BÜHLMANN
GanglioCombi® MAG ELISA

Σημασμένα με μίξη ενζύμων IgG/IgM, IgG και IgM

νίχνευση αντι-γαγγλιοζιδίου
και -MAG αντισωμάτων με ELISA
(HNK-1 (“MAG”), GM1, GT1a, GD1a, GD1b και GQ1b)

Για *In Vitro* Διαγνωστική Χρήση

EK-GCM 2 x 96 τεστ

Ημερομηνία Κυκλοφορίας: 2023-08-17
Έκδοση A1

Κατασκευαστής
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Ελβετία
Τηλέφωνο.: +41 61 487 12 12
Φαξ: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA είναι μια *in vitro* διαγνωστική δοκιμασία για τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των IgG ή/και IgM αντισωμάτων έναντι επιλεγμένων νευρικών αντιγόνων/επιτόπων σε δείγματα ορού. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την υποστήριξη της διάγνωσης αυτοάνοσων περιφερικών νευροπαθειών σε συνδιασμό με άλλα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.
Για εργαστηριακή χρήση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Τα τρια σημασμένα ένζυμα, που περιέχονται στο κιτ, επιτρέπουν τρεις διαφορετικούς αλγόριθμους ελέγχου:

1. Η εξέταση με το μείγμα συζεύγματος IgG/IgM (εφεξής "μείγμα") επιτρέπει τον έλεγχο για την παρουσία αντι-νευρικών αντισωμάτων που υποδηλώνουν αυτοάνοση νευροπάθεια.
2. Η εξέταση με μεμονωμένα συζεύγματα IgG ή/και IgM επιτρέπει τον προσδιορισμό του ισοτύπου των αντισωμάτων.
3. Για την εργαστηριακή επεξεργασία, ο αρχικός έλεγχος των δειγμάτων με χρήση του μείγματος (επιλογή 1) μπορεί να ακολουθηθεί από διαφοροποίηση των θετικών στο μείγμα δειγμάτων με χρήση μεμονωμένων συζευγμάτων IgG και IgM (επιλογή 2), εάν απαιτείται.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Το BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA επιτρέπει τη μέτρηση των αντισωμάτων των γαγγλιοσιδών και της γλυκοπρωτεΐνης που σχετίζεται με τη μυελίνη (MAG) στον ορό. Η πλάκα μικροτιτλοδότησης είναι επικαλυμμένη με γαγγλιοσίδια: GM1, GT1a, GD1a, GD1b, GQ1b και και τον χημικά συντεθειμένο επίτοπο HNK-1 της γλυκοπρωτεΐνης MAG (βλ. 1).
Οι οροί των ασθενών, οι οροί ελέγχου και ο βαθμονομητής προστίθενται στα βοθρία της πλάκας μικροτιτλοδότησης. Μετά από 2 ώρες επώασης στους 2–8 °C και στάδια πλύσης, τα αντισώματα ανίχνευσης (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) συζευγμένα με υπεροξειδάση του χρένου (HRP) ανιχνεύουν τα αντισώματα αντι-γαγγλιοσιδών ή/και anti-MAG που είναι συνδεδεμένα με τα ακινητοποιημένα γαγγλιοσίδια ή την HNK-1 στην πλάκα. Μετά από άλλες 2 ώρες επώασης και περαιτέρω βήματα πλύσης, προστίθεται το χρωμογόνο υπόστρωμα HRP, τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB) (σχηματισμός μπλε χρώματος) και ακολουθεί αντίδραση τερματισμού (αλλαγή σε κίτρινο χρώμα). Η απορρόφηση μετράται στα 450 nm. Η μετρούμενη απορρόφηση είναι ανάλογη του τίτλου των αντισωμάτων που υπάρχουν σε ένα δεδομένο δείγμα. Οι τίτλοι αντισωμάτων εκφράζονται ως % αναλογίες του βαθμονομητή και μπορούν να αντιστοιχιστούν σε κατηγορίες τίτλων (αρνητική, γκρίζα ζώνη, θετική).

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα	Κωδικός	Ανασύσταση
Πλάκα μικροτιτλοδότησης προεπικαλυμμένο με γαγγλιοσίδια και HNK-1	2 x12 x 8 σειρές βοθρίων με πλαίσιο	B-GCM-MP	Έτοιμο για χρήση
Κάλυμμα πλάκας	6 τεμάχια		
Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x) με συντηρητικά	2 μπουκάλια x 100 mL	B-GCO-WB	Αραιώστε με 900 mL απιονισμένου νερού
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης με συντηρητικά	1 μπουκάλι x 100 mL	B-GCO-IB	Έτοιμο για χρήση
Βαθμονομητής λυοφιλοποιημένο με συντηρητικά	1 φιαλίδιο	B-GCO-CA	Προσθέστε 1,5 mL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης
Μάρτυρας Αρνητικός, Χαμηλός και Μεσαίος[1] λυοφιλοποιημένο με συντηρητικά	3 φιαλίδια	B-GCO-CONSET	Προσθέστε 1,5 mL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης
Σημασμένο μείγμα ενζύμων IgG/IgM αντίσωμα αντι-ανθρώπινου IgM και IgM συζευγμένα με HRP σε ρυθμιστικό πλέγμα με συντηρητικά	2 φιαλίδια x 11 mL	B-GCO-ELGM	Έτοιμο για χρήση
Σημασμένο ένζυμο IgG αντίσωμα αντι-ανθρώπινου IgG συζευγμένο με HRP σε ρυθμιστικό πλέγμα με συντηρητικά	1 φιαλίδιο x 11 mL	B-GCO-ELG	Έτοιμο για χρήση
Σημασμένο ένζυμο IgM αντίσωμα αντι-ανθρώπινου **IgM συζευγμένο με HRP σε ρυθμιστικό πλέγμα** με συντηρητικά	1 φιαλίδιο x 11 mL	B-GCO-ELM	Έτοιμο για χρήση
Υπόστρωμα TMB TMB σε κιτρικό ρυθμιστικό	2 φιαλίδια x 11 mL	B-TMB	Έτοιμο για χρήση
Ανασχετικό διάλυμα 0,25 M θειικό οξύ	2 φιαλίδια x 11 mL	B-STS	Έτοιμο για χρήση **Διαβρωτικός παράγοντας**

Πίνακας 1

[1]Οι μάρτυρες περιέχουν συγκεκριμένα επίπεδα αντισωμάτων anti-GM1. Ανατρέξτε στο πρόσθετο φύλλο δεδομένων QC για την πραγματική μέση OD και την αναλογία %.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Σφραγισμένα / κλειστά αντιδραστήρια	
Φυλάσσεται στους 2-8 °C. Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια πέρα από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.	
Ανοιγμένα / ανασυσταμένα αντιδραστήρια	
Μικρόπλακα	Επιστρέψτε τις αχρησιμοποίητες σειρές αμέσως στη θήκη από αλουμινόχαρτο που περιέχει τις συσκευασίες ξηραντικού και κλείστε ξανά κατά μήκος ολόκληρης της άκρης του φερμουάρ. Φυλάσσετε για έως και 6 μήνες στους 2-8 °C.
Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	Φυλάσσετε για έως και 6 μήνες στους 2-8 °C.
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	
Σημασμένο ένζυμο	
Υπόστρωμα TMB	
Βαθμονομητές	
Μάρτυρες	
Ανασχετικό διάλυμα	Φυλάσσετε για έως και 6 μήνες στους 18-28 °C.

