# Anti-GM1 Antibodies ELISA

## com marcadores enzimáticos de IgG e IgM

## Detecção de anticorpos antigangliósido M1 por ELISA

(GM1)

Para uso em diagnósticos *in vitro*

EK-GM1-GM 96 testes

Data de lançamento: 2023-08-17
Versão A2

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

# PORTUGUÊS

## USO PRETENDIDO

O anti-GM1 Antibodies ELISA é um teste de diagnóstico *in vitro* para a determinação semiquantitativa de anticorpos IgG e/ou IgM contra antígenos/epítopos neurais GM1 em amostras de soro. Os resultados do teste podem ser usados para respaldar o diagnóstico de neuropatias periféricas autoimunes, em conjunção com outros resultados clínicos e laboratoriais.
Somente para uso laboratorial.

## PRINCÍPIO DO ENSAIO

O anti-GM1 Antibodies ELISA permite a medição de anticorpos contra GM1 (gangliosídeo M1) no soro. A placa de microtitulação é revestida com gangliosídeos: GM1.
O soro dos pacientes, controles e o calibrador são adicionados aos poços da placa de microtitulação. Depois de 2 horas de incubação a 2-8 °C e de etapas de lavagem, anticorpos de detecção (anti-IgG, e anti-IgM) conjugados a uma peroxidase de raiz forte (HRP), detectam os anticorpos anti-GM1 ligados aos gangliosídeos GM1 imobilizados na placa. Depois de mais 2 horas de incubação e de etapas adicionais de lavagem, o substrato cromogênico da HRP, tetrametilbenzidina (TMB), é adicionado (formação da cor azul), seguido de uma solução de parada (mudança para a cor amarela). A absorção é medida a 450 nm.
A absorbância medida é proporcional ao título dos anticorpos antiGM1 presentes em uma determinada amostra. Os títulos dos anticorpos são expressos como Relações percentuais (%) do calibrador e podem receber categorias de títulos (negativo, zona cinza e positivo).

## REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

| Reagentes | Quantidade | Código | Reconstituição |
|---|---|---|---|
| **Placa de microtitulação** pré-revestida com GM1 | 12 tiras x 8 poços com suporte | B-GM1-MP | Pronto para utilização |
| **Selador da placa** | 3 unidades | | |
| **Concentrado do tampão de lavagem (10x)** com conservantes | 2 frascos x 100 mL | B-GCO-WB | Diluir com 900mL de água deionizada |
| **Tampão de incubação** com conservantes | 1 frasco x 100 mL | B-GCO-IB | Pronto para utilização |
| **Calibrador** liofilizados, com conservantes | 1 frasco | B-GCO-CA | Adicionar 1,5 mL de tampão de incubação |
| **Controle negativo, baixo e medio**[1] liofilizados, com conservantes | 3 frascos | B-GCO-CONSET | Adicionar 1,5 mL de tampão de incubação |
| **Marcador enzimático IgG** Anticorpo anti-IgG humano conjugado à HRP em uma matriz de tampão com conservantes | 1 frasco x 11 mL | B-GCO-ELG | Pronto para utilização |
| **Marcador enzimático IgM** Anticorpo anti-IgM humano conjugado à HRP em uma matriz de tampão com conservantes | 1 frasco x 11 mL | B-GCO-ELM | Pronto para utilização |
| **Substrato de TMB** TMB em tampão de citrato | 1 frasco x 11 mL | B-TMB | Pronto para utilização |
| **Solução de parada** Ácido sulfúrico 0,25 M | 1 frasco x 11 mL | B-STS | Pronto para utilização **Agente corrosivo** |

Tabela 1

[1] Os controles contêm níveis de anticorpos antiGM1 específicos a cada lote. Consulte a folha de dados de CQ adicional para obter a DO média e Relação % reais.

