



anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Glikoproteina związana z mieliną

Do diagnostyki *in vitro*

EK-MAG 96 testów

Data wydania: 2023-05-31
Wersja A2



Producent

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch, Szwajcaria

Tel.: +41 61 487 12 12

Fax: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch

PRZEZNACZENIE

Anti-MAG Antibodies ELISA jest testem diagnostycznym *in vitro* do półilościowego oznaczania przeciwciał IgM anty-MAG w próbkach ludzkiej surowicy. Test służy jako pomoc w diagnozowaniu neuropatii anty-MAG w połączeniu z innymi wynikami klinicznymi i laboratoryjnymi.

Tylko do użytku laboratoryjnego.

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test anti-MAG Antibodies ELISA pozwala na pomiar przeciwciał IgM przeciwko glikoproteinie związanej z mieliną (MAG) w surowicy za pomocą testu ELISA typu "kanapkowego". Płytkę do mikromiarczkowania jest pokryta oczyszczonym MAG z ludzkiego mózgu. Surowice pacjentów, kontrole i kalibratory są dodawane do studzienek płytki do mikromiarczkowania. Po 2 godzinach inkubacji w temperaturze 2-8 °C i etapach przemywania, przeciwciało detekcyjne skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP) wykrywa przeciwciała anty-MAG związane z ludzkim MAG na płytce. Po kolejnych 2 godzinach inkubacji i dalszym przemywaniu, dodaje się chromogeniczny substrat HRP, tetrametylobenzydynę (TMB), (tworzenie się niebieskiego zabarwienia), po czym następuje zatrzymanie reakcji (zmiana koloru na żółty). Absorbencję mierzy się przy 450 nm.

Poziom przeciwciał anty-MAG jest określany za pomocą krzywej kalibracyjnej wygenerowanej na podstawie zmierzonych wartości kalibratora i jest wyrażany jako jednostka miana BÜHLMANN (BTU).

DOSTARCZONE ODCZYNNIKI I ICH PRZYGOTOWANIE

Odczynniki	Ilość	Kod	Rekonstytucja
Płytkę do mikromiarczkowania 96 studzienek opłaszczonych ludzkim MAG	12 x 8-dółkowe paski z ramką	B-MAG-MP	Gotowy do użycia
Folia do płytek	3 sztuki	-	Gotowe do użycia
Koncentrat buforu płuczącego (10x)	1 butelka x 100 mL	B-MAG-WB	Rozcieńczyć z 900 mL wody dejonizowanej
Bufor inkubacyjny z środkami konserwującymi	1 butelka x 100 mL	B-MAG-IB	Gotowy do użycia
Kalibratory od A do D¹ zliofilizowane ze środkami konserwującymi	4 fiołki	B-MAG-CASET	Dodać 1 mL buforu inkubacyjnego
Kontrola Niska i Wysoka² zliofilizowane ze środkami konserwującymi	2 fiołki	B-MAG-CONSET	Dodać 1 mL buforu inkubacyjnego

Odczynniki	Ilość	Kod	Rekonstytucja
Oznakowany enzym IgM anty-ludzkie przeciwciało IgM skoniugowane z HRP w matrycy buforowej ze środkami konserwującymi	1 fiołka x 11 mL	B-MAG-ELM	Gotowy do użycia Niebieski roztwór
Substrat TMB TMB w buforze cytrynianowym	1 fiołka x 11 mL	B-TMB	Gotowy do użycia
Roztwór zatrzymujący reakcję 0.25 M kwas siarkowy	1 fiołka x 11 mL	B-STTS	Gotowy do użycia Środek żrący

Tabela 1

¹ Po rekonstytucji kalibratory A, B, C i D zawierają odpowiednio 70000, 15000, 3000 i 1000 jednostek miana BÜHLMANN (BTU) przeciwciał anty-MAG.

² Kontrole zawierają specyficzne dla partii ilości przeciwciał anty-MAG. Rzeczywiste poziomy znajdują się w dodatkowym arkuszu danych QC.

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Zamknięte odczynniki / nieotwarte odczynniki	
Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykiecie.	
Otwarte / rekonstruowane odczynniki	
Płytkę do mikromiarczkowania	Niezużyte stripy natychmiast włożyć z powrotem do torebki foliowej zawierającej saszetki ze środkiem osuszającym i ponownie szczelnie zamknąć wzdłuż całej krawędzi torebki. Przechowywać do 5 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.
Rozcieńczony bufor płuczający	Przechowywać do 5 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.
Bufor inkubacyjny	
Oznakowany enzym IgM	
Substrat TMB	Po rekonstytucji rozporzczać i przechowywać w temperaturze ≤-20 °C. Przechowywać do 5 miesięcy w temperaturze ≤-20 °C. ¹
Kontrole	
Kalibratory	Przechowywać do 5 miesięcy w temperaturze 18-28 °C.
Roztwór zatrzymujący reakcję	

Tabela 2

¹ Rekonstruowane kalibratory i kontrole mogą być poddane trzem cyklom zamrażania i rozmrażania w ciągu 5 miesięcy.

