Anti-GM1 Antibodies ELISA

med enzymmärkt IgG och IgM

Detektering av antigangliosid-M1-antikroppar med ELISA (GM1)

För *in vitro*-diagnostisk användning

EK-GM1-GM 96 tester

Utgivningsdatum: 2023-08-17
Version A2

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

SVENSKA

AVSEDD ANVÄNDNING

anti-GM1 Antibodies ELISA är ett *in vitro* diagnostiskt test för semikvantitativ detektion av IgG och/eller IgM antikroppar mot det neurala antigenet/epitopen GM1 i serumprov. Analysresultatet kan användsa som stöd för att ställa diagnos av autoimmuna perifera neuropatier i kombination med andra kliniska fynd och laboratorieprover.
Endast för användning i laboratorium.

ANALYSPRINCIP

Anti-GM1 Antibodies ELISA möjliggör mätning av antikroppar mot GM1 (gangliosid M1) i serum. Brunnarna i den medföljande mikrotiterplattan är bestrukna med gangliosider: GM1.
Patientserum, kontroller och kalibratorer tillsätts i mikrotiterbrunnarna. Efter 2 timmars inkubering (vid 2 – 8°C) och tvättsteg detekteras anti-GM1 antikroppar bundet till immobiliserade GM1-gangliosider med pepparrotsperoxidasmärkta (HRP) antikroppar mot IgG och/eller IgM. Efter ytterligare 2 timmars inkubering och tvättsteg tillsätts kromogent HRP-substrat, tetrametylbenzidin (TMB) (blåfärgad reaktion), med efterföljande tillsats av stopplösning (ändring till gult). Absorbans mäts vid 450 nm.
Den uppmätta absorbansen är propotionell till titern av anti-GM1-antikroppar närvarande I ett givet patientprov. Antikroppstiter anges som % ratio av kalibratorn och kan adresseras till olika titerkategorier (negativt, gråzon, positivt).

MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH FÖRBEREDELSE

Reagenser	Mängd	Kod	Rekonstituer-ing
Mikrotiterplatta förbestrykt med GM1	12 x 8 brunnar i en strip med ram	B-GM1-MP	Bruksfärdig
Lock	3 st.		
Tvättbuffert-koncentrat (10x) med konserveringsmedel	1 flaska x 100 mL	B-GCO-WB	Spädning med 900 mL avjoniserat vatten
Inkubationbuffert med konserveringsmedel	1 flaska x 100 mL	B-GCO-IB	Bruksfärdig
Kalibrator frystorkad med konserveringsmedel	1 flaska	B-GCO-CA	Tillsätt 1,5 mL inkubations-buffert
Kontroller negativ-, låg- och medium[1] frystorkad med konserveringsmedel	3 flaskor	B-GCO-CONSET	Tillsätt 1,5 mL inkubations-buffert
Enzymmärkt IgG anti-human IgG-antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-GCO-ELG	Bruksfärdig
Enzymmärkt IgM anti-human IgM-antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-GCO-ELM	Bruksfärdig
TMB-substrat TMB i citratbuffert	1 flaska x 11 mL	B-TMB	Bruksfärdig
Stopplösning 0,25 M svavelsyra	1 flaska x 11 mL	B-STS	Bruksfärdig **Korrosivt ämne**

Tabell 1

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

LAGRING OCH HÅLLBARHET FÖR REAGENS

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

Tabell 2

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Precisionspipetter med engångsspetsar: pipetter om 10 µL, 20 µL, 100 µL och 1 000 µL
- Provrör i polystyren eller polypropylen för engångsbruk för beredning av provspädningar
- 1 000 mL cylinder för spädning av tvättbuffert
- Tvätt för mikrotiterplatta
- Blottingpapper
- Skak för mikrotiterplatta
- Plattläsare för mikrotiterplatta för mätning av absorbans vid 450 nm