## ARMAZENAMENTO PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

| **Reagentes selados / não abertos** | |
|---|---|
| Guarde a uma temperatura na faixa de 2–8 °C. Não use os reagentes depois da data de validade impressa nos rótulos. | |
| **Reagentes abertos / reconstituídos** | |
| Placa de microtitulação | Retorne imediatamente as tiras não usadas para a embalagem aluminizada contendo os sachês de dessecante e torne a selar ao longo de toda a borda do fecho tipo zip. Guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2–8 °C. |
| Tampão de lavagem diluído | Guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2–8 °C. |
| Tampão de incubação | |
| Marcadores enzimático | |
| Substrato de TMB | |
| Calibrador | |
| Controles | |
| Solução de parada | Guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 18-28 °C. |

Tabela 1

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Pipetas de precisão com ponteiras descartáveis: pipetas de 10 µL, 20 µL, 100 µL e 1000 µL
- Tubos descartáveis de poliestireno ou polipropileno para a preparação de diluições de amostras.
- Cilindro de 1000 mL para a diluição do tampão de lavagem
- Lavador para a placa de microtitulação
- Papel mata-borrão
- Agitador da placa de microtitulação
- Leitor de placa de microtitulação para medição da absorbância a 450 nm

## ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

### Precauções de segurança

- O calibrador e controles deste kit contêm componentes de origem humana. Embora testados negativos para HBV, HCV e HIV1/2, os reagentes devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções, sempre de acordo com Boas Práticas Laboratoriais (BPL) e usando-se as precauções apropriadas.

- Este kit contém componentes classificados de acordo com a Regulamentação (CE) n.º 1272/2008:
  - A solução de parada contém ácido sulfúrico (conc. 2,5–5%), portanto, os reagentes podem provocar irritação da pele (H315) e irritação ocular grave (H319), e podem ser corrosivos para metais (H290).
  - O calibrador, os controles e os marcadores enzimáticos contêm cloridrato de 2-metil-4-isotioazolin-3-ona (conc. ≥ 0,0015%), portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas na pele (H317).
  - O tampão de incubação e o tampão de lavagem contêm sulfato de gentamicina, portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas da pele (H317).
- Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com quantidades abundantes de água; caso contrário, irritação ou queimaduras poderão ocorrer.
- Os reagentes e compostos químicos devem ser tratados como resíduos perigosos, em conformidade com as diretrizes ou regulamentações nacionais de segurança de riscos biológicos.

**Precauções técnicas**

- Leia atenciosamente as instruções antes de executar o teste. O desempenho dos testes será afetado negativamente se os reagentes forem diluídos incorretamente, modificados, ou armazenados em condições diferentes daquelas detalhadas nestas instruções de uso.

**Procedimento ELISA**

**Temperatura dos reagentes**

- Prepare os reagentes antes de iniciar o procedimento de teste. Etapas 3–9: Os reagentes utilizados nas etapas 3–9 devem estar frios (2–8 ˚C) e devem ser mantidos frios durante a pipetagem e lavagem. Recomendação: Prepare o tampão de lavagem no dia anterior à execução do teste e deixe-o no refrigerador a noite toda.
- Todas etapas de lavagem devem ser realizadas com o tampão de lavagem frio (2–8 ˚C).
- Deixe que o substrato de TMB e a solução de parada atinjam a temperatura ambiente (18–28 °C) no início do procedimento de teste.

**Etapas de lavagem**

- As etapas de lavagem 3, 6 e 9 são fundamentais para a remoção de resíduos gerados pelo processo de produção e/ou anticorpos potencialmente não ligados dos poços.
- Recomenda-se enfaticamente usar um lavador automático operando no “modo de placa”, i.e., cada etapa do processo (distribuição / aspiração) é executada em todas as tiras sequencialmente, antes que o instrumento passe para o próximo ciclo de lavagem.
- Certifique-se de que todos os poços estão completamente vazios depois do último ciclo de lavagem.

**Incubação do substrato**

- Etapa 11: Agite as placas de microtitulação durante a incubação com o substrato. Dependendo do modelo do agitador de placas, recomendamos 400–600 rpm. A solução deve se movimentar nos poços, mas sem derramar.