Πίνακας 2

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πιπέτες ακριβείας με ρύγχη μιας χρήσης: Πιπέτες 10 μL, 20 μL, 100 μL και 1000 μL
- Σωληνάρια μιας χρήσης από πολυστυρένιο ή πολυπροπυλένιο για την παρασκευή αραιώσεων δειγμάτων
- 1000 mL κύλινδρος για την αραίωση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης
- Πλυστικό μικρόπλακας
- απορροφητικό χαρτί
- Αναδευτής μικρόπλακας
- Φωτόμετρο πλάκα μικροτιτλοδότησης για μέτρηση απορρόφησης στα 450 nm

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Προφυλάξεις ασφαλείας

- Ο βαθμονομητής και οι μάρτυρες αυτού του κιτ περιέχουν συστατικά ανθρώπινης προέλευσης. Παρόλο που ελέγχθηκαν και βρέθηκαν αρνητικά για HBV, HCV και HIV1/2, τα αντιδραστήρια πρέπει να χειρίζονται σαν να είναι ικανά να μεταδώσουν λοιμώξεις και πρέπει να χειρίζονται σύμφωνα με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές (GLP) χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες προφυλάξεις.
- Αυτό το κιτ περιέχει συστατικά ταξινομημένα σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008:
  - Το ανασχετικό διάλυμα περιέχει θειικό οξύ (συγκ. 2,5–5%), επομένως τα αντιδραστήρια μπορεί να προκαλέσουν ερεθισμό του δέρματος (H315), σοβαρό ερεθισμό των ματιών (H319) και μπορεί να είναι διαβρωτικά για τα μέταλλα (H290).
  - Ο βαθμονομητής, οι μάρτυρες ελέγχου και τα σημασμένα ένζυμα περιέχουν υδροχλωρική 2-μεθυλ-4-ισοθειαζολιν-3-όνη (συγκέντρωση ≥ 0,0015%), επομένως τα αντιδραστήρια ενδέχεται να προκαλέσουν αλλεργικές δερματικές αντιδράσεις (H317).
  - Το ρυθμιστικό διάλυμα επώασης και το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης περιέχουν θειική γενταμικίνη, επομένως τα αντιδραστήρια ενδέχεται να προκαλέσουν αλλεργική δερματική αντίδραση (H317).
- Αποφύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων με το δέρμα, τα μάτια ή τους βλεννογόνους. Εάν συμβεί επαφή, πλύνετε αμέσως με γενναιόδωρη ποσότητα νερού. Διαφορετικά, μπορεί να προκληθεί ερεθισμός / εγκαύματα.
- Τα αντιδραστήρια και τα χημικά πρέπει να αντιμετωπίζονται ως επικίνδυνα απόβλητα σύμφωνα με τις εθνικές κατευθυντήριες γραμμές ή κανονισμούς για την ασφάλεια των βιολογικών κινδύνων.

Τεχνικές προφυλάξεις

- Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες πριν από τη διεξαγωγή της δοκιμής. Η απόδοση της δοκιμής θα επηρεαστεί αρνητικά, εάν τα αντιδραστήρια αραιωθούν, τροποποιηθούν ή φυλάσσονται λανθασμένα υπό συνθήκες διαφορετικές από αυτές που περιγράφονται στην παρούσα οδηγία χρήσης.

Διαδικασία ELISA

Θερμοκρασία αντιδραστηρίων

- Προετοιμάστε τα αντιδραστήρια πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία ανάλυσης. Βήματα 3-9: Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στα βήματα 3-9 πρέπει να είναι κρύα (2-8 °C) και να διατηρούνται κρύα κατά τη μεταφορά με πιπέτα και το πλύσιμο. Σύσταση: Προετοιμάστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης την ημέρα πριν από την εκτέλεση της ανάλυσης και βάλτε το στο ψυγείο όλη τη νύχτα.
- Εκτελέστε όλα τα βήματα πλύσης με κρύο (2-8 °C) ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης.
- Ρυθμίστε το υπόστρωμα TMB και το ανασχετικό διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου (18-28 °C) στην αρχή της διαδικασίας ανάλυσης.

Βήματα πλύσης

- Τα βήματα πλύσης 3, 6 και 9 είναι κρίσιμα για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων που προκύπτουν από τη διαδικασία παραγωγής ή/και των δυνητικά μη δεσμευμένων αντισωμάτων στα βοθρία.
- Συνιστάται ανεπιφύλακτα ένα αυτοματοποιημένο πλυστικό που λειτουργεί σε "λειτουργία πλάκας", δηλαδή κάθε στάδιο της διαδικασίας (διανομή / αναρρόφηση) πραγματοποιείται σε όλες τις σειρές, διαδοχικά, πριν το όργανο συνεχίσει με τον επόμενο κύκλο πλύσης.
- Βεβαιωθείτε ότι όλα τα βοθρία είναι εντελώς άδεια μετά τον τελευταίο κύκλο πλύσης.

Επώαση υποστρώματος

- Βήμα 11: Ανακινήστε τις πλάκα μικροτιτλοδότησης κατά την επώαση με υπόστρωμα. Ανάλογα με το μοντέλο του αναδευτήρα πλάκας προτείνουμε 400-600 rpm. Το διάλυμα πρέπει να κινείται στα βοθρία αλλά δεν πρέπει να χυθεί.

Εξαρτήματα κιτ

- Τα εξαρτήματα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.

