anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με τη μυελίνη

Για *In Vitro* Διαγνωστική Χρήση

EK-MAG 96 δοκιμασίες

Ημερομηνία Κυκλοφορίας: 2026-09-09
Έκδοση A5

Κατασκευαστής
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Ελβετία
Τηλέφωνο.: +41 61 487 12 12
Φαξ: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το anti-MAG Antibodies ELISA είναι μια *in vitro* διαγνωστική δοκιμασία για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων anti-MAG IgM σε δείγματα ανθρώπινου ορού ασθενών με συμπτώματα απομυελινωτικής περιφερικής νευροπάθειας ή/και ασθενών με IgM μονοκλωνική γαμμαπάθεια και νευρολογικά συμπτώματα. Η δοκιμασία προορίζεται ως βοήθημα στη διάγνωση της νευροπάθειας anti-MAG σε συνδυασμό με άλλα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.

Για εργαστηριακή χρήση μόνο από επαγγελματίες υγείας. Δεν είναι αυτοματοποιημένο.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Το anti-MAG Antibodies ELISA επιτρέπει τη μέτρηση των αντισωμάτων IgM έναντι της γλυκοπρωτεΐνης που σχετίζεται με τη μυελίνη (MAG) στον ορό με sandwich ELISA. Η πλάκα μικροτιτλοδότησης επικαλύπτεται με Κεκαθαρμένο MAG από ανθρώπινο εγκέφαλο. Οροί ασθενών, μάρτυρες, και βαθμονομητές προστίθενται στα βοθρία της πλάκα μικροτιτλοδότησης. Μετά από 2 ώρες επώασης στους 2-8 °C και βήματα πλύσης, ένα αντίσωμα ανίχνευσης συζευγμένο με υπεροξειδάση χρένου (HRP) ανιχνεύει τα αντισώματα anti-MAG που είναι συνδεδεμένα με το ανθρώπινο MAG στην πλάκα. Μετά από άλλες 2 ώρες επώασης και περαιτέρω στάδια πλύσης, το χρωμογόνο υπόστρωμα HRP, τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB), προστίθεται (σχηματισμός μπλε χρώματος) ακολουθούμενο από μια αντίδραση διακοπής (αλλαγή σε κίτρινο χρώμα). Η απορρόφηση μετράται στα 450 nm.

Το επίπεδο των αντισωμάτων anti-MAG προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας την καμπύλη βαθμονόμησης που δημιουργείται από τις μετρούμενες τιμές του βαθμονομητή και εκφράζεται ως μονάδα συγκέντρωσης BÜHLMANN (BTU).

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα	Κωδικός	Ανασύσταση
Πλάκα μικροτιτλοδότησης 96 βοθριων προεπικαλυμμένη με ανθρώπινο MAG	12 x 8 σειρές βοθρίων με πλαίσιο	B-MAG-MP	Έτοιμο για χρήση
Κάλυμμα πλάκας	3 τεμάχια	-	Έτοιμο για χρήση
Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x)	1 μπουκάλι x 100 mL	B-MAG-WB	Αραιώστε με 900 mL απιονισμένου νερού
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης με συντηρητικά	1 μπουκάλι x 100 mL	B-MAG-IB	Έτοιμο για χρήση
Βαθμονομητές Α έως Δ [1] λυοφιλοποιημένο με συντηρητικά	4 φιαλίδια	B-MAG-CASET	Προσθέστε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης
Χαμηλός και Υψηλός μάρτυρας[2] λυοφιλοποιημένο με συντηρητικά	2 φιαλίδια	B-MAG-CONSET	Προσθέστε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης
Σημασμένο ένζυμο IgM αντίσωμα αντι-ανθρώπινου IgM συζευγμένο με HRP σε ρυθμιστικό πλέγμα με συντηρητικά	1 φιαλίδιο x 11 mL	B-MAG-ELM	Ετοιμο για χρήση Μπλε διάλυμα
Υπόστρωμα TMB TMB σε κιτρικό ρυθμιστικό	1 φιαλίδιο x 11 mL	B-TMB	Ετοιμο για χρήση
Ανασχετικό διάλυμα 0,25 M θειικό οξύ	1 φιαλίδιο x 11 mL	B-STS	Ετοιμο για χρήση **Διαβρωτικός παράγοντας**

Πίνακας 1

[1] Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές A, B, C και D περιέχουν 70000, 15000, 3000 και 1000 μονάδες συγκέντρωσης BÜHLMANN (BTU) αντισωμάτων anti-MAG, αντίστοιχα.