NIEZBĘDNE MATERIAŁY, KTÓRE NIE ZOSTAŁY DOSTARCZONE

- Automatyczne pipety z jednorazowymi końcówkami: 10 µL, 20 µL, 100 µL i 1000 µL
- Jednorazowe probówki polistyrenowe lub polipropylenowe do przygotowywania rozcieńczeń próbek
- 1000 mL cylinder do rozcieńczania buforu płuczącego
- Płuczka do płytek do mikromiarczkowania
- Bibuła matująca
- Wytrząsarka do płytek do mikromiarczkowania

- Czytnik płytek do mikromiareczkowania do pomiaru absorbancji przy 450 nm.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Środki ostrożności

- Kalibratory, kontrole i płytka do mikromiareczkowania tego zestawu zawierają składniki pochodzenia ludzkiego. Choć testy na obecność HBV, HCV i HIV1/2 dały wynik ujemny, to z odczynnikami należy obchodzić się tak, jakby były zdolne do przenoszenia infekcji, czyli zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP), stosując odpowiednie środki ostrożności.
- Zestaw zawiera składniki sklasyfikowane zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:
 - Roztwór zatrzymujący reakcję zawiera kwas siarkowy (stęż. 2,5 – 5%), w związku z tym, odczynniki mogą wywoływać podrażnienie skóry (H315), silne podrażnienie oczu (H319), i mogą powodować korozję metali (H290).
 - Kalibratory i kontrole zawierają siarczan gentamycyny (proszek), w związku z tym, odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317) i objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania (H334). Zawierają tiomersal (proszek), dlatego odczynnik jest śmiertelny w przypadku połknięcia, kontaktu ze skórą lub w przypadku wdychania (H300+H310+H330).
 - Bufor inkubacyjny i bufor płuczący zawierają Triton™ X-100 (eter tert-oktylofenylowy glikolu polietylenowego, stęż. < 1%), dlatego odczynniki te powodują poważne podrażnienia oczu (H319).
 - Oznakowany enzym zawiera Triton™ X-100 (eter tert-oktylofenylowy glikolu polietylenowego, stęż. < 1%), dlatego odczynniki powodują poważne podrażnienia oczu (H319). Zawiera siarczan gentamycyny (stęż. < 1%), w związku z tym odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317).
- Unikać kontaktu odczynników ze skórą, oczami lub błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu, natychmiast przemyć narażone miejsce dużą ilością wody; w przeciwnym razie może dojść do podrażnienia/oparzeń.
- Odczynniki i chemikalia należy traktować jako odpady niebezpieczne zgodnie z krajowymi wytycznymi lub przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa biologicznego.

Techniczne środki ostrożności

- Należy zapoznać się z instrukcją przed wykonaniem testu. Niewłaściwe rozcieńczenie, modyfikowanie lub przechowywanie odczynników w warunkach innych niż opisane w niniejszej instrukcji będzie miało negatywny wpływ na wydajność testu.

Procedura testu ELISA

Temperatura odczynników

- Należy przygotować odczynniki przed rozpoczęciem procedury oznaczania. Etapy 3-9: Odczynniki użyte w etapach 3-9 muszą być zimne (2-8 °C) i utrzymywane

w niskiej temperaturze podczas pipetowania i płukania. Zalecenie: Przygotować bufor płuczący dzień przed wykonaniem testu i zostawić na noc w lodówce.

- Wszystkie etapy płukania wykonać za pomocą zimnego (2-8 °C) buforu płuczącego.
- Substrat TMB i roztwór zatrzymujący reakcję doprowadzić do temperatury pokojowej (18-28 °C) na początku procedury oznaczania.

Etapy płukania

- Etapy płukania 3, 6 i 9 są kluczowe dla usunięcia pozostałości powstałych w wyniku procesu produkcyjnego i/lub potencjalnie niezwiązanych przeciwciał w studzienkach.
- Zdecydowanie zaleca się automatyczną myjkę działającą w trybie "plate mode", tj. każdy etap procesu (dozowanie/zasysanie) jest wykonywany na wszystkich paskach, sekwencyjnie, zanim urządzenie przejdzie do następnego cyklu płukania.
- Należy upewnić się, że wszystkie studzienki są całkowicie opróżnione po ostatnim cyklu płukania.

Inkubacja substratu

- Etap 11: Podczas inkubacji z substratem należy wstrząsnąć płytkami do mikromiareczkowania. W zależności od modelu wytrząsarki do płytek, zaleca się wytrząsanie przy 400-600 rpm. Roztwór powinien poruszać się w studzienkach, ale nie może się rozlewać.