- Μην αναμιγνύετε διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων.
- Θα πρέπει να καταβάλλεται κάθε δυνατή προσπάθεια για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ αντιδραστηρίων, δειγμάτων ή μεταξύ βοθρίων.
- Οι πλάκες δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η διαδικασία απαιτεί <0,1 mL αίματος ή <50 μL ορού, αντίστοιχα.

Συλλέξτε αίμα σε απλούς σωλήνες φλεβοκέντησης χωρίς πρόσθετα και αποφύγετε την αιμόλυση. Εκτελέστε προετοιμασία ορού σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Μεταγγίστε τον ορό.

Τα δείγματα ορού μπορούν να αποθηκευτούν στους 2-8 °C για έως και οκτώ εβδομάδες, στους 28 °C για έως και μία εβδομάδα και στους ≤-20 °C για 16 εβδομάδες. Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να αποψύχονται και να αναμειγνύονται επιμελώς με απαλό στροβιλισμό ή αναστροφή πριν από τη χρήση.
Συνιστούμε να προετοιμάζετε δείγματα ορού πριν από την κατάψυξη προκειμένου να αποφευχθούν επαναλαμβανόμενοι κύκλοι κατάψυξης/απόψυξης.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Υπάρχουν δυο επιλογές:

(1) Ανίχνευση μιγμάτων ισοτύπων (IgG και IgM): προσθήκη σημασμένης ενζυμικής μίξης στο βήμα 7

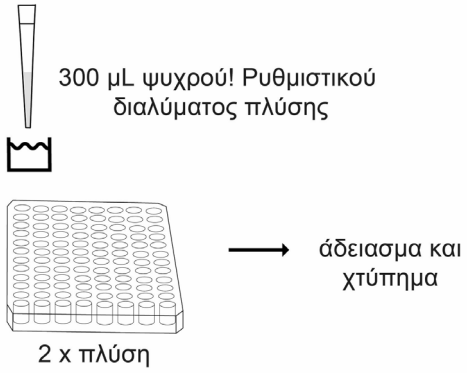
(2) Ανίχνευση IgG ή IgM ισοτύπων: προσθήκη είτε σημασμένου ενζύμου IgG or enzyme label IgM in step 7

Σημείωση: Φέρτε το διάλυμα υποστρώματος TMB σε θερμοκρασία δωματίου (18-28 °C).

1. Αραιώστε τα δείγματα 1:50 με ρυθμιστικό διάλυμα επώασης. Χρησιμοποιήστε π.χ. 20 μL ορού + 980 μL ψυχρού! (2-8 °C) ρυθμιστικό διάλυμα επώασης. Ανακατέψτε καλά με vortex και αφήστε τα αραιωμένα δείγματα καθώς και τον ανασυσταθέν βαθμονομητή και τους μάρτυρες σε θερμοκρασία 2-8 °C για 30 λεπτά πριν από τη προσθήκη (βλ. βήμα 4α και β).
2. Προετοιμάστε ένα πλαίσιο πλάκας με επαρκείς σειρές για να δοκιμάσετε τον απαιτούμενο αριθμό βαθμονομητών, μαρτύρων και δειγμάτων. Αφαιρέστε τις περίσσιες λωρίδες από το πλαίσιο και ξανασφραγίστε το στη θήκη από αλουμινόχαρτο μαζί με τις συσκευασίες ξηραντικού χωρίς καθυστέρηση. Αποθηκεύεται στο ψυγείο.

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε ψυχρά αντιδραστήρια στα βήματα 3 έως 9.

3. Πλύνετε τα βοθρία δύο φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 μL κρύου! (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρέσετε τελείως το υπόλοιπο υγρό.



Σημείωση : Προχωρήστε αμέσως στα επόμενα βήματα.

4α. Προσθέστε 100 μL βαθμονομητή στο βοθρίο A1 (ανατρέξτε στην εικόνα 1A για την επιλογή 1 ή στην εικόνα 1B για την επιλογή 2).

4b. Προσθέστε 100 μL μεσαίου μάρτυρα στο βοθρίο B1, χαμηλού μάρτυρα στο βοθρίο A2 και αρνητικού μάρτυρα στο βοθρίο B2 (βλέπε σχήμα 1A ή 1B).

Σημείωση για την επιλογή 1: Εάν χρησιμοποιούνται περισσότερες από τρεις λωρίδες ανά δοκιμή, ο βαθμονομητής και οι μάρτυρες μπορούν να δοκιμαστούν εις διπλούν (βλ. σχήμα 1A).

Σημείωση για την επιλογή 2: Ο βαθμονομητής και οι μάρτυρες πρέπει να εκτελούνται χωριστά για τους ισοτύπους IgG και IgM (βλέπε σχήμα 1B).

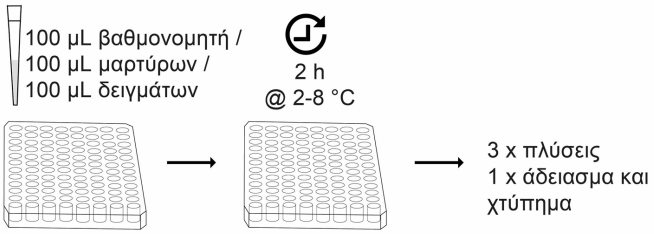
4c. Προσθέστε 100 μL αραιωμένου δείγματος 1 στα βοθρία C1-H1 (βλέπε σχήμα 1A ή 1B).

4d. Προσθέστε 100 μL αραιωμένου δείγματος 2 στα βοθρία C2-H2 (βλέπε σχήμα 1A ή 1B).

4e. Προσθέστε 100 μL των αραιωμένων δειγμάτων 3-24 (για την επιλογή 1) ή 3-12 (για την επιλογή 2) σε διαδοχικά βοθρία (βλέπε σχήμα 1A ή 1B).

Σημείωση για την επιλογή 2: επαναλάβετε την προσθήκη των δειγμάτων 1-12 με την ίδια σειρά στα εναπομείναντα βοθρία για έλεγχο με το δεύτερο ισότυπο.

5. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα και επωάστε για 2 ώρες (±5 λεπτά) στους 2-8 °C (μην ανακινείτε την πλακα).
6. Αφαιρέστε το κάλυμμα της πλάκας. Αδειάστε τα βοθρία και πλύνετε τρεις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 μL κρύου! (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρέσετε τελείως το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης.