[2] Οι μάρτυρες περιέχουν συγκεκριμένες ποσότητες αντισωμάτων αντι-MAG. Ανατρέξτε στο πρόσθετο φύλλο δεδομένων QC για τα πραγματικά επίπεδα.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Σφραγισμένα / κλειστά αντιδραστήρια	
Φυλάσσεται στους 2-8 °C. Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια πέρα από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.	
Ανοιγμένα / ανασυσταμένα αντιδραστήρια	
Μικρόπλακα	Επιστρέψτε τις αχρησιμοποίητες σειρές αμέσως στη θήκη από αλουμινόχαρτο που περιέχει τις συσκευασίες ξηραντικού και κλείστε ξανά κατά μήκος ολόκληρης της άκρης του φερμουάρ. Φυλάσσετε για έως και 3 μήνες στους 2-8 °C.
Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	Φυλάσσετε για έως και 3 μήνες στους 2-8 °C.
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	
Σημασμένο ένζυμο IgM	
Υπόστρωμα TMB	
Μάρτυρες	Επιμερισμός μετά την ανασύσταση και αποθήκευση στους ≤ -20 °C. Φυλάσσετε για έως και 3 μήνες στους ≤ -20 °C.[1]
Βαθμονομητές	
Ανασχετικό διάλυμα	Φυλάσσετε για έως και 3 μήνες στους 18-28 °C.

Πίνακας 2

[1] Οι ανασυσταθέντες βαθμονομητές και οι μάρτυρες μπορούν να υποβληθούν σε τρεις κύκλους κατάψυξης-απόψυξης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πιπέτες ακριβείας με ρύγχη μιας χρήσης: Πιπέτες 0,5-10 µL και 100-1000 µL
- Σωληνάρια μιας χρήσης από πολυστυρένιο ή πολυπροπυλένιο για την παρασκευή αραιώσεων δειγμάτων
- 1000 mL κύλινδρος για την αραίωση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης
- Πλυστικό μικρόπλακας
- απορροφητικό χαρτί
- Αναδευτής μικρόπλακας
- Φωτόμετρο πλάκα μικροτιτλοδότησης για μέτρηση απορρόφησης στα 450 nm

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Προφυλάξεις ασφαλείας

- Αυτή η δοκιμασία προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Συνιστάται ο χειρισμός της δοκιμασίας να γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό, σύμφωνα με τις Ορθές Εργαστηριακές Πρακτικές (GLP):
  - Οι βαθμονομητές, οι μάρτυρες και η πλάκα μικροτιτλοδότησης αυτού του κιτ περιέχουν συστατικά ανθρώπινης προέλευσης. Παρόλο που δοκιμάστηκαν και βρέθηκαν αρνητικά για HBV, HCV και HIV1/2, τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αντιμετωπίζονται σαν να μπορούν να μεταδώσουν λοιμώξεις.
  - Το ρυθμιστικό διάλυμα επώασης και το σημασμένο ένζυμο περιέχουν δυνητικά μολυσματικές ουσίες ζωικής προέλευσης.
- Αυτό το κιτ περιέχει συστατικά ταξινομημένα σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008:
  - Το ανασχετικό διάλυμα περιέχει θειικό οξύ (συγκ. 2,5-5 %), επομένως τα αντιδραστήρια μπορεί να προκαλέσουν ερεθισμό του δέρματος (H315), σοβαρό ερεθισμό των ματιών (H319) και μπορεί να είναι διαβρωτικά για τα μέταλλα (H290).
  - Οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες περιέχουν θειική γενταμυκίνη (σκόνη), επομένως, τα αντιδραστήρια μπορεί να προκαλέσουν αλλεργική δερματική αντίδραση (H317) και συμπτώματα αλλεργίας ή άσθματος ή δυσκολία στην αναπνοή εάν εισπνευστούν (H334). Και περιέχουν θειομερσάλη (σκόνη), επομένως, το αντιδραστήριο είναι θανατηφόρο σε περίπτωση κατάποσης, επαφής με, το δέρμα ή εισπνοής (H300+H310+H330).
  - Το ρυθμιστικό διάλυμα επώασης και το σημασμένο ένζυμο περιέχουν θειική γενταμικίνη (συγκ. < 1 %), επομένως τα αντιδραστήρια μπορεί να προκαλέσουν αλλεργική δερματική αντίδραση (H317).
- Αποφύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων με το δέρμα, τα μάτια ή τους βλεννογόνους. Εάν συμβεί επαφή, πλύνετε αμέσως με γενναιόδωρη ποσότητα νερού. Διαφορετικά, μπορεί να προκληθεί ερεθισμός/εγκαύματα.
- Τα αντιδραστήρια, τα δείγματα ασθενών και τυχόν απορριφθέντα υλικά πρέπει να αντιμετωπίζονται ως επικίνδυνα απόβλητα σύμφωνα με τις εθνικές κατευθυντήριες γραμμές ή τους κανονισμούς για την ασφάλεια από βιολογικούς κινδύνους.