Dodatkowe rozcieńczanie próbek

- Próbkę przekraczającą 70'000 BTU mogą być rozcieńczone do analitycznego zakresu pomiarowego (>1000 BTU, <70'000 BTU). Należy użyć buforu inkubacyjnego do rozcieńczenia próbek surowicy.

Elementy zestawu

- Składników nie wolno używać po upływie daty ważności wydrukowanej na opakowaniu.
- Nie mieszać odczynników o różnych numerach partii.
- Należy dołożyć wszelkich starań, aby nie doszło do zanieczyszczenia krzyżowego między odczynnikami, próbkami lub między studzienkami.
- Mikrostudzienki nie mogą być użyte ponownie.

POBIERANIE PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Procedura wymaga odpowiednio <0,1 mL krwi lub <50 µL surowicy.

W celu uniknięcia hemolizy, pobrać krew do zwykłych probówek bez żadnych dodatków. Przygotować surowicę zgodnie z zaleceniami producenta. Zdekantować surowicę.

Próbki surowicy mogą być przechowywane w temperaturze 2-8 °C do 16 dni lub w temperaturze -20 °C do 12 miesięcy. Zamrożone próbki należy przed użyciem rozmrozić i dokładnie wymieszać poprzez delikatne obracanie lub odwracanie.

Zaleca się rozporcjowanie próbek surowicy przed zamrożeniem w celu uniknięcia powtarzających się cykli zamrażania/rozmarzania.

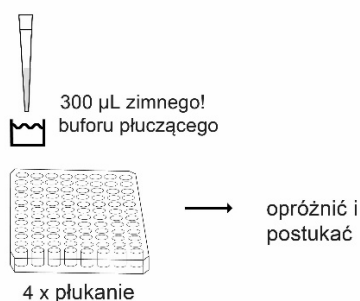
PROCEDURA WYKONANIA TESTU

Uwaga: Zrównoważyć roztwór substratu TMB do temperatury pokojowej (18-28 °C).

1. Rozcieńczyć próbki 1:1000 z buforem inkubacyjnym. Należy użyć np. 2 µL surowicy + 2000 µL zimnego! (2-8 °C) buforu inkubacyjnego. Dokładnie wymieszać przez worteksowanie i pozostawić rozcieńczone próbki, jak również rekonstruowane kalibratory i kontrole w temperaturze 2-8 °C na 30 minut przed pipetowaniem. (należy odnieść się do etapów 4a - c).
2. Przygotować ramkę płytki z wystarczającą ilością pasków do przetestowania wymaganej liczby kalibratorów, kontroli i próbek. Usunąć nadmiar pasków z ramki i **bezwzględnie** zamknąć je ponownie w torebce foliowej wraz ze środkiem pochłaniającym wilgoć. Przechowywać w warunkach chłodniczych

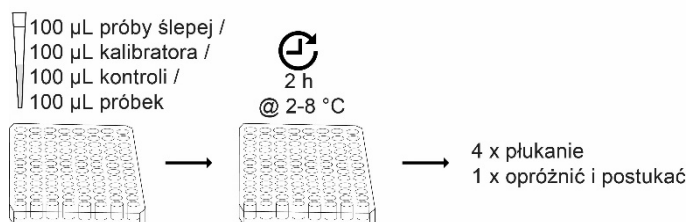
Uwaga: W etapach 3 do 9 użyć zimnych odczynników.

3. Przepłukać studzienki cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego! (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę, aby usunąć całkowicie pozostały płyn.



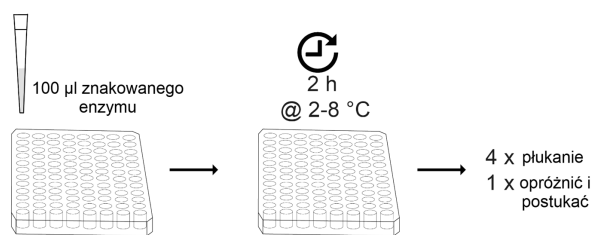
Uwaga: Natychmiast przejść do kolejnych etapów.

- 4a. Odpipetować 100 µL buforu inkubacyjnego (ślepa próba) w dwóch powtórzeniach i Odpipetować 100 µL kalibratorów A-D w dwóch powtórzeniach do odpowiednich studzienek.
- 4b. Odpipetować po 100 µL kontroli niskiej i wysokiej w dwóch powtórzeniach do odpowiednich studzienek.
- 4c. Odpipetować 100 µL każdej rozcieńczonej próbki do kolejnych studzienek.
5. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (±5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytki).
6. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego! (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i mocno stuknąć płytką o bibułę w celu całkowitego pozbycia się buforu płuczącego.