**Componentes do kit**

- Os componentes não devem ser usados depois da data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes diferentes de reagentes.
- Todas as providências devem ser tomadas para assegurar que não ocorra contaminação cruzada entre os reagentes, amostras ou entre poços.
- Os micropoços não podem ser reutilizados.

## COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

O procedimento requer menos de 0,1 mL de sangue ou menos de 50 µL de soro, respectivamente.

Colete o sangue em tubos simples para venopunção sem nenhum aditivo, e evite a hemólise. Execute a preparação do soro de acordo com as instruções do fabricante. Decante o soro.

As amostras de soro podem ser armazenadas a 2-8 °C por até oito semanas, a 28 °C por até uma semana, e a -20 °C ou abaixo por 16 semanas. As amostras congeladas devem ser descongeladas e misturadas bem por meio de movimentos circulares suaves ou inversão antes da utilização.
Recomendamos preparar alíquotas de amostras de soro antes do congelamento para evitar ciclos repetidos de congelamento/descongelamento.

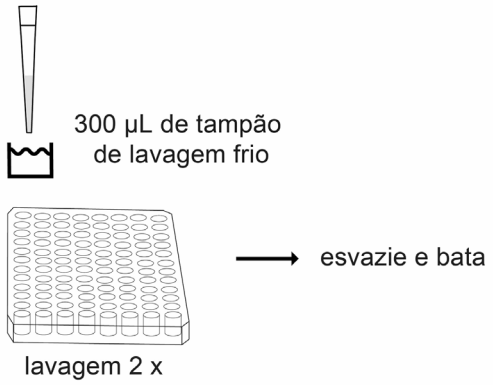
## PROCEDIMENTO

*Nota: Deixe que a solução do substrato de TMB atinja a temperatura ambiente (18–28 °C).*

1. Dilua as amostras a 1:50 com o tampão de incubação. Por exemplo, use 10 µL de soro + 490 µL de tampão de incubação frio (2-8 °C). Misture bem em agitador tipo vórtex e deixe as amostras diluídas e os calibradores e controles reconstituídos em repouso por 30 minutos a 2-8 °C antes de pipetar.
2. Prepare um suporte de placa com tiras suficientes para testar a quantidade requerida de calibradores, controles e amostras. Remova o excesso de tiras do suporte e torne a selá-las sem demora na embalagem aluminizada, juntamente com os sachês de dessecante. Mantenha sob refrigeração.

*Nota: Use reagentes frios nas etapas 3 a 9.*

3. Lave os poços duas vezes, usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão para remover completamente todo o líquido remanescente.




*Nota: Proceda imediatamente com as próximas etapas.*

**Detecção do isotipo IgG:**

4a. Pipete 100 µL de calibrador no poço A1 (consulte a figura 1a).

4b. Pipete 100 µL de controle médio no poço B1, de controle baixo no poço C1 e de controle negativo no poço D1 (consulte a figura 1a).

4c. Pipete 100 µL da amostra diluída 1 no poço E1 (consulte a figura 1a).

4d. Pipete 100 µL da amostra diluída 2 no poço F1 (consulte a figura 1a).

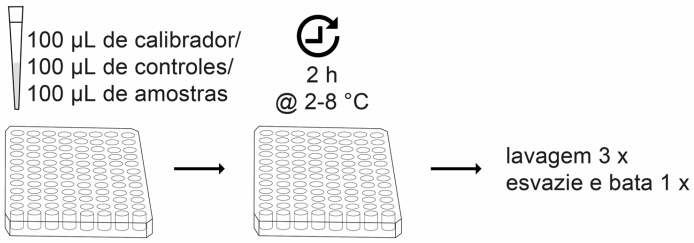
4e. Pipete 100 µL das amostras diluída x-y nos poços subsequentes (consulte a figura 1a).

