



BÜHLMANN

GanglioCombi[®] MAG ELISA

Med enzym-etikettene IgG/IgM-blanding, IgG og IgM

Påvisning av anti-ganglioside
og -MAG-antistoffer av ELISA
(HNK-1 («MAG»), GM1, GT1a, GD1a, GD1b og GQ1b)

Til *In Vitro*-diagnostisk bruk

EK-GCM 2 x 96 tester

Utgivelsesdato: 2023-08-17
Versjon A1

 **Produsent**

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch, Sveits

Tel.: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

TILTENKT BRUK

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA er en *in vitro* diagnostisk analyse for semi-kvantitativ bestemmelse av IgG- og/eller IgM-antistoffer mot utvalgte nevrale antigener/epitoper i serumprøver. Analyseresultatene kan brukes til å støtte diagnostisering av autoimmune perifere nevropatier i forbindelse med andre kliniske funn og laboratoriefunn.

Kun til laboratoriebruk.

TILTENKTE BRUKSOMRÅDER

De tre enzymetikettene, som følger med i settet, muliggjør tre forskjellige testalgoritmer:

1. Testing med IgG/IgM-konjugatblandingen (heretter referert til som blanding) gjør det mulig å screene for tilstedeværelsen av anti-nevrale antistoffer som tyder på en autoimmun nevropati.
2. Testing med individuelle IgG- og/eller IgM-konjugater gjør det mulig å bestemme antistoff-isotype.
3. For laboratorieoppbevaring kan innledende prøvescreening ved bruk av blandingen (alternativ 1), etterfølges av differensiering av blandingspositive prøver ved bruk av individuelle IgG- og IgM-konjugater (alternativ 2), om nødvendig.

ANALYSENS PRINSIPP

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA gjør det mulig å måle ganglioside og Myelin-assosiert glykoprotein (MAG)-antistoffer i serum. Mikrotiterplaten er belagt med gangliosider: GM1, GT1a, GD1a, GD1b, GQ1b og den kjemisk syntetiserte HNK-1-epitopen til MAG-glykoproteinet (ref. 1).

Pasientsera, kontroller og kalibrator tilsettes brønnene på mikrotiterplaten. Etter 2 timers inkubering ved 2 – 8 °C og vasketrinn, påviser deteksjonsantistoffer (anti-IgG/IgM, anti-IgG, anti-IgM) konjugert til pepperrotperoksidase (HRP) anti-ganglioside og/eller anti-MAG-antistoffer bundet til de immobiliserte gangliosidene eller HNK-1 på platen. Etter ytterligere 2 timers inkubering og ytterligere vasketrinn tilsettes det kromogene HRP-substratet, tetrametylbenzidin (TMB) (dannelse av blå farge) etterfulgt av en stoppreaksjon (bytte til gul farge). Absorpsjonen måles ved 450 nm.

Den målte absorbansen er proporsjonal med titeren av antistoffer som er tilstede i en gitt prøve. Antistofftiter uttrykkes som %-andel av kalibratoren og kan tilordnes til titerkategorier (negative, gråsoner, positive).

MEDFØLGENDE REAGENSER OG KLARGJØRING

Reagenser	Mengde	Kode	Rekonstituering
Mikrotiterplate forhåndsbelagt med gangliosider og HNK-1	2 x12 x 8 brønnstrimler med ramme	B-GCM-MP	Klar til bruk
Plateforsegler	6 stk		
Vaskebuffer-konsentrat (10x) med konserveringsmidler	2 flasker x 100 mL	B-GCO-WB	Fortynn med 900 mL avionisert vann
Inkuberingsbuffer med konserveringsmidler	1 flaske x 100 mL	B-GCO-IB	Klar til bruk
Kalibrator lyofilisert med konserveringsmidler	1 hetteglass	B-GCO-CA	Tilsett 1,5 mL inkuberingsbuffer
Kontroll Negativ, Lav og Medium ¹ lyofilisert med konserveringsmidler	3 hetteglass	B-GCO-CONSET	Tilsett 1,5 mL inkuberingsbuffer
Enzymetikett IgG/IgM-blanding anti-humant IgG og IgM antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	2 hetteglass x 11 mL	B-GCO-ELGM	Klar til bruk
Enzymetikett IgG anti-humant IgG antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	1 hetteglass x 11 mL	B-GCO-ELG	Klar til bruk
Enzymetikett IgM anti-humant IgM-antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	1 hetteglass x 11 mL	B-GCO-ELM	Klar til bruk
TMB-substrat TMB i sitratbuffer	2 hetteglass x 11 mL	B-TMB	Klar til bruk
Stoppløsning 0,25 M svovelsyre	2 hetteglass x 11 mL	B-ST5	Klar til bruk Korroderende middel

Tabell 1

¹ Kontrollene inneholder lot-spesifikke nivåer av anti-GM1-antistoffer. Se det ekstra QC-dataarket for faktisk gjennomsnittlig OD og %-andel.

