anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Myelin-assoziiertes Glykoprotein

Für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik

EK-MAG 96 Tests

Freigabedatum: 2026-09-09
Version A5

Hersteller
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Schweiz
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der anti-MAG Antibodies ELISA ist ein *in vitro* diagnostischer Assay für die semi-quantitative Bestimmung von Anti-MAG IgM-Antikörpern in humanen Serumproben von Patienten mit Symptomen einer demyelinisierenden peripheren Neuropathie und/oder Patienten mit monoklonaler IgM-Gammopathie und neurologischen Symptomen. Der Assay soll in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden die Diagnose von Anti-MAG-Neuropathie unterstützen.

Nur für den Laborgebrauch durch medizinisches Fachpersonal. Nicht automatisiert.

TESTPRINZIP

Der anti-MAG Antibodies ELISA ermöglicht das Messen von IgM-Antikörpern gegen das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG) im Serum anhand eines Sandwich-ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit gereinigtem MAG aus dem menschlichen Gehirn beschichtet. In die Wells der Mikrotiterplatte werden Patientenseren, Kontrollen und Kalibratoren gegeben. Nach 2 Stunden Inkubationszeit bei 2-8 °C und Waschschritten, weist ein mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugierter Nachweisantikörper die Anti-MAG-Antikörper nach, die an das humane MAG auf der Platte gebunden sind. Nach weiteren 2 Stunden Inkubationszeit und weiteren Waschschritten wird das chromogene HRP-Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) zugegeben (blaue Färbung), gefolgt von einer Stopp-Reaktion (Farbwechsel zu gelb). Die Absorption wird bei 450 nm gemessen.

Die Konzentration der Anti-MAG-Antikörper wird anhand der Kalibrierungskurve bestimmt, die aus den gemessenen Kalibratorwerten erstellt wird, und als BÜHLMANN Titer Unit (BTU) ausgedrückt.

GELIEFERTE REAGENZIEN UND VORBEREITUNG

Reagenzien	Menge	Code	Rekonstitution
Mikrotiterplatte 96 mit humanem MAG beschichtete Wells	12 x 8 Well-Streifen mit Rahmen	B-MAG-MP	Gebrauchsfertig
Abdeckfolie	3 Stück	-	Gebrauchsfertig
Waschpufferkonzentrat (10x)	1 Flasche x 100 mL	B-MAG-WB	Mit 900 mL deionisiertem Wasser verdünnen
Inkubationspuffer mit Konservierungsstoffen	1 Flasche x 100 mL	B-MAG-IB	Gebrauchsfertig
Kalibratoren A - D[1] lyophilisiert mit Konservierungsstoffen	4 Fläschchen	B-MAG-CA-SET	1 mL Inkubationspuffer hinzugeben
Kontrolle tief und hoch[2] lyophilisiert mit Konservierungsstoffen	2 Fläschchen	B-MAG-CONSET	1 mL Inkubationspuffer hinzugeben
Enzymmarker IgM Anti-Human IgM-Antikörper, konjugiert mit HRP, in einer Puffermatrix mit Koservierungsstoffen	1 Fläschchen x 11 mL	B-MAG-ELM	Gebrauchsfertig Blaue Lösung
TMB-Substrat TMB in Citratpuffer	1 Fläschchen x 11 mL	B-TMB	Gebrauchsfertig
Stopp-Lösung 0,25 M Schwefelsäure	1 Fläschchen x 11 mL	B-STS	Gebrauchsfertig **korrosives Agens**

Tabelle 1

[1] Nach der Rekonstitution enthalten die Kalibratoren A, B, C und D 70000, 15000, 3000 bzw. 1000 BÜHLMANN Titer Units (BTU) Anti-MAG-Antikörper.

[2] Die Kontrollen enthalten chargenspezifische Mengen Anti-MAG-Antikörper. Die tatsächlichen Werte sind dem zusätzlichen QC Datenblatt zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

Verschlossene/ ungeöffnete Reagenzien	
Bei 2-8 °C lagern. Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwendet werden.	
Geöffnete / rekonstituierte Reagenzien	
Mikrotiterplatte	Ungebrauchte Streifen sofort in den Folienbeutel mit den Trockenmittelpackungen zurücklegen und den Druckleistenverschluss entlang der ganzen Leiste wieder verschliessen. Für bis zu 3 Monate bei 2-8 °C lagern.
Verdünnter Waschpuffer	Für bis zu 3 Monate bei 2-8 °C lagern.
Inkubationspuffer	
Enzymmarker IgM	
TMB-Substrat	
Kontrollen	Nach der Rekonstitution aliquotieren und bei ≤ -20 °C lagern. Für bis zu 3 Monate bei ≤ -20 °C lagern.[1]
Kalibratoren	
Stopp-Lösung	Für bis zu 3 Monate bei 18-28 °C lagern.

