



产品说明书

产品编码 5003

2017年2月20日

抗神经节苷脂谱抗体 (IgG/IgM) 检测试剂盒

(Anti-Gangliosid Dot)

- 20 x12 个测试

IVD 体外诊断试剂盒

免疫斑点法测定人血清（或血浆）或脑脊液中抗神经节苷脂的抗体 IgG 和（或）IgM

REF	产品编码	LOT	批号
	咨询文件		制造商
	温度限制		使用者
	操作说明书		生物风险



GA GENERIC ASSAYS GmbH

Ludwig-Ehrhard-Ring 3

D – 15827 Dahlewitz

Telephone: +49 (0) 33708-9286-0
Fax: +49 (0) 33708-9286-50

www.genericassays.com

预期用途

抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒用来定性检测人血清（或血浆）或脑脊液（CSF）中抗神经节苷脂抗原的抗体 IgG 或 IgM，从而诊断自身免疫性神经疾病。也可以进行 IgG/IgM 筛查。外周神经系统炎症性神经疾病的临床症状是多样的。小到轻微的乏力和没有显著症状的疾病，大到神经肌肉疾病和导致呼吸麻痹和心脏停搏的功能缺陷疾病。

近来，抗神经节苷脂的自身免疫抗体在外周神经系统疾病的病人中被发现。神经节糖脂是细胞膜的组成成分，尤其在中枢和外周神经系统中被发现，属于酸性糖脂，由脂质（神经酰胺），低聚糖和唾液酸组成。类似神经节糖脂的结构也出现在一些微生物的表面。炎症性神经疾病的发生经常伴随空肠弯曲杆菌、巨细胞病毒、人类疱疹病毒、支原体或流感嗜血杆菌的感染。微生物中抗神经节苷脂结构的抗体可能与髓鞘和神经纤维的神经节苷脂交叉反应并导致后续髓鞘作用的发炎过程。

以下这些神经节苷脂抗体在外周神经系统的神经疾病中表现出特异性：

吉兰-巴雷综合征	GM1, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, CQ1b	IgG(IgM)
米勒费雪综合征	GQ1b, GT1a	IgG
多灶性运动神经病变 (MMN)	GM1, GM2, GM3	IgM
慢性炎症性脱髓鞘多发性神经病	GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
慢性共济失调性神经病 (CANOMAD 综合征)	GM3, GD1b, GD2, GD3, GT1b, GQ1b	IgM
急性感觉性共济失调神经病	GD1b, GD3	IgG
急性运动轴索型神经病	GM1, GD1a	IgG
IgM 异常蛋白血症, 脱髓鞘神经病	Sulfatide (硫脂)	IgM(IgG)

用微生物结构进行的交叉反应结果显示，健康人中也可能检测到抗 GM1 的抗体 IgM。这些抗体的单独出现不是神经疾病的病征。

测试原理

抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒是定性检测人血清（或血浆）或脑脊液（CSF）中抗神经节苷脂抗体 IgG 和（或）IgM 的敏感的免疫斑点法测试。

抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒包含 20 个测试条带。测试条带由喷有不同自身免疫抗原线的膜组成。一条线作为阳性对照，其他 12 条线分别包被着高度纯化的神经节苷脂 GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b 和 sulfatide (硫脂) 抗原。

第一步，病人样本中的自身免疫抗体与包被在测试条固相上的目标抗原结合。4℃震荡反应 120 分钟反应后，未结合的样本成分被洗液洗脱。

第二步，结合上的抗体与连接了辣根过氧化物酶的抗 IgG 或抗 IgM 连接物特异性反应。也可以在同一个平板上进行 IgG/IgM 抗体筛查。4℃反应 60 分钟后，多余的连接物在清洗过程中被从固相免疫复合物中洗脱。

碱性磷酸酶在膜上将无色底物转变成暗紫色的沉淀线条。震荡 10 分钟后，用洗液清洗，反应终止。

测试条在干燥后可以读出结果。

病人标本

标本收集和储存

通过静脉取血。离心凝固后分离血清。也可以使用血浆和脑脊髓液。

标本在 2-8℃可保存 3 天，长期保存需放置在-20℃环境。

避免反复冻融。如果样本要用作很多试验使用，等分样品后在-20℃环境保存。

使用前的准备

样本在 4℃条件下使用。小心搅拌样品使之均匀。

20x12 个测试的各种组分

<p>A</p> <p>Ag</p>	<p>斑点条带</p> <p>20 个测试条, 每个测试条包含 13 条测试线</p> <p>- 12 条测试线包被着高度纯化的神经节苷脂 GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b (人) 和 sulfatide (牛)</p> <p>- 1 个测试线是阳性对照</p>	<p>20 个免疫斑点测试条</p>
<p>B</p> <p>BUF</p>	<p>缓冲液, 10 倍</p> <p>可配置 150ml</p> <p>10x</p>	<p>15ml 浓缩液</p> <p>白色瓶盖</p>
<p>C</p> <p>CONJ G</p>	<p>IgG 连接物, 20 倍</p>	<p>1.2ml 直接使用</p>