REAGENSENES HOLDBARHET OG OPPBEVARING

Forseglede/uåpnede reagenser	
Oppbevares ved 2–8 °C. Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.	
Åpnede/rekonstituerte reagenser	
Mikrotiterplate	Legg ubrukte strimler umiddelbart tilbake i folieposen med tørkemiddelpakker, og forsegl posen langs hele zip-forseglingsskanten. Oppbevares i opptil 6 måneder ved 2-8 °C.
Fortynnet vaskebuffer	Oppbevares i opptil 6 måneder ved 2-8 °C.
Inkuberingsbuffer	
Enzymetiketter	
TMB-substrat	
Kalibrator	
Kontroller	Oppbevares i opptil 6 måneder ved 18-28 °C.
Stoppløsning	

Tabell 2

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE FØLGER MED

- Presisjonspipetter med engangstupper: 10 µL, 20 µL, 100 µL og 1000 µL pipetter
- Polystyren- eller polypropylenrør for klargjøring av prøvetfortynninger
- 1000 mL sylinder for fortynning av vaskebufferen
- Mikrotiterplatevasker
- Trekkpapi
- Mikrotiterplaterister
- Mikrotiterplate-avleser for måling av absorbans ved 450 nm.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Forholdsregler for sikkerhet

- Kalibratoren og kontrollene i dette settet inneholder komponenter av human opprinnelse. Selv om de er testet og funnet negative for HBV, HCV og HIV1/2, skal reagensene håndteres som om de er i stand til å overføre infeksjoner og skal håndteres i samsvar med god laboratoriepraksis (GLP) ved bruk av korrekte forholdsregler.
- Settet inneholder komponenter som er klassifisert i samsvar med forskrift (EF) nr. 1272/2008.
 - Stoppløsningen inneholder svovelsyre (kons. 2,5–5%). Derfor kan reagensene gi hudirritasjon (H315), alvorlig øyeirritasjon (H319), og kan være korroderende for metaller (H290).
 - Kalibratoren, kontrollene og enzymetikettene inneholder 2-metyl-4-isotiazolin-3-on-hydroklorid (kons. $\geq 0,0015\%$), derfor kan reagensene forårsake allergiske hudreaksjoner (H317).
 - Inkubasjonsbufferen og vaskebufferen inneholder gentamicinsulfat, og reagensene kan derfor forårsake en allergisk hudreaksjon (H317).
- Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Hvis det oppstår kontakt, skal du vaske umiddelbart med store mengder vann, hvis ikke kan det oppstå irritasjon/svie.
- Reagenser og kjemikalier må behandles som farlig avfall i samsvar med nasjonale retningslinjer eller forskrift for biologisk farlig avfall.

Tekniske forholdsregler

- Les instruksjonene nøye før testen utføres. Testens ytelse vil påvirkes vesentlig hvis reagensene er feil fortynnet, endret eller oppbevart under andre forhold enn dem som er beskrevet i bruksanvisningen.

ELISA-prosedyre

Reagensenes temperatur

- Klargjør reagensene før du starter analyseprosedyren. Trinn 3–9: Reagenser som brukes i trinn 3–9, må være kalde (2–8 °C) og holdes kalde under pipettering og vasking. Anbefaling: Klargjør vaskebufferen dagen før analysen skal utføres, og sett den i kjøleskap over natten.
- Utfør alle vasketrinn med kald (2–8 °C) vaskebuffer.
- Juster TMB-substrat og stoppløsning til romtemperatur (18–28 °C) i begynnelsen av analyseprosedyren.

Vasketrinn

- Vasketrinn 3, 6 og 9 er avgjørende for å fjerne rester etter produksjonsprosessen og/eller potensielt ubundede antistoffer i brønnene.
- En automatisk vaskemaskin som kjører i “platemodus”, anbefales sterkt. Det vil si at hvert prosesstrinn (dispensering/aspirering) utføres på alle strimlene sekvensielt, før instrumentet fortsetter til neste vaskesyklus.
- Påse at alle brønnene er helt tomme etter den siste vaskesyklusen.

