BÜHLMANN
GanglioCombi® *Light* ELISA

con marcadores enzimáticos de IgG, IgM y mezcla de IgG/IgM

Detección de anticuerpos antigangliósidos mediante ELISA

(GM1, GD1b y GQ1b)

Para uso diagnóstico *in vitro*

EK-GCM 96 tests

Fecha de liberación: 2023-08-17
Versión A1

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

ESPAÑOL

USO PREVISTO

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA es un ensayo de diagnóstico *in vitro* para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgG y/o IgM contra determinados epítopos/antígenos neurales en muestras de suero. Los resultados del ensayo se pueden utilizar, junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio, para respaldar el diagnóstico de neuropatías periféricas autoinmunes.
Solo para uso en laboratorio.

APLICACIÓN PREVISTA

Los tres marcadores enzimáticos incluidos en el kit permiten llevar a cabo tres algoritmos de análisis diferentes:

1. El análisis con la mezcla de conjugados de IgG/IgM (en lo sucesivo "la mezcla") permite realizar un cribado de la presencia de anticuerpos antineurales que pudieran indicar una neuropatía autoinmune.
2. El análisis con conjugados de IgG y/o IgM individuales permite determinar el isotipo de los anticuerpos.
3. La rutina de chequeo completa puede incluir un cribado inicial de las muestras utilizando la mezcla (opción 1) seguido de la diferenciación de las muestras positivas para la mezcla utilizando conjugados de IgG e IgM individuales (opción 2) en caso necesario.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA permite medir de forma selectiva anticuerpos antigangliósidos en suero. La placa de microtitulación está recubierta con gangliósidos GM1, GD1b y GQ1b.
Se añaden a los pocillos de la placa de microtitulación los sueros de paciente, controles y el calibrador. Tras 2 horas de incubación a 2-8 °C y los correspondientes pasos de lavado, los anticuerpos de detección (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) conjugados con peroxidasa de rábano picante (HRP) detectan los antigangliósidos unidos a los gangliósidos inmovilizados en la placa. Tras otras 2 horas de incubación y los consiguientes pasos de lavado, se añade el sustrato de HRP cromogénico tetrametilbencidina (TMB) (formación de un color azul) seguido de una reacción de parada (viraje al amarillo). Se mide la absorción a 450 nm.
La absorbancia medida es proporcional al título de anticuerpos presente en una muestra dada. Los títulos de anticuerpos se expresan como relaciones porcentuales con respecto al calibrador y pueden clasificarse en categorías (negativo, zona gris, positivo).

REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN

Reactivos	Cantidad	Código	Reconstitución
Placa de microtitulación Previamente recubierta con gangliósidos	12 x 8 pocillos, tiras con marco	B-GCL-MP	Listo para usar
Película de sellado	3 unidades		
Concentrado de tampón de lavado (10x) con conservantes	1 frasco x 100 mL	B-GCO-WB	Diluir con 900 mL de agua desionizada
Tampón de incubación con conservantes	1 frasco x 100 mL	B-GCO-IB	Listo para usar
Calibrador liofilizado con conservantes	1 vial	B-GCO-CA	Añadir 1,5 mL de tampón de incubación
Controles negativo, bajo y medio [1] liofilizado con conservantes	3 viales	B-GCO-CONSET	Añadir 1,5 mL de tampón de incubación
Mezcla de marcadores enzimáticos IgG/IgM anticuerpos anti-IgG e IgM humanas conjugados con HRP en una matriz tampón con conservantes	1 vial x 11 mL	B-GCO-ELGM	Listo para usar
Marcador enzimático IgG anticuerpo anti-IgG humana conjugado con HRP en una matriz tampón con conservantes	1 vial x 11 mL	B-GCO-ELG	Listo para usar
Marcador enzimático IgM anticuerpo anti-IgM humana conjugado con HRP en una matriz tampón con conservantes	1 vial x 11 mL	B-GCO-ELM	Listo para usar
Sustrato de TMB TMB en tampón de citrato	1 vial x 11 mL	B-TMB	Listo para usar
Solución de parada ácido sulfúrico 0,25 M	1 vial x 11 mL	B-STS	Listo para usar **Agente corrosivo**

Tabla 1

[1] Los controles contienen niveles de anticuerpos anti-GM1 específicos del lote. Consultar en la ficha de datos de CC separada los valores concretos de DO media y relación porcentual.

CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ DE LOS REACTIVOS

Reactivos sellados/ sin abrir	
Conservar a 2-8 °C. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.	
Reactivos sellados/ sin abrir	
Placa de microtitulación	Volver a colocar inmediatamente las tiras no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene los paquetes de secante y cerrar completamente. Conservar a 2-8 °C hasta un máximo de 6 meses.
Tampón de lavado diluido	Conservar a 2-8 °C hasta un máximo de 6 meses.
Tampón de incubación	
Enzyme Labels	
Sustrato de TMB	
Calibrador	
Controles	
Solución de parada	Conservar a 18-28 °C hasta un máximo de 6 meses.

Tabla 2

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Pipetas de precisión con puntas desechables: pipetas de 10 µL, 20 µL, 100 µL y 1000 µL
- Tubos desechables de poliestireno o polipropileno para la preparación de las diluciones de las muestras.

- Probeta de 1000 mL para la dilución del tampón de lavado
- Lavador de placas de microtitulación
- Papel secante
- Agitador de placas de microtitulación
- Lector de placas de microtitulación para la medición de la absorbancia a 450 nm

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones de seguridad

- El calibrador y los controles de este kit contienen componentes de origen humano. Aunque las pruebas de VHB, VHC y VIH 1/2 hayan dado resultado negativo, los controles deben manipularse como si pudiesen transmitir infecciones y de acuerdo con las prácticas correctas de laboratorio (PCL), adoptando las precauciones adecuadas.
- Este kit contiene componentes clasificados de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:
  - La solución de parada contiene ácido sulfúrico (conc. 2,5-5%), por lo que los reactivos pueden causar irritación cutánea (H315) o irritación ocular grave (H319) y pueden ser corrosivos para los metales (H290).
  - El calibrador, los controles y los marcadores enzimáticos contienen clorhidrato de 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (conc. ≥ 0,0015%), por lo que los reactivos pueden causar reacciones cutáneas alérgicas (H317).
  - El tampón de incubación y el tampón de lavado contienen sulfato de gentamicina, por lo que los reactivos pueden causar una reacción cutánea alérgica (H317).
- Evitar el contacto de los reactivos con la piel, los ojos o las mucosas. En caso de contacto, enjuagar inmediatamente con abundante agua; de lo contrario, pueden producirse irritaciones/ quemaduras.
- Los reactivos y los productos químicos deben tratarse como residuos peligrosos conforme a las normas nacionales de seguridad sobre riesgos biológicos.

Precauciones técnicas

- Leer atentamente las instrucciones antes de realizar la prueba. El resultado de la prueba se verá comprometido si los reactivos se diluyen, modifican o conservan incorrectamente en condiciones distintas a las detalladas en estas instrucciones de uso.

Procedimiento ELISA

Temperatura de los reactivos

- Preparar los reactivos antes de iniciar el procedimiento de ensayo. Pasos 3-9: Los reactivos utilizados en los pasos 3-9 deben estar fríos (2-8 °C) y mantenerse fríos durante el pipeteado y el lavado. Recomendación: Preparar el tampón de lavado el día antes de realizar el ensayo y dejarlo en la nevera hasta el día siguiente.
- Realizar todos los pasos de lavado con tampón de lavado frío (2-8 °C).
- Atemperar el sustrato TMB y la solución de parada a temperatura ambiente (18-28 °C) al inicio del procedimiento de ensayo.

Pasos de lavado

- Los pasos de lavado 3, 6 y 9 son cruciales para eliminar los residuos resultantes del proceso de producción y/o los anticuerpos potencialmente no unidos en los pocillos.
- Se recomienda encarecidamente un lavador automático que funcione en «modo placa», es decir, cada paso del proceso (dispensación/aspiración) se lleva a cabo en todas las tiras, secuencialmente, antes de que el instrumento continúe con el siguiente ciclo de lavado.
- Comprobar que todos los pocillos estén completamente vacíos después del último ciclo de lavado.

Incubación con el sustrato

- Paso 11: Agitar las placas de microtitulación durante la incubación con el sustrato. Según el modelo de agitador de placas, recomendamos 400-600 rpm. La solución debe moverse en los pocillos sin derramarse.

Componentes del kit

- No usar los componentes después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Deben extremarse las precauciones para evitar la contaminación cruzada entre reactivos y muestras o entre pocillos.
- Los micropocillos no pueden ser reutilizados.

RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

El procedimiento requiere <0,1 mL de sangre o <50 µL de suero, respectivamente.

Recoger la sangre en tubos de venopunción simples sin aditivos y evitar la hemólisis. Preparar el suero conforme a las instrucciones del fabricante. Decantar el suero.

Las muestras de suero se pueden conservar a 2-8 °C durante hasta ocho semanas, a 28 °C durante hasta una semana y a ≤-20 °C durante 16 semanas. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse bien mediante agitación suave o inversión antes de su uso.
Recomendamos preparar alícuotas de las muestras de suero antes de congelarlas para evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Hay dos opciones:

(1) Detección de isotipos mixtos (IgG e IgM): añadir la mezcla de marcadores enzimáticos en el paso 7

(2) Detección de isotipos IgG o IgM: añadir bien el marcador enzimático de IgG o el marcador enzimático de IgM en el paso 7

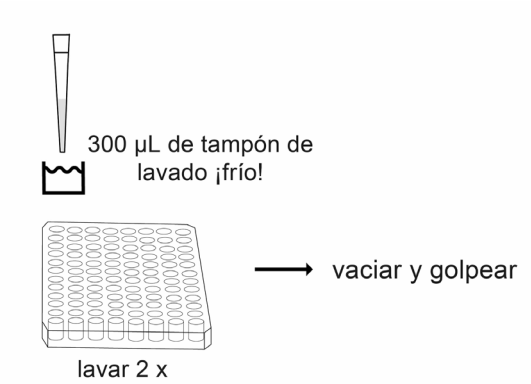
Nota: Atemperar la solución de sustrato TMB a temperatura ambiente (18-28 °C).

1. Diluir las muestras en proporción 1:50 con tampón de incubación. Utilizar, por ejemplo, 10 µL de suero + 490 µL de tampón de incubación ¡frío! (2-8 °C). Mezclar bien mediante agitación vorticial y dejar tanto las muestras diluidas como el calibrador y los controles reconstituidos a 2-8 °C durante 30 minutos antes de proceder al pipeteo (consultar los pasos 4a y b).

2. Preparar un marco de placas con un número de tiras suficiente para analizar los calibradores, controles y muestras necesarios. Retirar las tiras sobrantes del marco y volver a cerrarlas inmediatamente en la bolsa de aluminio junto con los paquetes de desecante. Conservar en refrigeración.

Nota: En los pasos de 3 a 9 utilizar reactivos fríos.

3. Lavar los pocillos dos veces utilizando como mínimo 300 µL de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante para eliminar completamente el líquido restante.



Nota: Pase inmediatamente a los pasos siguientes.

4a. Pipetear 100 µL de calibrador en el pocillo A1 (consultar la figura 1A para la opción 1 o la figura 1B para la opción 2).

4b. Pipetear 100 µL de control medio en el pocillo B1, de control bajo en el pocillo A2 y de control negativo en el pocillo B2 (consultar la figura 1A o 1B).

Nota para la opción 1: Si se utilizan más de tres tiras por ejecución, el calibrador y los controles pueden ensayarse por duplicado (ver la figura 1A).

Nota para la opción 2: El calibrador y los controles deben ensayarse por separado para los isotipos IgG e IgM (ver la figura 1B).

4c. Pipetear 100 µL de la muestra diluida 1 en los pocillos C1 a E1 (consultar la figura 1A o 1B).

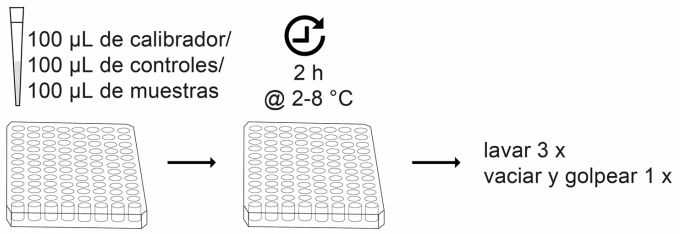
4d. Pipetear 100 µL de la muestra diluida 2 en los pocillos F1 a H1 (consultar la figura 1A o 1B).

4e. Pipetear 100 µL de las muestras diluidas 3 a 24 (para la opción 1) o 3 a 12 (para la opción 2) en pocillos sucesivos (consultar la figura 1A o 1B).

Nota para la opción 2: Repetir el pipeteo de las muestras 1 a 12 en el mismo orden en los pocillos restantes para el análisis con el segundo isotipo.

