anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = glykoprotein asociovaný s myelinem

Pro *in vitro* diagnostiku

EK-MAG testů 96

Datum vydání: 2026-09-09
Verze A5

Výrobce
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Švýcarsko
Tel.: +41 61 487 12 12
Faxové: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

ČESKY

URČENÉ POUŽITÍ

Anti-MAG Antibodies ELISA je *in vitro* diagnostický test k semikvantitativnímu stanovení protilátek anti-MAG IgM ve vzorcích lidského séra pacientů s příznaky demyelinizační periferní neuropatie a/nebo pacientů s monoklonální gamapatií IgM a neurologickými příznaky. Test je určen jako pomůcka pro diagnostiku anti-MAG neuropatie ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Pouze k laboratornímu použití zdravotnickým personálem. Neautomatizováno.

PRINCIP TESTU

Anti-MAG Antibodies ELISA umožňuje měření IgM protilátek proti glykoproteinu asociovanému s myelinem (MAG) v séru pomocí sendvičové metody ELISA. Mikrotitrační destička je potažena purifikovaným MAG z lidského mozku. Do jamek mikrotitrační destičky se přidají séra pacientů, kontroly a kalibrátory. Po 2 hodinách inkubace při 2-8 °C a promytí detekční protilátkou konjugovanou s křenovou peroxidázou (HRP) se detekují protilátky proti MAG navázané na lidský MAG na destičce. Po dalších 2 hodinách inkubace a dalších promývacích krocích se přidá chromogenní substrát HRP, tetrametylbenzidin (TMB) (tvorba modré barvy) a následuje zastavení reakce (změna na žlutou barvu). Absorbance se měří při 450 nm.

Hladina protilátek anti-MAG se stanoví pomocí kalibrační křivky vytvořené z naměřených hodnot kalibrátoru a vyjadřuje se jako BÜHLMANN Titer Unit (BTU).

DODÁVANÉ REAGENCIE A PŘÍPRAVA

Reagencie	Množství	Kat.č.	Příprava
Mikrotitrační destička 96 jamek s lidským MAG	12 x 8 jamek s rámečkem	B-MAG-MP	Připraveno k použití
Lepicí fólie	3 kusy	-	Připraveno k použití
Koncentrát promývacího roztoku (10x)	1 láhev x 100 mL	B-MAG-WB	Zřeďte 900 mL deionizované vody
Inkubační roztok s konzervačními látkami	1 láhev x 100 mL	B-MAG-IB	Připraveno k použití
Kalibrátory A až D[1] lyofilizované s konzervačními látkami	4 lahvičky	B-MAG-CASET	Přidejte 1 mL inkubačního roztoku
Kontrola nízka a vysoká [2] **lyofilizované s konzervačními látkami**	2 lahvičky	B-MAG-CONSET	Přidejte 1 mL inkubačního roztoku
Enzymová značka IgM protilátka proti lidskému IgM konjugovaná s HRP v roztoku s konzervačními látkami	1 lahvička **x 11 mL**	**B-MAG-ELM**	Připraveno k použití Modrý roztok
Substrát TMB TMB v citrátovém pufru	1 lahvička x 11 mL	**B-TMB**	Připraveno k použití
Zastavovací roztok 0,25 M kyselina sírová	1 lahvička x 11 mL	**B-STS**	Připraveno k použití **Žíravina**

Tabulka 1

[1] Po ředění obsahují kalibrátory A, B, C a D 70000, 15000, 3000 a 1000 BÜHLMANN titračních jednotek (BTU) protilátek anti-MAG.

[2] Kontroly obsahují množství protilátek anti-MAG specifických pro danou šarži. Skutečné hladiny jsou uvedeny v doplňkovém listu pro kontrolu kvality.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST REAGENCIÍ

Zapečetěná/neotevřená činidla	
Skladujte při teplotě 2-8 °C. Nepoužívejte činidla po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.	
Otevřená/zředěná činidla	
Mikrotitrační destička	Nepoužité stripy ihned vraťte do fóliového sáčku s vysoušecími balíčky a znovu je uzavřete podél celého okraje zipu. Skladujte až 3 měsíce při teplotě 2-8 °C.
Zředěný promývací roztok	Skladujte až 3 měsíce při teplotě 2-8 °C.
Inkubační roztok	
Enzymová značka IgM	
Substrát TMB	
Kontroly	Po rozředění alikvotujte a uchovávejte při ≤ -20 °C. Skladujte až 3 měsíce při teplotě ≤ -20 °C.[1]
Kalibrátory	
Zastavovací roztok	Skladujte až 3 měsíce při teplotě 18-28 °C.