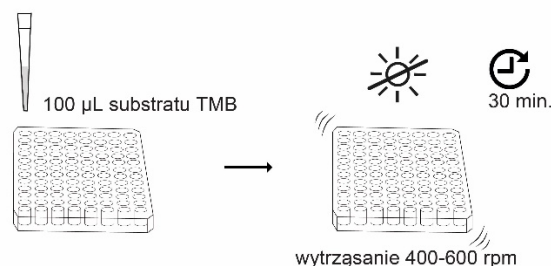
7. Dodać 100 µL znakowanego enzymu IgM do wszystkich studzienek.
8. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (±5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytką).

9. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego! (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę.



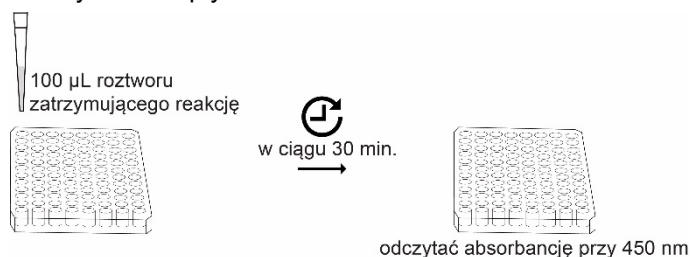
10. Dodać 100 µL roztworu substratu TMB (zrównoważonego do temperatury pokojowej) do każdej studzienki.

11. Przykryć płytkę folią do płytek, chronić płytkę przed światłem i inkubować na wytrząsarce do płytek przy 400-600 rpm, w temperaturze 18-28 °C przez 30 ± 2 minuty.



12. Dodać 100 µL roztworu zatrzymującego reakcję do wszystkich studzienek. Usunąć bąble powietrza przy pomocy końcówki od pipety. Przejść do etapu 13 w ciągu 30 minut.

13. Odczytać absorbancję przy 450 nm przy użyciu czytnika do płytek.



KONTROLA JAKOŚCI

Dokładne zrozumienie niniejszej instrukcji jest konieczne do prawidłowego użytkowania produktu. Wiarygodne wyniki można uzyskać tylko przy użyciu precyzyjnych technik laboratoryjnych i dokładnego przestrzegania niniejszej instrukcji.

Zestaw anti-MAG Antibodies ELISA zawiera dwie kontrole: kontrolę niską i wysoką. Kontrolom przypisano zakresy wartości wskazane w arkuszu danych QC dostarczonym z każdym zestawem. Pomiary kontrolne muszą mieścić się we wskazanych zakresach wartości, aby uzyskać prawidłowe wyniki. Oprócz kontroli z zestawu, zaleca się stosowanie pul surowicy do wewnętrznej kontroli jakości.

Odtwarzalność parametrów krzywej standardowej i wartości kontrolnych powinna mieścić się w ustalonych granicach dopuszczalności laboratoryjnej. Jeżeli

wydajność testu nie spełnia ustalonych limitów, a powtarzalność wykluczyła błędy techniczne, należy sprawdzić następujące kwestie: i) kontrolowanie temperatury (odczynniki stosowane w etapach 3-9 przechowywać w temperaturze 2-8 °C) ii) dokładność termometrów, pipet i czasomierzy; iii) ustawienia czytnika ELISA; iv) daty ważności odczynników v) warunki przechowywania i inkubacji; vi) kolor roztworu substratu TMB (powinien być bezbarwny); vii) czystość wody; viii) metody aspiracji i płukania.

STANDARYZACJA I ZGODNOŚĆ METROLOGICZNA

Nie ma uznanych na szczeblu międzynarodowym ani krajowym materiałów referencyjnych ani referencyjnych procedur pomiarowych dla przeciwciał anti-MAG w próbkach surowicy. Zestaw anti-MAG Antibodies ELISA jest standaryzowany względem wewnątrznie ustalonego materiału referencyjnego. Wartości kalibratorów i kontroli są przypisywane zgodnie z protokołem transferu wartości. (ref. 1,2), w celu zagwarantowania spójności metrologicznej i są wskazane w jednostkach miana BÜHLMANN. 95% przedział ufności połączonej niepewności kalibratorów i kontroli produktów jest niższy niż 35%.

OBLICZANIE WYNIKÓW TESTU

Krzywa kalibracyjna

Należy użyć oprogramowania, który wykona następujące obliczenia:

- odejmie wartość OD próby ślepej z każdej studzienki z kalibratorem, aby obliczyć wartość kalibratora.
- ustanowi krzywą standardową za pomocą 4-parametrowego dopasowania logistycznego (4 PL).

Kontrole i próbki

Należy użyć oprogramowania zdolnego do następujących kalkulacji;

- odjęcie ślepej wartości OD od każdej studzienki z kontrolą/próbką. Obliczenie poziomu przeciwciał anti-MAG w każdej studzienki z kontrolami/próbką, w BTU, przy wykorzystaniu ustalonej krzywej kalibracyjnej.