Τεχνικές προφυλάξεις

- Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες πριν από τη διεξαγωγή της δοκιμής. Η απόδοση της δοκιμής θα επηρεαστεί αρνητικά, εάν τα αντιδραστήρια αραιωθούν, τροποποιηθούν ή φυλάσσονται λανθασμένα υπό συνθήκες διαφορετικές από αυτές που περιγράφονται στην παρούσα οδηγία χρήσης.
- Τα εξαρτήματα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.
- Μην αναμιγνύετε διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων.
- Θα πρέπει να καταβάλλεται κάθε δυνατή προσπάθεια για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ αντιδραστηρίων, δειγμάτων ή μεταξύ βοθρίων.
- Οι πλάκες δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν.

Διαδικασία ELISA

Θερμοκρασία αντιδραστηρίων

- Προετοιμάστε τα αντιδραστήρια πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία ανάλυσης. Βήματα 3-9: Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στα βήματα 3-9 πρέπει να είναι κρύα (2-8 °C) και να διατηρούνται κρύα κατά τη μεταφορά με πιπέτα και το πλύσιμο. Σύσταση: Προετοιμάστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης την ημέρα πριν από την εκτέλεση της ανάλυσης και βάλτε το στο ψυγείο όλη τη νύχτα.
- Εκτελέστε όλα τα βήματα πλύσης με κρύο(!) (2-8 °C) ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης.
- Ρυθμίστε το υπόστρωμα TMB και το ανασχετικό διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου (18-28 °C) στην αρχή της διαδικασίας ανάλυσης.

Βήματα πλύσης

- Τα βήματα πλύσης 3, 6 και 9 είναι κρίσιμα για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων που προκύπτουν από τη διαδικασία παραγωγής ή/και των δυνητικά μη δεσμευμένων αντισωμάτων στα βοθρία.
- Συνιστάται ανεπιφύλακτα ένα αυτοματοποιημένο πλυστικό που λειτουργεί σε "λειτουργία πλάκας", δηλαδή κάθε στάδιο της διαδικασίας (διανομή/αναρρόφηση) πραγματοποιείται σε όλες τις σειρές, διαδοχικά, πριν το όργανο συνεχίσει με τον επόμενο κύκλο πλύσης.
- Βεβαιωθείτε ότι όλα τα βοθρία είναι εντελώς άδεια μετά τον τελευταίο κύκλο πλύσης.

Επώαση υποστρώματος

- Βήμα 11: Ανακινήστε τις πλάκα μικροτιτλοδότησης κατά την επώαση με υπόστρωμα. Ανάλογα με το μοντέλο του αναδευτήρα πλάκας προτείνουμε 400-600 rpm. Το διάλυμα πρέπει να κινείται στα βοθρία αλλά δεν πρέπει να χυθεί.

Πρόσθετη αραίωση δείγματος

- Δείγματα που υπερβαίνουν τα 70000 BTU μπορούν να αραιωθούν στο εύρος αναλυτικών μετρήσεων (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Χρησιμοποιήστε ρυθμιστικό διάλυμα επώασης για αραίωση δειγμάτων ορού.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η διαδικασία απαιτεί < 0,1 mL αίματος ή < 50 µL ορού, αντίστοιχα.