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Försiktighetsåtgärder

- Kalibratorn och kontroller i detta kit innehåller komponenter av mänskligt ursprung. Även om reagensen har testats och uppvisat negativa resultat för HBV, HCV och HIV1/2, ska de hanteras som potentiellt smittsamt material i enlighet med god laboratoriesed och lämpliga försiktighetsåtgärder ska vidtas.
- Denna sats innehåller komponenter som klassificeras i enlighet med förordning (EG) nr 1272/2008:
  - Stopplösningen innehåller svavelsyra (konc. 2,5–5%) och reagensen kan orsaka hudirritation (H315), allvarlig ögonirritation (H319) och kan vara korrosivt för metaller (H290).
  - Kallibratorn, kontrollerna och enzymetiketter innehåller 2-metyl-4-isotiazolin-3-on-hydroklorid (konc. ≥

0,0015%) och reagenserna kan därmed orsaka allergisk hudreaktion (H317).

- Inkubationsbufferten och tvättbufferten innehåller gentamicinsulfat och reagenserna kan därmed orsaka allergisk hudreaktion (H317).

- Undvik att reagensen kommer i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Vid kontakt, skölj omedelbart med rikliga mängder vatten, annars kan irritation/brännskador uppstå.
- Reagens och kemikalier ska behandlas som farligt avfall i enlighet med nationella bestämmelser och riktlinjer gällande biologiska faror.

Tekniska försiktighetsåtgärder

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

ELISA-procedur

Reagenstemperatur

- Förbered reagensen innan analysproceduren påbörjas. Steg 3–9: Reagens som används i steg 3–9 måste vara kalla (2–8 °C) och ska hållas kylda under pipettering och tvättning. Rekommendation: Förbered tvättbufferten dagen innan analysen ska utföras och ställ den i kylen över natten.
- Utför alla tvättsteg med kall (2–8 ˚C) tvättbuffert.
- Låt TMB-substrat och stopplösning uppnå rumstemperatur (18–28 °C) när analysproceduren startas.

Tvättsteg

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

Substratinkubation

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

Satsens komponenter

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

PROVINSAMLING OCH LAGRING

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

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

Serumprover kan förvaras vid 2–8 °C i upp till åtta veckor, vid 28 °C i upp till en vecka och vid ≤-20 °C i 16 veckor. Frysta prover ska tinas och blandas väl genom försiktig centrifugering eller vändning före användning.
Vi rekommenderar att serumprover förbereds i alikvoter innan frysning för att undvika upprepade frys- och tiningscykler.

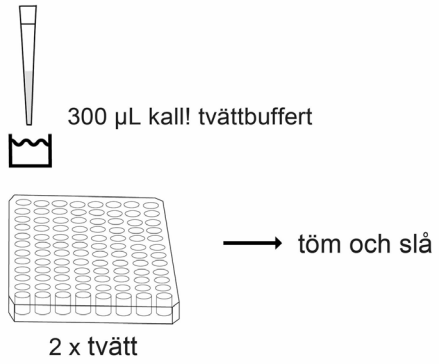
ANALYSPROCEDUR

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

1. Späd proverna 1:50 med inkubationsbuffert. Använd t.ex. 10 µL serum + 490 µL kall! (2–8 °C) inkubationsbuffert. Blanda väl genom vortexing och låt utspädda prover, beredd kalibrator och kontroller stå vid 2–8 °C i 30 minuter före pipettering.
2. Bered en plattram med tillräckliga remsor för att testa det aktuella antalet kalibratorer, kontroller och prover. Avlägsna överflödiga remsor från ramen och lägg omedelbart tillbaka dem i foliepåsen tillsammans med torkmedlet. Förvara i kyl.

Obs: Använd kalla reagens i steg 3 till 9.

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



Obs: Fortsätt omedelbart till nästa steg.

Detektion av IgG-Isotyp:

4a. Pipettera 100 µL av kalibrator i brunn A1 (se figur 1a).

