



BÜHLMANN GanglioCombi[®] MAG ELISA

med enzygmærkerne IgG/IgM Mix, IgG og IgM

Påvisning af anti-gangliosid-
og -MAG-antistoffer ved ELISA
(HNK-1 ("MAG"), GM1, GT1a, GD1a, GD1b og GQ1b)

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse

EK-GCM 2 x 96 test

Udgivelsesdato: 2023-08-17
Version A1

TILSIGTET ANVENDELSE

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA er en *in vitro*-diagnostisk analyse til semikvantitativ bestemmelse af IgG og/eller IgM-antistoffer mod udvalgte neurale antigener/epitoper i serumprøver. Analyseresultaterne kan anvendes til at understøtte diagnosticering af autoimmune perifere neuropatier i sammenhæng med andre kliniske fund og laboratorieresultater.

Kun til laboratorieanvendelse.

TILSIGTET APPLIKATION

De tre enzymmærker, der følger med i kittet, muliggør tre forskellige testalgoritmer:

1. Testning med IgG/IgM-konjugatblandingen (i det følgende kaldet blanding) muliggør screening for tilstedeværelse af anti-neurale antistoffer, der tyder på en autoimmun neuropati.
2. Testning med individuelle IgG- og/eller IgM-konjugater muliggør isotypebestemmelse af antistoffer.
3. Ved laboratorieudredningen kan indledende prøvescreening ved anvendelse af blandingen (valgmulighed 1) efterfølges af differentiering af blandingspositive prøver ved anvendelse af individuelle IgG- og IgM-konjugater (valgmulighed 2) efter behov.

ANALYSEPRINCIP

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA muliggør måling af gangliosid- og myelinassocieret glykoprotein (MAG)-antistoffer i serum. Mikrotiterpladen er coatet med gangliosider: GM1, GT1a, GD1a, GD1b, GQ1b og den kemisk syntetiserede HNK-1-epitop af MAG-glykoproteinet (ref. 1).

Patientsera, kontroller og kalibrator tilsættes til mikrotiterpladens brønde. Efter 2 timers inkubation ved 2-8 °C og vasketrin påviser detektionsantistoffer (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM), der er konjugeret til peberrodsperoxidase (HRP), anti-gangliosid og/eller anti-MAG-antistofferne, der er bundet til de immobiliserede gangliosider eller HNK-1 på pladen. Efter yderligere 2 timers inkubation og yderligere vasketrin tilsættes det kromogene HRP-substrat, tetramethylbenzidin (TMB), (blå farvedannelse) efterfulgt af en stopreaktion (skift til gul farve). Absorptionen måles ved 450 nm.

Den målte absorbans er proportional med titren af antistoffer, der er til stede i en given prøve. Antistoftitre udtrykkes som %-forhold af kalibratoren og kan inddeles i titerkategorier (negativ, gråzone, positiv).

MEDFØLGENDE REAGENSER OG FORBEREDELSE

Reagenser	Kvantitet	Kode	Rekonstitution
Mikrotiterplade præcoatet med gangliosider og HNK-1	2 x 12 x 8 brønds strips med ramme	B-GCM-MP	Brugsklar
Pladeforsegl	6 stk		
Vaskebufferkoncentrat (10x) med konserveringsmidler	2 flaske x 100 mL	B-GCO-WB	Fortynd med 900 mL deioniseret vand
Inkubationsbuffer med konserveringsmidler	1 flaske x 100 mL	B-GCO-IB	Brugsklar
Kalibrator lyofiliseret med konserveringsmidler	1 hætteglas	B-GCO-CA	Tilsæt 1,5 mL inkubationsbuffer
Kontrol negativ, lav og medium¹ lyofiliseret med konserveringsmidler	3 hætteglas	B-GCO-CONSET	Tilsæt 1,5 mL inkubationsbuffer
Enzymmærke-IgG/IgM-blanding anti-human IgG- og IgM-antistof konjugeret til HRP i en buffermatrix med konserveringsmidler	2 hætteglas x 11 mL	B-GCO-ELGM	Brugsklar
Enzymmærke-IgG anti-human IgG-antistof konjugeret til HRP i en buffermatrix med konserveringsmidler	1 hætteglas x 11 mL	B-GCO-ELG	Brugsklar
Enzymmærke-IgM anti-human IgM-antistof konjugeret til HRP i en buffermatrix med konserveringsmidler	1 hætteglas x 11 mL	B-GCO-ELM	Brugsklar
TMB-substrat TMB i citratbuffer	2 hætteglas x 11 mL	B-TMB	Brugsklar
Stopopløsning 0,25 M svovlsyre	2 hætteglas x 11 mL	B-ST5	Brugsklar Ætsende stof

Tabel 1

¹ Kontrollerne indeholder lot-specifikke niveauer af anti-GM1-antistoffer. Se det supplerende QC-dataark for faktisk gennemsnitlig OD og %-forhold.