Tabelle 2

[1] Rekonstituierte Kalibratoren und Kontrollen können innerhalb von 3 Monaten drei Gefrier-Auftau-Zyklen unterzogen werden.

ERFORDERLICHE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

- Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen: Pipetten mit 0,5-10 µL und 100-1000 µL
- Polystyrol- oder Polypropyleneinwegröhrchen zur Durchführung der Probenverdünnungen
- 1000 mL-Messzylinder zur Verdünnung des Waschpuffers
- Mikrotiterplattenwaschautomat
- Blottingpapier
- Mikrotiterplatten-Schüttler
- Mikrotiterplattenphotometer zur Messung der Absorption bei 450 nm

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Sicherheitsmassnahmen

- Dieser Test ist nur für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Der Test sollte durch qualifiziertes Personal gemäß Guter Laborpraxis (GLP) gehandhabt werden:
  - Die Kalibratoren, Kontrollen und Mikrotiterplatten in diesem Kit enthalten Komponenten menschlichen Ursprungs. Obwohl sie in Tests für HBV, HCV und HIV1/2 negativ waren, müssen die Reagenzien als potenziell infektiös angesehen und gehandhabt werden.
  - Die Inkubationspuffer und die Enzymmarker enthalten potenziell infektiöse Stoffe tierischen Ursprungs.
- Dieses Kit enthält Komponenten, die gemäss Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 klassifiziert sind:
  - Die Stopp-Lösung enthält Schwefelsäure (Konz. 2,5-5 %), daher können die Reagenzien Hautreizung (H315) und schwere Augenreizung (H319) verursachen und für Metalle korrosiv sein (H290).
  - Die Kalibratoren und Kontrollen enthalten Gentamicinsulfat (Pulver), daher können die Reagenzien eine allergische Hautreaktion (H317) und beim Einatmen Allergie- oder Asthmasymptome oder Atembeschwerden verursachen (H334). Sie enthalten auch Thiomersal (Pulver), daher ist das Reagenz bei Verschlucken, bei Hautkontakt oder beim Einatmen lebensgefährlich (H300+H310+H330).
  - Der Inkubationspuffer und die Enzymmarker enthalten Gentamicinsulfat (Konz. < 1 %), daher können die Reagenzien eine allergische Hautreaktion (H317) verursachen.
- Kontakt der Reagenzien mit der Haut, den Augen oder den Schleimhäuten vermeiden. Im Falle eines Kontaktes sofort mit reichlich Wasser spülen, ansonsten kann eine Reizung/ Verätzungen auftreten.
- Die Reagenzien, Patientenproben und alle entsorgten Materialien müssen gemäß den nationalen Richtlinien und Bestimmungen für Biogefährdung als gefährlicher Abfall behandelt werden.

Technische Vorsichtsmassnahmen

- Vor der Durchführung des Tests die Anweisungen sorgfältig durchlesen. Die Testleistung wird negativ beeinflusst, wenn Reagenzien falsch verdünnt, verändert oder unter Bedingungen gelagert werden, die nicht denen in dieser Gebrauchsanweisung entsprechen.
- Die Komponenten dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt werden.
- Vermeiden Sie unter allen Umständen, dass es zu Kontaminationen zwischen verschiedenen Reagenzien, Proben und zwischen den Wells kommt.
- Mikrotiter-Wells dürfen nicht wiederverwendet werden.

ELISA-Verfahren

Temperatur der Reagenzien

- Vorbereitung der Reagenzien bevor Beginn der Testdurchführung. Schritt 3-9: Die in Schritt 3-9 verwendeten Reagenzien müssen kalt sein (2-8 °C) und beim Pipettieren und Waschen kalt gehalten werden. Empfehlung: den Waschpuffer am Tag vor der Durchführung des Assays zubereiten und über Nacht in den Kühl-schrank stellen.
- Alle Waschschritte mit kaltem(!) (2-8 °C) Waschpuffer durchführen.
- Das TMB-Substrat und die Stopp-Lösung zu Beginn des Assayverfahrens auf Raumtemperatur (18-28 °C) bringen.