Inkubering av substrat

- Trinn 11: Rist mikrotiterplatene under validering med substrat. Avhengig av plateristermodellen anbefaler vi 400–600 opm. Løsningen skal bevege seg i brønnene, men ikke renne over.

Settets komponenter

- Komponentene må ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.
- Ikke bland ulike reagensloter.
- Alle anstrengelser skal gjøres for å sikre at det ikke oppstår krysskontaminering mellom reagenser, prøver eller mellom brønner.
- Mikrobrønner kan ikke gjenbrukes.

PRØVEINNSAMLING OG -OPPBEVARING

Prosedyren krever henholdsvis $< 0,1$ mL blod eller < 50 µL serum.

Samle inn blod i vanlige venepunksjonsrør uten tilsetninger, og unngå hemolyse. Klargjør serumet i henhold til produsentens anvisninger. Dekanter serumet.

Serumprøver kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil åtte uker, ved 28 °C i opptil én uke og ved ≤ -20 °C i 16 uker. Frose prøver skal tines og blandes grundig ved lett virvling eller inversjon før bruk.

Vi anbefaler å klargjøre alikvoter av serumprøver før frysing, for å unngå gjentatte fryse-/tinesykluser.

ANALYSEPROSEDYRE

Det er to alternativer:

- (1) Påvisning av blandingsisotyper (IgG og IgM): tilsett enzymetikettblanding i trinn 7
- (2) Påvisning av IgG- eller IgM-isotyper: tilsett enten enzymetikett IgG eller enzymetikett IgM i trinn 7

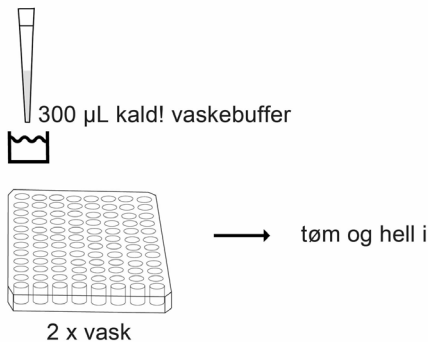
Merk: Juster TMB-substratløsningen til romtemperatur (18–28 °C).

1. Fortynn prøver 1:50 med inkuberingsbuffer. Bruk f.eks. 20 µl serum + 980 µl med kald! (2–8 °C) inkuberingsbuffer. Bland grundig ved å vorteksere og la fortynnede prøver samt rekonstituerte kalibratører og kontroller være ved 2–8 °C i 30 minutter før pipettering (se trinn 4a og b).
2. Klargjør en plateramme med nok strimler til det nødvendige antallet kalibratører, kontroller og prøver. Fjern overflødig strimler fra rammen og forsegl den i

folieposen sammen med tørkemiddelpakken umiddelbart. Oppbevares i kjøleskap.

Merk: Bruk kalde reagenser i trinn 3 til 9.

3. Vask brønnene to ganger med minst 300 µL kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne gjenværende væske fullstendig.



Merk: Gå straks videre til de neste trinnene.

- 4a. Pipetter 100 µL kalibrator inn i brønn A1 (se figur 1A for alternativ 1 eller figur 1B for alternativ 2).
- 4b. Pipetter 100 µL medium kontroll inn i brønn B1, lav kontroll inn i brønn A2 og negativ kontroll inn i brønn B2 (se figur 1A eller 1B).

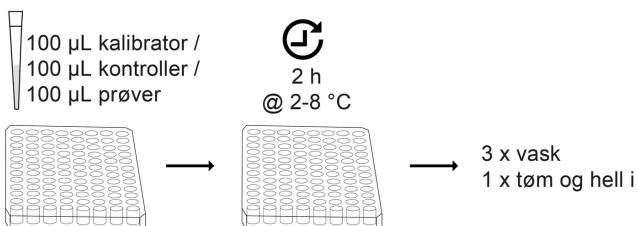
Merknad for alternativ 1: Dersom det brukes mer enn tre strimler per kjøring, kan kalibrator og kontroller testes i duplikater (se figur 1A).

Merknad for alternativ 2: Kalibrator og kontroller skal kjøres separat for IgG- og IgM-isotypene (se figur 1B).

- 4c. Pipetter 100 µL fortynnet prøve 1 inn i brønn C1-H1 (se figur 1A eller 1B).
- 4d. Pipetter 100 µL fortynnet prøve 2 inn i brønn C2-H2 (se figur 1A eller 1B).
- 4e. Pipetter 100 µL fortynnet prøve 3 - 24 (for alternativ 1) eller 3 - 12 (for alternativ 2) inn i etterfølgende brønner (se figur 1A eller 1B).