Συλλέξτε αίμα σε απλούς σωλήνες φλεβοκέντησης χωρίς πρόσθετα και αποφύγετε την αιμόλυση. Εκτελέστε προετοιμασία ορού σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Μεταγγίστε τον ορό.

Τα δείγματα ορού μπορούν να αποθηκευτούν στους 2-8 °C για έως και 16 ημέρες ή στους -20 °C έως και 12 μήνες. Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να αποψύχονται και να αναμειγνύονται επιμελώς με απαλό στροβιλισμό ή αναστροφή πριν από τη χρήση.
Συνιστούμε να προετοιμάζετε δείγματα ορού πριν από την κατάψυξη προκειμένου να αποφευχθούν επαναλαμβανόμενοι κύκλοι κατάψυξης/απόψυξης.

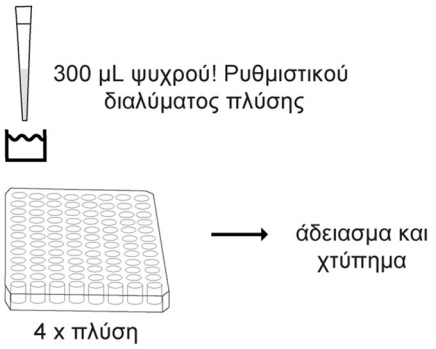
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

<u>Σημείωση:</u> Φέρτε το διάλυμα υποστρώματος TMB σε θερμοκρασία δωματίου (18-28 °C).

1. Αραιώστε τα δείγματα 1:1000 με ρυθμιστικό διάλυμα επώασης. Χρησιμοποιήστε π.χ. 1 µL ορού + 1000 µL κρύου(!) (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος επώασης. Αναδεύστε καλά με στροβιλισμό και αφήστε τα αραιωμένα δείγματα καθώς και τους ανασυσταθέντες βαθμονομητές και τους μάρτυρες στους <u>2-8 °C για 30 λεπτά</u> πριν από τη μεταφορά με πιπέτα (ανατρέξτε στα βήματα 4α - γ).
2. Προετοιμάστε ένα πλαίσιο πλάκας με επαρκείς σειρές για να δοκιμάσετε τον απαιτούμενο αριθμό βαθμονομητών, μαρτύρων και δειγμάτων. Αφαιρέστε τις περίσσιες λωρίδες από το πλαίσιο και ξανασφραγίστε το στη θήκη από αλουμινόχαρτο μαζί με τις συσκευασίες ξηραντικού <u>χωρίς καθυστέρηση</u>. Αποθηκεύεται στο ψυγείο.

<u>Σημείωση:</u> Χρησιμοποιήστε ψυχρά αντιδραστήρια στα βήματα 3 έως 9.

3. Πλύνετε τα βοθρία τέσσερις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 µL κρύου(!) (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρέσετε τελείως το υπόλοιπο υγρό.



<u>Σημείωση:</u> Προχωρήστε αμέσως στα επόμενα βήματα.

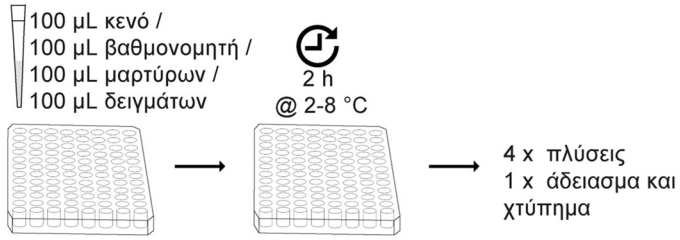
4a. Πιπετάρετε 100 µL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης (κενό) εις διπλούν και

Πιπετάρετε 100 µL βαθμονομητή A-D εις διπλούν στα αντίστοιχα βοθρία.

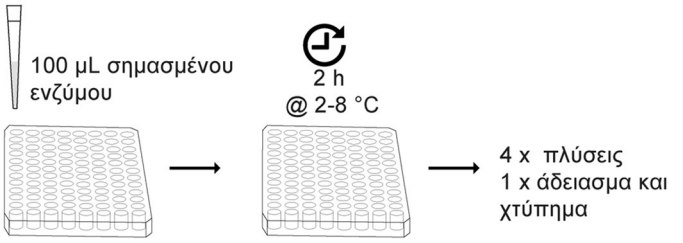
4b. Πιπετάρετε 100 µL του χαμηλού και υψηλού μάρτυρα εις διπλούν στα αντίστοιχα βοθρία.

