimas

Serumo mėginius praskiesti 1:50 (šaltu!) inkubaciniu buferiniu tirpalu ir gerai sumaišyti kratant

Atkurti kontrolę ir kalibratorių

palikite 30 minučių 2-8 °C temperatūroje

## BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA

Iš anksto padengta mikrotitravimo plokštelė

plaukite 2 x su  $\geq 300 \mu\text{L}$  (šaltu!) plovimo buferiu

100  $\mu\text{L}$  kalibratoriaus, kontrolių ar serumo mėginiai (1:50)

inkubuokite 2 valandas ( $\pm 5$  min) esant 2-8 °C  
plaukite 3 x su  $\geq 300 \mu\text{L}$  (šaltu!) plovimo buferiu

pridėkite 100  $\mu\text{L}$  fermentinio (-ių) žymens (-ų)

inkubuokite 2 valandas ( $\pm 5$  min) esant 2-8 °C  
plaukite 3 x su  $\geq 300 \mu\text{L}$  (šaltu!) plovimo buferiu

pridėkite 100  $\mu\text{L}$  TMB substrato (aplinkos temperatūros)!

inkubuokite 30 min ( $\pm 2$  min) esant 18-28 °C ant plokštelės purtyklės ~400-600 rpm.

pridėkite 100  $\mu\text{L}$  stabdymo tirpalo (aplinkos temperatūros)!

Nuskaitykite absorbciją esant 450 nm (per 30 minučių)

**LAIKAS IKI REZULTATO: 5 VALANDOS**

---

## NUORODOS

1. Herrendorff, R. et al. Selective in vivo removal of pathogenic anti-MAG autoantibodies, an antigen-specific treatment option for anti-MAG neuropathy. *PNAS* **114**(18), E3689-E3698 (2017).
2. 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).
3. Bourque, P. R. et al. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clinica Chimica Acta* **449**, 37–42 (2015).
4. Steck, A. J. Anti-MAG neuropathy: From biology to clinical management. *J. Neuroimmunology* **361** (2021).
5. Hashemilar, M. et al. Evaluating the status of antiganglioside antibodies in children with Guillain-Barré syndrome. *Neuroimmunomodulation* **21**, 64–68 (2013).
6. 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).
7. 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).
8. Spatola, M., Du Pasquier, R., Schluep, M. & Regeniter, A. Serum and CSF GQ1b antibodies in isolated ophthalmologic syndromes. *Neurology* **86**, 1780–1784 (2016).
9. Khandelwal, D. et al. IgM anti-GM1 antibody titers in patients with monomelic amyotrophy. *Neurol. India* **54**, 399–401 (2006).
10. Delmont, E. et al. Relevance of anti-HNK1 antibodies in the management of anti-MAG neuropathies. *J. Neurol.* **266**, 1973–1979 (2019).

---

## PAKEITIMAI

Data	Versija	Pakeitimas
2026-05-04	A3	Numatomos paskirties tikslinimas, pridodant informaciją apie tyrimo automatizavimą, tiriamąją populiaciją ir numatytą naudotoją. Skyrių <i>Mėginių ėmimas ir sandėliavimas</i> ir <i>Trumpas protokolai</i> atnaujinimas. Elektroninės naudojimo instrukcijos ženklo atnaujinimas pirmame puslapyje ir susijusi informacija skyriuje <i>Simboliai</i> (taikyti tik anglų kalbos dokumentų versijai)

---

## PRANEŠIMAS APIE ĮVYKIUS ES VALSTYBĖSE NARĖSE

Jei įvyko koks nors rimtas incidentas, susijęs su šiuo įrenginiu, nedelsdami praneškite gamintojui ir savo valstybės narės kompetentingai institucijai.

---

## PRISTATYMO ŽALA

Praneškite savo platintojui, jei gavote sugadintą produktą.

## SIMBOLIAI

BÜHLMANN naudoja simbolius ir ženklus, išvardytus ir aprašytus ISO 15223-1.

Apibrėžimas Simbolių žodynėlyje žr. nuoroda: [www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/](http://www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/)

Taip pat naudojami šie simboliai ir ženklai:

Simbolis	Paaiškinimas
MP	Mikrotitro plokštelė
BUF WASH 10X	Plovimo buferio koncentratas (10x)
BUF INC	Inkubavimo buferis
CAL	Kalibratorius
CONTROL -	Neigiama kontrolė
CONTROL L	Žema kontrolė
CONTROL M	Vidutinė kontrolė
EL IgG	Fermentinis žymuo IgG
EL IgM	Fermentinis žymuo IgM
EL MIX	Fermentinis žymuo IgG/IgM mišinys
SUBS TMB	TMB substratas
SOLN STOP	Stop tirpalas