Waschschritte

- Die Waschschritte 3, 6 und 9 sind zum Entfernen von Rückständen aus dem Herstellungsprozess und/oder möglicherweise nicht gebundenen Antikörper in den Wells äusserst wichtig.
- Ein Waschautomat im „Plattenmodus“ wird dringend empfohlen, d. h., dass jeder Schritt (Einfüllen/Absaugen) erst über die gesamte Platte ausgeführt wird, bevor mit dem nächsten Waschschritt fortgefahren wird.
- Nach dem letzten Waschzyklus müssen alle Wells vollständig leer sein.

Substratinkubation

- Schritt 11: Die Mikrotiterplatten während der Inkubation mit dem Substrat schütteln. Je nach Modell des Plattenschüttlers empfehlen wir 400-600 U/min. Die Lösung soll sich in den Wells bewegen, darf jedoch nicht überlaufen.

Zusätzliches Verdünnen der Probe

- Proben mit mehr als 70000 BTU können auf den analytischen Messbereich (> 1000 BTU, < 70000 BTU) verdünnt werden. Zum Verdünnen von Serumproben Inkubationspuffer verwenden.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG

Für das Verfahren werden < 0,1 mL Blut bzw. < 50 µL Serum benötigt.

Blut in Venenpunktionsröhrchen ohne Zusatzstoffe sammeln und dabei eine Hämolyse vermeiden. Die Serumaufbereitung gemäss den Anweisungen des Herstellers durchführen. Das Serum dekantieren.

Serumproben können bei 2-8 °C bis zu 16 Tage oder bei -20 °C bis zu 12 Monate aufbewahrt werden. Eingefrorene Proben müssen vor Gebrauch aufgetaut und durch behutsames Wirbeln oder Umwenden gründlich gemischt werden.
Wir empfehlen, vor den Einfrieren Aliquoten von Serumproben vorzubereiten, um wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen zu vermeiden.

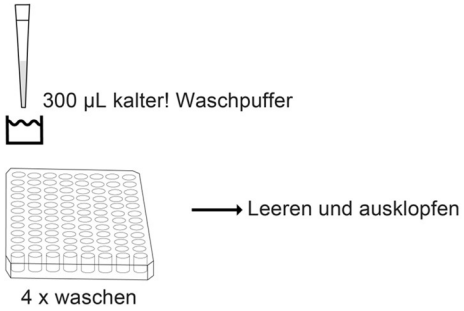
TESTDURCHFÜHRUNG

Anmerkung: Die TMB-Substratlösung auf Raumtemperatur (18-28 °C) bringen.

1. Die Proben 1:1000 mit Inkubationspuffer verdünnen. Z. B. 1 µL Serum + 1000 µL kalter(!) (2-8 °C) Inkubationspuffer. Gründlich vortexen und die verdünnten Proben sowie die rekonstituierten Kalibratoren und Kontrollen vor dem Pipettieren 30 Minuten bei 2-8 °C stehen lassen (Siehe Schritt 4a-c).
2. Einen Plattenrahmen mit ausreichend Streifen zum Testen der notwendigen Anzahl von Kalibratoren, Kontrollen und Proben vorbereiten. Überzählige Streifen aus dem Rahmen nehmen und sofort wieder zusammen mit den Trockenmittelpackungen im Folienbeutel verschliessen. Gekühlt lagern.

Anmerkung: In Schritt 3 bis 9 kalte Reagenzien verwenden.

3. Die Wells vier Mal mit mindestens 300 µL kaltem(!) (2-8 °C) Waschpuffer pro Well waschen. Die Wells leeren und die Platte fest auf Blottingpapier ausklopfen, um verbleibende Flüssigkeit vollständig zu entfernen.



Anmerkung: Sofort zu den nächsten Schritten übergehen.

4a. Zweifach 100 µL Inkubationspuffer (Blindprobe) pipettieren und

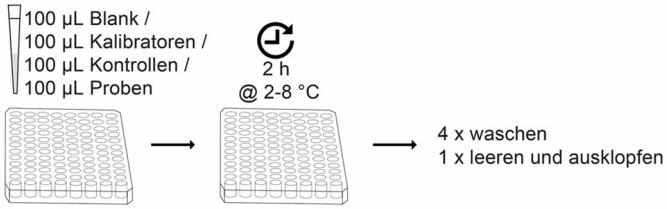
Zweifach 100 µL Kalibrator A-D in die entsprechenden Wells pipettieren.