Uwaga: Wyniki przedstawione w tabeli 6 i na rycinie 1 są przykładami i służą wyłącznie do celów demonstracyjnych. Krzywa kalibracyjna musi być wygenerowana dla każdego zestawu próbek do przetestowania.

OGRANICZENIA

- Obecnie nie ma zaakceptowanej międzynarodowej metody referencyjnej do wykrywania przeciwciał IgM anti-MAG. Należy odnieść się do rozdziału "Standaryzacja i spójność metrologiczna". Wyniki powinny być interpretowane przy wykorzystaniu wartości cut-off wskazanych w instrukcji.
- Test nie został zwalidowany dla płynu mózgowo-rdzeniowego i plazmaferezy.
- Dożylnie immunoglobuliny (IVIg) i krioglobuliny mogą wpływać na wyniki testu.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik	Interpretacja
< cut-off	Wynik negatywny
≥ cut-off	Wynik pozytywny (wskazujący na obecność przeciwciał anti-MAG)

Tabela 3

Wyniki badań należy interpretować w połączeniu z informacjami dostępnymi z oceny klinicznej pacjenta i innych procedur diagnostycznych.

PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE I WARTOŚCI CUT-OFF

Przedział referencyjny dla testu anti-MAG Antibodies ELISA był ustalony zgodnie z CLSI EP28-A3 dla 141 próbek surowicy od pozornie zdrowych pacjentów w wieku od 18 do 70 lat. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Przedział referencyjny [BTU]	
2,5 percentyla (90% CI)	97,5 percentyla (90% CI)
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tabela 4

Tysiąc (1000) BTU to ustalona wartość cut-off i stosowana jest w opublikowanych badaniach (ref. 5, 6, 9).

Odmienne wartości cut-off były również stosowane w literaturze naukowej (ref. 3, 4, 7, 8, tabela 13) i proponowane były kategorie miana dla pozytywnych wyników testów (ref. 10).

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Charakterystyka wydajności jest określana na podstawie średnich wyników z dwóch studzienek.

Powtarzalność: 3,2 – 11,8% CV

Precyzja wewnątrzlaboratoryjna: 5,5 – 15,9% CV

Powtarzalność i precyzję wewnątrzlaboratoryjną ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując standardowy projekt badania 20 dni x 2 serie x 2 powtórzenia. Testowano cztery (4) zbiorcze próbki surowicy ludzkiej, pokrywające zakres pomiarowy testu. Piąta próbka ujemna przy 213 BTU dała 79/80 wyników (98,8%) w ramach kategorii (<1'000 BTU). Wyniki podsumowano w tabelach 7 i 8.

Odtwarzalność: 10,0 – 21,6% CV

Odtwarzalność ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując standardowy projekt badania 3 operatorów x 3 urządzenia/numery partii x 5 dni x 5 powtórzeń. Testowano cztery (4) zbiorcze próbki surowicy, pokrywające zakres pomiarowy testu. Piąta próbka ujemna przy 55 BTU dała 75/75 wyników (100,0%) w ramach kategorii (<1'000 BTU). Wyniki podsumowano w tabelach 9 i 10.

Granica wykrywalności (LoD): 113 BTU

Wartość LoD ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP17-A2 przy zachowaniu proporcji próbek fałszywie pozytywnych (α) poniżej 5% i fałszywie negatywnych (β) poniżej 5% na podstawie 120 oznaczeń, z zastosowaniem 60 powtórzeń próby ślepej i 60 powtórzeń próbek o niskim poziomie; oraz przy zachowaniu wartości **LoB** wynoszącej **17 BTU**.

“Efekt haka” w wysokiej dawce

Próbki z poziomami przeciwciał anti-MAG do $2,8 \cdot 10^5$ BTU mogą być mierzone bez ograniczania zakresu pomiarowego testu.

Reaktywność krzyżowa/ Inne etiologie

Reaktywność krzyżową testu anti-MAG Antibody ELISA zbadano dla próbek przypisanych do chorób autoimmunologicznych. Różne typy chorób autoimmunologicznych i związaną z nimi obecność przeciwciał są przedstawione w tabeli 11.

Inne próbki o różnej etiologii również zbadano za pomocą testu anti-MAG Antibody ELISA i są przedstawione w tabeli 12.

Wszystkie próbki, z wyjątkiem jednej na pięć próbek pozytywnych pod względem GD1b były poniżej technicznej wartości cut-off (1'000 BTU).

WYDAJNOŚĆ KLINICZNA

Wydajność kliniczną oceniono na podstawie metaanalizy recenzowanej literatury naukowej. Siedem badań dotyczyło wydajności klinicznej testu anti-MAG Antibodies ELISA w diagnostyce neuropatii związanych z gammopatią monoklonalną IgM (ref. 3-9). Wyniki analizy i szczegóły badania przedstawiono odpowiednio w tabeli 5 i tabeli 13.