4c. Πιπετάρετε 100 µL από κάθε αραιωμένο δείγμα στα επόμενα φρεάτια.

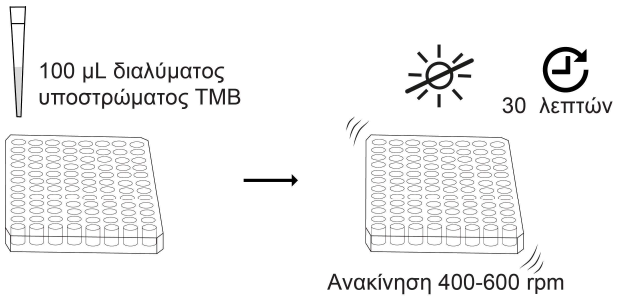
5. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα και επωάστε για 2 ώρες (± 5 λεπτά) στους 2-8 °C (μην ανακινείτε την πλακα).
6. Αφαιρέστε το στεγανοποιητικό πλάκας. Αδειάστε τα βοθρία και πλύνετε τέσσερις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 µL κρύου(!) (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρέσετε τελείως το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης.



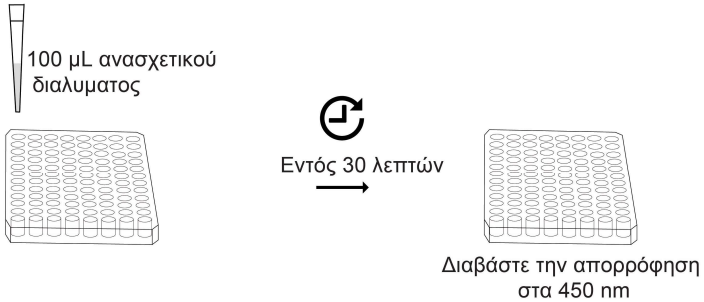
7. Προσθέστε 100 µL σημασμένου ενζύμου IgM σε όλα τα βοθρία.
8. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα και επωάστε για 2 ώρες (± 5 λεπτά) στους 2-8 °C (μην ανακινείτε την πλακα).
9. Αφαιρέστε το κάλυμμα της πλάκας. Πλύνετε τα βοθρία τέσσερις φορές χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 300 µL κρύου(!) (2-8 °C) ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βοθρίο. Αδειάστε τα βοθρία και χτυπήστε την πλάκα σταθερά πάνω σε απορροφητικό χαρτί.



10. Προσθέστε 100 µL διαλύματος υποστρώματος TMB (εξισορροπημένο σε θερμοκρασία δωματίου) σε κάθε βοθρίο.
11. Σφραγίστε την πλάκα με κάλυμμα προστατέψτε την πλάκα από το φως και επωάστε σε αναδευτήρα πλάκας που έχει ρυθμιστεί στις 400-600 rpm, στους 18-28 °C για 30 ± 2 λεπτά.



12. Προσθέστε 100 µL ανασχετικού διαλύματος σε όλα τα βοθρία. Αφαιρέστε τις φυσαλίδες αέρα με ένα ρύγχος πιπέτας. Προχωρήστε στο βήμα 13 μέσα σε 30 λεπτά.
13. Διαβάστε την απορρόφηση στα 450 nm σε συσκευή ανάγνωσης πλακών.



ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η πλήρης κατανόηση αυτών των οδηγιών χρήσης είναι απαραίτητη για την επιτυχή χρήση του προϊόντος. Αξιόπιστα αποτελέσματα θα ληφθούν μόνο με τη χρήση ακριβών εργαστηριακών τεχνικών και με ακρίβεια ακολουθώντας αυτήν την οδηγία χρήσης.
Το κιτ anti-MAG Antibodies ELISA συνοδεύεται από δυο μάρτηρες: χαμηλός και υψηλός μάρτυρας. Οι μάρτυρες έχουν εκχωρήσει εύρη τιμών που υποδεικνύονται στο φύλλο δεδομένων QC που παρέχεται με κάθε κιτ. Οι μάρτυρες πρέπει να βρίσκονται εντός των ενδεικνυόμενων τιμών για να ληφθούν έγκυρα αποτελέσματα.
Εκτός από τους μάρτυρες, συνιστούμε τη χρήση δεξαμενών ορού για εσωτερικό έλεγχο ποιότητας.
Η αναπαραγωγιμότητα των τυπικών παραμέτρων καμπύλης και των τιμών ελέγχου θα πρέπει να είναι εντός των καθορισμένων ορίων εργαστηριακής αποδοχής. Εάν η απόδοση της ανάλυσης δεν πληροί τα καθορισμένα όρια και η επανάληψη έχει αποκλείσει σφάλματα στην τεχνική, ελέγξτε τα ακόλουθα ζητήματα: *i)* έλεγχος θερμοκρασίας (αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στο βήμα 3-9 διατηρούνται στους 2-8 °C). *ii)* ακρίβεια των θερμομέτρων, συσκευές πιπέτας και χρονισμού. *iii)* Ρυθμίσεις αναγνώστη ELISA. *iv)* ημερομηνίες λήξης των αντιδραστηρίων. *v)* συνθήκες αποθήκευσης και επώασης. *vi)* το χρώμα του διαλύματος υποστρώματος TMB (θα πρέπει να είναι άχρωμο). *vii)* καθαρότητα νερού. *viii)* μέθοδοι αναρρόφησης και πλύσης.

ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑ

Δεν υπάρχουν διεθνώς ή εθνικά αναγνωρισμένα υλικά αναφοράς ή διαδικασίες μέτρησης αναφοράς για αντισώματα anti-MAG σε δείγματα ορού. Το anti-MAG Antibodies ELISA είναι τυποποιημένο έναντι ενός εσωτερικά καθιερωμένου υλικού αναφοράς. Οι τιμές του βαθμονομητή και του μάρτυρα εκχωρούνται σύμφωνα με ένα πρωτόκολλο μεταφοράς τιμής (αναφ. 1, 2), για την εγγύηση της μετρολογικής ιχνηλασιμότητας και υποδεικνύονται σε αυθαίρετες μονάδες συγκέντρωσης BÜHLMANN. Το διάστημα εμπιστοσύνης 95 % της συνδυασμένης αβεβαιότητας των βαθμονομητών προϊόντων και των μαρτύρων είναι χαμηλότερο από 35 %.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ

Τυπική καμπύλη

Χρησιμοποιήστε ένα πρόγραμμα λογισμικού ικανό για τους ακόλουθους υπολογισμούς:

- αφαιρέστε την κενή τιμή OD από κάθε βοθρίο βαθμονομητή για να υπολογίσετε την τιμή του βαθμονομητή.
- Δημιουργήστε μια τυπική καμπύλη χρησιμοποιώντας μια προσαρμογή λογιστικής 4 παραμέτρων (4 PL).

Μάρτυρες και δείγματα

Χρησιμοποιήστε ένα πρόγραμμα λογισμικού ικανό για τους ακόλουθους υπολογισμούς;

- αφαιρέστε την κενή τιμή OD από κάθε βοθρίο ελέγχου/δείγμα. Υπολογίστε το επίπεδο αντισώματος anti-MAG των μαρτύρων/δείγματος σε κάθε φρεάτιο, σε BTU, χρησιμοποιώντας την καθιερωμένη τυπική καμπύλη.

<u>Σημείωση:</u> Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 6 και στο σχήμα 1 είναι παραδείγματα και παρέχονται μόνο για σκοπούς επίδειξης. Πρέπει να δημιουργηθεί μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε σύνολο δειγμάτων προς δοκιμή.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Αυτή η δοκιμή δεν έχει επικυρωθεί για το ΕΝΥ και την πλασμαφαίρεση.
- Οι ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες (IVIg) και οι κρυοσφαιρίνες μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα των εξετάσεων.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
< όριο	Αρνητικό αποτέλεσμα
≥ όριο	Θετικό αποτέλεσμα (ένδειξη παρουσίας αντισωμάτων anti-MAG)

Πίνακας 3

Τα αποτελέσματα των εξετάσεων θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις διαθέσιμες πληροφορίες από την κλινική αξιολόγηση του ασθενούς και άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

ΔΙΑΣΤΉΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΟΡΙΑ

Το μεσοδιάστημα αναφοράς της δοκιμασίας anti-MAG Antibodies ELISA καθορίστηκε σύμφωνα με το CLSI EP28-A3 με 141 δείγματα ορού από φαινομενικά υγιή άτομα ηλικίας 18 έως 70 ετών. Τα αποτελέσματα δίνονται στον πίνακα 4.