5. Cubrir la placa con una película de sellado e incubar durante 2 horas (±5 min) a 2-8 °C (no agitar la placa).

6. Retirar la película de sellado. Vaciar los pocillos y lavar tres veces utilizando como mínimo 300 µL de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante para eliminar completamente el tampón de lavado restante.



Para la opción 1: Detección de isotipos mixtos

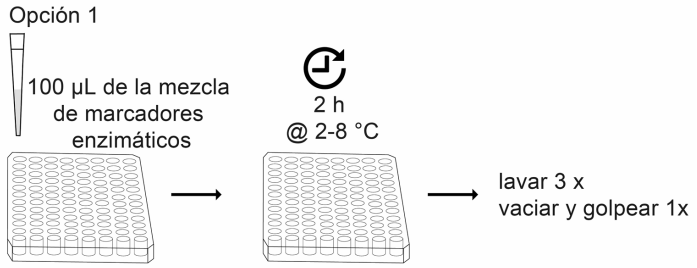
7. Añadir 100 µL de la mezcla a los pocillos.

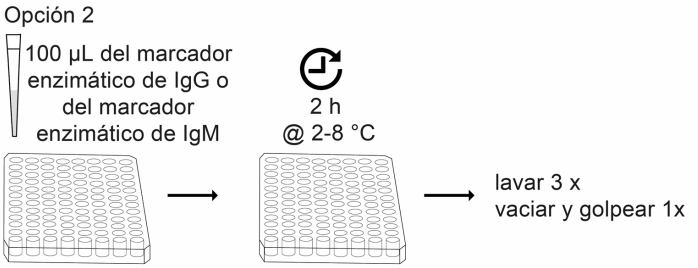
Para la opción 2: Detección de isotipos IgG o IgM

7'. Añadir 100 µL de bien el marcador enzimático de IgG o el de IgM a los pocillos respectivos (consultar la figura 1B).

8. Cubrir la placa con una película de sellado e incubar durante 2 horas (±5 min) a 2-8 °C (no agitar la placa).

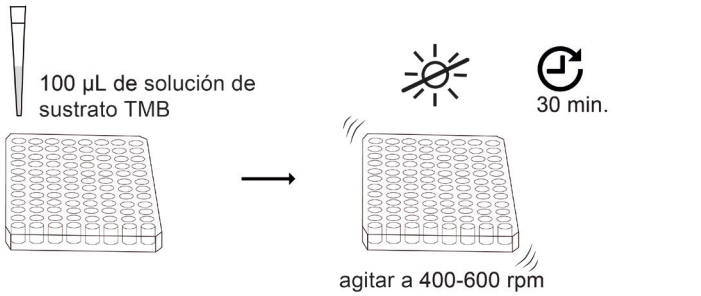
9. Retirar la película de sellado. Vaciar los pocillos y lavar tres veces utilizando como mínimo 300 µL de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante.





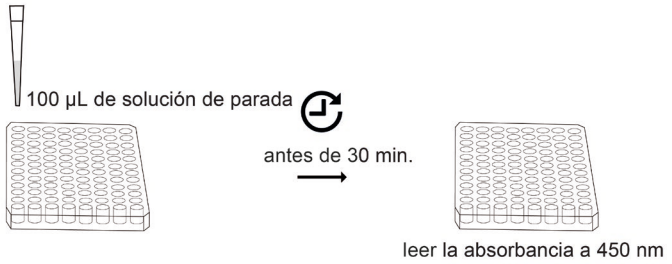
10. Añadir 100 µL de solución de sustrato TMB (atemperada a temperatura ambiente) a cada pocillo.

11. Cubrir la placa con una película de sellado, proteger la placa de la luz e incubar a 18-28 °C en un agitador de placas a 400-600 rpm durante 30 ± 2 minutos.



12. Añadir 100 µl de solución de parada a todos los pocillos. Eliminar las burbujas de aire con la punta de una pipeta. Proceder al paso 13 antes de que transcurran 30 minutos.