Tabulka 2

[1] Rekonstituované kalibrátory a kontroly lze během těchto tří měsíců až třikrát zmrazit a rozmrazit.

POŽADOVANÉ MATERIÁLY NEDODÁVANÉ SE SOUPRAVOU

- Přesné pipety s jednorázovými špičkami: 0,5-10 µL a 100-1000 µL
- Jednorázové polystyrenové nebo polypropylenové zkumavky pro přípravu ředění vzorků
- 1000 mL láhev pro ředění promývacího roztoku
- Podložka pod mikrotitrační destičky
- Blotovací papír
- Třepačka mikrotitračních destiček
- Čtečka mikrotitračních destiček pro měření absorbance při 450 nm

UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ

Bezpečnostní opatření

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Doporučujeme svěřit test kvalifikovanému personálu a provádět jej v souladu se správnou laboratorní praxí (GLP):
  - Kalibrátory, kontroly a mikrotitrační destička této soupravy obsahují složky lidského původu. Ačkoli byly tyto reagencie testovány a vykazují negativní výsledky na HBV, HCV a HIV1/2, je třeba s nimi zacházet tak, jako by mohly přenášet infekce.
  - Inkubační pufr a enzymová značka obsahují potenciálně infekční látky živočišného původu.
- Tato sada obsahuje součásti klasifikované v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008:
  - Zastavovací roztok obsahuje kyselinu sírovou (konc. 2,5-5 %), proto může dráždit kůži (H315), způsobit vážné podráždění očí (H319) a může být korozivní pro kovy (H290).
  - Kalibrátory a kontroly obsahují gentamicin sulfát (prášek), proto mohou činidla vyvolat alergickou kožní reakci (H317) a při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže (H334). Obsahují také thiomersal (prášek), proto při požití může způsobit smrt, při styku s kůží může způsobit smrt nebo při vdechování může způsobit smrt (H300+H310+H330).
  - Inkubační roztok a enzymová značka obsahují gentamicin sulfát (konc. < 1 %), proto mohou činidla způsobit alergickou kožní reakci (H317).
- Zabraňte kontaktu činidel s kůží, očima nebo sliznicemi. Dojde-li ke kontaktu s činidlem, okamžitě je omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k podráždění/popálení.
- S reagenciemi, vzorky pacientů a jakýmikoli vyřazenými materiály je nutno zacházet jako s nebezpečným odpadem v souladu s místními směrnicemi nebo předpisy o prevenci biologických rizik.

Technická opatření

- Před provedením testu si pečlivě přečtěte pokyny. Pokud jsou činidla nesprávně naředěna, upravena nebo skladována za jiných podmínek, než je uvedeno v tomto návodu k použití, bude to mít nepříznivý vliv na výsledky testu.
- Složky se nesmí používat po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.
- Nezaměňujte různé šarže činidel.
- Je třeba vynaložit veškeré úsilí, aby nedošlo ke křížové kontaminaci mezi činidly, vzorky nebo jamkami.
- Mikrotitrační jamky nelze použít opakovaně.

ELISA postup

Teplota činidel

- Před zahájením postupu analýzy si připravte činidla. Kroky 3-9: Reagencie používané v krocích 3-9 musí být chlazené (2-8 °C) a při pipetování a promývání musí být uchovávány v chladu.

  Doporučení: Promývací pufr si připravte den před testem a uložte jej na noc do chladničky.
- Všechny promývací kroky provádějte se studeným(!) (2-8 ˚C) promývacím roztokem.
- Na začátku postupu analýzy upravte substrát TMB a zastavovací roztok na pokojovou teplotu (18-28 °C).

