



Istruzioni per l'uso

Valide a partire dal 30.04.2026

Anti-Gangliosid Dot

REF 5003

Saggio immunologico su membrana per la determinazione di anticorpi IgG e/o IgM contro i gangliosidi nel siero umano



GA Generic Assays GmbH
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Blankenfelde-Mahlow OT Dahlewitz
Germania

Telefono: +49 33708 9286 0
Fax: +49 33708 4417 25

info@genericassays.com
www.genericassays.com



20 x 12



1 Destinazione d'uso

L'Anti-Gangliosid Dot è un immunodosaggio qualitativo su membrana per la determinazione degli anticorpi IgG o IgM contro i gangliosidi nel siero umano.

L'Anti-Gangliosid Dot è inteso come ausilio nella diagnosi di disturbi neurologici periferici in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

L'immunodosaggio è progettato per l'uso professionale manuale nella diagnostica *in vitro*.

2 Rilevanza diagnostica

Le neuropatie infiammatorie del sistema nervoso periferico sono caratterizzate da numerosi sintomi clinici che vanno da una leggera stanchezza e un'indisposizione non caratteristica a disturbi neuromuscolari e deficit funzionali come paralisi respiratoria e arresto cardiaco. Recentemente sono stati identificati autoanticorpi contro i gangliosidi in pazienti affetti da disturbi del sistema nervoso periferico. I gangliosidi appartengono al gruppo dei glicolipidi acidi contenenti un lipide (ceramide), un oligosaccaride e l'acido sialico. I gangliosidi sono componenti delle membrane cellulari e si trovano soprattutto nel sistema nervoso centrale e periferico. Strutture simili ai gangliosidi compaiono anche sulla superficie dei microrganismi. Le neuropatie infiammatorie si verificano spesso in seguito a un'infezione da *Campylobacter jejuni*, *Cytomegalovirus*, virus di Epstein-Barr (EBV), *Mycoplasma pneumoniae* o *Haemophilus influenzae*. Gli anticorpi contro le strutture gangliosidiche dei microrganismi possono cross-reagire con i gangliosidi della guaina mielinica o della neurofibrilla e indurre processi infiammatori con conseguente demielinizzazione.

3 Principio del saggio

I saggi immunologici su membrana (immunoblot) sono utilizzati per la determinazione di anticorpi specifici diretti contro più antigeni. Le strisce del saggio sono rivestite con varie bande di antigeni ad intervalli costanti. Se nel campione del paziente sono presenti anticorpi specifici, questi si legano ai rispettivi antigeni immobilizzati. Un anticorpo secondario coniugato con l'enzima perossidasi rileva gli immunocomplessi generati, convertendo un substrato incolore in un precipitato colorato ed insolubile. L'intensità del segnale del prodotto di reazione precipitato è proporzionale all'attività anticorpale nel campione.

4 Componenti del saggio

Componente	Descrizione
Strisce reattive A Ag 20 20 pezzi	20 strisce (pronte all'uso), ciascuna rivestita con bande di antigene altamente purificato. - GM1, - GM2, - GM3, - GM4, - GD1a, - GD1b, - GD2, - GD3, - GT1a, - GT1b, - GQ1b, - Solfatidi, nonché il controllo positivo
Controllo negativo N CONTROL - 1 x 0,1 mL, tappo verde	Diluizione colorata di siero umano (pronta all'uso; contiene azoturo di sodio) L'attività dell'anticorpo è indicata sul certificato di controllo di qualità.
Controllo positivo P CONTROL + 1 x 0,07 mL, tappo rosso	Diluizione colorata di siero umano (pronta all'uso; contiene azoturo di sodio) L'attività dell'anticorpo è indicata sul certificato di controllo di qualità.
Tampone B BUF 10x 1 x 15 mL, tappo bianco	Soluzione concentrata (10x; contiene Kathon CG)
Coniugato IgG C CONJ G 1 x 1,2 mL, tappo rosso	Soluzione di anticorpo policlonale anti-IgG umane coniugato con perossidasi di rafano (contiene Kathon CG)
Coniugato IgM D CONJ M 1 x 1,2 mL, tappo verde	Soluzione di anticorpo policlonale anti-IgM umane coniugato con perossidasi di rafano (contiene Kathon CG)
Substrato E SOLN TMB 1 x 11 mL, tappo blu	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB, pronto all'uso)
Vassoio d'incubazione 2 pezzi	Vassoio d'incubazione per 12 strisce reattive
Modello d'interpretazione 1 pezzo	Modello d'interpretazione per l'incollaggio di strisce lavorate
Scheda d'interpretazione specifica per il lotto 1 pezzo	Per identificare le posizioni dell'antigene e l'intensità del valore soglia
Certificato CQ 1 pezzo	-