Merknad for alternativ 2: gjenta pipettering av prøve 1 - 12 i samme rekkefølge inn i de gjenværende brønnene for testing med den andre isotypen.

5. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2-8 °C (ikke rist platen).
6. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene og vask tre ganger med minst 300 µL kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne vaskebufferen fullstendig.



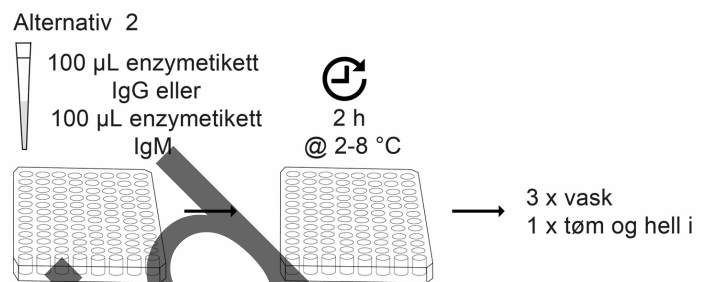
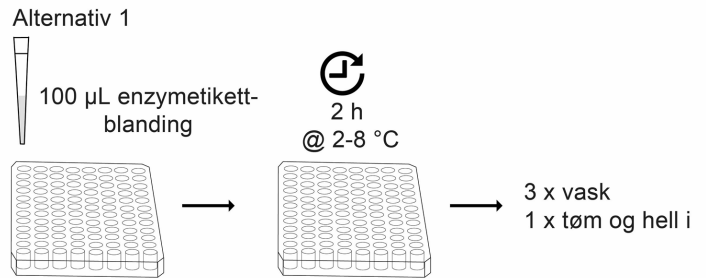
For alternativ 1: Påvisning av blandings-isotyp

7. Tilsett 100 µL med blanding til brønnene.

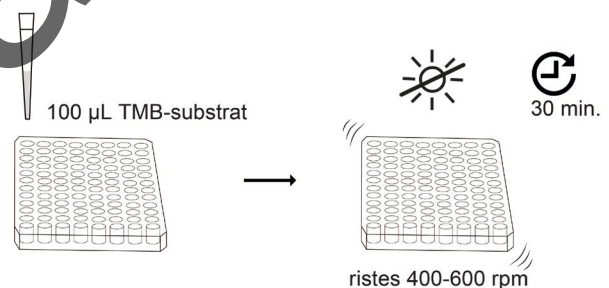
For alternativ 2: Påvisning av IgG- eller IgM-isotyper

- 7'. Tilsett 100 µL med enten enzymetikett IgG eller IgM til de respektive brønnene (se figur 1B).

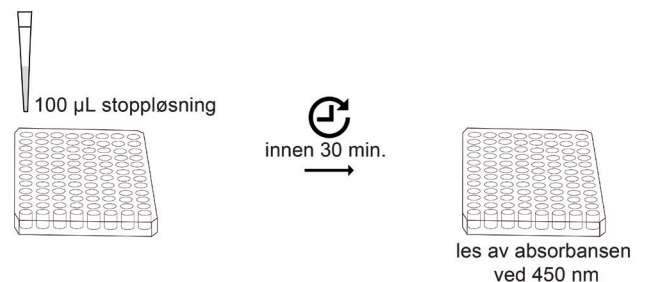
8. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2-8 °C (ikke rist platen).
9. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene og vask tre ganger med minst 300 µL kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir.



10. Tilsett 100 µL TMB substratløsning (utjevnet til romtemperatur) i hver brønn.
11. Dekk platen med en plateforsegler, beskytt platen mot lys og inkuber på en platerister innstilt på 400-600 opm, ved 18-28 °C i 30 \pm 2 minutter.



12. Tilsett 100 µL stoppløsning i alle brønnene. Fjern luftbobler med en pipettespiss. Gå videre til trinn 13 innen 30 minutter.
13. Les av absorbansen ved 450 nm i en mikrotiterplateavleser.



KVALITETSKONTROLL

En grundig forståelse av denne bruksanvisningen er nødvendig for vellykket bruk av produktet. Pålitelige resultater oppnås bare ved bruk av presise laboratorieteknikker og nøye overholdelse av denne bruksanvisningen.

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA-settet leveres med tre kontroller: negativ, lav og medium kontroll. Kontrollene har tilordnede verdiområder (% -andel) som er angitt på kvalitetskontroll-dataskjemaet som følger med hvert sett. Kontrollmålingene må være innenfor de angitte verdiområdene for at resultatene skal være gyldige. I tillegg til settkontrollene anbefaler vi å bruke serumpooler for intern kvalitetskontroll.