Kroky promývání

- Promývací kroky 3, 6 a 9 mají zásadní význam pro odstranění zbytků vzniklých při výrobním procesu a/nebo potenciálně nenavázaných protilátek v jamkách.
- Důrazně se doporučuje automatická promývačka pracující v "režimu desek", tj. každý procesní krok (dávkování/aspirace) se provede postupně na všech stripech, než přístroj pokračuje dalším promývacím cyklem.
- Po posledním promývacím cyklu se ujistěte, že jsou všechny jamky zcela prázdné.

Inkubace substrátu

- Krok 11: Během inkubace se substrátem mikrotitrační destičky protřepejte. V závislosti na modelu třepačky destiček doporučujeme 400-600 otáček za minutu. Roztok by se měl v jamkách pohybovat, ale nesmí se přelévat.

Dodatečné ředění vzorku

- Vzorky přesahující 70000 BTU lze ředit do rozsahu analytického měření (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Pro ředění vzorků séra použijte inkubační roztok.

ODBĚR A SKLADOVÁNÍ

K postupu je zapotřebí < 0,1 mL krve, resp. < 50 µL séra.

Krev odebírejte do obyčejných venepunkčních zkumavek bez jakýchkoli přísad a zabraňte hemolýze. Přípravu séra proveďte podle pokynů výrobce. Sérum dekantujte.

Vzorky séra lze skladovat při teplotě 2-8 °C až 16 dní nebo při -20 °C až 12 měsíců. Zmrazené vzorky je třeba před použitím rozmrazit a důkladně promíchat jemným otáčením nebo převrácením.
Doporučujeme připravit alikvoty vzorků séra před zmrazením, aby se předešlo opakovaným cyklům zmrazení/rozmrazení.

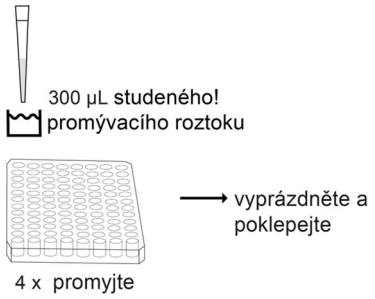
POSTUP TESTU

Poznámka: Roztok substrátu TMB upravte na pokojovou teplotu (18-28 °C).

1. Vzorky nařeďte 1:1000 inkubačním roztokem. Použijte např. 1 µL séra + 1000 µL studeného(!) (2-8 °C) inkubačního roztoku. Důkladně promíchejte vířením a zředěné vzorky i rekonstituované kalibrátory a kontroly nechte před pipetováním 30 minut při teplotě 2-8 °C. (viz kroky 4a - c).
2. Připravte si rámeček s dostatečným počtem stripů pro testování požadovaného počtu kalibrátorů, kontrol a vzorků. Odstraňte přebytečné stripy z rámečku a neprodleně je znovu uzavřete do fóliového sáčku spolu s vysoušedlem. Uchovávejte v chladu.

Poznámka: V krocích 3 až 9 použijte studená činidla.

3. Jamky čtyřikrát promyjte alespoň 300 µL studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na papír, abyste zcela odstranili zbývající tekutinu.



<u>Poznámka:</u> Okamžitě přejděte k dalším krokům.

4a. Dvakrát odpipetujte 100 µL inkubačního roztoku (slepý vzorek).

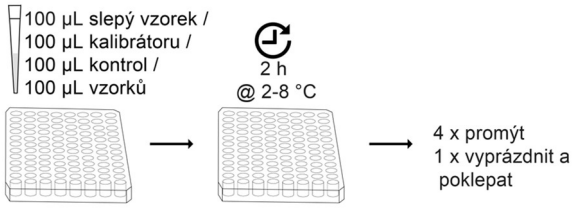
Do příslušných jamek napipetujte 100 µL kalibrátoru A-D ve dvou opakováních.

4b. Do příslušných jamek napipetujte 100 µL nízké a vysoké kontroly.

4c. Naipetujte 100 µL každého naředěného vzorku do následujících jamek.

5. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin (± 5 min) při teplotě 2-8 °C (destičkou netřepejte).