	<p>偶联辣根过氧化物酶的 (兔) 抗人 IgG</p>	<p>红色瓶盖</p>
<p>D</p> <p>CONJ M</p>	<p>IgM 连接物, 20 倍</p> <p>偶联辣根过氧化物酶的 (兔) 抗人 IgM</p>	<p>1.2ml 直接使用</p> <p>绿色瓶盖</p>
<p>E</p> <p>SOLN TMB</p>	<p>底物</p> <p>3,3',5,5'-四甲基联苯胺</p>	<p>11ml 直接使用</p> <p>蓝色瓶盖</p>
<p>P</p> <p>CONTROL</p>	<p>阳性对照</p> <p>人血清或血浆中, 对神经节苷脂阳性的抗体</p> <p>见说明书附录</p>	<p>0.1ml 直接使用</p>
<p>P</p> <p>CONTROL</p>	<p>阴性对照</p> <p>人血清或血浆中, 对神经节苷脂阴性的抗体</p> <p>见说明书附录</p>	<p>0.1ml 直接使用</p>
<p>F</p>	<p>12 个测试条的反应盘</p>	<p>2x</p>

额外需要的材料

- 微量移液器 100 - 1000µl
- 微量移液器 10 - 100 µl
- 移液枪枪头
- 可进行前两步反应和清洗的冰箱或者冷库
- 摇床 (推荐翘板摇床)
- 刻度量筒
- 去离子水或蒸馏水
- 塑料镊子
- 医用纸巾

尺寸和储存

抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒可作 20 x 12 个测试。

整个试剂盒的标签上有每种组分的标签，上面标注每种组分的效期。

到货后，抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒的每种组分必须在 2-8℃保存，推荐试剂盒原装保存。

在正确的储存条件下，每种组分在使用后可保存至少 2 个月。

使用前的准备

前两步反应要使用预冷的溶液 (缓冲液、洗液)，在 4℃条件下进行。第二步清洗在室温进行 (RT)。因此，溶液 (缓冲液、

洗液) 必须及时放置到室温。

从管匣中取出足够数量的斑点条带。不使用的斑点条带要干燥保存在封闭的管子中。。

用去离子水或者蒸馏水将浓缩缓冲液稀释 10。

每个测试条需要 5ml 缓冲液。

例如:

15ml 浓缩缓冲液加入 135ml 去离子水。

提前准备的溶液 2-8℃ 可以保存 30 天。

所有其他组分在效期前可以直接使用。

避免底物暴露在阳光下。

阳性对照需要像对待正常血清样本一样操作。

反应盘清洗流程

使用去污剂将反应盘浸泡 30 分钟, 然后用清水冲洗。

接下来用任意类型的酒精 (甲醇、丙醇或乙醇) 在摇床中浸泡 30 分钟, 然后清水冲洗。

用棉签清洁反应盘, 清水冲洗, 然后晾干。

实验流程

严格遵守实验流程避免人员换岗轮换。

整个实验必须在摇床上进行 (推荐翘板摇床)。

直到显色反应, 所有溶液要在 4℃ 反应。保持所需溶液冷藏。

连接反应后要在室温下进行实验。确保所需溶液 (缓冲液、底物) 是室温 (18-25℃)。

1	取出溶液和足够数量的斑点条带, 温柔混匀溶液。
2	向每个微孔中加入 1ml 缓冲液 (B)。将反应条反应面朝下放入各自的微孔中。
3	向有缓冲液微孔中分别加入病人样本、阳性对照和阴性对照: 血清/血浆/对照: 10 μl (稀释 1+100) 脑脊髓液 (CSF): 50 μl (稀释 1+20)
4	4℃ 震荡反应 120 分钟
5	弃液 (注意: 小心翻转反应盘轻轻倒出缓冲液, 任何残留液体需用滤纸吸干)。用缓冲液 (B) 4℃ 震荡清洗 5 分钟
6	向每个微孔中加入 1ml 缓冲液 (B) 检测 IgG: 50 μl 结合液 C 检测 IgM: 50 μl 结合液 D IgG/IgM 筛查: 分别加入 50 μl 结合液 C 和结合液 D
7	4℃ 震荡反应 60 分钟
8	如上面步骤弃液。用缓冲液 (B) 室温震荡清洗 5 分钟
9	向每个微孔中分别加入 0.5 ml 底物 (E)
10	室温震荡反应 10 分钟
11	如上面步骤弃液。用 1ml 洗液 (B) 室温震荡清洗 2 分钟
12	如上面步骤弃液。用 1ml 蒸馏水室温震荡清洗 2 分钟以