En minimums OD_{450nm}-Verdi på 1,2 anbefales for kalibratoren.

Ytelseegenskapene bør være innenfor etablerte grenser. Reproducerbarheten til standardkurveparametrene og kontrollverdiene skal være innenfor etablerte grenser for akseptabilitet i laboratoriet. Hvis analysens ytelse ikke oppfyller de etablerte grensene og repetisjon har utelukket feil i teknikk, skal følgende kontrolleres: i) temperaturkontroll (reagenser brukt i trinn 3–9 holdt ved 2–8 °C); ii) nøyaktigheten til termometere, pipetterings- og tidtakerenheter; iii) ELISA-avleserens innstillinger; iv) reagensenes utløpsdato; v) oppbevarings- og inkuberingsbetingelser; vi) farge på TMB-substratløsning (skal være fargeløs); vii) vannets renhet; viii) aspirerings- og vaskemetoder.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHET

Det finnes ingen internasjonalt eller nasjonalt anerkjent referansemateriale eller referansemålingsprosedyrer for anti-gangliosid- eller -MAG-antistoffer i serumprøver. BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA er standardisert mot et internt etablert referansemateriale. Kalibratorverdier tilordnes i henhold til en verdioverføringsprotokoll (ref. 2), for å garantere metrologisk sporbarhet, og er angitt i vilkårlige «prosentandel»-enheter.

95% konfidensintervall for den kombinerte usikkerheten til produktkalibratører ble bestemt til å være 29,3% for IgG-antistoffer og 37,6% for IgM-antistoffer.

BEREGNING AV TESTRESULTATER

1. Registrer absorbans (OD) ved 450 nm for hver brønn (kalibrator, kontroller og prøver).
2. Hvis det ble utført flere kalibrator- og kontrollmålinger, tar du et gjennomsnitt av verdiene.

Resultatene uttrykkes som forholdet mellom prøver-absorbans og (gjennomsnittlig) kalibrator-absorbans.

Blandings-isotyper

$$\text{prosentandel} = \frac{\text{prøve- eller kontroll-absorbans}}{\text{kalibrator-absorbans}} \times 200$$

IgG- og IgM-isotyper

$$\text{prosentandel} = \frac{\text{prøve- eller kontroll-absorbans}}{\text{kalibrator-absorbans}} \times 100$$

Programmer for beregning av resultater som % rate er tilgjengelig på de fleste mikroplatelesere.

Merk: Resultatene presentert i tabell 7 og 8 er eksempler og oppgis kun for demonstrasjonsformål.

BEGRENSNINGER

- Resultater med høye prosentandeler (> 100%) for individuelle gangliosider kan resultere i kryssreaktivitet med andre gangliosider i samme prøve. Kryssreaktiviteten vil typisk vise høy inter-assay variasjon. Tolkning av resultatene bør derfor kun gjøres sammen med en ekspert/spesialist.
- På grunn av poly-reaktiviteten til autoimmune antistoffer og forskjeller i geografisk prevalens, skal analyseresultatene kun brukes til å støtte den kliniske tolkningen av nevropatien av en ekspert/spesialist i kombinasjon med pasientens kliniske bilde (ref. 3).
- Denne testen er ikke validert for plasmaferese.
- Intravenøse immunglobuliner (IVIg) kan påvirke testresultatene.

REFERANSEINTERVALLER OG CUT-OFF

Referanseintervallet for BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA ble etablert i henhold til CLSI C28-A3 med 120 serumprøver fra selverklærte friske individer. Distribusjonsfrekvensen av anti-gangliosid- og anti-MAG-antistoffer hos normale blodgivere ble klassifisert i titerkategorier: negativ (< 30% andel), gråsoner (30-50% andel) og positiv (> 50% andel). Resultatene er oppsummert i tabell 9. Cut-off-verdien for positivitet er 50% andel.

TOLKNING AV RESULTATER

Antigen	IgG/IgM blanding		
	Verdier (% andel)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se merknad */**	Se merknad */**
GM1		Test igjen på et senere tidspunkt	Positiv
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Tabell 3

Antigen	IgG		
	Verdier (% andel)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se merknad *	Se merknad *
GM1		Test igjen på et senere tidspunkt	Positiv
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Tabell 4

Antigen	IgM		
	Verdier (% andel)		
	<30	30-50	>50
HNK-1	Negativ	Se merknad **	Positiv (se merknad **)
GM1		Test igjen på et senere tidspunkt	Positiv
GT1a			
GD1a			
GD1b			
GQ1b			

Tabell 5

Testresultatene skal tolkes i sammenheng med informasjon som er tilgjengelig fra den kliniske vurderingen av pasienten, og andre diagnostiske prosedyrer.