4b. Zweifach 100 µL der Kontrollen tief and hoch in die entsprechenden Wells pipettieren.

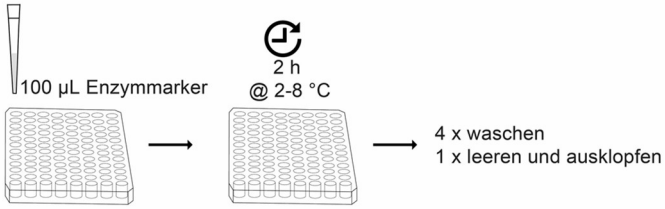
4c. Je 100 µL der verdünnten Proben in die nächsten Wells pipettieren.

5. Die Platte mit einer Abdeckfolie abdecken und 2 Stunden (± 5 min) bei 2-8 °C inkubieren (die Platte nicht schütteln).

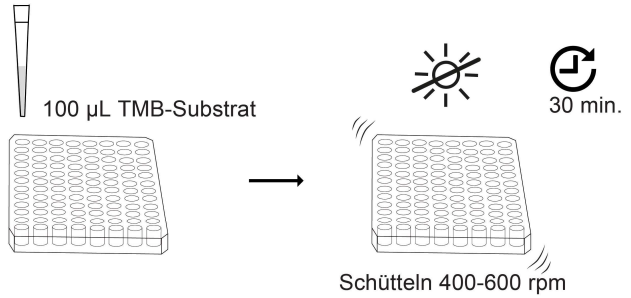
6. Die Abdeckfolie abnehmen. Die Wells leeren und vier Mal mit mindestens 300 µL kaltem(!) (2-8 °C) Waschpuffer pro Well waschen. Die Wells leeren und die Platte fest auf Blottingpapier ausklopfen, um den Waschpuffer vollständig zu entfernen.



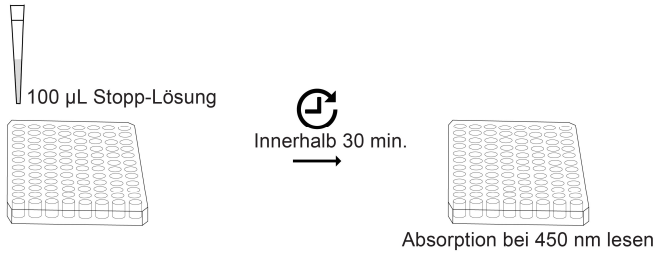
7. 100 µL Enzymmarker IgM zu jedem Well hinzugeben.
8. Die Platte mit einer Abdeckfolie abdecken und 2 Stunden (± 5 Minuten) bei 2-8 °C inkubieren (die Platte nicht schütteln).
9. Die Abdeckfolie abnehmen. Die Wells leeren und vier Mal mit mindestens 300 µL kaltem(!) (2-8 °C) Waschpuffer pro Well waschen. Die Wells leeren und die Platte fest auf Blottingpapier ausklopfen.



10. 100 µL TMB-Substratlösung (auf Raumtemperatur gebracht) zu jedem Well hinzugeben.
11. Die Platte mit einer Abdeckfolie abdecken, vor Licht schützen und bei 18-28 °C 30 ± 2 Minuten auf einem auf 400-600 U/min eingestellten Mikrotiterplatten-Schüttler inkubieren.



12. 100 µL Stopp-Lösung zu jedem Well hinzugeben. Vorhandene Luftbläschen mit einer Pipettenspitze entfernen. Innerhalb von 30 Minuten zu Schritt 13 übergehen.
13. Absorption in einem Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm messen.