REAGENSOPBEVARING OG -HOLDBARHED

Forseglede / uåbnede reagenser	
Opbevares ved 2-8 °C. Reagenserne må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på etiketterne.	
Opnede/ rekonstituted reagents	
Mikrotiterplade	Ubrugte strips skal straks lægges tilbage i folieposen, som indeholder pakkerne med tørremiddel, og genlukkes langs hele lynlåslukningen. Opbevares i op til 6 måneder ved 2-8 °C.
Fortyndet vaskebuffer	Opbevares i op til 6 måneder ved 2-8 °C.
Inkubationsbuffer	
Enzymmærker	
TMB-substrat	
Kontroller	
Kalibrator	Opbevares i op til 6 måneder ved 18-28 °C.
Stopopløsning	

Tabel 2

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

- Præcisionspipetter med engangsspidser: 10 µL, 20 µL, 100 µL og 1000 µL pipetter
- Engangsreagensglas af polystyren eller polypropylen til fremstilling af prøvafortyndinger
- 1000 mL måleglas til fortynding af vaskebuffer
- Mikrotiterpladevasker
- Trækpapier
- Mikrotiterpladeryster
- Mikrotiterpladelæser til måling af absorbans ved 450 nm

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

Sikkerhedsforholdsregler

- Kalibratorerne og kontrollerne i dette kit indeholder komponenter af human oprindelse. Selvom de er testet og fundet negative for HBV, HCV og HIV 1/2, skal reagenserne behandles, som om de er i stand til at overføre infektioner, og de skal håndteres i overensstemmelse med god laboratoriepraksis (GLP) ved anvendelse af relevante forholdsregler.
- Dette kit indeholder komponenter, der er klassificeret i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008:
 - Stopopløsningen indeholder svovlsyre (konc. 2,5-5 %), og reagenserne kan derfor forårsage hudirritation (H315), alvorlig øjenirritation (H319) og kan ætse metaller (H290).
 - Kalibratoren, kontrollerne og enzymerkernerne indeholder 2-methyl-4-isothiazolin-3-on-hydrochlorid (konc. $\geq 0,0015$ %), og reagenserne kan derfor forårsage allergiske hudreaktioner (H317).
 - Inkubationsbufferen og vaskebufferen indeholder gentamicinsulfat, og reagenserne kan derfor forårsage en allergisk hudreaktion (H317).
- Undgå, at reagenserne kommer i kontakt med hud, øjne eller slimhinder. Hvis der opstår kontakt, skal det berørte område straks vaskes med rigelige mængder vand, da der ellers kan forekomme irritation/ætsning.
- Reagenser og kemikalier skal behandles som farligt affald i henhold til de nationale sikkerhedsretningslinjer eller -regler for biologisk betingede fare.

Tekniske forholdsregler

- Læs anvisningerne grundigt, før du udfører testen. Testens ydeevne bliver forringet, hvis reagenserne fortyndes forkert, ændres eller opbevares under andre forhold end dem, der er beskrevet i denne brugsanvisning.

ELISA procedure

Reagensernes temperatur

- Klargør reagenserne, inden analyseproceduren påbegyndes. Trin 3-9: Reagenserne, der anvendes i trin 3-9, skal være kolde (2-8 °C) og holdes kolde under pipettering og vask. Anbefaling: Klargør vaskebufferen dagen før analysen skal udføres, og sæt den i køleskabet natten over.
- Udfør alle vasketrin med kold (2-8 °C) vaskebuffer.

- Lad TMB-substrat- og stopopløsningen opnå stuetemperatur (18-28 °C) ved analyseprocedurens begyndelse.

Vasketrin

- Vasketrin 3, 6 og 9 er afgørende for at fjerne rester fra produktionsprocessen og/eller eventuelle ubundne antistoffer i brøndene.
- Det anbefales kraftigt at anvende en automatiseret vasker, der kører i "plate mode" (pladetilstand), dvs. hvert procestrin (dispensering / aspiration) udføres på alle strips i rækkefølge, inden instrumentet fortsætter til næste vaskecyklus.
- Kontroller, at alle brøndene er helt tomme efter den sidste vaskecyklus.

Substratinkubation

- Trin 11: Mikrotiterpladerne skal rystes under inkubation med substratet. Afhængigt af pladerystermodel anbefaler vi 400-600 rpm. Opløsningen skal bevæges i brøndene, men ikke skulpe over.

Kittets komponenter

- Komponenterne må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på etiketterne.
- Forskellige reagens-lots må ikke blandes.
- Der skal gøres alle bestræbelser på at sikre, at der ikke forekommer krydskontaminering mellem reagenser, prøver eller mellem brønde.
- Mikrobrønde må ikke genbruges.

INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER

Proceduren kræver henholdsvis $<0,1$ mL blod eller <50 µL serum.

Indsaml blod i almindelige venepunkturør uden tilsætningsstoffer, og undgå hæmolyse. Udfør serumforberedelse i henhold til producentens anvisninger. Dekanter serummet.

Serumprøver kan opbevares ved 2-8 °C i op til otte uger, ved 28 °C i op til én uge og ved ≤ -20 °C i 16 måneder. Frosne prøver skal optøs og blandes grundigt ved at hvirvle eller vende dem forsigtigt før brug.