13. Leer la absorbancia a 450 nm en un lector de placas de microtitulación.



CONTROL DE CALIDAD

Para usar correctamente el producto, es necesario entender a fondo estas instrucciones de uso. Solo se obtendrán resultados fiables aplicando técnicas precisas de laboratorio y siguiendo exactamente estas instrucciones de uso.
El kit de BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA incluye tres controles: negativo, bajo y medio. Los controles tienen intervalos de valores establecidos (% Ratio), que se indican en la ficha de datos de control de calidad suministrada con cada kit. Las mediciones de los controles deben estar dentro de los intervalos de valor indicados para obtener resultados válidos.
Además de los controles del kit, recomendamos usar muestras combinadas de suero para un control de calidad interno.
Se recomienda un valor de DO_{450nm} de como mínimo 1,2 para el calibrador.
Las características de rendimiento deben estar dentro de los límites establecidos. Si el resultado del ensayo está fuera de los límites establecidos y mediante la repetición se han excluido errores de ejecución, comprobar los siguientes aspectos: i) control de la temperatura (los reactivos utilizados en el paso 3-9 se deben mantener a 2-8 °C) ii) precisión de los termómetros, dispositivos de pipeteo y cronometraje; iii) ajustes del lector ELISA; iv) fechas de caducidad de los reactivos; v) condiciones de conservación e incubación; vi) color de la solución de sustrato TMB (debe ser incolora); vii) pureza del agua; viii) métodos de aspiración y lavado.

ESTANDARIZACIÓN Y TRAZABILIDAD METROLÓGICA

No existen materiales de referencia ni procedimientos de referencia reconocidos a nivel nacional o internacional para la medición de antigangliósidos en muestras de suero. El ensayo BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA ha sido estandarizado con respecto a un material de referencia interno. Los valores de calibrador se asignan con arreglo a un protocolo de transferencia de valores (ref. 1), a fin de garantizar la trazabilidad metrológica, y se indican en unidades arbitrarias de relación porcentual ("% Ratio").
El intervalo de confianza al 95% de la incertidumbre combinada de los calibradores del producto se determinó como del 29,3% para anticuerpos IgG y del 37,6% para anticuerpos IgM.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS DEL ENSAYO

1. Registrar la absorbancia (DO) a 450 nm de cada pocillo (calibrador, controles y muestras).
2. Si se han realizado varias mediciones de calibrador y control, promediar los valores.

Los resultados se expresan como relación entre la absorbancia de las muestras y la absorbancia (promediada) del calibrador.

Isotipos mixtos

$$\%\ \text{Ratio:}\ \frac{\text{absorbancia de muestras o controles}}{\text{absorbancia del calibrador}} \times 200$$

Isotipos IgG e IgM

$$\%\ \text{Ratio:}\ \frac{\text{absorbancia de muestras o controles}}{\text{absorbancia del calibrador}} \times 100$$

La mayoría de los lectores de microplacas disponen de programas para calcular los resultados como relación porcentual.

Nota: Los resultados que se presentan en las tablas 5 y 6 son ejemplos que se facilitan con fines de demostración únicamente.

LIMITACIONES

- Resultados altos de relación porcentual (> 100% Ratio) para gangliósidos individuales pueden dar lugar a reactividad cruzada con otros gangliósidos en la misma muestra. La reactividad cruzada suele manifestarse como una variación interensayo elevada. La interpretación de los resultados debe hacerse por tanto únicamente en consulta con un experto/especialista.
- Debido a la polirreactividad de los anticuerpos autoinmunes y sus diferencias geográficas de prevalencia, los resultados del ensayo se deben utilizar únicamente para respaldar la interpretación clínica de la neuropatía hecha por un experto/especialista junto con el cuadro clínico del paciente (ref. 2).
- Esta prueba no se ha validado para muestras de plasmaféresis.
- Las inmunoglobulinas intravenosas (IgIV) pueden afectar a los resultados de la prueba.

INTERVALOS DE REFERENCIA Y PUNTOS DE CORTE

El intervalo de referencia del ensayo BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA se estableció según la norma C28-A3 del CLSI utilizando 120 muestras de suero de personas que se autodeclararon sanas. La frecuencia de distribución de anticuerpos antigangliósidos en donantes de sangre normales se clasificó en categorías de título: negativo (<30% Ratio), zona gris (30-50% Ratio) y positivo (>50% Ratio). Los resultados se resumen en la tabla 7. El valor de corte para la positividad es del 50% Ratio.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Antígeno	Mezcla de IgG/IgM IgG IgM		
	Valores (% Ratio)		
	<30	30-50	>50
GD1b	Negativo	Repetir la prueba más adelante	Positivo
GQ1b			
GM1			

Tabla 3

Los resultados de las pruebas deben interpretarse en el contexto de la información disponible de la evaluación clínica del paciente y otros procedimientos diagnósticos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Precisión intralaboratorio: 5,7 – 13,2% CV
La precisión intralaboratorio se determinó según la norma EP05-A3 del CLSI utilizando el diseño de estudio estandarizado de 20 días x 2 ejecuciones x 2 réplicas. Se ensayaron tres (3) muestras de suero combinado de pacientes. Los resultados se resumen en la tabla 8.