**Detecção do isotipo IgM**

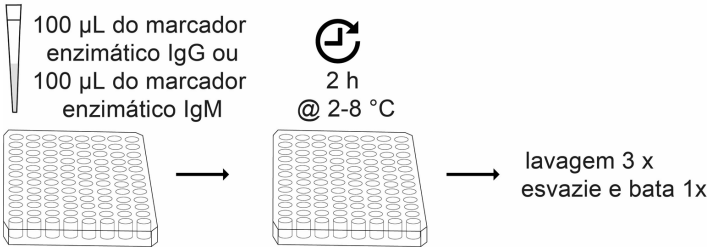
4f. Repita as etapas 4a - 4e usando os poços subsequentes.

*Nota: O calibrador e os controles devem ser processados separadamente para os isotipos IgG e IgM. Recomendamos testar o calibrador e os controles em duplicatas, caso sejam usadas mais de 3 tiras por corrida. Consulte a figura 1b para verificar esquemas alternativos de pipetagem.*

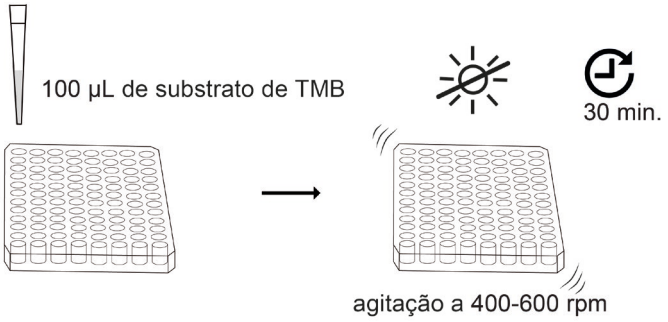
5. Cubra a placa com um selador e incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2–8 °C (não agite a placa).
6. Remova o selador da placa. Esvazie os poços e lave três vezes usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão para remover o tampão de lavagem completamente.



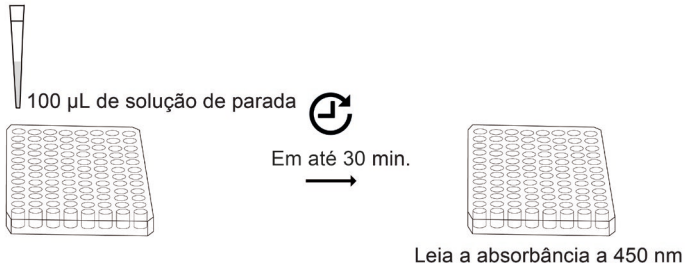

7. Adicione 100 µL do marcador enzimático IgG ou IgM nos respectivos poços (consulte a figura 1).
8. Cubra a placa com um selador e incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2–8 °C (não agite a placa).
9. Remova o selador da placa. Esvazie os poços e lave três vezes usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão.




10. Adicione 100 µL de solução do substrato de TMB (equilibrada à temperatura ambiente) a cada poço.
11. Cubra a placa com um selador, proteja a placa contra luz e incube em um agitador de placas ajustado para 400–600 rpm a 18–28 °C por 30 ±2 minutos.




12. Adicione 100 µL de solução de parada a todos os poços. Remova bolhas de ar com a ponta de uma pipeta. Execute a etapa 13 dentro de até 30 minutos.
13. Leia a absorbância a 450 nm em um leitor de placa de microtitulação.




## CONTROLE DE QUALIDADE

Para que se possa utilizar o produto com sucesso, é necessário compreender bem estas instruções de uso. Somente serão obtidos resultados confiáveis se técnicas laboratoriais precisas forem empregadas, seguindo-se estas instruções de uso à risca.

O kit anti-GM1 Antibodies ELISA inclui três controles: negativo, baixo e médio. Faixas de valores (% Ratio) são atribuídas aos controles, conforme indicado na folha de dados de CQ fornecida com cada kit. As medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas para que resultados válidos sejam obtidos.

Em adição aos controles do kit, também recomendamos o uso de um pool de soros para fins de controle de qualidade interno.

Um valor mínimo de $DO_{450nm}$ de 1,2 é recomendado para o calibrador.