Istruzioni per l'uso 1 pezzo	-
--	---

5 Materiale necessario ma non fornito

- Comuni attrezzature di laboratorio
- Pipette di precisione (5 - 1000 µL) e puntali monouso
- Cilindri graduati (100 - 1000 mL)
- Agitatore a piatto oscillante od orizzontale
- Pinze di plastica
- Carta assorbente
- Acqua distillata o deionizzata

6 Conservazione e stabilità

Una volta ricevuti, tutti i componenti del saggio devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, preferibilmente nella confezione originale del kit. Se conservati correttamente nei loro contenitori originali, tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza. Tutti i componenti sono stabili per almeno un mese dopo l'apertura, se conservati correttamente a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

7 Informazioni generali

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*. Le istruzioni per l'uso devono essere lette attentamente prima dell'uso. Esse sono valide solo per il presente prodotto con la composizione indicata e devono essere seguite rigorosamente per garantirne risultati affidabili. Eventuali deviazioni possono portare a risultati errati. I componenti non devono essere scambiati con reagenti di lotti diversi o di altri produttori.

La contaminazione dei reagenti deve essere evitata utilizzando tecniche asettiche durante il prelievo dai contenitori. Dopo l'uso, le fiale devono essere chiuse ermeticamente con i rispettivi tappi.

La contaminazione incrociata di campioni o reagenti può portare a risultati incoerenti e deve essere evitata utilizzando tecniche di pipettaggio coerenti.

L'esposizione dei reagenti alla luce intensa deve essere evitata per tutta la durata della procedura di analisi e della conservazione.

Un lavaggio insufficiente comporta una scarsa precisione e segnali di misura elevati. Dopo ogni fase di lavaggio, il liquido residuo deve essere completamente rimosso.

8 Preparazione

8.1 Preparazione dei reagenti

Tutti i componenti liquidi devono essere miscelati delicatamente per garantirne l'omogeneità. Le prime fasi di incubazione e lavaggio (incubazione del campione e del coniugato) vengono eseguite a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C con reagenti raffreddati (diluente del campione, soluzione di lavaggio, coniugato). La seconda fase di lavaggio (dopo l'incubazione del coniugato) deve essere eseguita a temperatura ambiente (TA: tra 18 e 25 °C). Pertanto, i reagenti (soluzione di lavaggio, substrato) devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso.

8.1.1 Strisce reattive

Le strisce sono contenute in un tubo di plastica. Le strisce non utilizzate devono sempre essere conservate in frigorifero e protette dall'umidità all'interno del tubo originale.

Non devono essere utilizzate strisce reattive danneggiate o deformate.

8.1.2 Controlli

I controlli positivi e negativi sono pronti all'uso e non devono essere ulteriormente diluiti. I controlli devono essere utilizzati in ogni analisi. I laboratori possono anche convalidare i propri campioni di controllo e utilizzarli in alternativa.

8.1.3 Soluzione tampone

La soluzione tampone è concentrata e deve essere diluita 1:10 con acqua distillata prima dell'uso (ad es. 10 mL + 90 mL). È necessario preparare una quantità sufficiente di soluzione di lavaggio. La soluzione tampone diluita può essere conservata tra 2 e 8 °C fino a 30 giorni.

8.1.4 Coniugato

Il coniugato è pronto all'uso; la diluizione finale del coniugato concentrato alla concentrazione di lavoro viene effettuata durante il saggio.

8.1.5 Substrato

Il substrato è pronto all'uso. Evitare l'esposizione della soluzione del substrato alla luce intensa.

8.2 Preparazione dei campioni

8.2.1 Tipologia di campione

Si raccomanda l'uso di siero appena raccolto da sangue prelevato mediante venipuntura. Si deve evitare l'uso di campioni itterici, lipemici, emolitici o contaminati da batteri. Le sostanze insolubili devono essere rimosse dal campione mediante centrifugazione e i campioni non devono essere inattivati termicamente.

8.2.2 Conservazione dei campioni

I campioni possono essere conservati tra 2 e 8 °C fino a tre giorni. La conservazione a lungo termine richiede -20 °C. È necessario evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. Per un uso multiplo, i campioni devono essere aliquotati e conservati a -20 °C.

