



BÜHLMANN GanglioCombi[®] MAG ELISA

ar enzīmu marķieriem IgG/IgM Mix, IgG un IgM

Anti-gangliozīdu un -MAG antivielu
noteikšana ar ELISA
(HNK-1 ("MAG"), GM1, GT1a, GD1a, GD1b un GQ1b)

In vitro diagnostikai

EK-GCM 2 x 96 testi

Publicēšanas datums: 2026-05-04
Versija A3



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

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA ir *in vitro* diagnostiskais tests, kas paredzēts IgG un/vai IgM antivielu pret atsevišķiem neirālajiem antigēniem/epitopiem puskvantitatīvai noteikšanai seruma paraugos, kas paņemti no pacientiem, par kuriem ir aizdomas, ka viņiem ir, vai kuriem ir diagnosticētas autoimūnas perifēriskas neiro-pātijas. Testa rezultātus var izmantot, lai kopā ar citām klīniskajām un laboratoriskajām atradēm pamatotu autoimūnu perifērisku neiro-pātiju diagnosticēšanu. 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 neiro-pātiju.
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® MAG ELISA ļauj noteikt gangliozīdu un ar mielīnu saistīto glikoproteīna (MAG) antivielas serumā. Mikrotitrēšanas plate ir pārklāta ar gangliozīdiem: GM1, GT1a, GD1a, GD1b, GQ1b un ķīmiski sintezētu MAG glikoproteīna HNK-1 epitopu (1. atsaucē).

Mikrotitrēšanas plates iedobēs pievieno pacientu serumus, kontroles un kalibratoru. Pēc 2 stundu inkubācijas 2-8 °C temperatūrā un mazgāšanas posmiem ar mērutku peroksīdāzi (HRP) konjugētās noteikšanas antivielas (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgG, anti-IgM) nosaka antigangliozīdu un/vai anti-MAG antivielas, kas ir piesaistītas imobilizētajiem gangliozīdiem vai HNK-1 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 pārklāts ar gangliozīdiem un HNK-1	2 x 12 x 8 iedobes sloksnes ar rāmi	B-GCM-MP	Gatavs lietošanai
Plašu hermētiķis	6 gabali		
Mazgāšanas buferšķīdums koncentrāts (10x) ar konservantiem	2 pudeles 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
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	2 flakoni x 11 mL	B-GCO-ELGM	Gatavs lietošanai
Enzīma marķieris IgG anti-cilvēka IgG anti-veids, 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-veids, kas konjugēta ar HRP bufera matricā ar konservantiem	1 flakons x 11 mL	B-GCO-ELM	Gatavs lietošanai
TMB substrāts TMB citrāta buferšķīdumā	2 flakoni x 11 mL	B-TMB	Gatavs lietošanai
Stop šķīdums 0.25 M sērskābe	2 flakoni x 11 mL	B-STC	Gatavs lietošanai Korozīvs līdzeklis

¹ 1. tabula
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

- 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).
- Izvaiieties 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: 3.-9. 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.
- Pārliecinieties, 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 apgriezīenu 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 PAŅEMŠANA 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.

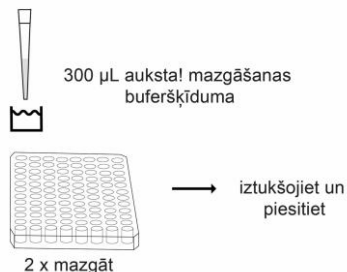
Piezīme: TMB substrāta šķīdumu uzsildīt līdz istabas temperatūrai (18-28 °C).

1. Atšķaidiet paraugus 1:50 ar inkubācijas buferšķīdumu. Izmantojiet, piemēram, 20 µL seruma + 980 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).

- Sagatavojiēt plates rāmi ar pietiekamu joslu skaitu, lai testētu vajadzīgo skaitu kalibratoru, kontroļu un paraugu. Noņemiet liekās joslas no rāmīša un nekavējoties ievietojiet to atpakaļ folijas maisiņā kopā ar desikanta iepakojumiem. Uzglabāt ledusskapī.

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

- 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 šķīdumu.



Piezīme: Nekavējoties pārejiet uz nākamajiem soļiem.