Vi anbefaler, serumprøverne portionsinddeles før nedfrysning for at undgå gentagen nedfrysning/optøning.

ANALYSEPROCEDURE

Der er to valgmuligheder:

- (1) Detektion af blandingsisotyper (IgG og IgM): Tilsæt enzymerkemikalblanding i trin 7
- (2) Detektion af IgG- eller IgM-isotyper: Tilsæt enten enzymerkemikale IgG eller enzymerkemikale IgM i trin 7

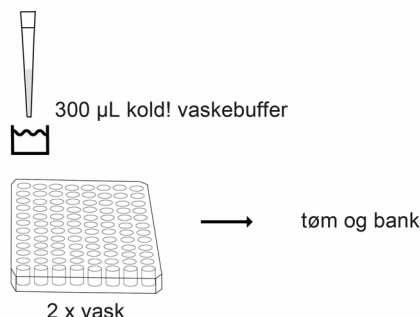
Bemærk: Lad TMB-substratopløsningen opnå stuetemperatur (18-28 °C).

1. Fortynd prøverne 1:50 med inkubationsbuffer. Brug f.eks. 20 µL serum + 980 µL kold! (2-8 °C) inkubationsbuffer. Bland grundigt ved vortex-blanding, og lad de fortyndede prøver samt den rekonstituerede kalibrator og kontrollerne stå ved 2-8 °C i 30 minutter før afpipettering (se trin 4a og b).

- Klargør en pladeramme med tilstrækkeligt mange strips til analyse af det nødvendige antal kalibratorer, kontroller og prøver. Fjern overskydende strips fra rammen, og læg dem straks i den tætlukkede foliepose sammen med pakkerne med tørremiddel. Opbevares i køleskab.

Bemærk: Anvend kolde reagenser ii tril 3 til 9.

- Vask brøndene to gange med mindst 300 µL kold! (2-8 °C) vaskebuffer pr. brønd. Tøm brøndene, og bank pladen fast mod trækpapiret for at fjerne tilbageværende væske fuldstændigt.



Bemærk: Gå straks videre til næste trin.

- Afpipettér 100 µL kalibrator i brønd A1 (se figur 1A for valgmulighed 1 eller figur 1B for valgmulighed 2).
- Afpipettér 100 µL medium kontrol i brønd B1, lav kontrol i brønd A2 og negativ kontrol i brønd B2 (se figur 1A eller 1B).

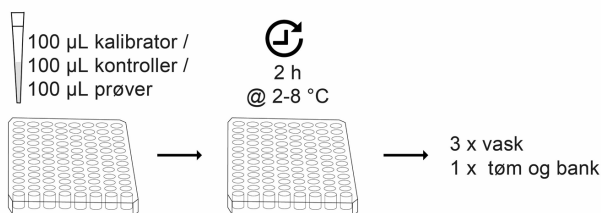
Bemærkning til valgmulighed 1: Hvis der anvendes mere end tre strips pr. kørsel, kan kalibratoren og kontrollerne måles som duplikater (se figur 1A).

Bemærkning til valgmulighed 2: Kalibratoren og kontrollerne bør køres separat for IgG- og IgM-isotyperne (se figur 1B).

- Afpipettér 100 µL fortyndet prøve 1 i brønd C1-H1 (se figur 1A eller 1B).
- Afpipettér 100 µL fortyndet prøve 2 i brønd C2-H2 (se figur 1A eller 1B).
- Afpipettér 100 µL fortyndet prøve 3-24 (for valgmulighed 1) eller 3-12 (for valgmulighed 2) i de efterfølgende brønde (se figur 1A eller 1B).

Bemærkning til valgmulighed 2: Gentag afpipetteringen af prøve 1-12 i samme rækkefølge i de øvrige brønde til testning med den anden isotype.

- Dæk pladen med en pladeforsegler, og inkuber i 2 timer (±5 min) ved 2-8 °C (pladen må ikke rystes).
- Fjern pladeforsegleren. Tøm brøndene, og vask tre gange med mindst 300 µL kold! (2-8 °C) vaskebuffer pr. brønd. Tøm brøndene, og bank pladen fast mod trækpapiret for at fjerne tilbageværende vaskebuffer fuldstændigt.

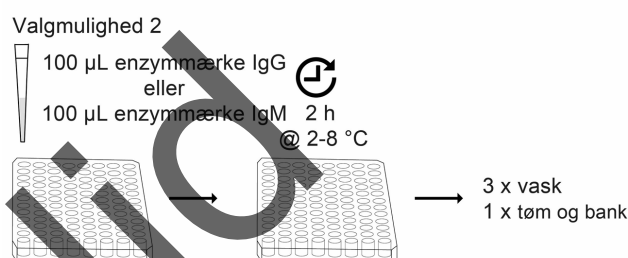
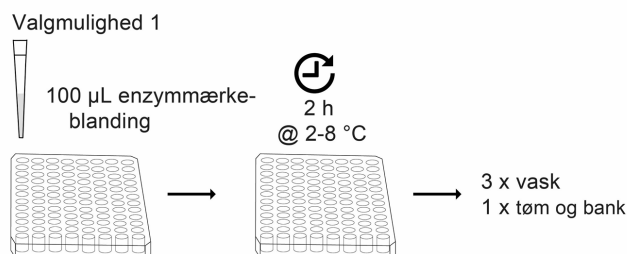


For valgmulighed 1: Detektion af blandingsisotype

- Tilsæt 100 µL blanding til brøndene.