9 Prestazioni del saggio

9.1 Procedura

Toccare le strisce reattive solo con una pinzetta di plastica. L'intera procedura deve essere eseguita in vaschette d'incubazione su un agitatore basculante o orizzontale. Dopo ogni aggiunta di soluzione ai pozzetti, agitare manualmente il vassoio d'incubazione per assicurarsi che le strisce siano completamente immerse e per rimuovere eventuali bolle d'aria intrappolate sotto le strisce. I tempi e le temperature d'incubazione indicati devono essere rispettati e devono essere evitati spostamenti significativi di tempo durante il pipettaggio dei campioni e dei reagenti.

Fase	Descrizione
1. Aggiunta della soluzione tampone e delle strisce reattive	Aggiungere 1,0 mL di soluzione tampone fredda nei rispettivi pozzetti del vassoio d'incubazione. Posizionare le strisce sulla superficie liquida con il lato reattivo verso il basso. Evitare la presenza di bolle d'aria sotto le strisce.
2. Aggiunta di campioni e controlli	Aggiungere 10 µL di campioni e controlli non diluiti per pozzetto.
3. Incubazione	Incubare le strisce per 120 min tra 2 e 8 °C in agitazione.
4. Ciclo di lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare una volta per 5 min con 1,0 mL di soluzione tampone fredda a 2 - 8 °C in agitazione. Decantare con cura la soluzione. Il liquido rimanente deve essere rimosso con carta assorbente.
5. Aggiunta di soluzione tampone	Aggiungere 1,0 mL di soluzione tampone in ogni pozzetto. Assicurarsi che tutte le strisce siano completamente coperte dal liquido.
6. Aggiunta del coniugato	Aggiungere 50 µL di coniugato IgG o IgM pronto all'uso, oppure – in caso di saggio di screening IgG/IgM – 50 µL di

	coniugato IgG e 50 µL di coniugato IgM per ogni striscia.
7. Incubazione	Incubare le strisce per 60 min a 2 – 8 °C in agitazione.
8. Ciclo di lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare una volta per 5 min con 1,0 mL di soluzione tampone a TA in agitazione. Decantare con cura la soluzione. Il liquido rimanente deve essere rimosso con carta assorbente.
9. Aggiunta di substrato	Aggiungere in ogni pozzetto 0,5 mL di substrato pronto all'uso.
10. Incubazione	Incubare le strisce per 10 - 12 min a TA in agitazione.
11. Lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare una volta per 2 min con 1,0 mL di soluzione tampone a TA in agitazione.
12. Lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare una volta per 2 min con 1,0 mL di acqua distillata a TA in agitazione per fermare la reazione.
13. Asciugatura	Raccogliere le strisce dai pozzetti e lasciarle ad asciugare su carta assorbente per circa 30 min.
14. Analisi	Incollare le strisce essiccate sul modello d'interpretazione e valutare utilizzando la scheda d'interpretazione.

9.2 Automazione

L'elaborazione automatizzata dei saggi immunologici deve essere eseguita in modo analogo all'uso manuale e convalidata dall'utente.

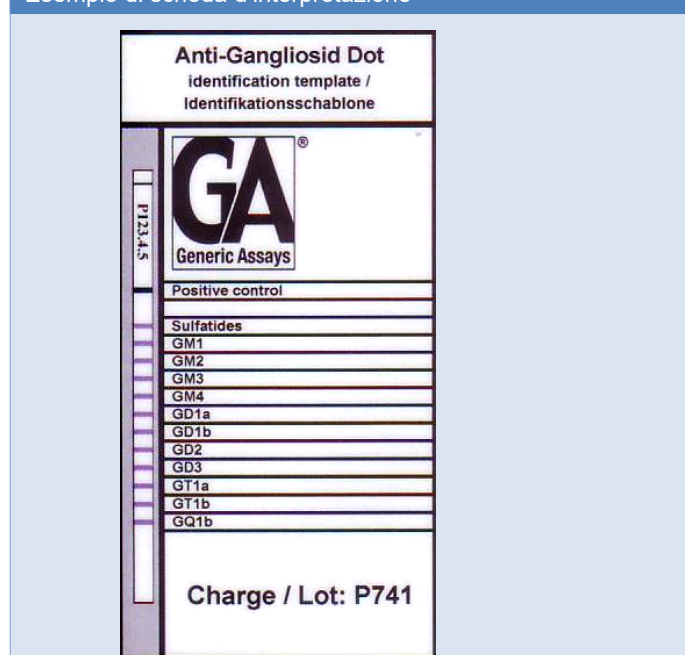
10 Valutazione del saggio

10.1 Tracciabilità metrologica

L'immunodosaggio viene calibrato utilizzando campioni di riferimento interni.