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

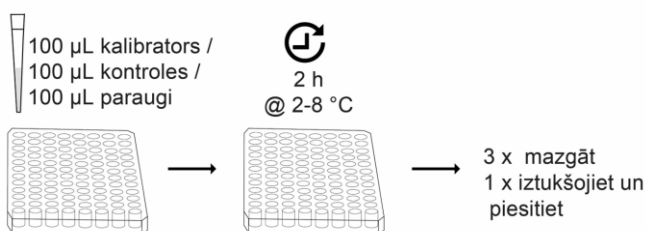
Piezīme 1. variantam: Ja vienā piegājienā izmanto vairāk nekā trīs joslas, kalibrētāju un kontroles var testēt dubultā (skatīt 1A attēlu).

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

- Ar pipeti iepilniet 100 µL atšķaidīta 1. parauga iedobēs C1-H1 (skatīt 1A vai 1B attēlu).
- Ar pipeti iepilniet 100 µL atšķaidīta 2. parauga iedobēs C2-H2 (skatīt 1A vai 1B attēlu).
- Ar pipeti iepilniet 100 µL atšķaidītu paraugu 3-24 (1. variantam) vai 3-12 (2. variantam) nākamajās iedobēs (skatīt 1A vai 1B attēlu).

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

- Pārklājiet plati ar plākšņu hermētiķi un inkubējiet 2 stundas (± 5 min) 2-8 °C temperatūrā (plate nedrīkst kratīt).
- 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.

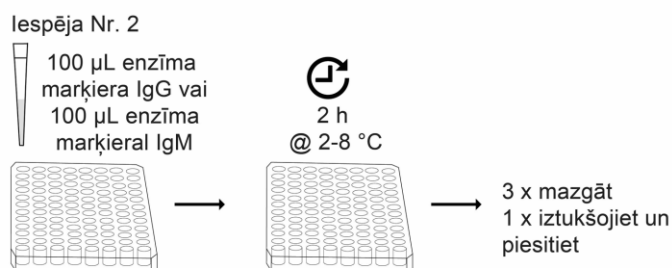
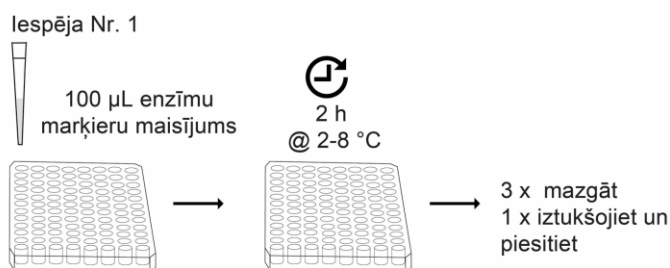


Iespēja Nr. 1: jaukta izotipa noteikšana

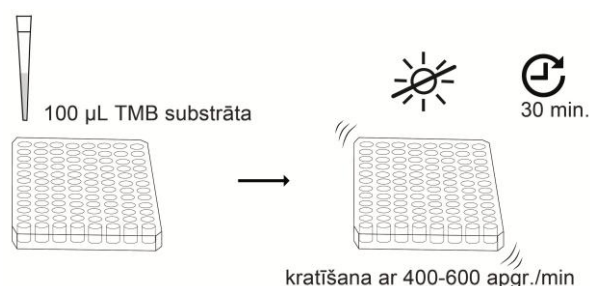
- Pievienojiet iedobēs 100 µL maisījuma.

Iespēja Nr. 2: IgG vai IgM izotipu noteikšana

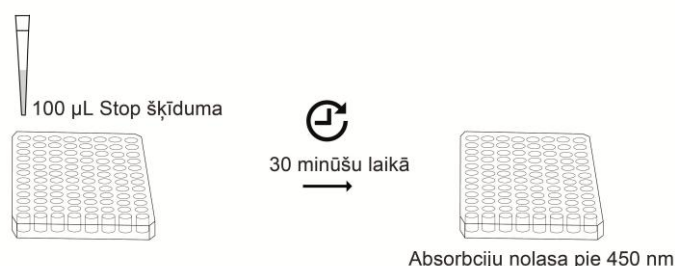
- Attiecīgajās iedobēs pievieno 100 µL vai nu ar enzīmu marķieri IgG, vai IgM (skatīt 1B attēlu).
- Pārklājiet plati ar plates hermētiķi un inkubējiet 2 stundas (± 5 min) 2-8 °C temperatūrā (plati nedrīkst kratīt).
- Noņemiet plates hermētiķi. Iztukšojiet iedobes un mazgājiet trīs reizes, izmantojot vismaz 300 µL auksta! (2-8 °C) skalošanas buferšķīduma uz iedobi. Iztukšojiet iedobes un stingri piesitiet plāksnīti pie blotēšanas papīra.