* MAG-nevropati er vanligvis assosiert med tilstedeværelse av anti-MAG-antistoffer av IgM-isotypen (ref. 4).

** Resultater mellom 30 og 50% (gråsoner) eller > 50% (positiv) for HNK-1 med blandingen eller enzymetikett IgM kan testes på nytt med anti-MAG Antibodies ELISA (EK-MAG).

YTELSESEGENSKAPER

Sammenligning av metoder

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA vs anti-MAG Antibodies ELISA

Metodesammenligningsstudien ble utført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3 og EP12-A2. Ett hundre og tjueto (122) prøver ble målt ved bruk av 2 lot med BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA og 2 lot med anti-MAG Antibodies ELISA. Diagnostisk (kappa) overensstemmelse, negativ prosent overensstemmelse og positiv prosent overensstemmelse ble bestemt. Overensstemmelsene er oppsummert i tabell 10.

Presisjon innen laboratoriet

For anti-gangliosider 5,7 – 13,2% CV

For anti-MAG: 14,4 – 36,5% CV

Presisjon innen laboratoriet ble etablert i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved bruk av standardisert studiedesign 20 dager x 2 kjøring x 2 replikater. Tre (3) sammenslåtte pasientserumprøver ble testet. Resultatene er oppsummert i tabell 11.

Reproduserbarhet

For anti-gangliosider 7,7 – 19,1% CV

For anti-MAG: 23,5 – 33,2% CV

Reproduserbarhet ble etablert i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved bruk av standardisert studiedesign 3 instrumenter/lot/operatører x 5 dager x 5 replikater. Tre (3) sammenslåtte pasientserumprøver ble testet. Resultatene er oppsummert i tabell 12.

Grense for blank (LoB) ≤ Grense for sikker målbar verdi (LoD): ≤ 30% andel

LoB og LoD ble etablert i henhold til CLSI-retningslinjen EP17-A2 ved bruk av ikke-parametrisk analyse. Resultatene er oppsummert i tabell 13.

“Hook”-effekt ved høy dose

Det ble ikke observert noen begrensning på grunn av en høy dose hook-effekt til måleområdet.

Kryssreaktivitet

Ingen systematisk kryssreaktivitet ble observert for prøver fra pasienter med ulike autoimmune sykdommer (tabell 14) og fra pasienter med andre nevrologiske lidelser (tabell 15).

KLINISK YTELSE

Den kliniske ytelsen ble vurdert ved å oppsummere analyse av fagfellevurdert vitenskapelig litteratur. Seks (6) studier tok for seg den kliniske ytelsen til BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA i diagnostiseringen av autoimmune perifere nevropatier (ref. 5-10). Resultater av analyse og studiedetaljer vises i henholdsvis tabell 6 og tabell 16.

N perifere nevropatier	201 (102 pediatriske GBS, 14 CIDP, 44 GBS, 41 anti-MAG nevropati)
N kontroller	493 (104 DC, 254 NC, 135 HC)
Sensitivitet (95 % KI)	68,1% (39,6 – 87,5%)
Spesifisitet (95 % KI)	88,0% (72,3 – 95,3%)
ROC AUC	0,85

Tabell 6

GBS, Guillain-Barré-Syndrom; DC, Ikke-nevrologisk sykdomskontroll NC, nevrologisk kontroll; HC, frisk kontroll; CIDP, Kronisk inflammatorisk demyeliniserende polynevropati; KI, konfidensintervall; ROC AUC, området under receiver operating characteristic-kurven

INTERFERERENDE STOFFER

Analysens følsomhet for orale og injiserbare legemidler, samt for endogene stoffer ble vurdert i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A3. Bias i resultatene $\geq \pm 20\%$ andel ble ansett som interferens.

Ingen interferens ble påvist med følgende substanser opp til oppførte konsentrasjoner: intravenøst immunglobulin (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentin (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), klorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), revmatoid faktor (2340 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglyserid (15 mg/mL), konjugert bilirubin (20 µg/mL), ukonjugert bilirubin (150 µg/mL).