10.2 Valutazione

Esempio di scheda d'interpretazione



La valutazione qualitativa viene eseguita confrontando l'intensità del segnale specifico dell'antigene del campione del paziente con le bande dell'antigene corrispondenti sulla scheda d'interpretazione. Le intensità delle linee indicate sulla scheda

d'interpretazione servono come valori soglia per la valutazione qualitativa.

Le strisce sono rivestite con bande di antigeni. L'intensità del colore della banda è proporzionale all'attività anticorpale specifica del campione. Un campione è considerato positivo per un antigene specifico se la colorazione della banda dell'antigene mostra una colorazione più intensa della banda dell'antigene corrispondente sulla scheda d'interpretazione. Un campione è considerato negativo per un antigene specifico se la colorazione della banda dell'antigene mostra una colorazione meno intensa o uguale rispetto alla banda dell'antigene corrispondente sulla scheda d'interpretazione.

10.3 Criteri di validità

I saggi sono validi solo se sono soddisfatti i seguenti criteri di validità:

- La linea di controllo positiva deve presentare una colorazione intensa.

La colorazione di questi controlli garantisce che il saggio sia stato eseguito correttamente. Se questi criteri non sono soddisfatti, il saggio non è valido e deve essere ripetuto.

10.4 Risoluzione dei problemi

In caso di saggi invalidi, occorre verificare le date di scadenza e le condizioni di conservazione, i tempi e le temperature d'incubazione e l'esatta calibrazione di tutti gli strumenti utilizzati. Se non è stato possibile identificare un motivo per l'invalidità del saggio, contattare il fornitore o il produttore del prodotto.

10.5 Intervalli di riferimento

A causa delle diverse sieroprevalenze nelle singole regioni, ogni laboratorio deve verificare gli intervalli di riferimento con analisi proprie e, se necessario, adattarli.

10.6 Interpretazione dei risultati dei saggi

Un risultato positivo del saggio indica la presenza di anticorpi specifici. Un risultato negativo indica l'assenza di anticorpi specifici, ma non esclude la possibilità di una reazione autoimmune. In caso di risultati incerti, non è possibile effettuare una valutazione affidabile.

Nei pazienti con neuropatie del sistema nervoso periferico sono state osservate le seguenti attività degli anticorpi anti ganglioside:

Malattia	Antigene	Classe di anticorpi
Sindrome di Guillain-Barré	GM1, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b	IgG (IgM)
Sindrome di Miller-Fisher	GQ1b, GT1a	IgG
Neuropatia muscolare multifocale	GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Polineuropatia demielinizzata cronica infiammabile	GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Neuropatia cronica atassica (CANOMAD)	GM3, GD1b, GD2, GD3, GT1b, GQ1b	IgM
Neuropatia acuta atassica-sensoriale	GD1b, GD3	IgG
Neuropatia assonale muscolare acuta	GM1, GD1a	IgG
Paraproteinemica IgM, neuropatia demielinizzante	Solfatidi	IgM (IgG)

10.7 Limiti del metodo

L'interpretazione dei risultati dei saggi deve sempre essere considerata in combinazione con il quadro clinico del paziente.

La diagnosi non deve basarsi sui risultati di un solo metodo diagnostico. Per formulare una diagnosi, è necessario valutare prima tutti i risultati clinici e di laboratorio. Per una conferma, è necessario eseguire ulteriori indagini.

11 Caratteristiche delle prestazioni

11.1 Caratteristiche delle prestazioni analitiche

11.1.1 Precisione

La precisione dei risultati del saggio è stata valutata mediante la determinazione della variazione intra- e inter-saggio attraverso l'analisi di più campioni con diverse attività anticorpali. Non sono state rilevate differenze nella valutazione qualitativa.

11.2 Caratteristiche delle prestazioni diagnostiche

11.2.1 Sensibilità e specificità diagnostica

La sensibilità e la specificità totali sono state valutate mediante l'analisi di 33 campioni di pazienti affetti da neuropatie periferiche autoimmuni (confermati positivi agli anticorpi anti-gangliosidi con metodologie di riferimento) e 130 campioni di donatori di sangue sani non selezionati.

	Sensibilità	Specificità
IgG anti-gangliosidi	> 99 %	97,7 %
IgM anti-gangliosidi	> 99 %	94,6 %

12 Avvertenze e precauzioni

Il prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* da parte di personale qualificato, autorizzato e addestrato. Tutti i componenti del saggio e i campioni umani devono essere maneggiati con cura in quanto potenzialmente pericolosi. È necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio (BPL) e a tutte le normative pertinenti.

Nel caso in cui il prodotto sia danneggiato o le informazioni sul prodotto, compresa l'etichettatura, siano errate o non corrette, si prega di contattare il produttore o il fornitore.