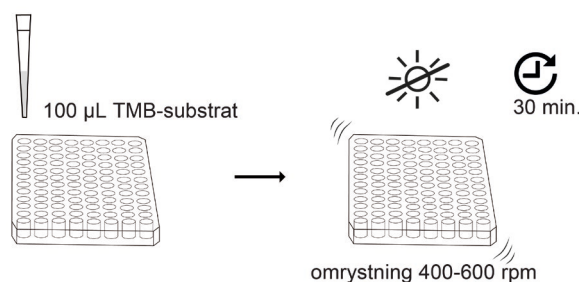
For valgmulighed 2: Detektion af IgG- eller IgM-isotyper

- Tilsæt 100 µL enten enzymmærke IgG eller IgM til de respektive brønde (se figur 1B).
- Dæk pladen med en pladeforsegler, og inkuber i 2 timer (±5 min) ved 2-8 °C (pladen må ikke rystes).
- Fjern pladeforsegleren. Tøm brøndene, og vask tre gange med mindst 300 µL kold! (2-8 °C) vaskebuffer pr. brønd. Tøm brøndene, og bank pladen fast mod trækpapiret.



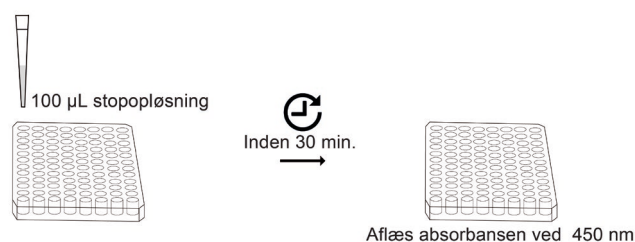
- Tilsæt 100 µL TMB-substratopløsning (ækvilibreret til stuetemperatur) til hver brønd.

- Dæk pladen med en pladeforsegler, beskyt pladen mod lys, og inkuber den på en pladeryster, der er indstillet på 400-600 rpm, ved 18-28 °C i 30 minutter ±2 min.



- Tilsæt 100 µL stopopløsning til alle brønde. Fjern luftbobler med en pipettespids. Gå videre til trin 13 inden for 30 minutter.

- Aflæs absorbansen ved 450 nm i en mikrotiterpladelæser.



KVALITETSKONTROL

En grundig forståelse af denne brugsanvisning er nødvendig for vellykket anvendelse af produktet. Der kan kun opnås pålidelige resultater ved anvendelse af præcise laboratorieteknikker og ved at følge brugsanvisningen nøje. BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA kit indeholder tre kontroller: negativ, lav og medium kontrol.

Kontrollerne har tildelte værdiintervaller (%-forhold), der fremgår af det QC-dataark, der følger med hvert kit. Kontrolmålingerne skal ligge inden for de angivne værdiintervaller, for at der kan opnås valide resultater.

Der anbefales en mindste OD_{450nm}-værdi på 1,2 for kalibratoren.

Ydeevnekarakteristika skal være inden for de fastlagte grænseværdier. Hvis analysens ydeevne ikke opfylder de fastlagte grænseværdier, og en gentagelse udelukker fejl i teknikken, skal følgende punkter tjekkes: i) temperaturkontrol (reagenserne der anvendes i trin 3-9 er blevet holdt ved 2-8 °C), ii) termometrenes, pipetteringens og tidtagingsenhedernes nøjagtighed, iii) ELISA læserindstillingerne, iv) reagensernes udløbsdato, v) opbevarings- og inkubationsforholdene, vi) TMB-substratopløsningens farve (skal være farveløs), vii) vandets renhed, viii) aspirations- og vaskemetoderne.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHED

Der findes ingen internationalt eller nationalt anerkendte referencematerialer eller referencemåleprocedurer for anti-gangliosid- eller -MAG-antistoffer i serumprøver. BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA er standardiseret mod et internt fastlagt referencemateriale. Kalibratorværdier tildeles i henhold til en værdioverførselsprotokol (ref. 2) for at garantere metrologisk sporbarhed og angives i arbitrære "%-forhold"-enheder.

95 % konfidensintervallet for den kombinerede usikkerhed på produktkalibratorerne blev bestemt til at være 29,3 % for IgG-antistoffer og 37,6 % for IgM-antistoffer.

BEREGNING AF TESTRESULTATER

1. Registrér absorbansen (OD) ved 450 nm for hver brønd (kalibrator, kontroller og prøver).
2. Hvis der er blevet udført flere kalibrator- og kontrolmålinger, beregnes gennemsnittet af værdierne.

Resultaterne udtrykkes som forholdet mellem prøvernes absorbans og kalibratorens (gennemsnitlige) absorbans.