QUALITÄTSKONTROLLE

Für den erfolgreichen Einsatz des Produktes ist eine gründliche Kenntnis der Gebrauchsanweisung notwendig. Zuverlässige Ergebnisse werden nur dann erzielt, wenn präzise Labortechniken verwendet werden, und die Gebrauchsanweisung genau befolgt wird.
In dem Kit des anti-MAG Antibodies ELISA sind zwei Kontrollen enthalten: Kontrolle tief und hoch. Den Kontrollen sind Wertbereiche zugeordnet, die auf dem QC Datenblatt zu finden sind, das dem Kit beigelegt ist. Gültige Ergebnisse werden nur erreicht, wenn die Kontrollmessungen innerhalb der angegebenen Wertbereiche liegen.
Wir empfehlen, zusätzlich zu den Kontrollen im Kit zur internen Qualitätssicherung Serum-Pools zu verwenden.
Die Reproduzierbarkeit der Standardkurvenparameter und Kontrollwerte sollte innerhalb gängiger Laborakzeptanzgrenzwerte liegen. Falls die Assayleistung den gängigen Grenzwerten nicht entspricht und Verfahrensfehler durch Wiederholung ausgeschlossen wurden, sind die folgenden Faktoren zu prüfen: *i)* Temperatursteuerung (die in Schritt 3-9 verwendeten Reagenzien wurden bei 2-8 °C

gehalten); *ii)* Genauigkeit der Thermometer sowie Pipettier- und Zeitmessgeräte; *iii)* Einstellungen des ELISA-Photometers; *iv)* Verfallsdatum der Reagenzien; *v)* Lagerungs- und Inkubationsbedingungen; *vi)* Farbe der TMB-Substratlösung (sollte farblos sein); *vii)* Wasserreinheit; *viii)* Absaug- und Waschverfahren.

STANDARDISIERUNG UND MESSTECHNISCHE RÜCKVERFOLGBARKEIT

Für Anti-MAG-Antikörper in Serumproben gibt es keine international oder national anerkannten Referenzmaterialien oder Referenz-Messverfahren. Der anti-MAG Antibodies ELISA wird gegen intern erstellte Referenzmaterialien standarisiert. Die Kalibrator- und Kontrollwerte werden gemäss einem Werteübertragungsprotokoll zugewiesen (Ref. 1, 2), um eine messtechnische Rückverfolgbarkeit zu gewährleisten, und in arbiträren BÜHLMANN Titer Units angegeben. Das 95 %-Konfidenzintervall der kombinierten Messunsicherheit von Produktkalibratoren und -kontrollen liegt unter 35 %.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Standardkurve

Das verwendete Software-Programm muss die folgenden Berechnungen durchführen können:

- Subtrahieren des OD-Werts der Blindprobe von jedem Kalibrator-Well, um den Kalibratorwert zu berechnen.
- Erstellen einer Standardkurve anhand einer Anpassung durch 4-Parameter-Logistik (4 PL).

Kontrollen und Proben

Das verwendete Software-Programm muss die folgenden Berechnungen durchführen können:

- Subtrahieren des OD-Werts der Blindprobe von jedem Kontroll-/Proben-Well. Den Anti-MAG-Antikörperwert in BTU der Kontrollen/Proben in jedem Well anhand der erstellten Standardkurve berechnen.

Anmerkung: Die Ergebnisse in Tabelle 6 und Abbildung 1 sind Beispiele und dienen nur der Anschauung. Für jeden zu testenden Probensatz muss eine Kalibrierungskurve erstellt werden.

LEISTUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

- Dieser Test wurde nicht für CSF und Plasmapherese validiert.
- Intravenöse Immunoglobuline (IVIg) und Kryoglobuline können die Testergebnisse beeinflussen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Ergebnis	Interpretation
< Toleranzgrenze	Negatives Ergebnis
≥ Toleranzgrenze	Positives Ergebnis (Indikation für Vorhandensein von Anti-MAG-Antikörpern)

Tabelle 3

Die Testergebnisse müssen in Verbindung mit Informationen aus der klinischen Beurteilung des Patienten und anderen diagnostischen Tests interpretiert werden.

REFERENZINTERVALLE UND TOLERANZGRENZEN

Das Referenzintervall des Tests anti-MAG Antibodies ELISA wurde gemäss CLSI EP28-A3 mit 141 Serumproben offensichtlich gesunden Individuen im Alter von 18 bis 70 Jahren ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Referenzinterval [BTU]	
2,5. Perzentil (90 % KI)	**97,5. Perzentil (90 % KI)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tabelle 4

Eintausend (1000) BTU ist eine gängige Toleranzgrenze, die in veröffentlichten Studien verwendet wir (Ref. 5, 6, 9). In der wissenschaftlichen Literatur (Ref. 3, 4, 7, 8, Tabelle 13) wurden auch abweichende Toleranzgrenzen verwendet, und Titerkategorien für positive Testergebnisse vorgeschlagen (Ref. 10).