As características de desempenho devem permanecer dentro dos limites estabelecidos. Se o desempenho do teste não atender aos limites estabelecidos e a repetição houver

excluído erros de técnica, verifique os seguintes pontos: i) o controle de temperatura (reagentes usados nas etapas 3–9 mantidos a 2–8 °C); ii) a precisão dos termômetros, da pipetagem e dos dispositivos de cronometragem; iii) os ajustes do leitor ELISA; iv) as datas de validade dos reagentes; v) as condições de armazenamento e incubação; vi) a aparência da solução do substrato de TMB (deve ser incolor); vii) a pureza da água; e, viii) os métodos de aspiração e lavagem.

## PADRONIZAÇÃO E RASTREABILIDADE METROLÓGICA

Não existem materiais de referência ou procedimentos de medição de referência reconhecidos internacional ou nacionalmente para antigangliosídeos em amostras de soro. O anti-GM1 Antibodies ELISA é padronizado em relação a um material de referência estabelecido internamente. Os valores dos calibradores são atribuídos de acordo com um protocolo de transferência de valores (ref. 1) para garantir a rastreabilidade metrológica, e são indicados em unidades arbitrárias de "Relação %".
O intervalo de confiança de 95% da incerteza combinada dos calibradores do produto foi determinado como 29,3% para anticorpos IgG e como 37,6% para anticorpos IgM.

## CÁLCULOS E RESULTADOS

1. Registre a absorbância (DO) a 450 nm para cada poço (calibrador, controles e amostras).
2. Se várias medições do calibrador e dos controles tiverem sido realizadas, obtenha a média dos valores.

Os resultados são expressos em termos da relação entre a absorbância das amostras e a absorbância (média) do calibrador.

$$\text{Relação \%:} \frac{\text{absorbância das amostras ou controles}}{\text{absorbância do calibrador}} \times 100$$

A maioria das leitoras de microplacas incluem programas para calcular os resultados como Relação %.

*Nota: Os resultados apresentados nas tabelas 5 são exemplos fornecidos apenas para fins de demonstração.*

## LIMITAÇÕES

- Devido à polirreatividade dos anticorpos autoimunes e a diferenças na prevalência geográfica, os resultados do teste devem ser usados apenas para respaldar a interpretação clínica da neuropatia por um especialista, em combinação com o quadro clínico do paciente (Ref. 2).
- Este teste ainda não foi validado para plasmaférese.
- Imunoglobulinas intravenosas (IVIg) podem afetar os resultados do teste.

## INTERVALOS DE REFERÊNCIA E VALORES DE CORTE

O intervalo de referência do BÜHLMANN anti-GM1 Antibodies ELISA foi determinado de acordo com a diretriz C28-A3 do CLSI, com 120 amostras de soro de indivíduos autodeclarados saudáveis. A distribuição de frequência dos anticorpos antiGM1 no sangue de doadores normais foi classificada em categorias de título: negativo (Relação % < 30%), zona cinza (Relação % de 30-50%) e positivo (Relação % > 50%).Os resultados estão resumidos na tabela 6. O valor de corte da positividade foi uma Relação % de 50%.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

| Gangliosídeo | **IgG ou IgM** | | |
|---|---|---|---|
| | **Valores (Relação %)** | | |
| | **<30** | **30-50** | **>50** |
| GM1 | Negativo | Teste novamente num ponto de tempo posterior | Positivo |

Tabela 3

Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

**Precisão intralaboratorial: 6,8 – 12,9% do CV**
A precisão intralaboratorial foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo de estudo padronizado de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas. Três (3) amostras de soro de pacientes agrupadas foram testadas. Os resultados estão resumidos na tabela 7.

**Reprodutibilidade: 7,7 – 16,1% do CV**
A reprodutibilidade foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos/lotes/operadores x 5 dias x 5 replicatas. Três (3) amostras de soro de pacientes agrupadas foram testadas. Os resultados estão resumidos na tabela 8.

**Limite do branco (LoB) ≤ Limite de detecção (LoD): ≤ Relação % de 30%**
O LoB e o LoD foram determinados de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, utilizando-se análise não paramétrica. Os resultados estão resumidos na tabela 9.

**Efeito gancho com dose elevada**
Não se observou nenhuma limitação por efeito gancho de dose elevada sobre a faixa de medição.