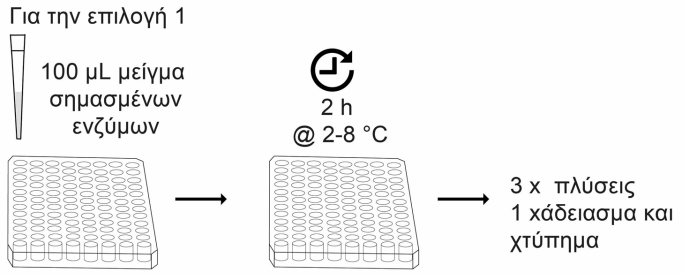
Για την επιλογή 1: Ανίχνευση μείγματος ισότυπων

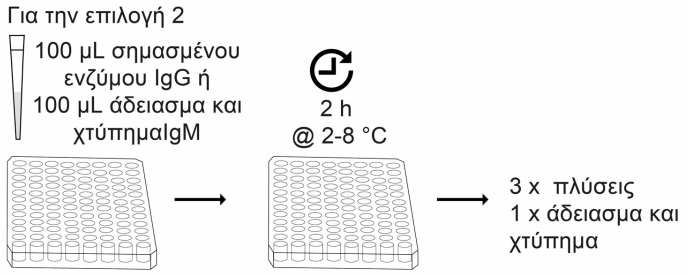
7. Προσθέστε 100 μL του μείγματος στα βοθρία.

Για την επιλογη 2: Ανίχνευση των IgG ή IgM ισότυπων

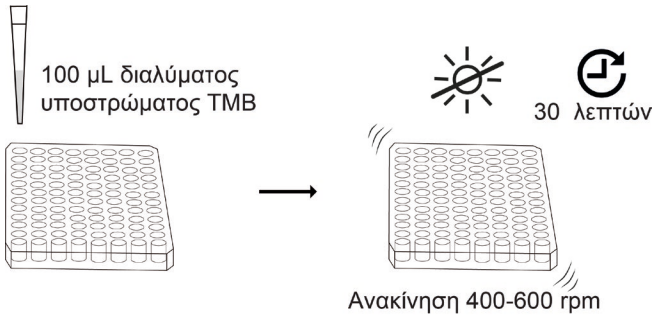
7'. Προσθέστε 100 μL είτε του σημασμένου ενζύμου IgG ή IgM στα αντίστοιχα βοθρία (βλέπε σχήμα 1B).

8. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα και επωάστε για 2 ώρες (±5 λεπτά) στους 2-8 °C (μην ανακινείτε την πλακα).
9. Αφαιρέστε το κάλυμμα της πλάκας. Αδειάστε τα βοθρία και κάντε πλύσεις τρεις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 μL κρύου! (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί.

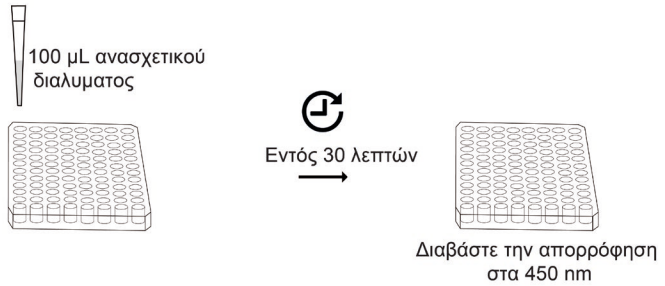




10. Προσθέστε 100 μL διαλύματος υποστρώματος TMB (εξισορροπημένο σε θερμοκρασία δωματίου) σε κάθε βοθρίο.
11. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα προστατέψτε την πλάκα από το φως και επωάστε σε αναδευτήρα πλάκας που έχει ρυθμιστεί στις 400-600 rpm, στους 18-28 °C για 30 ±2 λεπτά.



12. Προσθέστε 100 μL ανασχετικού διαλύματος σε όλα τα βοθρία. Αφαιρέστε τις φυσαλίδες αέρα με ένα ρύγχος πιπέτας. Προχωρήστε στο βήμα 13 μέσα σε 30 λεπτά.
13. Διαβάστε την απορρόφηση στα 450 nm σε συσκευή ανάγνωσης πλακών.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η πλήρης κατανόηση αυτών των οδηγιών χρήσης είναι απαραίτητη για την επιτυχή χρήση του προϊόντος. Αξιόπιστα αποτελέσματα θα ληφθούν μόνο με τη χρήση ακριβών εργαστηριακών τεχνικών και με ακρίβεια ακολουθώντας αυτήν την οδηγία χρήσης.The BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA κιτ συνοδεύεται από τρεις μάρτυρες: αρνητικό, χαμηλό και μεσαίο μάρτυρα. Οι μάρτυρες έχουν εκχωρήσει εύρη τιμών (%Αναλογία) που υποδεικνύονται στο φύλλο δεδομένων QC που παρέχεται με κάθε κιτ. Οι μάρτυρες πρέπει να βρίσκονται εντός των ενδεικνυόμενων τιμών για να ληφθούν έγκυρα αποτελέσματα. Εκτός από τους μάρτυρες, συνιστούμε τη χρήση δεξαμενών ορού για εσωτερικό έλεγχο ποιότητας.
Μια ελάχιστη OD_{450nm} τιμή του 1,2 είναι προτεινόμενη για τον βαθμονομητή.
Τα χαρακτηριστικά επιδόσεων πρέπει να είναι εντός των καθορισμένων ορίων. Εάν η απόδοση της ανάλυσης δεν πληροί τα καθορισμένα όρια και η επανάληψη έχει αποκλείσει σφάλματα στην τεχνική, ελέγξτε τα ακόλουθα ζητήματα: i) έλεγχος θερμοκρασίας (αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στο βήμα 3-9 διατηρούνται στους 2-8 °C) ii) ακρίβεια των θερμομέτρων, συσκευές πιπέτας και χρονισμού. iii) Ρυθμίσεις αναγνώστη ELISA. iv) ημερομηνίες λήξης των αντιδραστηρίων. v) συνθήκες αποθήκευσης και επώασης. vi) το χρώμα του διαλύματος υποστρώματος TMB (θα πρέπει να είναι άχρωμο). vii) καθαρότητα νερού. viii) μέθοδοι αναρρόφησης και πλύσης.

ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑ

Δεν υπάρχουν διεθνώς ή εθνικά αναγνωρισμένα υλικά αναφοράς ή διαδικασίες μέτρησης αναφοράς για τα αντισώματα αντι-γαγγλιοσιδών ή -MAG σε δείγματα ορού. Η BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA είναι τυποποιημένη έναντι ενός εσωτερικά καθιερωμένου υλικού αναφοράς. Οι τιμές βαθμονομητή αποδίδονται σύμφωνα με ένα πρωτόκολλο μεταφοράς τιμών (βλ. 2), ώστε να διασφαλίζεται η μετρολογική ιχνηλασιμότητα, και αναγράφονται σε αυθαίρετες μονάδες "%Αναλογία".
Το 95% διάστημα εμπιστοσύνης της συνδυασμένης αβεβαιότητας των βαθμονομητών του προϊόντος προσδιορίστηκε σε 29,3% για τα αντισώματα IgG και 37,6% για τα αντισώματα IgM.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ

1. Καταγράψτε την απορρόφηση (OD) στα 450 nm για κάθε βοθρίο (βαθμονομητής, μάρτυρες και δείγματα).
2. Εάν πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές μετρήσεις βαθμονομητή και μάρτυρα, υπολογίστε τον μέσο όρο των τιμών.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως λόγος της απορρόφησης των δειγμάτων και της (μέσης) απορρόφησης του βαθμονομητή.

Μείγμα ισότυπων

$$\%\ \text{Αναλογία:}\ \frac{\text{απορρόφηση δειγμάτων ή μαρτύρων}}{\text{απορρόφηση του βαθμονομητή}} \times 200$$

IgG και IgM ισότυποι

$$\% \text{ Αναλογία:} \frac{\text{απορρόφηση δειγμάτων ή μαρτύρων}}{\text{απορρόφηση του βαθμονομητή}} \times 100$$

Προγράμματα για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων ως ποσοστό % είναι διαθέσιμα στις περισσότερες συσκευές ανάγνωσης μικροπλακών.

Σημείωση: Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στους πίνακες 7 και 8 είναι παραδείγματα και παρέχονται μόνο για σκοπούς επίδειξης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Υψηλά αποτελέσματα % αναλογίας (> 100%) για μεμονωμένα γαγγλιοσίδια μπορεί να οδηγήσουν σε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με άλλα γαγγλιοσίδια στο ίδιο δείγμα. Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα θα παρουσιάζει συνήθως υψηλή διακύμανση μεταξύ των δοκιμών. Συνεπώς, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να γίνεται μόνο από κοινού με έναν εμπειρογνώμονα/ειδικό.
- Λόγω της πολυαντιδραστικότητας των αυτοάνοσων αντισωμάτων και των διαφορών στη γεωγραφική επικράτηση, τα αποτελέσματα της ανάλυσης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για την υποστήριξη της κλινικής ερμηνείας της νευροπάθειας από έναν ειδικό/εξειδικευμένο σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα του ασθενούς (βλ. 3).
- Η δοκιμασία αυτή δεν έχει επικυρωθεί για την πλασμαφαίρεση.
- Οι ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες (IVIg) ενδέχεται να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της εξέτασης.

ΔΙΑΣΤΉΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΟΡΙΑ

Το διάστημα αναφοράς του BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA καθορίστηκε σύμφωνα με το CLSI C28-A3 με 120 δείγματα ορού από υγιή άτομα που δηλώθηκαν από τους ίδιους. Η συχνότητα κατανομής των αντισωμάτων anti-ganglioside- και anti-MAG- σε φυσιολογικούς αιμοδότες ταξινομήθηκε σε κατηγορίες τίτλων: αρνητική (<30% Ratio), γκρίζα ζώνη (30-50% Ratio) και θετική (>50% Ratio). Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 9. Η τιμή αποκοπής για τη θετικότητα είναι 50% της αναλογίας.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αντιγόνο	**Μείγμα IgG/IgM**		
	Τιμές (αναλογία %)		
	<30	**30-50**	**>50**
HNK-1	Αρνητικό	Ανατρέξτε στη σημείωση */**	Ανατρέξτε στη σημείωση */**
GM1		Επανέλεγχος σε μεταγενέστερη χρονική στιγμή	Θετικό
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Πίνακας 3

Αντιγόνο	**IgG**		
	Τιμές (αναλογία %)		
	<30	**30-50**	**>50**
HNK-1	Αρνητικό	Ανατρέξτε στη σημείωση *	Ανατρέξτε στη σημείωση *
GM1		Επανέλεγχος σε μεταγενέστερη χρονική στιγμή	Θετικό
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Πίνακας 4

Αντιγόνο	**IgM**		
	Τιμές (αναλογία %)		
	<30	**30-50**	**>50**
HNK-1	Αρνητικό	Ανατρέξτε στη σημείωση **	Θετικό (Ανατρέξτε στη σημείωση **)
GM1		Επανέλεγχος σε μεταγενέστερη χρονική στιγμή	Θετικό
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Πίνακας 5

Τα αποτελέσματα των εξετάσεων θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις διαθέσιμες πληροφορίες από την κλινική αξιολόγηση του ασθενούς και άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.
* Η νευροπάθεια MAG συνδέεται συνήθως με την παρουσία αντισωμάτων αντι-MAG του ισοτύπου IgM (βλ. 4).
** Αποτελέσματα μεταξύ 30 και 50% (γκρίζα ζώνη) ή > 50% (θετικά) για το HNK-1 που λαμβάνονται με το μείγμα ή την σημασμένο ένζυμο IgM μπορούν να επανεξεταστούν με το anti-MAG Antibodies ELISA (EK-MAG).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Σύγκριση μεθόδων

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA έναντι anti-MAG Antibodies ELISA

Η μελέτη σύγκρισης των μεθόδων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές CLSI EP09-A3 και EP12-A2. Εκατόν είκοσι δύο (122) δείγματα μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας 2 παρτίδες BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA και 2 παρτίδες anti-MAG Antibodies ELISA. Προσδιορίστηκαν η διαγνωστική συμφωνία (kappa), η αρνητική ποσοστιαία συμφωνία και η θετική ποσοστιαία συμφωνία. Οι συμφωνίες παρουσιάζονται στον πίνακα 10.

Ακρίβεια εντός του εργαστηρίου
Για αντι-γαγγλιοσίδια: 5,7 – 13,2% CV
Για αντι-MAG: 14,4 – 36,5% CV

Η ενδοεργαστηριακή ακρίβεια καθορίστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP05-A3 χρησιμοποιώντας τον τυποποιημένο σχεδιασμό μελέτης 20 ημέρες x 2 εκτελέσεις x 2 επαναλήψεις. Εξετάστηκαν τρία (3) συγκεντρωτικά δείγματα ορού ασθενών. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 11.

Αναπαραγωγιμότητα
Για αντι-γαγγλιοσίδια: 7,7 – 19,1% CV
Για αντι-MAG: 23,5 – 33,2% CV

Η αναπαραγωγιμότητα καθορίστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP05-A3 χρησιμοποιώντας μελέτη με 3 όργανα/παρτίδα/χειριστή x 5 ημέρες x 5 επαναλήψεις. Εξετάστηκαν τρία (3) συγκεντρωτικά δείγματα ορού ασθενών. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Πίνακας 12.