4b. Pipettera 100 µL av medium kontroll i brunn B1, av låg kontrol I brunn C1 och av negativ kontroll I brunn D1 (se figur 1a).

4c. Pipettera 100 µL av utspätt prov 1 I brunn E1 (se figur 1a).

4d. Pipettera 100 µL av utspätt prov 2 i brunn F1 (se figur 1a).

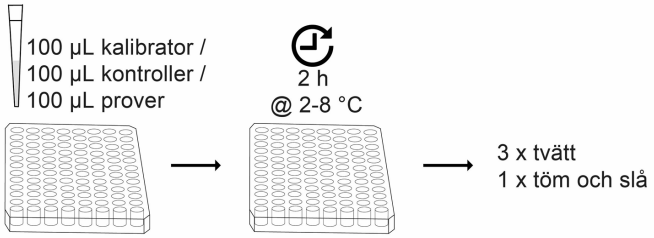
4e. Pipettera 100 µL av utspädda prov x-y i efterföljande brunnar (se figure 1a).

Detektion av IgM-Isotyp:

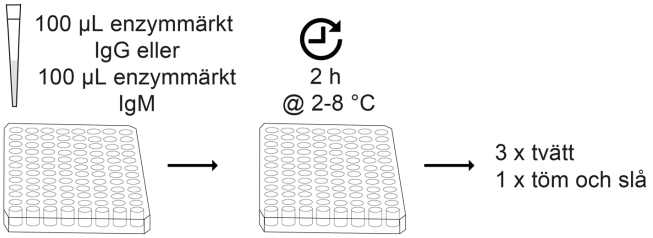
4f. Upprepa steg 4a-4e I efterföljande brunnar.

Obs: Kalibratorer och kontroller ska köras separat för IgG- och IgM-isotyper. Vi rekommenderar att köra kalibratorer och kontroller i duplikat om fler än 3 strips används per körning. Se figur 1b för alternativt pipetteringsschema.

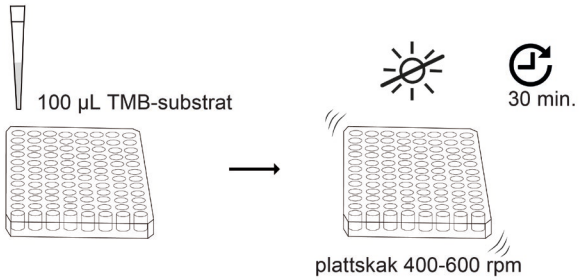
5. Täck plattan med ett lock och inkubera i 2 timmar (±5 min) vid 2–8 °C (skaka inte plattan).
6. Ta bort locket från plattan. Töm brunnarna och tvätta tre gånger med minst 300 µL kall! (2–8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper för att avlägsna all tvättbuffert.



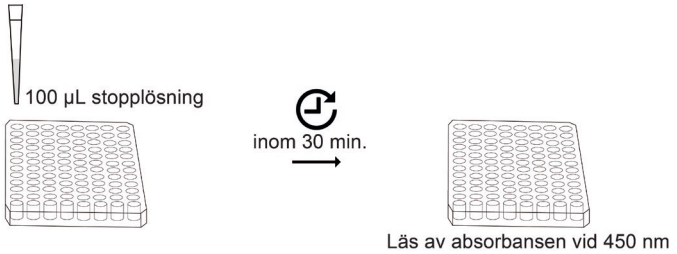
7. Tillsätt 100 µL av antingen enzymmärkt IgG eller enzymmärkt IgM till respektive brunnar (se figur 1).
8. Täck plattan med ett lock och inkubera i 2 timmar (±5 min) vid 2–8 °C (skaka inte plattan).
9. Ta bort locket från plattan. Töm brunnearna och tvätta tre gånger med minst 300 µL kall! (2–8 °C)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



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



12. Tillsätt 100 µL stopplösning i brunnarna. Avlägsna luftbubblor med en pipettspets. Fortsätt till steg 13 inom 30 minuter.
13. Läs av absorbansen vid 450 nm i en plattläsare.