**Reatividade cruzada**
Não se observou nenhuma reatividade cruzada para amostras de pacientes com diferentes doenças autoimunes (tabela 10) e de pacientes com outros distúrbios neurológicos (tabela 11).

## DESEMPENHO CLÍNICO

O desempenho clínico foi avaliado por meio de análise descritiva de literatura científica revisada por pares. Quatro (4) estudos abordaram o desempenho clínico do Anti-GM1 Antibodies ELISA no diagnóstico de neuropatias periféricas autoimunes (Ref. 3-6). Os resultados das análises e os detalhes dos estudos podem ser encontrados na tabela 4 e na tabela 12, respectivamente.

| | |
|---|---|
| N.º de neuropatias periféricas | 148 (102 SGB pediátricas, 14 PDIC e 32 SGB) |
| N.º de controles | 341 (70 CD, 142 CN, 129 CS) |
| Sensibilidade média (95% do IC) | 48,7% (27,9 – 69,5%) |
| Especificidade média (95% do IC) | 77,8% (60,9 – 94,7%) |

Tabela 4

SGB – Síndrome de Guillain-Barré; PDIC – polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica; CD – controle sem doença neurológica; CN – controle neurológico; CS – controle saudável; IC – intervalo de confiança

## SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

A suscetibilidade do teste a produtos farmacêuticos orais e injetáveis, bem como a substâncias endógenas, foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A3 do CLSI. Desvios superiores a uma Relação % de ±20% nos resultados foram considerados como interferências.

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: imunoglobulina intravenosa (20 mg/mL), rituximabe (3 mg/mL), cladribina (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentina (26,7 µg/mL), ibuprofeno (0,22 mg/mL), clorambucil (1,96 µg/mL), prednisona (99 ng/mL), prednisolona (1,2 µg/mL), fator reumatoide (2340 UI/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolisado (10 mg/mL), triglicérides (15 mg/mL), bilirrubina conjugada (20 mg/mL), bilirrubina não conjugada (150 mg/mL).

## TABELAS E FIGURAS

### Exemplo de configurações de placa de microtitulação medindo isotipos IgG e IgM de 4 amostras (figura 1a) ou 36 amostras (figura 1B)

| | IgG 1 | IgM 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Calibrator | CAL | CAL | | | | | | | | | | | A |
| Control | CTR Med | CTR Med | | | | | | | | | | | B |
| Control | CTRL Low | CTRL Low | | | | | | | | | | | C |
| Control | CTRL Neg | CTRL Neg | | | | | | | | | | | D |
| GM1 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | E |
| GM1 | 2 | 2 | | | | | | | | | | | F |
| GM1 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | G |
| GM1 | 4 | 4 | | | | | | | | | | | H |

Figura 1a

| | IgG 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | IgM 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Calibrator & Controls | CAL | CTRL Low | CAL | CTRL Low | CAL | CTRL Low | CAL | CTRL Low | CAL | CTRL Low | CAL | CTRL Low | A |
| | CTRL Med | CTRL Neg | CTRL Med | CTRL Neg | CTRL Med | CTRL Neg | CTRL Med | CTRL Neg | CTRL Med | CTRL Neg | CTRL Med | CTRL Neg | B |
| GM1 | 1 | 7 | 13 | 19 | 25 | 31 | 1 | 7 | 13 | 19 | 25 | 31 | C |
| GM1 | 2 | 8 | 14 | 20 | 26 | 32 | 2 | 8 | 14 | 20 | 26 | 32 | D |
| GM1 | 3 | 9 | 15 | 21 | 27 | 33 | 3 | 9 | 15 | 21 | 27 | 33 | E |
| GM1 | 4 | 10 | 16 | 22 | 28 | 34 | 4 | 10 | 16 | 22 | 28 | 34 | F |
| GM1 | 5 | 11 | 17 | 23 | 29 | 35 | 5 | 11 | 17 | 23 | 29 | 35 | G |
| GM1 | 6 | 12 | 18 | 24 | 30 | 36 | 6 | 12 | 18 | 24 | 30 | 36 | H |