Όριο τυφλού (LoB) ≤ Όριο ανίχνευσης (LoD): ≤30% Αναλογία

Το LoB και το LoD καθορίστηκαν σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP17-A2 χρησιμοποιώντας τη μη παραμετρική ανάλυση. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 13.

Υψηλή δόση hook effect

Δεν παρατηρήθηκε περιορισμός λόγω υψηλής δόσης hook effect στο εύρος μέτρησης.

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Δεν παρατηρήθηκε συστηματική διασταυρούμενη αντιδραστικότητα για δείγματα από ασθενείς με διάφορες αυτοάνοσες νόσους (πίνακας 14) και από ασθενείς με άλλες νευρολογικές διαταραχές (πίνακας 15).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ

Η κλινική απόδοση αξιολογήθηκε με συνοπτική ανάλυση της επιστημονικής βιβλιογραφίας με κριτές. Έξι (6) μελέτες ασχολήθηκαν με την κλινική απόδοση της BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA στη διάγνωση αυτοάνοσων περιφερικών νευροπαθειών (παραπομπές 5-10). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης και οι λεπτομέρειες των μελετών παρατίθενται στον πίνακα 6 και στον πίνακα 16, αντίστοιχα.

N περιφερική νευροπάθεια	201 (102 παιδιατρικό GBS, 14 CIDP, 44 GBS, 41 αντι-MAG νευροπάθεια)
N μάρτυρες	493 (104 DC, 254 NC, 135 HC)
Ευαισθησία (95% CI)	68,1% (39,6 – 87,5%)
Ειδικότητα (95% CI)	88,0% (72,3 – 95,3%)
ROC AUC	0,85

Πίνακας 6

GBS, σύνδρομο Guillain-Barré; DC, Έλεγχος μη νευρολογικής νόσου; NC, Νευρολογικός έλεγχος; HC, Υγιής έλεγχος; CIDP, Χρόνια φλεγμονώδης απομυελινωτική πολυνευροπάθεια; CI, Διάστημα εμπιστοσύνης; ROC AUC, περιοχή κάτω από τη λειτουργική χαρακτηριστική καμπύλη δέκτη

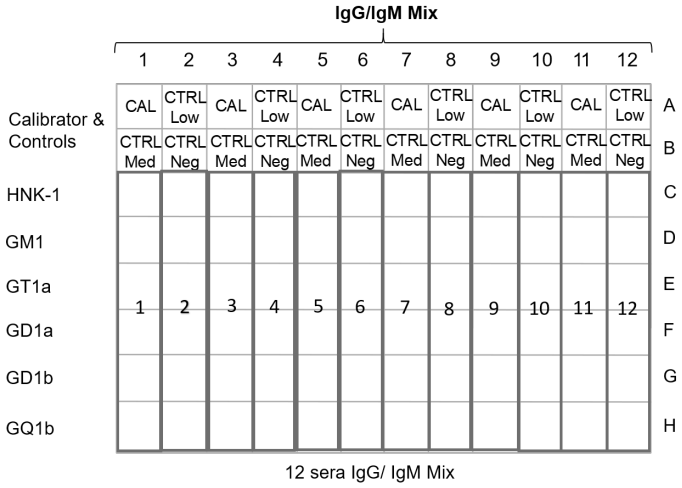
ΠΑΡΕΜΒΑΙΝΟΥΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Η ευαισθησία της ανάλυσης σε από του στόματος και ενέσιμα φαρμακευτικά προϊόντα, καθώς και σε ενδογενείς ουσίες αξιολογήθηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή EP07-A3 της CLSI. Η μεροληψία στα αποτελέσματα ≥ ± 20% αναλογία θεωρήθηκε ως παρεμβολή.

Δεν ανιχνεύθηκε παρεμβολή με τις ακόλουθες ουσίες έως τις αναφερόμενες συγκεντρώσεις: ενδοφλέβια ανοσοσφαιρίνη (20 mg/mL), ριτουξιμάμπη (3 mg/mL), κλαδριβίνη (273 ng/mL), ιντερφερόνη άλφα-2α (49,5 ng/mL), γκαμπαπεντίνη (26,7 μg/mL), ιβουπροφαίνη (0,22 mg/mL), χλωραμβουκίλη (1,96 μg/mL), πρεδνιζόνη (99 ng/mL), πρεδνιζολόνη (1,2 μg/mL), ρευματοειδής παράγοντας (2340 IU/mL), αιμοσφαιρίνη (10 mg/mL), αιμολύτης (10 mg/mL), τριγλυκερίδια (15 mg/mL), συζευγμένη χολερυθρίνη (20 μg/mL), μη συζευγμένη χολερυθρίνη (150 μg/mL).

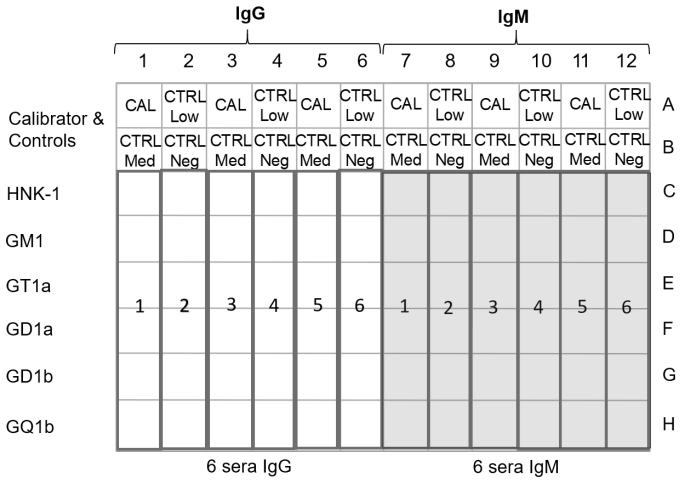
ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

Ρύθμιση πλάκας μικροτιτλοδότησης: Μείγμα σημασμένων IgG/IgM



Γράφημα 1A: ≤ 24 οροί / κιτ (2 MP / κιτ)

Ρύθμιση πλάκας μικροτιτλοδότησης: σημασμένα IgG & IgM



Γράφημα 1B: 2 προφίλ / ορό, ≤ 12 οροί / κιτ (2 MP / κιτ)