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



- Visās iedobēs pievieno 100 µL Stop šķīduma. Noņemiet gaisa burbuļus ar pipetes uzgali. Pārejiet uz 13. posmu 30 minūšu laikā.
- 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® MAG 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 terminus; 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 references materiālu vai references mērīšanas procedūru antigangliozīda vai -MAG antivielu noteikšanai seruma paraugos. BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA ir standartizēts attiecībā pret iekšēji noteiktu references materiālu. Kalibrēšanas vērtības tiek piešķirtas saskaņā ar vērtību pārneses protokolu (2. atsauce), 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: 7. un 8. 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 neiropātijas klīniskai interpretācijai, ko veic eksperts/speciālists kopā ar pacienta klīnisko ainu (3. atsauce).
- Šis tests nav apstiprināts plazmaferēzei.
- Intravenozi ievadīti imūnglobulīni (IVIg) var ietekmēt testa rezultātus.

ATSAUCES INTERVĀLI UN ROBEŽVĒRTĪBAS

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA atsaucis intervāls tika noteikts saskaņā ar CLSI C28-A3, izmantojot 120 seruma paraugus, kas iegūti no cilvēkiem, kas sevi atzinuši par veselīgiem. Antigangliozīdu un anti-MAG-antivielas normāliem asins donoriem tika klasificētas titru kategorijās: negatīvs (< 30 % attiecība), pelēkā zona (30-50 % attiecība) un pozitīva (> 50 % attiecība). Rezultāti ir apkopoti 9. tabulā. Pozitīvā testa robežvērtība ir 50 % attiecība.

REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA

Antigēns	IgG/IgM maisījums		
	Vērtības (% attiecība)		
	< 30	30-50	> 50
HNK-1	Negatīvs	Skatīt anotāciju */**	Skatīt anotāciju */**
GM1		Atkārtot testu vēlāk	Pozitīvs
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

3. tabula

Antigēns	IgG		
	Vērtības (% attiecība)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negatīvs	Skatīt anotāciju *	Skatīt anotāciju *
GM1		Atkārtot testu vēlāk	Pozitīvs
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

4. tabula

Antigēns	IgM		
	Vērtības (% attiecība)		
	< 30	30-50	> 50
HNK-1	Negatīvs	Skatīt anotāciju **	Pozitīvs (skatīt anotāciju **)
GM1		Atkārtot testu vēlāk	Pozitīvs
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

5. tabula

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

* MAG neiropātija parasti ir saistīta ar IgM izotipa anti-MAG antivielu klātbūtni (4. atsauce).

** HNK-1 rezultātus starp 30 % un 50 % (pelēkā zona) vai > 50 % (pozitīvi), kas iegūti ar maisījumu vai enzīma marķieri IgM, var atkārtoti pārbaudīt ar anti-MAG Antibodies ELISA (EK-MAG).

VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS

Metožu salīdzinājums

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA salīdzinājumā ar anti-MAG Antibodies ELISA

Metožu salīdzināšanas pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI vadlīnijām EP09-A3 un EP12-A2. Izmantojot 2 partijas BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA un 2 partijas anti-MAG Antibodies ELISA, tika izmērīti simts divdesmit divi (122) paraugi. Tika noteikta diagnostiskā (kappa) atbilstība, negatīvā procentuālā atbilstība un pozitīvā procentuālā atbilstība. Atbilstības ir atspoguļotas 10. tabulā.

Precizitāte laboratorijas ietvaros

Antigangliozīdiem: 5,7 – 13,2 % CV

Anti-MAG: 14,4 – 36,5 % CV

Precizitāte laboratorijas ietvaros tika noteikta saskaņā ar CLSI vadlīnijām EP05-A3, izmantojot standartizētu 20 dienas x 2 mēģinājumi x 2 atkārtējumi pētījuma plānu. Tika testēti trīs (3) apvienoti pacientu seruma paraugi. Rezultāti apkopoti 11. tabulā.

Atkārtotamība

Antigangliozīdiem: 7,7 – 19,1 % CV

Anti-MAG: 23,5 – 33,2 % CV

Reproducējamība tika noteikta saskaņā ar CLSI vadlīnijām EP05-A3, izmantojot pētījuma plānu 3 instrumenti/partijas/operators x 5 dienas x 5 atkārtējumi. Tika testēti trīs (3) apvienoti pacientu seruma paraugi. Rezultāti apkopoti 12. 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 13. 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 (14. tabula) un pacientiem ar citiem neiroloģiskiem traucējumiem (15. tabula), netika novērota sistemātiska savstarpēja reaktivitāte.