Reproducibilidad: 7,7 – 19,1% CV
La reproducibilidad se determinó según la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio de 3 instrumentos/lotes/operadores x 5 días x 5 réplicas. Se ensayaron tres (3) muestras de suero combinado de pacientes. Los resultados se resumen en la tabla 9.

Límite del blanco (LB) ≤ límite de detección (LD): ≤30% Ratio
El LB y el LD se determinaron según la norma EP17-A2 del CLSI utilizando el análisis no paramétrico. Los resultados se resumen en la tabla 10.

Efecto gancho a dosis altas
No se observó ninguna limitación del rango de medición debida a un efecto gancho a dosis altas.

Reactividad cruzada
No se observó ninguna reactividad cruzada sistemática entre muestras de pacientes con distintas enfermedades autoinmunes (tabla 11) o de pacientes con otros trastornos neurológicos (tabla 12).

RENDIMIENTO CLÍNICO

El rendimiento clínico se evaluó mediante un análisis descriptivo de la bibliografía en revistas científicas con revisión por pares. Cinco (5) estudios abordaban el rendimiento clínico del ensayo BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA en el diagnóstico de neuropatías periféricas autoinmunes (ref. 3-7). Los resultados del análisis y los detalles de los estudios se ofrecen en la tabla 4 y la tabla 13 respectivamente.

Nº de neuropatías periféricas	160 (102 SGB pediátricos, 14 PDIC, 44 SGB)
Nº de controles	375 (104 CNN, 142 CN, 129 CS)
Sensibilidad (IC al 95%)	57,0% (38,6 – 75,4%)
Especificidad (IC al 95%)	79,8% (66,8 – 93,2%)

Tabla 4

SGB: síndrome de Guillain-Barré; CNN: control con enfermedad no neurológica; CN: control con enfermedad neurológica; CS: control sano; PDIC: polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; IC: intervalo de confianza

SUSTANCIAS INTERFERENTES

La susceptibilidad del ensayo a fármacos orales e inyectables, así como a sustancias endógenas, se evaluó según la norma EP07-A3 del CLSI. Cualquier sesgo en los resultados ≥ ± 20% Ratio se consideró una interferencia.

No se detectaron interferencias con las sustancias siguientes hasta las concentraciones indicadas: inmunoglobulina intravenosa (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), cladribina (273 ng/mL), interferón alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentina (26,7 µg/mL), ibuprofeno (0,22 mg/mL), clorambucilo (1,96 µg/mL), prednisona (99 ng/mL), prednisolona (1,2 µg/mL), factor reumatoide (2340 UI/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolizado (10 mg/mL), triglicérido (15 mg/mL), bilirrubina conjugada (20 µg/mL), bilirrubina no conjugada (150 µg/mL).

TABLAS Y FIGURAS

Configuración de la placa de microtitulación: Mezcla de marcadores de IgG/IgM

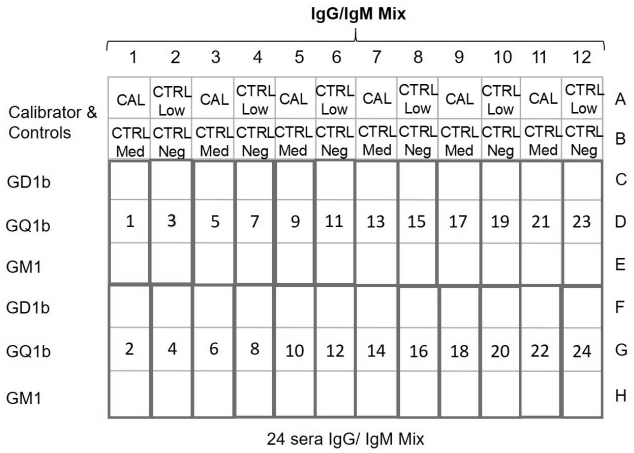


Figura 1A: ≤ 24 sueros / kit (1 placa / kit)