Blandingsisotyper

prøvernes eller kontrollernes absorbans

%-forhold : $\frac{\text{prøvernes eller kontrollernes absorbans}}{\text{kalibratorens absorbans}} \times 200$

IgG- og IgM-isotyper

prøvernes eller kontrollernes absorbans

%-forhold : $\frac{\text{prøvernes eller kontrollernes absorbans}}{\text{kalibratorens absorbans}} \times 100$

Der er programmer tilgængelige på de fleste mikropladelæsere til beregning af %-forhold.

Bemærk: Resultaterne, der præsenteres i tabel 7 og 8, er eksempler og vises kun med henblik på demonstration.

BEGRÆNSNINGER

- Høje %-forhold-resultater (> 100 %) for individuelle gangliosider kan medføre krydsreaktivitet med andre gangliosider inden for den samme prøve. Krydsreaktiviteten vil typisk udvise høj variation inden for analysen. Fortolkning af resultaterne bør derfor udelukkende foretages sammen med en ekspert/specialist.
- På grund af autoimmune antistoffers polyreaktivitet og forskelle i geografisk prævalens bør analyseresultaterne kun anvendes til at understøtte en eksperts/specialists kliniske fortolkning af neuropatien i kombination med patientens kliniske billede (ref. 3).
- Denne test er ikke blevet valideret for plasmaferese.
- Intravenøse immunoglobuliner (IVIg) kan påvirke testresultaterne.

REFERENCEINTERVALLER OG CUT-OFF

Referenceintervallet for BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA blev fastlagt i henhold til CLSI C28-A3 med 120 serumprøver fra selverklæret raske personer. Fordelingsfrekvensen for anti-gangliosid- og anti-MAG-antistoffer hos normale bloddonorer blev inddelt i titerkategorier: negativ (<30 %-forhold), gråzone (30-50 %-forhold) og positiv (>50 %-forhold). Resultaterne er opsummeret i tabel 9. Afskæringsværdien for positivitet er 50 %-forhold.

FORTOLKNING AF RESULTATET

Antigen	IgG/IgM-blanding		
	Værdier (%-forhold)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se annotation */**	Se annotation */**
GM1			
GT1a			
GD1a		Mål om på et senere tidspunkt	Positiv
GD1b			
GQ1b			

Tabel 3

Antigen	IgG		
	Værdier (%-forhold)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se annotation *	Se annotation *
GM1			
GT1a			
GD1a		Mål om på et senere tidspunkt	Positiv
GD1b			
GQ1b			

Tabel 4

Antigen	IgM		
	Værdier (%-forhold)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se annotation **	Positiv (se annotation **)
GM1		Mål om på et senere tidspunkt	Positiv
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Tabel 5

Testresultaterne skal fortolkes i sammenhæng med tilgængelige oplysninger fra den kliniske vurdering af patienten og andre diagnostiske procedurer.

* MAG-neuropati er almindeligvis associeret med tilstedeværelse af anti-MAG-antistoffer af IgM-isotypen (ref. 4).

** Resultater mellem 30 og 50 % (gråzone) eller > 50 % (positiv) for HNK-1 opnået med blandingen eller enzymmærke-IgM kan måles om med anti-MAG Antibodies ELISA (EK-MAG).

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

Metodesammenligning

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA vs. anti-MAG Antibodies ELISA

Metodesammenligningsforsøget blev udført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3 og EP12-A2. Et hundrede og toogtyve (122) prøver blev målt ved anvendelse af 2 lots af BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA og 2 lots af anti-MAG Antibodies ELISA. Diagnostisk (kappa) overensstemmelse, negativ procent overensstemmelse og positiv procent overensstemmelse blev bestemt. Overensstemmelserne er vist i tabel 10.

Præcision inden for laboratoriet

For anti-gangliosider: 5,7-13,2 % CV

For anti-MAG: 14,4-36,5 % CV

Præcisionen inden for laboratoriet blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af det standardiserede forsøgsdesign med 20 dage x 2 kørsler x 2 replikater. Tre (3) puljede patientserumprøver blev testet. Resultaterne er opsummeret i tabel 11.

Reproducerbarhed

For anti-gangliosider: 7,7-19,1 % CV

For anti-MAG: 23,5-33,2 % CV

Reproducerbarheden blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 3 instrumenter/lots/operatører x 5 dage x 5 replikater. Tre (3) puljede patientserumprøver blev testet. Resultaterne er opsummeret i tabel 12.

Blindværdigrænse (LoB) ≤ detektionsgrænse (LoD): ≤30 %-forhold

LoB og LoD blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 ved anvendelse af den non-parametriske analyse. Resultaterne er opsummeret i tabel 13.

Højddosis-hook-effekt

Der blev ikke observeret nogen begrænsning af måleområdet som følge af højddosis-hook-effekt.

Krydsreaktivitet

Der blev ikke observeret systematisk krydsreaktivitet for prøver fra patienter med forskellige autoimmune sygdomme (tabel 14) og fra patienter med andre neurologiske lidelser (tabel 15).