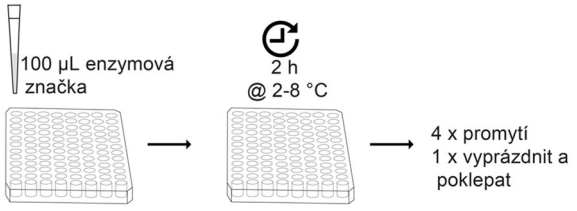
6. Odstraňte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a čtyřikrát je promyjte pomocí nejméně 300 µL studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír, aby se promývací roztok zcela odstranil.



7. Do všech jamek přidejte 100 µL enzymaticky značeného IgM.

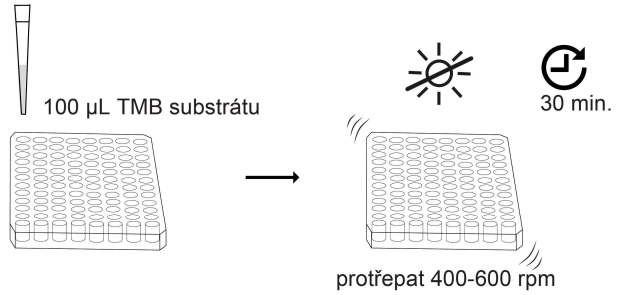
8. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin (± 5 min) při teplotě 2-8 °C (destičkou netřepejte).

9. Odstraňte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a čtyřikrát je promyjte pomocí nejméně 300 µL studeného(!) (2-8 °C) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír.



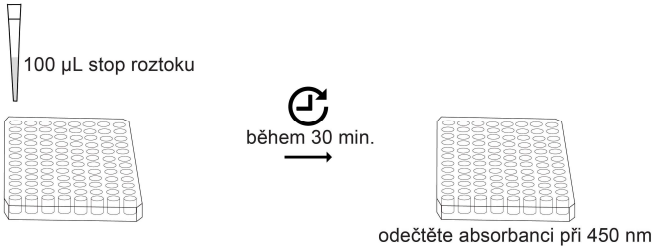
10. Do každé jamky přidejte 100 µL roztoku substrátu TMB (ekvibrovaného na pokojovou teplotu).

11. Přikryjte destičku lepicí fólií, chraňte ji před světlem a inkubujte na třepačce nastavené na 400-600 otáček za minutu při teplotě 18-28 °C po dobu 30 ± 2 minut.



12. Do všech jamek přidejte 100 µL zastavovacího roztoku. Odstraňte vzduchové bubliny špičkou pipety. Do 30 minut přejděte ke kroku 13.

13. Odečtěte absorbanci při 450 nm ve čtečce mikrotitračních destiček.



KONTROLA KVALITY

Důkladné seznámení s tímto návodem k použití je nezbytné pro úspěšné používání výrobku. Spolehlivých výsledků lze dosáhnout pouze za použití přesných laboratorních technik a přesného dodržování tohoto návodu k použití.

Souprava anti-MAG Antibodies ELISA se dodává se dvěma kontrolami: nízkou a vysokou kontrolou. Kontroly mají přiřazené rozsahy hodnot uvedené na listu s údaji o kontrole kvality dodávaném s každou soupravou. Pro získání platných výsledků musí být kontrolní měření v uvedeném rozmezí hodnot.

Kromě kontrolních souprav doporučujeme pro interní kontrolu kvality používat sérum.

Reprodukovatelnost parametrů standardní křivky a kontrolních hodnot by měla být v rámci stanovených mezí laboratorní přijatelnosti. Pokud provedení testu nesplňuje stanovené meze a opakování vyloučilo chyby v technice, zkontrolujte následující problémy: *i)* kontrola teploty (činidla použitá v kroku 3-9 udržovaná při 2-8 °C) ; *ii)* přesnost teploměrů, pipetovacích a časovacích zařízení; *iii)* nastavení čtečky ELISA; *iv)* datum spotřeby činidel; *v)* podmínky skladování a inkubace; *vi)* barva roztoku substrátu TMB (měl by být bezbarvý); *vii)* čistota vody; *viii)* metody odsávání a promývání.