Παράδειγμα αποτελεσμάτων

A Μείγμα σημασμένων IgG/IgM-Mix

B-GCO-ELGM	Απορρόφηση (OD450)	Αναλογία [%]
Βαθμονομητής Μέση τιμή Βαθμονομητή	2,179 2,477 2,328	100
Μεσαίος Μάρτυρας Μέση τιμή μεσαίου μάρτυρα	1,737 1,891 1,814	78
Χαμηλός Μάρτυρας Μέση τιμή χαμηλού μάρτυρα	0,662 0,460 0,561	24
Αρνητικός Μάρτυρας Μέση τιμή αρνητικού μάρτυρα	0,044 0,046 0,045	2
Δείγμα 1 HNK-1	0,234	10
Δείγμα 1 GM1	0,543	23
Δείγμα 1 GT1a	1,976	85
Δείγμα 1 GD1a	0,621	27
Δείγμα 1 GD1b	0,734	32
Δείγμα 1 GQ1b	2,573	111

Πίνακας 7

B Σημασμένα IgG & IgM

Σημασμένα Ένζυμα	Απορρόφηση (OD450)		Αναλογία [%]	
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM	IgG	IgM	IgG	IgM
Βαθμονομητής Μέση τιμή Βαθμονομητή	2,488 2,446 2,467	2,411 2,201 2,306	100	100
Μεσαίος Μάρτυρας Μέση τιμή μεσαίου μάρτυρα	1,879 1,987 1,933	1,734 1,818 1,776	78	77
Χαμηλός Μάρτυρας Μέση τιμή χαμηλού μάρτυρα	0,452 0,716 0,584	0,501 0,609 0,555	24	24
Αρνητικός Μάρτυρας Μέση τιμή αρνητικού μάρτυρα	0,045 0,037 0,041	0,048 0,042 0,045	2	2
Δείγμα 1 HNK-1	0,423	0,621	17	27
Δείγμα 1 GM1	2,001	2,102	81	91
Δείγμα 1 GT1a	0,521	0,237	21	10
Δείγμα 1 GD1a	1,984	0,821	80	36
Δείγμα 1 GD1b	0,473	1,923	19	83
Δείγμα 1 GQ1b	0,094	0,911	4	40

Πίνακας 8

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

Διάστημα αναφοράς

Αναλύτης	% φυσιολογικοί αιμοδότες σε κατηγορίες			Όριο αναφοράς
	<30 % Αναλογία	30 - 50 % Αναλογία	>50 % Αναλογία	(90% CI)
αντι-MAG IgG	96,7	2,5	0,8	25 (15,7 – 39,5)
αντι-MAG IgM	99,2	0,8	0,0	20 (18,6 – 28,4)
αντι-MAG IgGM	86,7	10,0	3,3	44 (34,8 – 52,9)
αντι-GM1 IgG	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
αντι-GM1 IgM	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)
αντι-GM1 IgGM	95,0	4,2	0,8	34 (23,3 – 49,5)
αντι-GT1a IgG	90,0	6,7	3,3	44 (35,9 – 113,1)
αντι-GT1a IgM	97,5	2,5	0,0	16 (10,3 – 31,8)
αντι-GT1a IgGM	85,0	10,0	5,0	50 (42,4 – 140,3)
αντι-GD1a IgG	91,7	5,0	3,3	42 (26,2 – 108,2)
αντι-GD1a IgM	100,0	0,0	0,0	8 (6,6 – 12,4)[F] 18 (6,6 – 24,3)[M]
αντι-GD1a IgGM	88,3	5,8	5,8	53 (35,0 – 118,7)
αντι-GD1b IgG	97,5	1,7	0,8	21 (14,5 – 33,0)
αντι-GD1b IgM	99,2	0,0	0,8	15 (6,3 – 15,5)[F] 9 (6,4 – 54,7)[M]
αντι-GD1b IgGM	95,0	3,3	1,7	30 (22,3 – 71,6)
αντι-GQ1b IgG	97,5	2,5	0,0	24 (14,6 – 33,4)
αντι-GQ1b IgM	99,2	0,8	0,0	8 (6,2 – 17,8)
αντι-GQ1b IgGM	95,0	4,2	0,8	31 (23,1 – 46,7)

F Υποομάδα Γυναικών. *M* Υποομάδα Ανδρών

Πίνακας 9

Σύγκριση των μεθόδων αντισωμάτων anti-MAG

Περιγραφή	N	Συμφωνία Kappa		NPA		PPA	
		Τιμή	95% CI	Τιμή	95% CI	Τιμή	95% CI
EK-GCM IgM έναντι EK-MAG	122	0,88	0,80 - 0,97	100,0%	94,6% - 100,0%	87,5%	75,9%-94,8%
EK-GCM IgG/IgM Μείγμα έναντι EK-MAG	122	0,87	0,78 - 0,96	97,0%	89,5% -99,6%	89,3%	78,1%-96,0%

Πίνακας 10

NPA: Αρνητικό Ποσοστό συμφωνίας
PPA: Θετικό Ποσοστό συμφωνίας
CI: Διάστημα εμπιστοσύνης

Ακρίβεια εντός του εργαστηρίου

Περιγραφή δείγματος			Ακρίβεια εντός του εργαστηρίου			
Αναλύτης	Σημασμένο Ένζυμο (Ισότυπος)	Προσδοκώμενη κατηγορία [%Αναλογία]	N	Μέσος όρος [%Αναλογία]	SD [%Αναλογία]	CV [%]
αντι-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
αντι-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
αντι-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

Πίνακας 11

Εργαστηριακή ακρίβεια

Περιγραφή δείγματος			Αναπαραγωγιμότητα			
Αναλύτης	Σημασμένο Ένζυμο (Ισότυπος)	Προσδοκώμενη κατηγορία [%Αναλογία]	N	Μέσος όρος [%Αναλογία]	SD [%Αναλογία]	CV [%]
αντι-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
αντι-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
αντι-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

Πίνακας 12

LoD και LoB

Αναλύτης	LoB [% Αναλογία]	LoD [% Αναλογία]
αντι-GM1 IgM Ab	5	21
αντι-GM1 IgG Ab	6	15
αντι-MAG IgM Ab	12	26
αντι-MAG IgG/IgM Μείγμα Ab	14	27
αντι-GQ1b IgM Ab	3	17
αντι-GQ1b IgG Ab	8	18