TABELLER OG FIGURER

Microtiterplate oppsett: IgG/IgM-blandingsetikett

		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	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	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 / sett (2 MP / sett)

Microtiterplate oppsett: IgG & IgM etiketter

		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	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	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 / sett (2 MP / sett)

Eksempel på resultater

A IgG/IgM-blandingsetikett

B-GCO-ELGM	Absorbans (OD450)	Andel [%]
Kalibrator	2,179	
Kalibrator gj.sn.	2,477	100
Medium kontroll	1,737	
Medium kontroll gj.sn.	1,891	78
Lav kontroll	0,662	
Lav kontroll gj.sn.	0,460	24
Negativ kontroll	0,044	
Negativ kontroll gj.sn.	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

Tabell 7

B IgG & IgM etiketter

Enzymetikett	Absorbans (OD450)		Andel [%]	
	IgG	IgM	IgG	IgM
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM				
Kalibrator	2,488	2,411		
Kalibrator gj.sn.	2,446	2,201	100	100
Medium kontroll	1,879	1,734		
Medium kontroll gj.sn.	1,987	1,818	78	77
Lav kontroll	0,452	0,501		
Lav kontroll gj.sn.	0,716	0,609	24	24
Negativ kontroll	0,045	0,048		
Negativ kontroll. Gj.sn.	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

Tabell 8

TABELLER OG FIGURER

Referanseintervall

Analytt	% normale blodgivere i kategorier			Referansegrense (90 % KI)
	< 30 % andel	30 - 50 % andel	> 50 % andel	
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 kvinnelig undergruppe. M mannlig undergruppe

Tabell 9

Sammenligning av metoder anti-MAG-antistoffer

Beskrivelse	N	Kappa-overensstemmelse		NPA		PPA	
		Verdi	95 % KI	Verdi	95 % KI	Verdi	95 % KI
EK-GCM IgM vs. 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 blanding vs. EK-MAG	122	0,87	0,78 - 0,96	97,0%	89,5% - 99,6%	89,3%	78,1% - 96,0%

Tabell 10

NPA: Negativ prosent overensstemmelse

PPA: Positiv prosent overensstemmelse

KI: Konfidensintervall

Presisjon innen laboratoriet

Beskrivelse av prøve			Presisjon innen laboratoriet			
Analytt	Enzymetikett (Isotyp)	Forventet kategori [% andel]	N	Gjennomsnitt [% andel]	SD [% andel]	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

Tabell 11

Reproduserbarhet

Beskrivelse av prøve			Reproduserbarhet			
Analytt	Enzymetikett (Isotyp)	Forventet kategori [% andel]	N	Gjennomsnitt [% andel]	SD [% andel]	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

Tabell 12

LoD og LoB

Analytt	LoB [% andel]	LoD [% andel]
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

Tabell 13

Kryssreaktivitet

Tilordnet antistoff	Diagnose	#
Anti-nøytrofilit cytoplasmatiske antistoff (ANCA)	Vaskulitt	3
	Annet (ANCA-positive betegnede prøver)	10
Anti-nukleære antistoffer (ANA)	Systemisk lupus erythematosus	5
	Revmatoid artritt	9
	Sjøgrens syndrom	6
	Annet (ANA-positive betegnede prøver)	3
Anti-tyroglobulin-antistoffer (anti-Tg)	Autoimmun tyroiditt	5
Anti-ribonukleoprotein-antistoffer	Blandet bindevevssykdom	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimmune perifere nevropatier	1
Anti-acetyl-kolinreseptor-antistoffer og anti-muskelspesifikk tyrosinkinase	Myasthenia gravis	7

Tabell 14

Perifere nevropatier	#
Alkohol	1
Diabetes	5
Perifer nevropati-lignende lidelser	#
Amyotrofisk lateral sklerose (ALS)	15
Sarkoidose	4
Waldenstrøms makroglobulinemi (WM)	4
Chagas sykdom	5