N neuropatia	344
N kontrole	447
Wrażliwość (95% CI)	58,9% (47,2 – 69,6 %)
Specyficzność (95% CI)	98,2% (89,7 – 99,7%)
ROC AUC	0,75

Tabela 5

CI – przedział ufności

ROC AUC – obszar pod krzywą charakterystyki operacyjnej odbiornika

SUBSTANCJE INTERFERUJĄCE

Wrażliwość testu Anti-MAG Antibodies ELISA na farmaceutyki podawane doustnie i we wstrzyknięciach oraz na substancje endogenne oceniono zgodnie z wytycznymi CLSI EP07-A3. Błąd systematyczny w wynikach przekraczający 20% uznano za interferencję.

Nie wykryto interferencji z następującymi substancjami do podanych stężeń: immunoglobulina dożylna (20 mg/mL), kładrybina (273 ng/mL), Interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), czynnik reumatoidalny (680 IU/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolizat (10 mg/mL), triglicerydy (20 mg/mL), związana bilirubina (0,4 mg/mL), niezwiązana bilirubina (0,4 mg/mL).

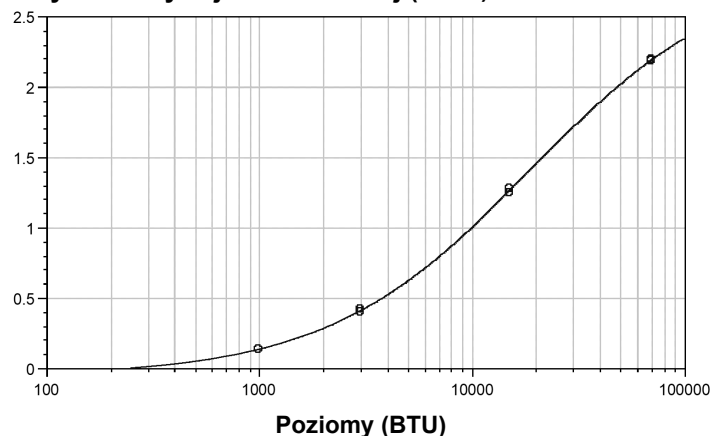
TABELE I RYCINY

Przykład wyników

	Poziom [BTU]	Absorbancja [OD]	Obliczony poziom [BTU]	CV [%]
Próba ślepa 1		0,046		
Próba ślepa 2		0,049		
Średnia		0,048		
Kalibrator A	70000	2,195	70497	
Kalibrator A	70000	2,188	69508	
Średnia	70000	2,191	70000	0,2
Kalibrator B	15000	1,272	15313	
Kalibrator B	15000	1,245	14693	
Średnia	15000	1,258	15000	1,5
Kalibrator C	3000	0,417	3070	
Kalibrator C	3000	0,400	2931	
Średnia	3000	0,408	3000	2,9
Kalibrator D	1000	0,135	1009	
Kalibrator D	1000	0,132	991	
Średnia	1000	0,134	1000	1,5
Kontrola NISKA		0,360	2602	
Kontrola NISKA		0,376	2731	
Średnia		0,368	2666	3,1
Kontrola WYSOKA		1,395	18433	
Kontrola WYSOKA		1,383	18090	
Średnia		1,389	18261	0,6
Próbka 1		0,001	255	
Próbka 1		0,009	297	
Średnia		0,005	276	116,5
Próbka 2		1,092	11599	
Próbka 2		0,969	9511	
Średnia		1,030	10555	8,5

Tabela 6

Przykład krzywej standardowej (OD₄₅₀)



Rycina 1

Precyzja wewnątrzlaboratoryjna

ID	Średni poziom, BTU	n	Wewnątrz jednej serii		Pomiędzy seriami		Pomiędzy dniami		Wewnątrz laboratorium	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S2	2251	80	267	11,8	199	8,8	130	5,8	357	15,9
S3	8849	80	349	3,9	314	3,6	122	1,4	485	5,5
S4	19683	80	622	3,2	1492	7,6	908	4,6	1855	9,4
S5	37185	80	1684	4,5	3083	8,3	1466	3,9	3806	10,2

Tabela 7

ID	Opis	n	Średni poziom, BTU	% Wewnątrz kategorii
S1	< 1'000 BTU (negatywny)	80	213	98,8

Tabela 8

Odtwarzalność

ID	Średni poziom, BTU	n	Wewnątrz jednej serii		Pomiędzy seriami		Pomiędzy dniami		Wewnątrz laboratorium	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S2	2802	75	181	6,5	517	18,4	261	9,3	606	21,6
S3	9052	75	258	2,9	821	9,1	279	3,1	904	10,0
S4	18241	75	531	2,9	1146	6,3	1475	8,1	1942	10,6
S5	34713	75	893	2,6	2740	7,9	2023	5,8	3521	10,1