KVALITETSKONTROLL

Det är viktigt att förstå bruksanvisningen för optimal användning av produkten. Det är endast möjligt att uppnå tillförlitliga resultat genom att använda exakta laboratorietekniker och att noga följa bruksanvisningen.
Tre kontroller medföljer anti-GM1 Antibodies ELISA-kittet; negativ, låg och medium. Kontrollösningarna har tilldelade värdeområden (% Ratio) som anges i QC-databladet som medföljer varje kit. Kontrollmätningarna måste vara inom de angivna värdeområdena för att erhålla giltiga resultat.
Utöver kontrollerna i kittet rekommenderar vi användning av serumpooler för intern kvalitetskontroll.
Ett minimalt $OD_{450\ nm}$-värde på 1,2 rekommenderas för kalibratorn.
Prestandaegenskaper bör ligga inom fastställda gränser. Om analysens prestanda inte uppfyller de fastställda gränserna och upprepning har exkluderat fel i tekniken, kontrollera följande: i) temperaturkontroll (reagens som används i steg 3–9 ska förvaras vid 2–8 °C) ii) noggrannhet för termometrar, pipetterings- och tidtagningsenheter; iii) ELISA-läsarens inställningar; iv) utgångsdatum för reagens; v) lagrings- och inkubationsförhållanden; vi) färgen på TMB-substratlösningen (ska vara färglös); vii) vattnets renhet; viii) aspirations- och tvättmetoder.

STANDARDISERING OCH METROLOGISK SPÅRBARHET

Det finns inte något internationellt eller nationellt erkänt referensmaterial eller referensmetodsprotokoll för antigangliosider i serumprov. anti-GM1 Antibodies ELISA har standardiserats mot internt referensmaterial. Kalibratorvärden tilldelas enligt ett värdeöverföringsprotokoll (ref. 1) för att garantera metrologisk spårbarhet och anges i godtyckliga "% Ratio"-enheter. För den kombinerade osäkerheten hos kalibratorprodukter bestämdes 95-procent konfidensintervall till 29,3% för IgG-antikroppar och 37,6% för IgM-antikroppar.

BERÄKNING AV TESTRESULTAT

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

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

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

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

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

BEGRÄNSNINGAR

- På grund av polyreaktiviteten hos autoimmuna antikroppar och skillnader i geografisk prevalens bör analysresultaten endast användas för att stödja klinisk expert/specialist-tolkning av neuropati i kombination med patientens kliniska bild (ref. 2).
- Testet har inte validerats för plasmaferes.
- Intravenösa immunglobuliner (IVIg) kan påverka testresultaten.

REFERENSINTERVALLER OCH CUT-OFF

Referensintervall för anti-GM1 Antibodies ELISA fastställdes enligt CLSI C28-A3 med 120 serumprover från självdeklarerade friska individer. Distributionsfrekvensen för anti-GM1-gangliosidantikroppar hos normala blodgivare klassificerades i titerkategorier: negativ (<30% Ratio), gråzon (30-50% Ratio) och positiv (>50% Ratio). Resulten sammanfattas i tabell 6. Gränsvärdet för positivt resultat är 50% Ratio.

TOLKNING AV RESULTAT

Gangliosid	**IgG eller IgM**		
	Värden (% Ratio)		
	<30	**30-50**	**>50**
GM1	Negative	Ytterligare test vid senare tidpunkt	Positiv

Tabell 3

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

PRESTANDAEGENSKAPER

Inom-laboratorie-precision: 6,8 - 12,9% CV
Inom-laboratorie-precision fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med hjälp av det standardiserade studieupplägget 20 dagar x 2 körningar x 2 replikat. Tre (3) poolade patientserumprover testades. Resulten sammanfattas i tabell 7.