STANDARDIZACE A METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Neexistují žádné mezinárodně nebo národně uznávané referenční materiály nebo referenční postupy měření protilátek anti-MAG ve vzorcích séra. Test anti-MAG Antibodies ELISA je standardizován na základě interně zavedeného referenčního materiálu. Hodnoty kalibrátoru a kontroly jsou přiřazeny podle protokolu o přenosu hodnot (ref. 1, 2), aby byla zaručena metrologická návaznost, a jsou uvedeny v libovolných jednotkách BÜHLMANN Titer. Interval spolehlivosti 95 % kombinované nejistoty kalibrátorů a kontrol produktů je nižší než 35 %.

VÝPOČET VÝSLEDKŮ TESTŮ

Standardní křivka

Použijte softwarový program, který je schopen provést následující výpočty:

- odečtěte hodnotu OD slepé jamky od každé jamky kalibrátoru a vypočítejte hodnotu kalibrátoru.
- sestavte standardní křivku pomocí čtyřparametrové logistické (4 PL) křivky.

Kontroly a vzorky

Použijte softwarový program, který je schopen provést následující výpočty;

- odečtěte hodnotu OD slepého vzorku od každé kontrolní jamky/jamky se vzorkem. Vypočítejte hladinu protilátek anti-MAG v každé jamce v BTU pomocí stanovené standardní křivky.

Poznámka: Výsledky uvedené v tabulce 6 a na obrázku 1 jsou příklady a slouží pouze k demonstraci. Kalibrační křivka musí být vytvořena pro každou sadu testovaných vzorků.

OMEZENÍ

- Tento test nebyl validován pro vzorky z CSF a plazmaferézy.
- Intravenózní imunoglobuliny (IVIg) a kryoglobuliny mohou ovlivnit výsledky testu.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledek	Interpretace
< mezní hodnota	Negativní výsledek
≥ mezní hodnota	Pozitivní výsledek (indikace přítomnosti protilátek anti-MAG)

Tabulka 3

Výsledky testů by měly být interpretovány ve spojení s informacemi dostupnými z klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.

REFERENČNÍ INTERVALY A MEZNÍ HODNOTY

Referenční interval testu anti-MAG Antibodies ELISA byl stanoven podle CLSI EP28-A3 se 141 vzorky séra od zjevně zdravých jedinců ve věku 18 až 70 let. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Referenční interval [BTU]	
2,5th percentil (90% CI)	**97,5th percentil (90% CI)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tabulka 4

Tisíc (1000) BTU je zavedená mezní hodnota, která se používá v publikovaných studiích (ref. 5, 6, 9).
V odborné literatuře byly použity také odchylné hraniční hodnoty (ref. 3, 4, 7, 8, tabulka 13) a byly navrženy kategorie titrů pro pozitivní výsledky testů (ref. 10).

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky jsou založeny na průměrných výsledcích ze 2 jamek.

Opakovatelnost: 3,2 – 11,8 % CV

Přesnost v rámci laboratoře: 5,5 – 15,9 % CV

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle pokynu CLSI EP05-A3 za použití standardizovaného plánu studie 20 dní x 2 série x 2 opakování. Byly testovány čtyři (4) směsné vzorky lidského séra, které pokrývají rozsah měření testu.
Pátý negativní vzorek při 213 BTU poskytl 79/80 výsledků (98,8 %) v rámci kategorie (< 1000 BTU). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 7 a 8.

Reprodukovatelnost: 10,0 – 21,6 % CV

Reprodukovatelnost byla stanovena podle pokynu CLSI EP05-A3 provedením měření s využitím plánu studie 3 operátoři x 3 přístroje/šarže x 5 dní x 5 opakování. Testovány byly čtyři (4) sdružené vzorky lidského séra, které pokrývaly rozsah měření testu. Pátý negativní vzorek při 55 BTU poskytl 75/75 výsledků (100,0 %) v rámci kategorie (< 1000 BTU). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 9 a 10.

Mez detekce (LoD): 305 BTU

LoD byla stanovena podle pokynu CLSI EP17-A2 s použitím neparametrické analýzy a s podílem falešně pozitivních výsledků (α) menším než 5 % a falešně negativních výsledků (β) menším než 5 % na základě 120 stanovení s 60 slepými a 60 nízkoúrovňovými replikáty a **LoB 138 BTU**.