Figura 1b

### Exemplo de resultados

| Marcador enzimático | Absorbância (DO450) | | Relação [%] | |
|---|---|---|---|---|
| **B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM** | **IgG** | **IgM** | **IgG** | **IgM** |
| Calibrador | 2,397 | 2,269 | | |
| | 2,449 | 2,343 | | |
| **Calibrador, média** | **2,423** | **2,306** | **100,0** | **100,0** |
| Controle médio | 1,612 | 1,583 | 67 | 69 |
| | 1,543 | 1,658 | 64 | 72 |
| **Controle médio, média** | **1,577** | **1,620** | **65** | **70** |
| Controle baixo | 0,694 | 0,805 | 29 | 35 |
| | 0,714 | 0,817 | 29 | 35 |
| **Controle baixo, média** | **0,704** | **0,811** | **29** | **35** |
| Controle negativo | 0,055 | 0,091 | 2 | 4 |
| | 0,064 | 0,090 | 3 | 4 |
| **Controle negativo, média** | **0,059** | **0,090** | **2** | **4** |
| Amostra 1 | 0,783 | 2,197 | 32 | 95 |
| | 0,802 | 1,988 | 33 | 86 |
| **GM1** | **0,793** | **2,095** | **33** | **91** |

Tabela 5

### Intervalo de referência

| | Marcador enzimático (isotipo) | % de doadores com sangue normal nas categorias | | | % de doadores com sangue normal nas categorias |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Relação % < 30 | Relação % < 30 | Relação % < 30 | (90% CI) |
| Ac anti-GM1 | IgG | 99,2 | 0,8 | 0,0 | 16 (13,0 – 29,8) |
| | IgM | 95,8 | 3,3 | 0,8 | 24 (14,3 – 40,3) |

Tabela 6

### Precisão intralaboratorial

| Descrição da amostra | | | Precisão intralaboratorial | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Analito | Marcador enzimático (isotipo) | Categoria esperada [Relação %] | N.º | Média [Relação %] | DP [Relação %] | CV [%] |
| Ac anti GM1 | 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 |

Tabela 7

### Reprodutibilidade

| Descrição da amostra | | | Reprodutibilidade | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Analito | Marcador enzimático (isotipo) | Categoria esperada [Relação %] | N.º | Média [Relação %] | DP [Relação %] | CV [%] |
| Ac anti GM1 | 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 |

Tabela 8

### LoD e LoB

| | Marcador enzimático (isotipo) | LoB [Relação %] | LoD [Relação %] |
|---|---|---|---|
| Ac anti GM1 | IgM | 5 | 21 |
| | IgG | 6 | 15 |

Tabela 9

## TABELAS E FIGURAS

| Anticorpo atribuído | Diagnóstico | # |
|---|---|---|
| Anticorpo anticitoplasmático de neutrófilo (ANCA) | Vasculite | 3 |
| | Outros (amostras indicadas positivas para ANCA) | 10 |
| Anticorpos antinucleares (ANA) | Lúpus eritematoso sistêmico | 5 |
| | Artrite reumatoide | 9 |
| | Síndrome de Sjögren | 6 |
| | Outros (amostras indicadas positivas para ANA) | 3 |
| Anticorpos antitireoglobulina (anti-Tg) | Tireoidite autoimune | 5 |
| Anticorpos antirribonucleoproteína | Doenças difusas do tecido conectivo | 1 |
| Anti-GQ1b, anti-GM1 e anti-GD1b | Neuropatias periféricas autoimunes | 1 |
| Anticorpos antirreceptores da acetilcolina e antitirosina quinase muscular específica | Miastenia gravis | 7 |

Tabela 10

| Neuropatias periféricas | # |
|---|---|
| Alcoólatras | 1 |
| Diabéticos | 5 |
| **Distúrbios que se assemelham a neuropatias periféricas** | **#** |
| Esclerose lateral amiotrófica (ELA) | 15 |
| Sarcoidose | 4 |
| Macroglobulinemia de Waldenström (MW) | 4 |
| Doença de Chagas | 5 |