	终止反应
13	从微孔中收集条带并用滤纸从条带反应面吸干。大约 30 分钟后可得到实验结果。

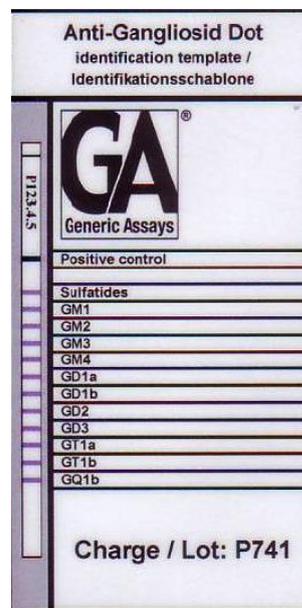
数据处理

测试结果的评价要借助于生产批次特异性的评价模板。所以测试条带必须干燥并粘到模板上。

阳性对照线在任何情况下必须是阳性。阳性对照线条的颜色确保实验是正确操作且各种组分正常。如果阳性对照线条没有颜色则不能读取实验数据。

测试线条被包被着高度纯化的抗原并且检测测试样本中特异性结合的抗体。

生产批次特异性评价模板中给出的条带的强度 (见下图) 作为阳性对照和阴性对照的质控。



阳性结果:

如果某种抗体线条的明暗度强于评价模板给出条带的明暗度, 则认为该样本是阳性的。

阴性结果:

如果某种抗体线条的明暗度弱于评价模板给出条带的明暗度, 则认为该样本是阴性的。

验证:

为了读出结果, 测试线条的阳性对照必须显示出明显的颜色。补充验证可通过处理阳性对照。这个对照的目标结果在试剂盒的附录中有说明。

方法的局限性

健康个体被抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒检测应该显示阴性。然而, 健康人由于微生物抗原的交叉反应也能被检测出抗神经节苷脂抗体 IGM。此外, 无临床症状的个体抗体阳性反应。

任何医学诊断都不应该仅仅基于体外诊断的结果。医生应该

考虑全部临床和实验结果来确认一个诊断。

反应流程

抗神经节苷脂免疫斑点试剂盒（5003）

前 7 步中所有反应在 4℃ 进行；所需溶液（斑点条带，缓冲液和链接液）和病人样本必须冷藏。后面的步骤需在室温（18-25℃）进行。确保所有所需溶液是室温！

1	轻轻混匀所需试剂	
2	向反应板的每个微孔中加入 1ml 缓冲液（B），将条带反应面朝下浸泡在缓冲液中	
3	向每个微孔中分别加入洁净的病人样本/ 阳性对照（P）和阴性对照（N）	对照/血清/血浆：10 μl（稀释 100 倍） 脑脊髓液（CSF）：50 μl（稀释 20 倍）
4	反应	4℃ 震荡 120 分钟
5	清洗	弃液，加入 1ml 缓冲液（B） 4℃ 震荡 5 分钟
6	加入 1ml 缓冲液（B），并加入： 检测 IgG： 50 μl 结合液 C 检测 IgM： 50 μl 结合液 D 筛查 IgG/IgM： 50 μl 结合液 C 和结合液 D	
7	反应	4℃ 震荡 120 分钟
8	清洗	弃液，加入 1ml 缓冲液（B） 室温震荡 5 分钟
9	加入 0.5ml 底物（E）	
10	反应	室温震荡 10 分钟
11	弃液，清洗反应条	加入 1ml 缓冲液（由 B 稀释）室温震荡 2 分钟
12	弃液，清洗反应条终止反应	1ml 蒸馏水室温震荡 2 分钟
13	用实验试纸干燥反应条 30 分钟，读出结果	

安全预防

- **此试剂盒仅限体外诊断使用。** 仔细遵守操作手册。GA GENERIC ASSAYS GmbH 公司及其授权的经销商不对因擅自更改或修饰操作流程造成的直接或间接伤害负责。此试剂盒仅限有专业技能的人员使用。
- 请遵守标签上的效期。同样与重组试剂的稳定性相关。
- 禁止混用不同生产批号的试剂。
- 禁止使用其他生产商的试剂。
- 在加样品时避免人员更换。
- 所有试剂在使用前应该保存在 2-8℃。
- 一些溶液含有少量卡松（1% v/v）或者叠氮化钠（<0.1%）作为防腐剂。严禁吞咽和与皮肤和黏膜接触。
- 此试剂盒中含有潜在危险的材料，下列预防措施应该被遵守：
 - 在操作该试剂盒时，禁止吸烟、饮水、饮食
 - 佩戴防护手套
 - 禁止用嘴吸取任何材料
 - 立刻擦干净溅出物，使用去污剂清洁被污染的表面