Hook efekt při vysoké dávce

Vzorky s hladinami protilátek anti-MAG až do 2,8 x 10^5 BTU lze měřit bez omezení rozsahu měření testu.

Zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita testu anti-MAG Antibodies ELISA byla testována u vzorků, kterým bylo přiřazeno autoimunitní onemocnění nebo s ním spojená přítomnost protilátek. Protilátky a počet testovaných vzorků jsou uvedeny v tabulce 11.

Další vzorky s různou imitací onemocnění periferní neuropatie byly rovněž testovány pomocí anti-MAG Antibodies ELISA a jsou uvedeny v tabulce 12.

Jeden (1) ze čtyř (4) testovaných vzorků od pacientů s Waldenströmovou chorobou byl mírně séropozitivní na anti-MAG protilátky v rozmezí 1000-1500 BTU.

KLINICKÁ ÚČINNOST

Klinický výkon byl hodnocen metaanalýzou recenzované vědecké literatury. Sedm studií se zabývalo klinickou účinností testu anti-MAG Antibodies ELISA při diagnostice demyelinizační periferní neuropatie s monoklonální gamapatií IgM (ref. 3-9). Výsledky analýzy a podrobnosti o studiích jsou uvedeny v tabulce 5 a v tabulce 13.

N neuropatie	344
N kontroly	447
Sensitivita (95 % CI)	58,9 % (47,2 – 69,6 %)
Specificita (95 % CI)	98,2 % (89,7 – 99,7 %)
ROC AUC	0,75

Tabulka 5

CI - interval spolehlivosti
ROC AUC - plocha pod charakeristickou operační křivkou

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Citlivost testu anti-MAG Antibodies ELISA na perorální a injekční léčiva a na endogenní látky byla hodnocena podle pokynů CLSI EP07-A3. Zkreslení výsledků přesahující 20 % bylo považováno za interferenci.

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami až do uvedených koncentrací: intravenózní imunoglobulin (20 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), revmatoidní faktor (680 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolyzát (10 mg/mL), triglyceridy (20 mg/mL), konjugovaný bilirubin (0,4 mg/mL), nekonjugovaný bilirubin (0,4 mg/mL).

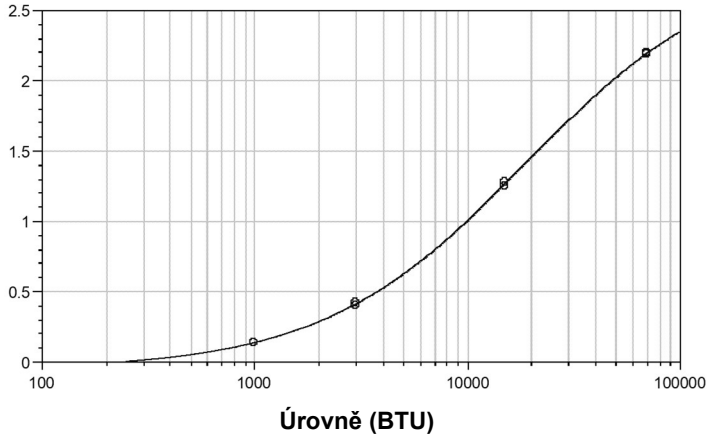
TABULKY A OBRÁZKY

Příklad výsledků

	Úroveň [BTU]	Absorbance [OD]	Hodnota [BTU]	CV [%]
Slepý vzorek 1		0,046		
Slepý vzorek 2		0,049		
Průměr		**0,048**		
Kalibrátor A	70000	2,195	70497	
Kalibrátor A	70000	2,188	69508	
Průměr	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Kalibrátor B	15000	1,272	15313	
Kalibrátor B	15000	1,245	14693	
Průměr	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Kalibrátor C	3000	0,417	3070	
Kalibrátor C	3000	0,400	2931	
Průměr	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Kalibrátor D	1000	0,135	1009	
Kalibrátor D	1000	0,132	991	
Průměr	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Kontrola NÍZKÁ		0,360	2602	
Kontrola NÍZKÁ		0,376	2731	
Průměr		**0,368**	**2666**	**3,1**
Kontrola VYSOKÁ		1,395	18433	
Kontrola VYSOKÁ		1,383	18090	
Průměr		**1,389**	**18261**	**0,6**
Vzorek 1		0,001	255	
Vzorek 1		0,009	297	
Průměr		**0,005**	**276**	**116,5**
Vzorek 2		1,092	11599	
Vzorek 2		0,969	9511	
Průměr		**1,030**	**10555**	**8,5**