Configuración de la placa de microtitulación: Marcadores de IgG e IgM

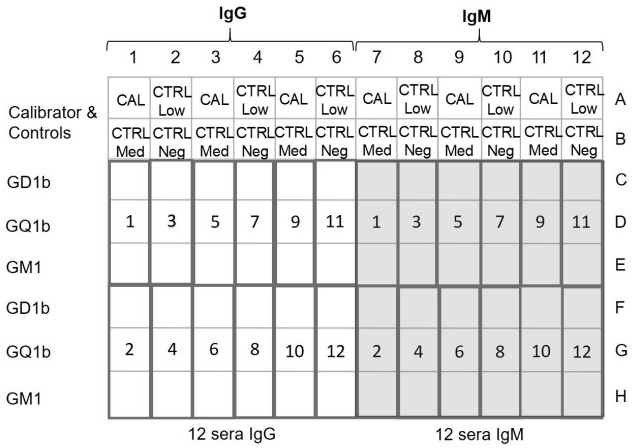


Figura 1B : 2 perfiles / suero, ≤ 12 sueros / kit (1 placa / kit)

Ejemplo de resultados

A Mezcla de marcadores de IgG/IgM

B-GCO-ELGM	Absorbancia (DO450)	Ratio [%]
Calibrador	1,415	
	1,445	
Calibrador promediado	1,430	200
Control medio	0,498	69
	0,482	67
Control medio prom.	0,490	68
Control bajo	0,195	27
	0,191	26
Control bajo prom.	0,193	27
Control negativo	0,090	12
	0,100	14
Control negativo prom.	0,095	13
Muestra 1 GM1	0,544	76
Muestra 1 GD1b	0,745	104
Muestra 1 GQ1b	0,090	13

Tabla 5

B Marcadores de IgG e IgM

Marcador enzimático	Absorbancia (DO450)		Ratio [%]	
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM	IgG	IgM	IgG	IgM
Calibrador	1,789	2,576		
	1,833	2,527		
Calibrador promediado	1,836	2,551	100	100
Control medio	1,267	1,743	69	68
	1,237	1,764	67	69
Control medio prom.	1,252	1,753	68	69
Control bajo	0,567	0,938	30	37
	0,584	0,942	32	37
Control bajo prom.	0,571	0,940	31	37
Control negativo	0,061	0,098	3	4
	0,051	0,095	3	4
Control negativo prom.	0,056	0,097	3	4
Muestra 1 GM1	0,171	3,814	9	150
Muestra 1 GD1b	1,021	0,354	56	14
Muestra 1 GQ1b	0,378	0,208	21	8

Tabla 6

Intervalo de referencia

Analito	Porcentajes de donantes de sangre normales en cada categoría			Límite de referencia (IC al 90%)
	<30 %Ratio	30 - 50 %Ratio	>50 %Ratio	
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-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)[F] 9 (6,4 – 54,7)[M]
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 subgrupo de mujeres. *M* subgrupo de hombres

Tabla 7

TABLAS Y FIGURAS

Precisión intralaboratorio

Descripción de la muestra			Precisión intralaboratorio			
Analito	**Marcador enzimático (isotipo)**	**Categoría esperada [%Ratio]**	**N**	**Media [%Ratio]**	**DE [%Ratio]**	**CV [%]**
Anticuerpo 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
Anticuerpo anti-GQ1b	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

Tabla 8

Reproducibilidad

Descripción de la muestra			Reproducibilidad			
Analito	**Marcador enzimático (isotipo)**	**Categoría esperada [%Ratio]**	**N**	**Media [%Ratio]**	**DE [%Ratio]**	**CV [%]**
Anti-cuerpo 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
Anti-cuerpo anti-GQ1b	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

Tabla 9

LD y LB

Analito	LB [% Ratio]	LD [% Ratio]
Anti-cuerpo Anti-GM1 IgM	5	21
Anti-cuerpo Anti-GM1 IgG	6	15
Anti-cuerpo Anti-GQ1b IgM	3	17
Anti-cuerpo Anti-GQ1b IgG	8	18

Tabla 10

Reactividad cruzada

Anticuerpo asignado	Diagnóstico	#
Anticuerpos anticitoplásmicos de neutrófilos (ANCA)	Vasculitis	3
	Otros (muestras positivas por ANCA)	10
Anticuerpos antinucleares (ANA)	Lupus eritematoso sistémico	5
	Artritis reumatoide	9
	Síndrome de Sjögren	6
	Otros (muestras positivas por ANA)	3
Anticuerpos antitiroglobulina (anti-Tg)	Tiroiditis autoinmune	5
Anticuerpos antirribonucleoproteína	Enfermedad mixta del tejido conjuntivo	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Neuropatías periféricas autoinmunes	1
Anticuerpos anti receptor de acetilcolina y anti tirosina-cinasa específica del músculo	Miastenia grave	7