Questo prodotto contiene preparati di origine umana e/o animale. Qualsiasi materiale derivato da fluidi corporei umani o da organi utilizzati per la preparazione dei componenti è stato saggiato ed è risultato negativo all'HBsAg (antigene di superficie del virus dell'epatite B) e agli anticorpi anti-HIV e anti-HCV. Tuttavia, tutti i componenti e tutti i campioni dei pazienti devono essere trattati come potenzialmente pericolosi in conformità alle leggi nazionali e alle linee guida appropriate sulla sicurezza biologica.

Poiché il prodotto contiene materiali potenzialmente pericolosi, è necessario seguire le seguenti precauzioni: Non fumare, mangiare o bere durante la manipolazione del materiale del kit o dei campioni. Evitare il contatto diretto con il materiale del kit o con i campioni indossando guanti protettivi, camice da laboratorio e occhiali di sicurezza. Non pipettare mai il materiale per bocca. Pulire prontamente le fuoriuscite e lavare accuratamente la superficie interessata con un decontaminante. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.

Alcuni reagenti contengono Kathon CG (< 1,0%) come conservante, possono causare sensibilizzazione cutanea (H317) e non devono essere ingeriti o lasciati entrare in contatto con la pelle o le mucose (P280, P333+P313).

Alcuni reagenti contengono azoturo di sodio (< 0,1%) come conservante e non devono essere ingeriti o lasciati entrare in contatto con la pelle o le mucose. La possibile formazione di azoturi di metalli pesanti negli scarichi deve essere evitata mediante un sufficiente risciacquo con acqua.

È necessario osservare le informazioni contenute nella scheda di sicurezza relative ai possibili pericoli, alle misure di primo soccorso, alle misure da adottare in caso di rilascio involontario di grandi quantità, alla manipolazione e allo stoccaggio, ai dispositivi di protezione individuale, alle informazioni sullo smaltimento e alle informazioni sulla tossicologia.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità statale competente in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

13 Smaltimento

Per la decontaminazione e lo smaltimento è necessario attenersi alle raccomandazioni del CDC e alle linee guida e normative ambientali locali e nazionali pertinenti. I campioni, i materiali potenzialmente contaminati e i rifiuti infettivi devono essere decontaminati, ad esempio mediante autoclavaggio per 20 min a 121 °C.

14 Riferimenti

- Willison HJ, Yuki N: Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. Brain, 2002, 125, 2591 – 625.
- Khalili-Shirazi A, Gregson N, Gray I, Rees J, Winer J, Hughes R: Antiganglioside antibodies in Guillain-Barre syndrome after a recent cytomegalovirus infection, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 1999, 66, 376 – 9.
- Schwerer B, Neisser A, Bernheimer H: Distinct immunoglobulin class and immunoglobulin G subclass patterns against ganglioside GQ1b in Miller Fisher syndrome following different types of infection. Infect. Immun. 1999, 67, 2414 – 21.
- Alaniz ME, Lardone RD, Yudowski SL, Farace MI, Nore GA: Normally occurring human anti-GM1 immunoglobulin M antibodies and the immune response to bacteria. Infect. Immun. 2004, 72, 2148 - 51.
- Caudie C, Quittard Pinon A, Bouhour F, Vial C, Garnier L, Fabien N. Comparison of commercial tests for detecting multiple anti-ganglioside autoantibodies in patients with well-characterized immune-mediated peripheral neuropathies. Clin Lab. 2013;59 (11-12):1277-87.
- Klehmet J, Märtschen S, Ruprecht K, Wunderlich B, Büttner T, Hiemann R, Roggenbuck D, Meisel A. Analysis of anti-ganglioside antibodies by a line immunoassay in patients with chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies (CIDP). Clin. Chem. Lab. Med. 2018, 56, 919 – 26.

15 Simboli

	Produttore
	Marchio di conformità CE
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Numero di catalogo
	Identificatore univoco del dispositivo
	Codice lotto
	Limite di temperatura
	Data di scadenza
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contiene un numero sufficiente per <n> saggi
	Non riutilizzare
	Attenzione
	Avvertenze
	Rischio biologico
	Tenere lontano dalla luce del sole
	Strisce reattive
	Controllo negativo
	Controllo positivo
	Coniugato
	Tampone
	Substrato

16 Modifiche

Modifiche alle attuali istruzioni per l'uso	
Versione attuale	011/04.2026
Sintesi delle modifiche	Periodo di validità delle componenti del test dopo l'apertura (cap. 6), indicazioni relative alle strisce reattive danneggiate (cap. 8.1.1)