Tabulka 6

Příklad standardní křivky $(OD)_{450}$



Obrázek 1

Přesnost v rámci laboratoře

ID	Prům. úroveň, BTU	n	V rámci běhu		Mezi běhy		Mezi dny		V rámci laboratoře	
			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

Tabulka 7

ID	Popis	n	Průměrná úroveň, BTU	% V rámci kategorie
S1	< 1000 BTU (negativní)	80	213	98,8

Tabulka 8

Reprodukovatelnost

ID	Prům. úroveň, BTU	n	V rámci běhu		Mezi běhy		Mezi dny		V rámci laboratoře	
			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

Tabulka 9

ID	Popis	n	Průměrná úroveň, BTU	% V rámci kategorie
S1	< 1000 BTU (negativní)	75	55	100,0

Tabulka 10

Zkřížená reaktivita

Protilátky		#
Anti-neutrofilní cytoplazmatická protilátky (ANCA)		13
Antijaderné protilátky (ANA)		23
Protilátky proti tyreoglobulinu (anti-Tg)		5
Protilátky proti ribonukleoproteinům		1
Protilátky proti gangliosidu	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Protilátky proti acetylcholinovému receptoru a proti svalově specifické tyrozinkináze		7

Tabulka 11

Periferní neuropatie	#
Alkoholik/alkoholismus	1
Diabetes	5
Periferní neuropatie imitující poruchy	**#**
Amyotrofická laterální skleróza	14
Chagasova choroba	5
Idiopatická periferní neuropatie	1
Sarkoidóza	4
Waldenströmova choroba	4
Wegenerova granulomatóza	1

Tabulka 12

TABULKY A OBRÁZKY

Klinický výkon

Studie	Pozitivní kontroly	Negativní kontroly	Mezní hodnoty	Sens.	Spec.
Kuijf a kol., 2009	DPN +IgM MG (n = 68)	OPN + HC (n = 139)	1500 BTU	0,72	0,97
Mata a kol., 2011	MGUS PN (n = 46)		3200 BTU	0,37	
Campagnolo et al., 2015	DPN +IgM MG (n = 20)	HDC + HC (n = 3)	1000 BTU	0,94	1,00
Čáp a kol., 2014	DPN +IgM MG (n = 26)		1000 BTU	0,69	
Čáp a kol., 2016	DPN +IgM MG (n = 83)	HC (n=83)	1000 BTU	0,59	1,00
Taams a kol., 2018	MGUS PN (n = 101)		1500 BTU	0,51	
Liberatore et al., 2020		OPN + HC (n = 222)	7000 BTU		1,00

Tabulka 13

DPN+IgM MG, demyelinizační polyneuropatie s monoklonální gamapatií IgM; MGUS PN, polyneuropatie spojená s monoklonální gamapatií neznámého významu; OPN, jiná polyneuropatie; HC, zdravá kontrola; HDC, hematologické onemocnění kontroly.

KRÁTKÝ PROTOKOL

Pozor: Krátký protokol není náhradou za podrobné informace popsané v tomto návodu.

Před dnem testování

Příprava promývacího pufru

Koncentrát promývacího pufru nařeďte 1:10 deionizovanou vodou

↓

Doporučení: Promývací pufr si připravte den před testem a uložte jej na noc do chladničky.