LEISTUNGSMERKMALE

Leistungsmerkmale beruhen auf Mittelwertergebnissen von Doppelbestimmungen.

Wiederholbarkeit: 3,2 – 11,8 % VK

Laborinterne Präzision: 5,5 – 15,9 % VK

Die Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP05-A3 mit dem standardisierten Studiendesign 20 Tage x 2 Läufe x 2 Replikate ermittelt. Es wurden vier (4) gepoolte humane Serumproben getestet, die den Messbereich des Assays abdeckten.
Eine fünfte negative Probe bei 213 BTU ergab 79/80 Ergebnisse (98,8 %) innerhalb der Kategorie (< 1000 BTU). Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und 8 zusammengefasst.

Reproduzierbarkeit: 10,0 – 21,6% VK

Die Reproduzierbarkeit wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP05-A3 mithilfe von Messungen mit dem Studiendesign 3 Bediener x 3 Geräte/Chargen x 5 Tage x 5 Replikate ermittelt. Es wurden vier (4) gepoolte humane Serumproben getestet, die den Messbereich des Assays abdeckten. Eine fünfte negative Probe bei 55 BTU ergab 75/75 Ergebnisse (100,0 %) innerhalb der Kategorie (< 1000 BTU). Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 und 10 zusammengefasst.

Nachweisgrenze (LoD): 305 BTU

Die LoD wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP17-A2 mit Hilfe einer nichtparametrischen Analyse und mit Proportionen von falsch positiven Ergebnissen (α) unter 5 % und falsch negativen Ergebnissen (β) unter 5 % anhand 120 Bestimmungen mit 60 Blindproben und 60 niedrigwertigen Replikaten und einem **LoB von 138 BTU** ermittelt.

Hochdosis Hook-Effekt

Es können Proben mit Anti-MAG-Antikörperwerten von bis zu 2,8 x 10^5 BTU gemessen werden, ohne den Messbereich des Assays einzuschränken.

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität des anti-MAG Antibodies ELISA wurde für Proben getestet, denen eine Autoimmunerkrankung oder das Vorhandensein von Antikörpern zugeordnet wurde. Die Antikörper und die Anzahl der getesteten Proben sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Weitere Proben mit verschiedenen Mimiken der peripheren Neuropathie wurden ebenfalls mit dem anti-MAG Antibodies ELISA getestet und sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Eine (1) von vier (4) getesteten Proben von Patienten mit Morbus Waldenström war leicht seropositiv für Anti-MAG-Antikörper im Bereich von 1000-1500 BTU.

KLINISCHE LEISTUNG

Die klinische Leistung wurde durch Meta-Analyse wissenschaftlicher Literatur mit Peer-Review beurteilt. Sieben Studien befassten sich mit der klinischen Leistung des anti-MAG Antibodies ELISA bei der Diagnose von demyelinisierender peripherer Neuropathie mit monoklonaler IgM-Gammopathie (Ref. 3-9). Analyseergebnisse und Studiendetails befinden sich in Tabelle 5 bzw. Tabelle 13.

N Neuropathie	344
N Kontrollen	447
Empfindlichkeit (95 % KI)	58,9 % (47,2 – 69,6 %)
Spezifizität (95% KI)	98,2 % (89,7 – 99,7 %)
ROC AUC	0,75

Tabelle 5

KI - Konfidenzintervall
ROC AUC - Bereich unter der ROC-Kurve

STÖRSUBSTANZEN

Die Anfälligkeit des Assays anti-MAG Antibodies ELISA auf orale und injizierbare Pharmazeutika sowie auf endogene Substanzen wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP07-A3 beurteilt. Eine Abweichung der Ergebnisse von mehr als 20 % wurde als Störeinfluss betrachtet.

Für die folgenden Substanzen wurden bis zu den angegebenen Konzentrationen kein Störeinfluss festgestellt: intravenöses Immunoglobulin (20 mg/mL), Cladribin (273 ng/mL), Interferon alpha-2a (49,5 ng/mL), Ibuprofen (0,22 mg/mL), Rheumafaktor (680 IU/mL), Hämoglobin (10 mg/mL), Hämolysat (10 mg/mL), Triglycerid (20 mg/mL), konjugiertes Bilirubin (0,4 mg/mL), nicht konjugiertes Bilirubin (0,4 mg/mL).

TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Exemplarische Ergebnisse

	Wert [BTU]	Absorption [OD]	Berech. Wert [BTU]	VK [%]
Blindprobe 1		0,046		
Blindprobe 2		0,049		
Durchschnitt		**0,048**		
Kalibrator A	70000	2,195	70497	
Kalibrator A	70000	2,188	69508	
Durchschnitt	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Kalibrator B	15000	1,272	15313	
Kalibrator B	15000	1,245	14693	
Durchschnitt	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Kalibrator C	3000	0,417	3070	
Kalibrator C	3000	0,400	2931	
Durchschnitt	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Kalibrator D	1000	0,135	1009	
Kalibrator D	1000	0,132	991	
Durchschnitt	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Kontrolle TIEF		0,360	2602	
Kontrolle TIEF		0,376	2731	
Durchschnitt		**0,368**	**2666**	**3,1**
Kontrolle HOCH		1,395	18433	
Kontrolle HOCH		1,383	18090	
Durchschnitt		**1,389**	**18261**	**0,6**
Probe 1		0,001	255	
Probe 1		0,009	297	
Durchschnitt		**0,005**	**276**	**116,5**
Probe 2		1,092	11599	
Probe 2		0,969	9511	
Durchschnitt		**1,030**	**10555**	**8,5**

Tabelle 6

Beispiel für Standardkurve (OD_{450})

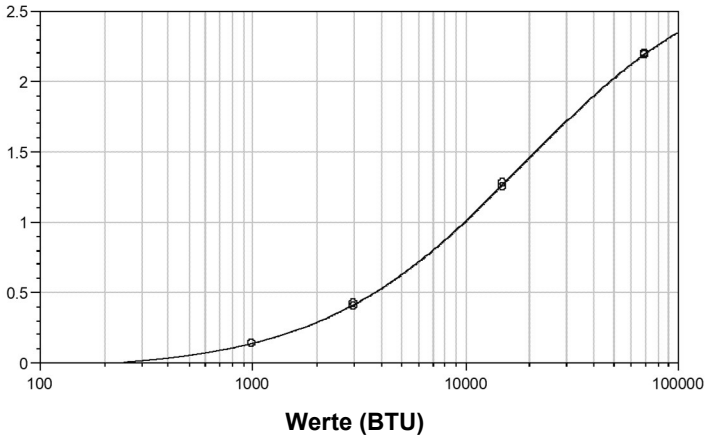


Abbildung 1

Laborinterne Präzision

ID	Mittelwert, BTU	n	Intra-Test		Zwischen verschiedenen Tests		Zwischen verschiedenen Tagen		Laborintern	
			SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
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

Tabelle 7

ID	Beschreibung	n	Mittelwert, BTU	% Innerhalb Kategorie
S1	< 1000 BTU (negativ)	80	213	98,8

Tabelle 8

Reproduzierbarkeit

ID	Mittelwert, BTU	n	Intra-Test		Zwischen verschiedenen Tests		Zwischen verschiedenen Tagen		Laborintern	
			SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
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

Tabelle 9

ID	Beschreibung	n	Mittelwert, BTU	% Innerhalb Kategorie
S1	< 1000 BTU (negativ)	75	55	100,0

Tabelle 10

Kreuzreaktivität

Antikörper		#
Anti-Neutrophile cytoplasmatischer Antikörper (ANCA)		13
Antinukleäre Antikörper (ANA)		23
Anti-Thyroglobulin Antikörper (anti-Tg)		5
Anti-ribonucleoprotein Antikörper		1
Anti-Gangliosid-Antikörper	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Anti-Acetylcholinrezeptor-Antikörper und Anti-muskelspezifische Tyrosinkinase Antikörper		7

Tabelle 11

Periphere Neuropathien	#
Alkoholiker/Alkoholismus	1
Diabetes	5
Periphere Neuropathie imitierende Erkrankungen	**#**
Amyotrophe Lateralsklerose	14
Chagas-Krankheit	5
Idiopathische periphere Neuropathie	1
Sarkoidose	4
Morbus Waldenström	4
Wegener-Granulomatose	1