KLINISK YDEEVNE

Den kliniske ydeevne blev vurderet ved sammenfattende analyse af peer-reviewed videnskabelig litteratur. Seks (6) studier adresserede den kliniske ydeevne af BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA inden for diagnosticering af autoimmune perifere neuropatier (ref. 5-10). Resultaterne af analysen og studiedetaljerne er vist i henholdsvis tabel 6 og tabel 16.

N perifer neuropati	201 (102 pædiatrisk GBS, 14 CIDP, 44 GBS, 41 anti-MAG-neuropati)
N kontroller	493 (104 DC, 254 NC, 135 HC)
Følsomhed (95 % CI)	68,1% (39,6 – 87,5%)
Specificitet (95 % CI)	88,0% (72,3 – 95,3%)
ROC AUC	0,85

Tabel 6

GBS, Guillain-Barré syndrom; DC, ikke-neurologisk sygdomskontrol; NC, neurologisk kontrol; HC, rask kontrol; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserende polyneuropati; CI, konfidensinterval; ROC AUC, areal under ROC-kurven

INTERFERERENDE STOFFER

Analysens følsomhed over for perorale og injicerbare lægemidler samt over for endogene stoffer blev vurderet i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A3. Bias i resultaterne på $\geq \pm 20$ %-forhold blev betragtet som interferens.

Der blev ikke påvist interferens med følgende stoffer op til de anførte koncentrationer: intravenøs immunoglobulin (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), cladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentin (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), chlorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), rheumatoid faktor (2340 IE/mL), hæmoglobin (10 mg/mL), hæmolysat (10 mg/mL), triglycerid (15 mg/mL), konjugeret bilirubin (20 µg/mL), ukonjugeret bilirubin (150 µg/mL).

TABELLER OG FIGURER

Mikrotiterplade-opsætning: IgG/IgM-blandingsmærke

		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	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	
HNK-1													C	
GM1													D	
GT1a													E	
GD1a	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	F	
GD1b													G	
GQ1b													H	

12 sera IgG/ IgM Mix

Figur 1A: ≤ 24 sera/kit (2 MP/kit)

Mikrotiterplade-opsætning: IgG- og IgM-mærker

		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	
HNK-1													C	
GM1													D	
GT1a													E	
GD1a	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	F	
GD1b													G	
GQ1b													H	

6 sera IgG 6 sera IgM

Figur 1B : 2 profiler/serum, ≤ 12 sera/kit (2 MP/kit)

Eksempel på resultater

A IgG/IgM-blandingsmærke

B-GCO-ELGM	Absorbans (OD450)	Forhold [%]
Kalibrator	2,179	
Kalibrator gns.	2,477	100
Medium kontrol	1,737	
Medium kontrol gns.	1,814	78
Lav kontrol	0,662	
Lav kontrol gns.	0,460	24
Negativ kontrol	0,044	
Negativ kontrol gns.	0,046	2
Prøve 1 HNK-1	0,234	10
Prøve 1 GM1	0,543	23
Prøve 1 GT1a	1,976	85
Prøve 1 GD1a	0,621	27
Prøve 1 GD1b	0,734	32
Prøve 1 GQ1b	2,573	111

Tabel 7

B IgG- og IgM-mærker

Enzymmærke	Absorbans (OD450)		Forhold [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrator	2,488	2,411		
Kalibrator gns.	2,446	2,201	100	100
Medium kontrol	1,879	1,734		
Medium kontrol gns.	1,987	1,818	78	77
Lav kontrol	0,452	0,501		
Lav kontrol gns.	0,716	0,609	24	24
Negativ kontrol	0,045	0,048		
Negativ kontrol. gns.	0,037	0,042	2	2
Prøve 1 HNK-1	0,423	0,621	17	27
Prøve 1 GM1	2,001	2,102	81	91
Prøve 1 GT1a	0,521	0,237	21	10
Prøve 1 GD1a	1,984	0,821	80	36
Prøve 1 GD1b	0,473	1,923	19	83
Prøve 1 GQ1b	0,094	0,911	4	40

Tabel 8

TABELLER OG FIGURER

Referenceinterval

Analyt	% normale bloddonorer i kategorier			Referencegrænseværdi (90 % CI)
	<30 %- forhold	30 - 50 %- forhold	>50 %- forhold	
anti-MAG IgG	96,7	2,5	0,8	25 (15,7 – 39,5)
anti-MAG IgM	99,2	0,8	0,0	20 (18,6 – 28,4)
anti-MAG IgGM	86,7	10,0	3,3	44 (34,8 – 52,9)
anti-GM1 IgG	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
anti-GM1 IgM	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)
anti-GM1 IgGM	95,0	4,2	0,8	34 (23,3 – 49,5)
anti-GT1a IgG	90,0	6,7	3,3	44 (35,9 – 113,1)
anti-GT1a IgM	97,5	2,5	0,0	16 (10,3 – 31,8)
anti-GT1a IgGM	85,0	10,0	5,0	50 (42,4 – 140,3)
anti-GD1a IgG	91,7	5,0	3,3	42 (26,2 – 108,2)
anti-GD1a IgM	100,0	0,0	0,0	8 (6,6 – 12,4) ^F 18 (6,6 – 24,3) ^M
anti-GD1a IgGM	88,3	5,8	5,8	53 (35,0 – 118,7)
anti-GD1b IgG	97,5	1,7	0,8	21 (14,5 – 33,0)
anti-GD1b IgM	99,2	0,0	0,8	15 (6,3 – 15,5) ^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 kvindelig delgruppe. M mandlig delgruppe