Den testování

Příprava vzorků / kontrol / kalibrátorů

Vzorky séra zřeďte v poměru 1:1000 (chlad!) inkubačním roztokem a důkladně promíchejte vortexováním

Rozpuštění nebo rozmrazení (alikvotovaných) rekonstituovaných kontrol a kalibrátorů

↓

nechte 30 minut při teplotě 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Předem potažená mikrotitrační destička

↓ *4x promyjte ≥ 300 µL (chlad!) promývacího roztoku*

100 µL inkubační roztok, kalibrátory, kontroly nebo vzorky séra (1:1000)

↓ *inkubujte 2 hodiny (± 5 minut) při teplotě 2-8 °C*

↓ *4 x promyjte ≥ 300 µL (chlad!) promývacího roztoku*

přidejte 100 µL enzymové značky

↓ *inkubujte 2 hodiny (± 5 minut) při teplotě 2-8 °C*

↓ *4× promyjte ≥ 300 µL (chlad!) promývacího roztoku*

přidejte 100 µL substrátu TMB

↓ *inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při teplotě 18-28 °C na třepačce ~400-600 otáček za minutu*

přidejte 100 µL zastavovacího roztoku

→ **Odečtení absorbance při 450 nm (do 30 minut)**

DOBA DO ZÍSKÁNÍ VÝSLEDKU: 5 HODIN

REFERENCE

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Standardizace proteinů V: Přenos hodnot. Praktický protokol pro přiřazení hodnot sérových proteinů z referenčního materiálu k cílovému materiálu. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46,** 1470-1479 (2008).

2. Pokyny CLSI EP30-A - Characterization and Qualification of Commutable Reference Materials for Laboratory Medicine (2010).

3. Kuijf, M. L. et al. Detekce anti-MAG protilátek u polyneuropatie spojené s monoklonální gamapatií IgM. Neurology 73, 688-695 (2009).

4. Matà, S. et al. IgM monoklonální gamapatie asociované s neuropatiemi s různou specifitou IgM. Eur. J. Neurol. 18, 1067-1073 (2011).

5. Stork, A. C. J. et al. Aktivita klasické a lektinové komplementové dráhy u polyneuropatie spojené s monoklonální gamapatií IgM. J. Neuroimmunol. 290, 76-79 (2016).

6. Stork, A. C. J. et al. Fcγ receptor IIIA genotyp je spojen s odpovědí na rituximab u neuropatie spojené s antimyelinovým glykoproteinem. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 85, 916-918 (2014).

7. Liberatore, G. et al. Citlivost a specifita komerčního testu ELISA na anti-MAG protilátky u pacientů s neuropatií. J. Neuroimmunol. 345, (2020).

8. Taams, N. E. et al. Klinický význam sérových protilátek proti GD1b u imunitně zprostředkovaných neuropatií. J. Peripher. Nerv. Syst. 23, 227-234 (2018).

9. Campagnolo, M. et al. Polyneuropatie s anti-sulfatidovými a anti-MAG protilátkami: Klinické, neurofyziologické a patologické rysy a odpověď na léčbu. 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).

ZMĚNY

Datum	Verze	Změna
2026-09-09	A5	Zpřesnění kapitoly *Určené použití* doplněním informací o testované populaci, zamýšleném uživateli a automatizaci testování. Aktualizace kapitol *Požadované materiály nedodávané se soupravou*, *Postup testu*, *Kontrola kvality*, *Klinický účinnost*, *Tabulky a obrázky* (Tabulka 12) a *Krátký protokol*. Revize kapitol *Upozornění a opatření* a *Symboly*. Aktualizace symbolu eIFU na titulní stránce (platí pouze pro anglickou verzi dokumentu).

HLÁŠENÍ INCIDENTŮ V ČLENSKÝCH STÁTECH EU

Pokud se v souvislosti s tímto prostředkem vyskytne jakákoli závažná událost, neprodleně ji nahlaste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

POŠKOZENÍ ZÁSILKY

Pokud jste tento výrobek obdrželi poškozený, oznamte to prosím svému distributorovi.

SYMBOLY

BÜHLMANN používá symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1.
Definice symbolů naleznete ve slovníku symbolů na adrese: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Kromě toho se používají následující symboly a značky:

Symbol	Vysvětlení
MP	Mikrotitrační destička
BUF INC	Inkubační roztok
BUF WASH 10X	Koncentrát promývacího roztoku (10x)
CONTROL L	Kontrola nízká
CONTROL H	Kontrola vysoká
CAL A - CAL D	Kalibrátor A - D
EL IgM	Enzymová značka IgM
SUBS TMB	Substrát TMB
SOLN STOP	Zastavovací roztok

CE 0123