Πίνακας 13

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Εκχωρημένο αντίσωμα	Διάγνωση	#
Αντι-ουδετερόφιλο κυτταροπλασματικό αντίσωμα (ANCA)	Αγγειίτιδα	3
	Άλλα (δείγματα με θετική ένδειξη ANCA)	10
Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	5
	Ρευματοειδής αρθρίτιδα	9
	σύνδρομο Sjogren	6
	Άλλα (δείγματα με θετική ένδειξη ANA)	3
Αντισώματα κατά της θυρεοσφαιρίνης (anti-Tg)	Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	5
Αντισώματα κατά της ριβονουκλεοπρωτεΐνης	Μικτή νόσο του συνδετικού ιστού	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Αυτοάνοσες περιφερικές νευροπάθειες	1
Αντισώματα κατά των υποδοχέων ακετυλοχολίνης και κινάση τυροσίνης ειδική για τους μύες	Βαρεία μυασθένεια	7

Πίνακας 14

Περιφερικές νευροπάθειες	#
Αλκοολικός	1
Διαβητικός	5
Περιφερική νευροπάθεια που μιμείται διαταραχές	**#**
Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS)	15
Σαρκοείδωση	4
Μακροσφαιριναιμία Waldenstrom (WM)	4
Νόσος Chagas	5

Πίνακας 15

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

Κλινική απόδοση

Μελέτη	Θετικοί μάρτυρες (περιπτώσεις)	Αρνητικοί μάρτυρες	Επίτο-πος	Ευαι-σθησία	Ειδικ-ότητα
Hashemilar et al., 2014	Παιδιατρικό GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
			GQ1b	0,56	0,74
Sharma et al., 2011	Παιδιατρικό 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-νευροπάθεια (n = 41)	NC (n = 112) HC (n = 6)	HNK-1 (MAG)	0,98	0,99

Πίνακας 16

GBS, Σύνδρομο Guillain-Barré; DC, Έλεγχος μη νευρολογικής νόσου; NC, Νευρολογικός έλεγχος; HC, Υγιής έλεγχος; MFS, Σύνδρομο Miller Fisher; CIDP, Χρόνια φλεγμονώδης απομυελινωτική πολυνευροπάθεια

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA

Προεπικαλυμμένη πλάκα μικροτιτλοδότησης

↓ *πλύση 2x με ≥300 µL (κρύο)! ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης*

100 µL βαθμονομητή, μάρτυρων ή δείγματα ορού (1:50)

↓ *επώαση 2 ώρες (±5 min) στους 2-8 °C*
πλύση 3x με ≥300 µL (κρύο)! ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

προσθήκη 100 µL σημασμένου ένζυμου

↓ *επώαση 2 ώρες (±5 min) στους 2-8 °C*
πλύση 3x με ≥300 µL (κρύο)! ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

προσθήκη 100 µL Υπόστρωμα TMB (θερμοκρασία δωματίου)!

↓ *επώαση 30 λεπτά (±2 min) στους 18-28 °C*
σε αναδευτήρα πλάκας ~400-600 rpm

προσθήκη 100 µL ανασχετικού διαλύματος (θερμοκρασία δωματίου)!

➡ **Ανάγνωση της απορρόφησης στα 450 nm (εντός 30 λεπτών)**

ΧΡΟΝΟΣ ΜΕΧΡΙ ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ: 4,5 ΩΡΕΣ

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Herrendorff, R. et al. Selective in vivo removal of pathogenic anti-MAG autoantibodies, an antigen-specific treatment option for anti-MAG neuropathy. *PNAS* **114**(18), E3689-E3698 (2017).

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

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

4. Steck, A. J. Anti-MAG neuropathy: From biology to clinical management. J. Neuroimmunology **361** (2021).

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

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

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

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

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

10. Delmont, E. et al. Relevance of anti-HNK1 antibodies in the management of anti-MAG neuropathies. *J. Neurol*. **266**, 1973–1979 (2019).

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΛΛΑΓΩΝ

Ημερομηνία	Εκδοχή	Αλλαγή
2023-08-17	A1	Αλλαγή στην *Προβλεπομενη χρηση* και το όνομα του προϊόντος Αφαίρεση του GM2 γαγγλιοσίδη και εισαγωγή του GT1a γαγγλιοσίδη Επαναδιατύπωση της αρχής της ανάλυσης με κατηγορίες τίτλων αρνητική, γκρίζα ζώνη, θετική Νέες σε χρήση σταθερότητες αντιδραστηρίων Ενημέρωση στο κεφάλαιο *Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις* Αναθεώρηση κεφαλαίων *Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων, Διαδικασία Δοκιμασίας,* και *Τυποποίηση και μετρολογική ιχνηλασιμότητα* Αναδιατύπωση κεφαλαίων *Ποιοτικός Έλεγχος* Ενημέρωση στο κεφάλαιο *Περιορισμοί* Αναθεώρηση κεφαλαίων *Διαστήματα αναφοράς, χαρακτηριστικά απόδοσης* και *παρεμβαλλόμενες ουσίες* Εισαγωγή του κεφαλαίου Κλινική απόδοση Αναθεώρηση κεφαλαίων *αναφορές* και *σύμβολα* Συμπερίληψη του αριθμού κοινοποιημένου οργανισμού στο σήμα CE – διαδικασία αξιολόγησης συμμόρφωσης σύμφωνα με το IVDR 2017/746

ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΑ ΚΡΑΤΗ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΕΕ

Εάν έχει συμβεί οποιοδήποτε σοβαρό περιστατικό σε σχέση με αυτήν τη συσκευή, αναφέρετε χωρίς καθυστέρηση στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή του κράτους μέλους σας.

ΖΗΜΙΑ ΑΠΟΣΤΟΛΗΣ

Παρακαλούμε ενημερώστε τον διανομέα σας, εάν αυτό το προϊόν παραλήφθηκε κατεστραμμένο.

ΣΥΜΒΟΛΑ

Η BÜHLMANN χρησιμοποιεί σύμβολα και σημεία που παρατίθενται και περιγράφονται στο ISO 15223-1. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται τα ακόλουθα σύμβολα και σημεία:

Σύμβολο	Εξήγηση
MP	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
BUF WASH 10X	Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x)
BUF INC	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
CAL	Βαθμονομητής
CONTROL -	Αρνητικός Μάρτυρας
CONTROL L	Χαμηλός Μάρτυρας
CONTROL M	Μεσαίος Μάρτυρας
EL IgG	Σημασμένο Ένζυμο IgG
EL IgM	Σημασμένο Ένζυμο IgM
EL MIX	Σημασμένο ένζυμικό μείγμα IgG/IgM
SUBS TMB	Υπόστρωμα TMB
SOLN STOP	Ανασχετικό διάλυμα

CE 0123