Tabela 9

ID	Opis	n	Średni poziom, BTU	% Wewnątrz kategorii
S1	< 1'000 BTU (negatywny)	75	55	100,0

Tabela 10

Reaktywność krzyżowa/ inne etiologie

Przypisane przeciwciało	Diagnostyka	#
Przeciwciała cytoplazmatyczne przeciwko neutrofilom (ANCA)	Zapalenie naczyń	3
	Inne (próbki ANCA oznaczone dodatnio)	10
Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)	Toczeń rumieniowaty układowy	5
	Reumatoidalne zapalenie stawów	9
	Zespół Sjogrena	6
	Inne (próbki ANA oznaczone dodatnio)	3
Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (anti-Tg)	Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy	5
Przeciwciała przeciw rybonukleoproteinie	Mieszana choroba tkanki łącznej	1
Anty-GQ1b, anty-GM1, anty-GD1b	Autoimmunologiczne neuropatie obwodowe	1
Przeciwciała przeciw receptorowi acetylocholino i kinaza tyrozynowa specyficzna dla mięśni	Miastenia gravis (Miastenia rzekomoporażna)	7

Tabela 11

Etiologia	Diagnoza	#
Neuropatie obwodowe	Alkoholik/Alkoholizm	1
	Cukrzyca	5
Inne choroby neurologiczne i znaczenie diagnostyki różnicowej	Stwardnienie zanikowe boczne	15
	Choroba Chagasa	5
	Sarkoidoza	4
	Choroba Waldenstroma	4

Tabela 12

Wydajność kliniczna

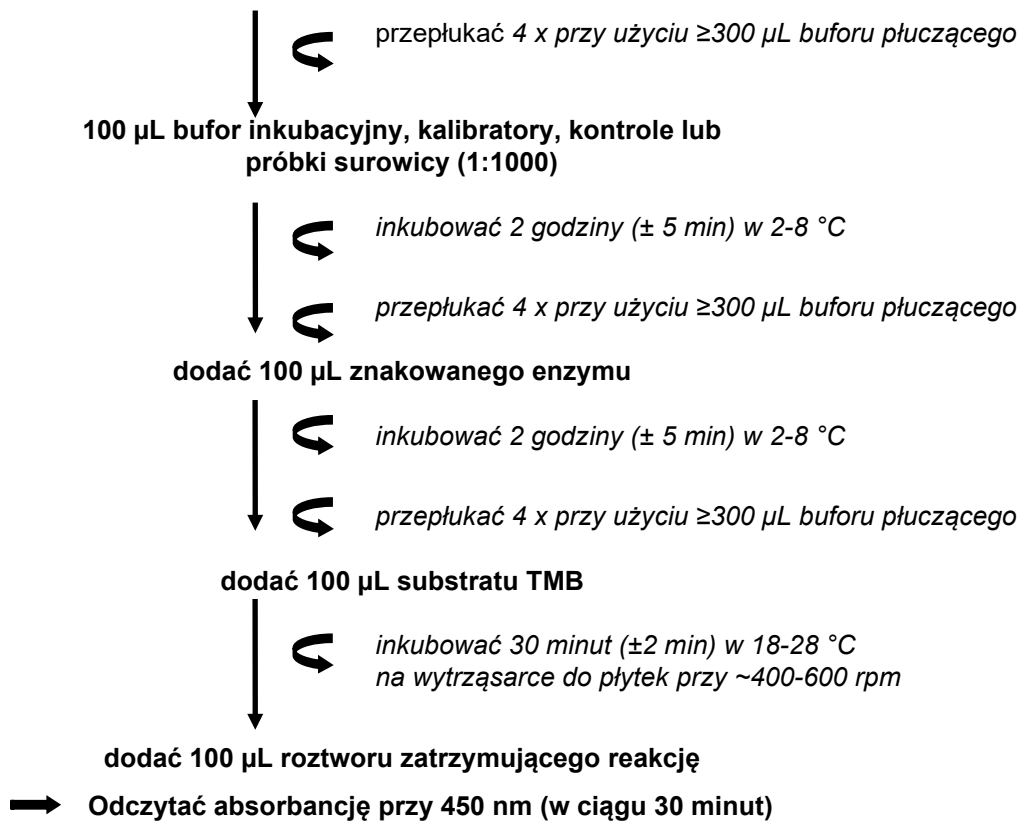
Badanie	Kontrole pozytywne	Kontrole negatywne	Cut-off	Wrażliwość	Specyficzność
Kujf i inni, 2009	DPN +IgM MG (n = 68)	OPN + HC (n = 139)	1500 BTU	0,72	0,97
Mata i inni, 2011	MGUS PN (n = 46)		3200 BTU	0,37	
Campagnolo i inni, 2015	DPN +IgM MG (n = 20)	HDC + HC (n = 3)	1000 BTU	0,94	1,00
Stork i inni, 2014	DPN +IgM MG (n = 26)		1000 BTU	0,69	
Stork i inni, 2016	DPN +IgM MG (n = 83)	HC (n=83)	1000 BTU	0,59	1,00
Taams i inni, 2018	MGUS PN (n = 101)		1500 BTU	0,51	
Liberatore i inni, 2020		OPN + HC (n = 222)	7000 BTU		1,00