Tabel 9

Metodesammenligning anti-MAG-antistoffer

Beskrivelse	N	Kappa-overensstemmelse		NPA		PPA	
		Værdi	95 % CI	Værdi	95 % CI	Værdi	95 % CI
EK-GCM IgM vs. EK-MAG	12	0,88	0,80 - 0,97	100,0%	94,6% - 100,0%	87,5%	75,9% - 94,8%
EK-GCM IgG/IgM Mix vs. EK-MAG	12	0,87	0,78 - 0,96	97,0%	89,5% - 99,6%	89,3%	78,1% - 96,0%

Tabel 10

NPA: Negativ procent overensstemmelse

PPA: Positiv procent overensstemmelse

CI: Konfidensinterval

Præcision inden for laboratoriet

Analyt	Enzymmærke (isotype)	Forventet kategori [%-forhold]	Præcision inden for laboratoriet			
			N	Gennemsnit [%-forhold]	SD [%-forhold]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	80	48	3,5	7,2
		>50	80	91	6,2	6,8
	IgG	30-50	80	40	5,1	12,9
		>50	80	106	13,1	12,4
anti-GQ1b Ab	IgM	30-50	80	45	2,6	5,7
		>50	80	85	6,7	7,8
	IgG	30-50	80	43	5,7	13,2
		>50	80	80	6,9	8,6
anti-MAG Ab	IgM	30-50	80	34	6,3	18,7
		>50	80	72	10,4	14,4
	IgGM	30-50	80	27	9,6	35,3
		>50	80	51	18,8	36,5

Tabel 11

Reproducerbarhed

Prøvebeskrivelse			Reproducerbarhed			
Analyt	Enzymmærke (isotype)	Forventet kategori [%-forhold]	N	Gennemsnit [%-forhold]	SD [%-forhold]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	75	51	4,9	9,7
		>50	75	94	7,2	7,7
	IgG	30-50	75	39	5,6	14,5
		>50	75	106	17,1	16,1
anti-GQ1b Ab	IgM	30-50	75	48	3,9	8,2
		>50	75	92	9,9	10,7
	IgG	30-50	75	42	8,1	19,1
		>50	75	78	12,0	15,4
anti-MAG Ab	IgM	30-50	75	43	14,3	33,2
		>50	75	98	23,1	23,5
	IgGM	30-50	75	42	10,6	25,0
		>50	75	97	27,2	28,0

Tabel 12

LoD og LoB

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

Tabel 13

Krydsreaktivitet

Tildelt antistof	Diagnose	#
Anti-neutrofil cytoplasmatisk antistof (ANCA)	Vaskulitis	3
	Andre (prøver med betegnelsen ANCA-positiv)	10
Anti-nukleare antistoffer (ANA)	Systemisk lupus erythematosus	5
	Rheumatoid arthritis	9
	Sjögrens syndrom	6
	Andre (prøver med betegnelsen ANA-positiv)	3
Anti-thyroglobulin-antistoffer (anti-Tg)	Autoimmun thyroiditis	5
Anti-ribonukleoprotein-antistoffer	Blandet bindevævssygdom	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimmune perifere neuropatier	1
Anti-acetylcholinreceptor-antistoffer og anti-muskelspecifik tyrosinkinase	Myasthenia gravis	7

Tabel 14

Perifere neuropatier	#
Alkoholiker	1
Diabetiker	5
Perifer neuropati-lignende lidelser	#
Amyotrofisk lateral sklerose (ALS)	15
Sarkoidose	4
Waldenstrøms makroglobulinæmi (WM)	4
Chagas sygdom	5