KLĪNISKAS SNIEGUMS

Klīniskā snieguma novērtējums tika veikts, apkopojot recenzētas zinātniskās literatūras analīzi. Sešos (6) pētījumos tika aplūkota BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA klīniskā veikspēja autoimūno perifēro neiropātiju diagnostikā (5.-10. atsauce). Analīzes rezultāti un sīkāka informācija par pētījumiem ir sniegta attiecīgi 6. tabulā un 16. tabulā.

N perifērā neiropātija	201 (102 bērnu GBS, 14 CIDP, 44 GBS, 41 anti-MAG neiropātija)
N kontroles	493 (104 DC, 254 NC, 135 HC)
Jutīgums (95% CI)	68,1 % (39,6 – 87,5 %)
Specifiskums (95% CI)	88,0 % (72,3 – 95,3 %)
ROC AUC	0,85

6. tabula

GBS, Guillain-Barré sindroms; DC, ne neiroloģiska slimības kontrole; NC, neiroloģiska kontrole; HC, veselīga kontrole; CIDP, hroniska iekaisuma demielinizējoša polineuropātija; CI, ticamības intervāls; ROC AUC, laukums zem uztvērēja darbības raksturliņķnes.

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), hemolīzāts (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	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 attēls: ≤ 24 serumi/komplekts (2 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	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 attēls: 2 profili/serums, ≤ 12 serumu/komplekts (2 MP/komplekts)

Rezultātu piemērs

A IgG/IgM maisījuma marķieris

B-GCO-ELGM	Absorbciņa (OD450)	Attiecība [%]
Kalibrators	2,250	
Kalibrators vidējā vērtība	2,276	200
Vidējā kontrole	1,834	
Vidēja kontrole vidējā vērtība	1,880	164
Zemā kontrole	0,513	
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,510	45
Negatīvā kontrole	0,040	
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,041	4
1 paraugs HNK-1	0,299	26
1 paraugs GM1	0,264	23
1 paraugs GT1a	0,500	44
1 paraugs GD1a	0,200	18
1 paraugs GD1b	1,018	90
1 paraugs GQ1b	0,228	20

7. tabula

B IgG un IgM marķieri

Enzīmu marķieris	Absorbciņa (OD450)		Attiecība [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrators	2,488	2,411		
Kalibrators vidējā vērtība	2,446	2,201	100	100
Vidējā kontrole	1,879	1,734		
Vidēja kontrole vidējā vērtība	1,987	1,818	78	77
Zemā kontrole	0,452	0,501		
Zemā kontrole vidējā vērtība	0,716	0,609	24	24
Negatīvā kontrole	0,045	0,048		
Negatīvā kontrole vidējā vērtība	0,037	0,042	2	2
1 paraugs HNK-1	0,041	0,045		
1 paraugs HNK-1	0,423	0,621	17	27
1 paraugs GM1	2,001	2,102	81	91
1 paraugs GT1a	0,521	0,237	21	10
1 paraugs GD1a	1,984	0,821	80	36
1 paraugs GD1b	0,473	1,923	19	83
1 paraugs GQ1b	0,094	0,911	4	40

8. tabula

TABULAS UN ATTĒLI

Klīniskais sniegums

Pētījums	Pozitīvās kontroles (gadījumi)	Negatīvās kontroles	Epitops	Sensitivitāte	Specifiskums
Hashemil ar u.c., 2014	Pediatrijas GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma u.c., 2011	Pediatrijas GBS (n = 57)	NC (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		DC (n = 35)			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)	GM1	0,30	0,93
		HC (n = 110)			0,95
Spatola u.c., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97
Delmont u.c., 2019	MAG-neiropātija (n = 41)	NC (n = 112) HC (n = 6)	HNK-1 (MAG)	0,98	0,99

16. tabula

GBS, Guillain-Barré sindroms; DC, ne neiroloģiska 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)

Sagatavojiet kontrolmateriālus un kalibratoru

atstājiet 30 minūtes temperatūrā 2-8 °C

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG 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 3 x 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. 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).

IZMAIŅU ŽURNĀLS

Datums	Versija	Izmaiņas
2026-05-04	A3	Paredzētā lietojuma precizēšana, pievienojot informāciju par testēšanas automatizāciju, testēšanas populāciju un paredzēto lietotāju. Atjauninājumi nodaļās <i>Paraugu paņemšana un uzglabāšana</i> un <i>Īss protokols</i> . eIFU simbola titullapā un saistītās informācijas nodaļā <i>Simboli</i> atjauninājums (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