Tabela 13

DPN+IgM MG, Polineuropatia demielinizacyjna z gammopatią monoklonalną IgM; MGUS PN, Polineuropatia związana z gammopatią monoklonalną o nieznanym znaczeniu; OPN, inna polineuropatia; HC, zdrowa kontrola; HDC, kontrole chorych hematologicznie

anti-MAG Antibodies ELISA

Wstępnie powlekana płytką do mikromiareczkowania



CZAS DO OTRZYMANIA WYNIKÓW: 4.5 GODZINY

REFERENCJE

1. 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).
2. CLSI guidelines EP30-A - Characterization and Qualification of Commutable Reference Materials for Laboratory Medicine (2010).
3. Kuijff, M. L. et al. Detection of anti-MAG antibodies in polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Neurology* **73**, 688–695 (2009).
4. Matà, S. et al. IgM monoclonal gammopathy-associated neuropathies with different IgM specificity. *Eur. J. Neurol.* **18**, 1067–1073 (2011).
5. Stork, A. C. J. et al. Classical and lectin complement pathway activity in polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *J. Neuroimmunol.* **290**, 76–79 (2016).
6. Stork, A. C. J. et al. Fcγ receptor IIIA genotype is associated with rituximab response in antimyelin-associated glycoprotein neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* **85**, 916–918 (2014).
7. Liberatore, G. et al. Sensitivity and specificity of a commercial ELISA test for anti-MAG antibodies in patients with neuropathy. *J. Neuroimmunol.* **345** (2020).
8. Taams, N. E. et al. Clinical relevance of serum antibodies to GD1b in immune-mediated neuropathies. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **23**, 227–234 (2018).
9. Campagnolo, M. et al. Polyneuropathy with anti-sulfatide and anti-MAG antibodies: Clinical, neurophysiological, pathological features and response to treatment. *J. Neuroimmunol.* **281**, 1–4 (2015).
10. Vallat, J-M. et al. The Wide Spectrum of Pathophysiologic Mechanisms of Paraproteinemic Neuropathy. *Neurology* **96**, 214-225 (2021).

LISTA ZMIAN

Data	Wersja	Zmiana
2023-05-31	A2	Zmiana w rozdziale <i>Przeznaczenie</i> i w nazwie produktu Przeformułowanie rozdziału <i>Zasada działania testu</i> Nowe w użyciu stabilności odczynników Aktualizacja rozdziału <i>Środki ostrożności</i> Korekta rozdziałów <i>Pobieranie próbek i ich przechowywanie, Procedura wykonania testu, Standaryzacja i spójność pomiarowa</i> Przeformułowanie rozdziałów <i>Kontrola Jakości i Obliczanie wyników badań</i> Aktualizacja rozdziału <i>Ograniczenia</i> Wprowadzenie rozdziału <i>Interpretacja wyników i Wydajność kliniczna</i> Korekta rozdziałów <i>Przedziały referencyjne i wartości cut-off, Charakterystyka wydajności, Substancje interferujące, Referencje i Symbole</i> Włączenie numeru jednostki notyfikowanej do znaku CE – procedura oceny zgodności wg IVDR 2017/746 Korekta rozdziału <i>Symbole</i>

RAPORTOWANIE WYPADKÓW W PAŃSTWACH CZŁONKOWSKICH UE

W przypadku wystąpienia jakiegokolwiek poważnego wypadku z udziałem tego urządzenia, należy bezzwłocznie zgłosić to producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego.

USZKODZENIE PRZESYŁKI

Jeżeli produkt został uszkodzony należy poinformować o tym dystrybutora.

SYMBOLE

Firma BÜHLMANN stosuje symbole i oznaczenia wymienione i opisane w normie ISO 15223-1. Dodatkowo stosowane są następujące symbole i oznaczenia:

Symbol	Wyjaśnienie
MP	Płytko do mikromiarczkowania
BUF INC	Bufor inkubacyjny
BUF WASH 10X	Koncentrat buforu płuczającego (10x)
CONTROL L	Kontrola Niska
CONTROL H	Kontrola Wysoka
CAL A - CAL D	Kalibrator A - D
EL IgM	Oznakowany Enzym IgM
SUBS TMB	Substrat TMB
SOLN STOP	Roztwór zatrzymujący reakcję