Reproducerbarhet: 7,7 - 16,1% CV
Reproducerbarheten fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med ett studieupplägg av 3 instrument/loter/operatörer x 5 dagar x 5 replikat. Tre (3) poolade patientserumprover testades. Resulten sammanfattas i tabell 8.

Blankgräns (LoB) ≤ Detektionsgräns (LoD): ≤30% Ratio
LoB och LoD fastställdes enligt CLSI-guideline EP17-A2 med icke-parametrisk analys. Resulten sammanfattas i tabell 9.

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

Krossreaktivitet
Ingen systematisk korsreaktivitet observerades för prover från patienter med olika autoimmuna sjukdomar (tabell 10) eller från patienter med andra neurologiska sjukdomar (tabell 11).

KLINISK PRESTANDA

Den kliniska prestandan bedömdes genom beskrivande analys av fackgranskad vetenskaplig litteratur. Fyra (4) studier innefattade den kliniska prestandan hos anti-GM1 Antibodies ELISA vid diagnos av autoimmuna perifera neuropatier (ref. 3-6). Resultat av analys och studiedetaljer finns i tabell 4 respektive tabell 12.

N perifer neuropati	148 (102 pedriatriska GBS, 14 CIDP, 32 GBS)
N kontroller	341 (70 DC, 142 NC, 129 HC)
Sensitivitet, medelvärde (95% KI)	48,7% (27,9 – 69,5%)
Specificitet, medelvärde (95% KI)	77,8% (60,9 – 94,7%)

Tabell 4

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

INTERFERERANDE ÄMNEN

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

Ingen interferens detekterades med följande ämnen upp till de angivna koncentrationerna: intravenöst immunglobulin (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentin (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), klorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), reumatoid faktor (2340 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglycerid (15 mg/mL), konjugerat bilirubin (20 µg/mL) och okonjugerat bilirubin (150 µg/mL).

TABELLER OCH FIGURER

Exempel på mikrotiterplattsuppsättning för mätning av IgG- och IgM-isotyper i 4 prov (figur 1a) eller 36 prov (figur 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

Figure 1a

	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	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

Figure 1b

Resultatexempel

Enzymmärkning	Absorbans (OD_{450})		Ratio [%]	
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM	IgG	IgM	IgG	IgM
Kalibrator	2,397 2,449	2,269 2,343		
Kalibrator genomsnittlig	**2,423**	**2,306**	**100,0**	**100,0**
Kontroll medium	1,612 1,543	1,583 1,658	67 64	69 72
Kontroll medium genomsnittlig	**1,577**	**1,620**	**65**	**70**
Kontroll låg	0,694 0,714	0,805 0,817	29 29	35 35
Kontroll låg genomsnittlig	**0,704**	**0,811**	**29**	**35**
Kontroll negativ	0,055 0,064	0,091 0,090	2 3	4 4
Kontroll negativ genomsnittlig	**0,059**	**0,090**	**2**	**4**
Prov 1	0,783 0,802	2,197 1,988	32 33	95 86
GM1	**0,793**	**2,095**	**33**	**91**

Tabell 5

Reference interval

	Enzym-märkning (isotyp)	% normala blodgivare i kategorierna <30 %Ratio	30 - 50 %Ratio	>50 %Ratio	Referensgräns (90% CI)
anti-GM1 Ab	IgG	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
	IgM	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)

Tabell 6

Inom-laboratorie-precision

Provbeskrivning			Inom-laboratorie-precision			
	Enzym-märkning (isotyp)	Förväntad kategori [%Ratio]	N	Medel [%Ratio]	SD [%Ratio]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	80	48	3,5	7,2
		>50	80	91	6,2	6,8
	IgG	30-50	80	40	5,1	12,9
		>50	80	106	13,1	12,4