Tabel 15

TABELLER OG FIGURER

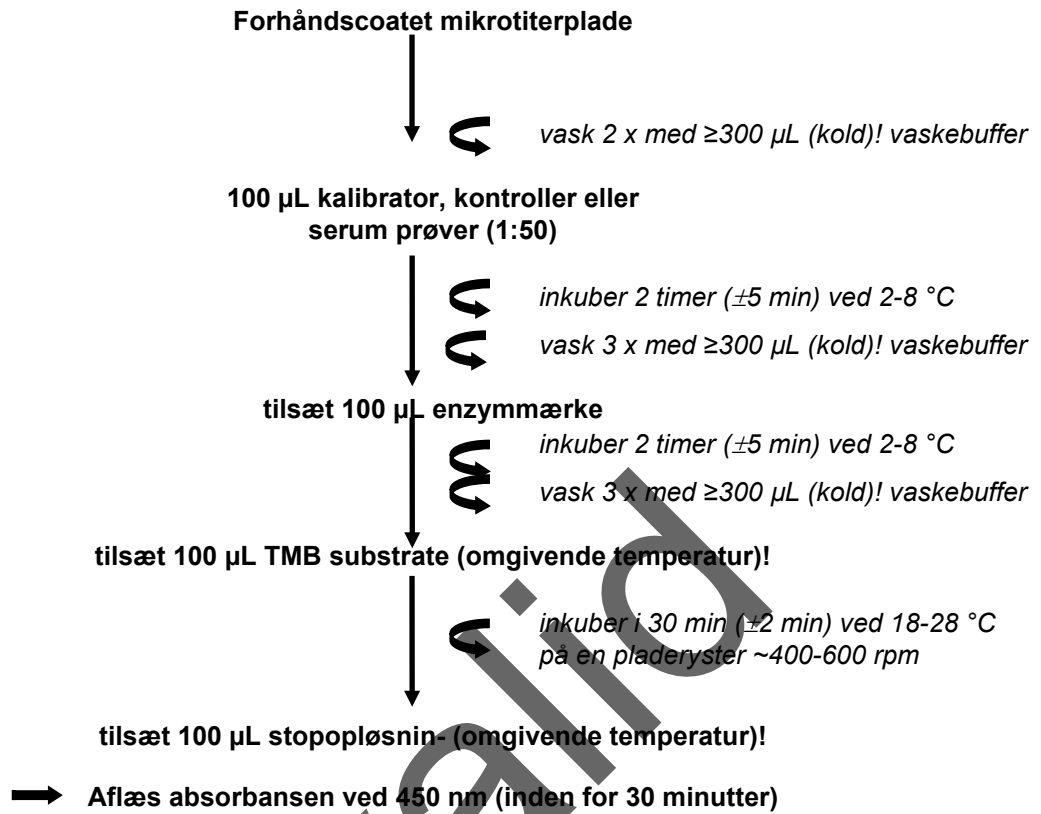
Klinisk ydeevne

Studie	Positive kontroller (cases)	Negative kontroller	Epitop	Følsomhed	Specifitet
Hashemilar et al., 2014	Pædiatris k GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Pædiatris k GBS (n = 57)	NC (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		DC (n = 35)			0,83
Khandelwal et al., 2006	GBS (n = 13)	HC (n = 19)	GM1	0,31	0,74
Uetz-von Allmen et al., 1998	GBS, CIDP (n = 19, 14)	NC (n = 100)	GM1	0,30	0,93
		HC (n = 110)			0,95
Spatola et al., 2016	GBS (MFS) (n = 12)	DC (n = 34)	GQ1b	0,92	0,97
Delmont et al., 2019	MAG-neuropati (n = 41)	NC (n = 112) HC (n = 6)	HNK-1 (MAG)	0,98	0,99

Tabel 16

GBS, Guillain-Barré syndrom; DC, ikke-neurologisk sygdomskontrol; NC, neurologisk kontrol; HC, rask kontrol; MFS, Miller Fisher syndrom; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserende polyneuropati

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA



TID TIL RESULTAT: 4,5 TIMER

REFERENCER

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., Schlupe, 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).

ÆNDRINGSLOG

Dato	Version	Ændring
2023-08-17	A1	Ændring til <i>Tilsigtet anvendelse</i> og produktnavn Fjernelse af GM2-gangliosid og introduktion af GT1a-gangliosid Omformulering af <i>Analyseprincip</i> med titerkategorierne negativ, gråzone, positiv Ny brugsstabilitet for reagenser Opdatering af kapitlet <i>Advarsler og forsigtighedsregler</i> Opdatering af kapitlerne <i>Indsamling og opbevaring af prøver, Analyseprocedure, og Standardisering og metrologisk sporbarhed</i> Omformulering af kapitlet <i>Kvalitetskontrol</i> Opdatering af kapitlet <i>Begrænsninger</i> Revision af kapitlerne <i>Referenceintervaller og cut-off, Ydeevnekarakteristika, og Interfererende stoffer</i> Introduktion af kapitlet <i>Klinisk ydeevne</i> Revision af kapitlerne <i>Referencer og Symboler</i> Tilføjelse af nummer på bemyndiget organ til CE-mærke – overensstemmelsesvurderingsprocedure i henhold til IVDR 2017/746

HÆNDELSESINDBERETNING I EU-MEDLEMSLANDE

En hvilken som helst hændelse, der har forekommet med denne anordning, skal omgående indberettes til producenten og den kompetente myndighed i dit medlemsland.

TRANSPORTSKADER

Underret din forhandler, hvis produktet modtages i beskadiget stand.

SYMBOLER

BÜHLMANN gør brug af de symboler og skilte, som er angivet om beskrevet i ISO 15223-1. Derudover anvendes følgende symboler og skilte:

Symbol	Forklaring
MP	Mikrotiterplade
BUF WASH 10X	Vaskebufferkoncentrat (10x)
BUF INC	Inkubationsbuffer
CAL	Kalibrator
CONTROL -	Kontrol negativ
CONTROL L	Kontrol lav
CONTROL M	Kontrol medium
EL IgG	Enzymmærke-IgG
EL IgM	Enzymmærke-IgM
EL MIX	Enzymmærke-IgG/IgM-blanding
SUBS TMB	TMB substrat
SOLN STOP	Stopopløsning

CE 0123