Tabla 11

Neuropatías periféricas	**#**
Alcohólica	1
Diabética	5
Trastornos que imitan neuropatías periféricas	**#**
Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)	15
Sarcoidosis	4
Macroglobulinemia de Waldenström (MW)	4
Enfermedad de Chagas	5

Tabla 12

Rendimiento clínico

Estudio	Controles positivos (casos)	Controles negativos	Epítopo	Sensi-bilidad	Especi-ficidad
Hashemilar et al., 2014	SGB pediátrico (n = 45)	CNN (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	SGB pediátrico (n = 57)	CN (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		CNN (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
Spatola et al., 2016	SGB (SMF) (n = 12)	CNN (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97

Tabla 13

SGB: síndrome de Guillain-Barré; CNN: control con enfermedad no neurológica; CN: control con enfermedad neurológica; CS: control sano; SMF: síndrome de Miller Fisher; PDIC: polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica

BÜHLMANN GanglioCombi® *Light* ELISA

Placa de microtitulación previamente recubierta

↓ *lavar 2 veces con ≥300 µL de tampón de lavado (¡frío!)*

100 µL de calibrador, controles o muestras de suero (1:50)

↓ *incubar durante 2 horas (±5 minutos) a 2-8 °C*

lavar 3 veces con ≥300 µL de tampón de lavado (¡frío!)

añadir 100 µL de marcador(es) enzimático(s)

↓ *incubar durante 2 horas (±5 minutos) a 2-8 °C*

lavar 3 veces con ≥300 µL de tampón de lavado (¡frío!)

añadir 100 µL del sustrato TMB (¡a temperatura ambiente!)

↓ *incubar durante 30 minutos (±2 minutos) a 18-28 °C en un agitador de placas a ~400-600 rpm*

añadir 100 µL de solución de parada (¡a temperatura ambiente!)

➡ **Leer la absorbancia a 450 nm (en un plazo máximo de 30 minutos)**

TIEMPO HASTA EL RESULTADO: 4,5 HORAS

REFERENCIAS

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

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

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

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

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

6. Spatola, M., Du Pasquier, R., Schluep, M. & Regeniter, A. Serum and CSF GQ1b antibodies in isolated ophthalmologic syndromes. *Neurology* **86**, 1780–1784 (2016).

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

REGISTRO DE LOS CAMBIOS

Fecha	Versión	Cambios
2023-08-17	A1	Modificación del *Uso previsto* y del nombre del producto Nueva redacción del apartado *Principio del ensayo* con categorías de título negativo, zona gris y positivo Nuevas estabilidades durante el período de uso de los reactivos Actualización del apartado *Advertencias y precauciones* Revisión de los apartados *Recogida y conservación de las muestras, Procedimiento del ensayo,* y *Estandarización y trazabilidad metrológica* Nueva redacción del apartado *Control de calidad* Actualización del apartado *Limitaciones* Revisión de los apartados *Intervalos de referencia y puntos de corte, Características del rendimiento,* y *Sustancias interferentes* Introducción del apartado *Resultados clínicos* Revisión de los apartados *Referencias* y *Símbolos* Inclusión del número de organismo notificado en el marcado CE - procedimiento de evaluación de la conformidad según el IVDR 2017/746

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Notificar al distribuidor si este producto se ha recibido dañado.

SIMBOLOS

BÜHLMANN utiliza los símbolos y signos enumerados y descritos en la norma ISO 15223-1. Además, se utilizan los siguientes símbolos y signos:

Símbolo	Explicación
MP	Placa de microtitulación
BUF WASH 10X	Concentrado de tampón de lavado (10x)
BUF INC	Tampón de incubación
CAL	Calibrador
CONTROL -	Control negativo
CONTROL L	Control bajo
CONTROL M	Control medio
EL IgG	Marcador enzimático IgG
EL IgM	Marcador enzimático IgM
EL MIX	Mezcla de marcadores enzimáticos IgG/IgM
SUBS TMB	Sustrato de TMB
SOLN STOP	Solución de parada

CE 0123