Tabell 7

Reproducerbarhet

Provbeskrivning			Reproducerbarhet			
	Enzym-märkning (Isotyp)	Analyt	N	Medel [%Ratio]	SD [%Ratio]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	75	51	4,9	9,7
		>50	75	94	7,2	7,7
	IgG	30-50	75	39	5,6	14,5
		>50	75	106	17,1	16,1

Tabell 8

LoD och LoB

	Enzym-märkning (isotyp)	LoB [% Ratio]	LoD [% Ratio]
anti-GM1 Ab	IgM	5	21
	IgG	6	15

Tabell 9

TABELLER OCH FIGURER

Korsreaktivitet

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

Tabell 10

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

Tabell 11

Klinisk prestanda

Studie	Positiva kontroller (fall)	Negativa kontroller	Epitop	Sensi-tivtet	Speci-ficitet
Hashemilar et al., 2014	Pedriatriska GBS (n = 45)	SK (n = 35)	GM1	0,51	0,89
Sharma et al., 2011	Pediatrisk 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

Tabell 12

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

anti-GM1 Antibodies ELISA

Förprepererad mikrotiterplatta

↓ *Tvätt 2 x med ≥300 µL kall! tvättbuffert*

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

↓ *Inkubera 2 timmar (±5 min) vid 2–8 °C*

Tvätt 3 x med ≥300 µL kall! tvättbuffert

Tillsätt 100 µL enzymmärkning

↓ *Inkubera 2 timmar (±5 min) vid 2–8 °C*

Tvätt 3 x med ≥300 µL kall! tvättbuffert

Tillsätt 100 µL TMB-substrat (omgivande temperatur)!

↓ *Inkubera 30 min (±2 min) vid 18–28 °C på plattskak ~400-600 rpm*

Tillsätt 100 µL stopplösning (omgivande temperatur)!

➡ **Läs av absorbansen vid 450 nm (inom 30 minuter)**

TID TILL RESULTAT: 4,5 TIMMAR

REFERENSER

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Protein standardization V: Value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46,** 1470–1479 (2008).

2. Bourque, P. R. et al. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clinica Chimica Acta* **449**, 37–42 (2015).

3. Hashemilar, M. et al. Evaluating the status of antiganglioside antibodies in children with Guillain-Barré syndrome. *Neuroimmunomodulation* **21**, 64–68 (2013).

4. Sharma, M. B. et al. The presence of Mycoplasma pneumoniae infection and GM1 ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome. *J. Infect. Dev. Ctries*. **5**, 459–464 (2011).

5. Uetz-von Allmen, E. et al. Antiganglioside GM1 antibodies and their complement activating capacity in central and peripheral nervous system disorders and in controls. *Eur. Neurol*. **39**, 103–110 (1998).

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

ÄNDRINGSLOGG

Datum	Version	Ändring
2023-08-17	A2	Ändring av *Avsedd användning* och produktnamn Omformulering av avsnitt *Analysprincip* med titerkategorier negativ, gråzon, positiv Tillägg i använda stabiliteter för reagens Uppdatering av avsnittet *Varningar och försiktighetsåtgärder* Granskning av avsnitt *Provinsamling och lagring*, *Analysprocedur*, och *Standardisering och metrologisk spårbarhet* Omformulering av avsnitt *Kvalitetskontroll* Uppdatering av avsnitt *Begränsningar* Granskning av avsnitt *Referensintervaller och cut-off*, *Prestandaegenskaper*, och *Interfererande ämnen* Introduktion av avsnitt *Klinisk prestanda* Granskning av avsnitt *Referenser* och *Symboler* Inkludering av anmält organnummer för bedömning av överensstämmelse för CE-märkning enligt IVDR 2017/746

HÄNDELSERAPPORTERING I EU-MEDLEMSSTATER

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

LEVERANSSKADOR

Meddela din distributör om produkten är skadad vid mottagandet.

SYMBOLER

BÜHLMANN använder symboler och märkningar som beskrivs i ISO 15223-1. Dessutom används följande symboler och märkningar:

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

CE 0123