Tabell 15

TABELLER OG FIGURER

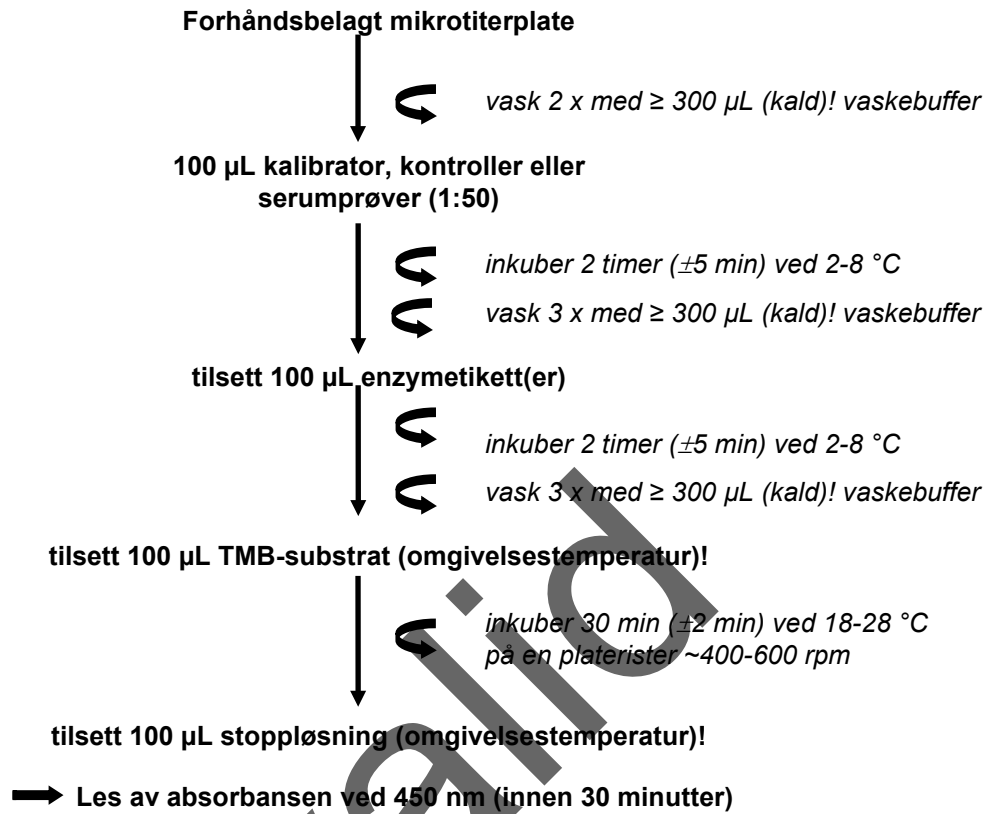
Klinisk ytelse

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

Tabell 16

GBS, Guillain-Barré-syndrom; DC, ikke-nevrologisk sykdomskontroll; NC, nevrologisk kontroll; HC, frisk kontroll; MFS, Miller Fishers syndrom; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserende polynevropati

BÜHLMANN GanglioCombi® MAG ELISA



TID TIL RESULTAT: 4,5 TIMER

REFERANSER

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).

ENDRINGSLOGG

Dato	Versjon	Endring
2023-08-17	A1	Endring i <i>Tiltenkt bruk</i> og produktnavn Fjerning av GM2 gangliosid og introduksjon av GT1a gangliosid Omformulering av <i>Analysens prinsipp</i> med titerkategorier negativ, gråsoner, positiv Nye stabiliteter i bruk for reagenser Oppdatering i avsnittet <i>Advarsler og forsiktighetsregler</i> Revisjon av avsnittene <i>Prøveinnsamling og -oppbevaring, Analyseprosedyre, og Standardisering og metrologisk sporbarhet</i> Ny ordlyd i avsnittet <i>Kvalitetskontroll</i> Oppdatering av avsnittet <i>Begrensninger</i> Revisjon av avsnittene <i>Referanseintervaller og cut-off, Ytelsesegenskaper, og Interfererende stoffer</i> Introduksjon av kapittelet <i>Klinisk ytelse</i> Revisjon av avsnittene <i>Referanser og Symboler</i> Inkludering av nummer for kontrollorgan i CE-merke – prosedyre for konformitetsvurdering i henhold til IVDR 2017/746 Revisjon av avsnittet <i>Symboler</i>

RAPPORTERING AV HENDELSER I EU-MEDLEMSSTATER

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse i forbindelse med denne enheten, skal det rapporteres uten opphold til produsenten og kompetent myndighet i din medlemsstat.

SKADE UNDER FORSENDELSE

Varsle distributøren hvis dette produktet ble mottatt med skade.

SYMBOLER

BÜHLMANN bruker symboler og tegn som er listet opp og beskrevet i ISO 15223-1. I tillegg brukes følgende symboler og tegn:

Symbol	Forklaring
MP	Mikrotiterplate
BUF WASH 10X	Vaskebufferkonsentrat (10x)
BUF INC	Inkuberingsbuffer
CAL	Kalibrator
CONTROL -	Kontroll negativ
CONTROL L	Kontroll Lav
CONTROL M	Kontroll medium
EL IgG	Enzymetikett IgG
EL IgM	Enzymetikett IgM
EL MIX	Enzymetikett IgG/IgM blanding
SUBS TMB	TMB-substrat
SOLN STOP	Stoppløsning

invalid

CE 0123