Tabela 11

### Desempenho clínico

| Estudo | Controles positivos (casos) | Controles negativos | Epítopos | Sensi-bilidade | Especi-ficidade |
|---|---|---|---|---|---|
| Hashemilar et al., 2014 | SGB pediátrica (n = 45) | CD (n = 35) | GM1 | 0,51 | 0,89 |
| Sharma et al., 2011 | SGB pediátrica (n = 57) | CN (n = 42) | GM1 | 0,82 | 0,33 |
| | | CD (n = 35) | | | 0,83 |
| Khandelwal et al., 2006 | SGB (n = 13) | CS (n = 19) | GM1 | 0,31 | 0,74 |
| Uetz-von Allmen et al., 1998 | SGB, PDIC (n = 19, 14) | CN (n = 100) | GM1 | 0,30 | 0,93 |
| | | CS (n = 110) | | | 0,95 |

Tabela 12

SGB – Síndrome de Guillain-Barré; CD – controle sem doença neurológica; CN – controle neurológico; CS – controle saudável; PDIC – polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica.

# anti-GM1 Antibodies ELISA

**Placa de microtitulação pré-revestida**

↓ *lave 2 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)*

**100 µL de calibrador, controles ou amostras de soro (1:50)**

↓ *incube por 2 horas (±5 minutos) a 2-8 °C*

*lave 3 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)*

**adicione 100 µL de marcador(es) enzimático(s)**

↓ *incube por 2 horas (±5 minutos) a 2-8 °C*

*lave 3 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)*

**adicione 100 µL de substrato de TMB (à temperatura ambiente)!**

↓ *incube por 30 minutos (±2 minutos) a 18-28 °C em um agitador de placas a ~400-600 rpm*

**adicione 100 µL da solução de parada (à temperatura ambiente)!**

➡ **Leia a absorbância a 450 nm (dentro de 30 minutos)**

## TEMPO PARA O RESULTADO: 4,5 HORAS

## REFERÊNCIAS

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. Khandelwal, D. et al. IgM anti-GM1 antibody titers in patients with monomelic amyotrophy. *Neurol. India* **54**, 399–401 (2006).

## HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

| Data | Versão | Alteração |
|---|---|---|
| 2023-08-17 | A2 | Alteração da *Uso pretendido* e do nome do produto<br>Reformulação da redação do *Princípio do ensaio* com as categorias de título negativa, zona cinza e positiva<br>Novo texto de estabilidades de uso dos reagentes<br>Atualização do capítulo *Advertências e precauções*<br>Revisão dos capítulos *Coleta e armazenamento de amostras, Procedimento,* e *Padronização e rastreabilidade metrológica*<br>Reformulação da redação do capítulo *Controle de qualidade*<br>Atualização do capítulo *Limitações*<br>Revisão dos capítulos *Intervalos de referência e valores de corte, Características de desempenho,* e *Substâncias interferentes*<br>Adição do capítulo *Desempenho clínico*<br>Revisão dos capítulos *Referências,* e *Símbolos*<br>Inclusão do número do órgão notificado na marcação CE - procedimento de avaliação de conformidade, de acordo com a regulamentação IVDR 2017/746 Revisão do capítulo *Símbolos* |

## NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

## DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

## SIMBOLOS

BÜHLMANN utiliza símbolos e sinais listados e descritos na ISO 15223-1. Além disso, são utilizados os seguintes símbolos e letreiros:

| Símbolo | Explicação |
|---|---|
| MP | Placa de microtitulação |
| BUF WASH 10X | Tampão de lavagem concentrado (10x) |
| BUF INC | Tampão de incubação |
| CAL | Calibrador |
| CONTROL - | Controle negativo |
| CONTROL L | Controle baixo |
| CONTROL M | Controle medio |
| EL IgG | Marcador enzimático IgG |
| EL IgM | Marcador enzimático IgM |
| SUBS TMB | Substrato de TMB |
| SOLN STOP | Solução de parada |

CE 0123