Tabelle 12

TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Klinische Leistung

Studie	Positive Kontrollen	Negative Kontrollen	Toleranz-grenze	Empf.	Spez.
Kuijf et al., 2009	DPN +IgM MG (n = 68)	OPN + HC (n = 139)	1500 BTU	0,72	0,97
Mata et al., 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
Stork et al., 2014	DPN +IgM MG (n = 26)		1000 BTU	0,69	
Stork et al., 2016	DPN +IgM MG (n = 83)	HC (n=83)	1000 BTU	0,59	1,00
Taams et al., 2018	MGUS PN (n = 101)		1500 BTU	0,51	
Liberatore et al., 2020		OPN + HC (n = 222)	7000 BTU		1,00

Tabelle 13

DPN+IgM MG, demyelinisierende Polyneuropathie mit IgM monoklonaler Gammopathie; MGUS PN, Polyneuropathie assoziiert mit monoklonaler Gammopathie unbekannter Signifikanz; OPN, andere Polyneuropathie; HC, gesunde Kontrolle; HDC, hämatologisch erkrankte Kontrollen

KURZPROTOKOLL

Wichtig: Das Kurzprotokoll ist kein Ersatz für die detaillierten Informationen in der Gebrauchsanweisung.

Vor dem Testtag

Zubereitung des Waschpuffers

Waschpufferkonzentrat 1:10 mit entionisiertem Wasser verdünnen

↓

Empfehlung: Den Waschpuffer am Tag vor der Durchführung des Assays zubereiten und über Nacht in den Kühlschrank stellen.

Testtag

Proben / Kontrollen / Kalibratoren Vorbereitung

Serumproben 1:1000 mit (kaltem!) Inkubationspuffer verdünnen und durch Vortexen gründlich mischen

Rekonstituieren oder Auftauen von rekonstituierten (aliquotierten) Kontrollen und Kalibratoren

↓

30 Minuten bei 2-8 °C stehen lassen

anti-MAG Antibodies ELISA

Beschichtete Mikrotiterplatte

↓

4 x mit ≥300 µL (kaltem!) Waschpuffer waschen

100 µL Inkubationspuffer, Kalibratoren, Kontrollen oder Serumproben (1:1000)

↓

2 Stunden (± 5 Minuten) bei 2-8 °C inkubieren

4 x mit ≥300 µL (kaltem!) Waschpuffer waschen

100 µL Enzymmarker zugeben

↓

2 Stunden (± 5 Minuten) bei 2-8 °C inkubieren

4 x mit ≥300 µL (kaltem!) Waschpuffer waschen

100 µL TMB-Substrat zugeben

↓

30 Minuten (± 2 Minuten) bei 18-28 °C inkubieren auf einem Plattenschüttler bei ~400-600 U/min

100 µL Stopp-Lösung zugeben

→ **Extinktion bei 450 nm lesen (innerhalb von 30 Minuten)**

ZEIT BIS ZUM ERGEBNIS: 5 Stunden

REFERENZEN

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. Kuijf, 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).

ÄNDERUNGSLOG

Datum	Version	Änderung
2026-09-09	A5	Präzisieren von *Verwendungszweck* durch zusätzliche Informationen bezüglich der Testpopulation, der beabsichtigten Benutzer und der Testautomatisierung. Aktualisierung der Kapitel *Erforderliche nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien*, *Testdurchführung*, *Qualitätskontrolle*, *Klinische Leistung*, *Tabellen and Abbildungen* (Tabelle 12) und *Kurzprotokoll*. Überarbeitung der Kapitel *Warnhinweise und Vorsichtsmassnahmen* und *Symbole*. Aktualisierung des eIFU Symbols auf der Titelseite (trifft nur auf die englische Versions des Dokuments zu).

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

SCHÄDEN BEIM VERSAND

Bitte informieren Sie Ihren Vertriebspartner, falls dieses Produkt beim Empfang beschädigt war.

SYMBOLE

BÜHLMANN verwendet Symbole und Zeichen, die in ISO 15223-1 aufgeführt und beschrieben sind.
Eine Definition der Symbole finden Sie im Symbolglossar unter: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Darüber hinaus werden die folgenden Symbole und Zeichen verwendet:

Symbol	Erklärung
MP	Mikrotiterplatte
BUF INC	Inkubationspuffer
BUF WASH 10X	Waschpufferkonzentrat (10x)
CONTROL L	Kontrolle tief
CONTROL H	Kontrolle hoch
CAL A - CAL D	Kalibrator A - D
EL IgM	Enzymmarker IgM
SUBS TMB	TMB-Substrat
SOLN STOP	Stopp-Lösung

CE 0123