Διάστημα αναφοράς [BTU]	
2,5th εκατοστημόριο (90 % CI)	**97,5th εκατοστημόριο (90 % CI)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Πίνακας 4

Χίλια (1000) BTU είναι ένα καθιερωμένο όριο και χρησιμοποιείται σε δημοσιευμένες μελέτες (αναφ. 5, 6, 9).
Οι αποκλίνουσες τιμές ορίου έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί στην επιστημονική βιβλιογραφία (αναφ. 3, 4, 7, 8, πίνακας 13) και έχουν προταθεί κατηγορίες τίτλων για θετικά αποτελέσματα δοκιμών (αναφ. 10).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης βασίζονται στα μέσα αποτελέσματα από 2 βοθρία.

Επαναληψιμότητα: 3,2 – 11,8 % CV

Ακρίβεια εντός του εργαστηρίου: 5,5 – 15,9 % CV

Η επαναληψιμότητα και η ακρίβεια εντός του εργαστηρίου καθορίστηκαν σύμφωνα με την οδηγία CLSI EP05-A3 χρησιμοποιώντας τον τυποποιημένο σχεδιασμό μελέτης 20 ημερών x 2 σειρές x 2 επαναλήψεις. Δοκιμάστηκαν τέσσερα (4) συγκεντρωμένα δείγματα ανθρώπινου ορού, που καλύπτουν το εύρος μέτρησης της δοκιμασίας.
Ένα πέμπτο αρνητικό δείγμα στις 213 BTU έδωσε 79/80 αποτελέσματα (98,8 %) εντός της κατηγορίας (< 1000 BTU). Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στους πίνακες 7 και 8.

Αναπαραγωγιμότητα: 10,0 – 21,6 % CV

Αναπαραγωγιμότητα καθιερώθηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP05-A3 εκτελώντας μετρήσεις χρησιμοποιώντας μελέτη μελέτης 3 χειριστές x 3 όργανα/παρτίδες x 5 ημέρες x 5 αντίγραφα. Δοκιμάστηκαν τέσσερα (4) συγκεντρωμένα δείγματα ανθρώπινου ορού, που καλύπτουν το εύρος μέτρησης της δοκιμασίας. Ένα πέμπτο αρνητικό δείγμα στα 55 BTU έδωσε 75/75 αποτελέσματα (100,0 %) εντός της κατηγορίας (< 1000 BTU). Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στους πίνακες 9 και 10.

Όριο ανίχνευσης (LoD): 305 BTU

Το LoD καθορίστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP17-A2 με τη χρήση μη παραμετρικής ανάλυσης με ποσοστό ψευδώς θετικών (α) μικρότερο από 5 % και ψευδώς αρνητικών (β) μικρότερο από 5 % με βάση 120 προσδιορισμούς, με 60 τυφλά και 60 επαναλήψεις χαμηλού επιπέδου, και ένα **LoB 138 BTU**.

Υψηλή δόση hook effect

Δείγματα με επίπεδα αντισωμάτων αντι-MAG έως $2,8 \times 10^5$ BTU μπορούν να μετρηθούν χωρίς περιορισμό του εύρους μέτρησης της ανάλυσης

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα της δοκιμασίας anti-MAG Antibodies ELISA ελέγχθηκε για δείγματα που αντιστοιχούσαν σε αυτοάνοσο νόσημα ή σε συσχετιζόμενη παρουσία αντισωμάτων. Τα αντισώματα και ο αριθμός των δειγμάτων που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 11.

Άλλα δείγματα με διαφορετικά μιμητικά της νόσου της περιφερικής νευροπάθειας εξετάστηκαν επίσης με το anti-MAG Antibodies ELISA και παρουσιάζονται στον πίνακα 12.

Ένα (1) από τα τέσσερα (4) εξετασθέντα δείγματα από ασθενείς με νόσο Waldenstrom ήταν ελαφρώς οροθετικό για αντισώματα αντι-MAG στο εύρος 1000-1500 BTU.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ

Η κλινική απόδοση αξιολογήθηκε με μετα-ανάλυση επιστημονικής βιβλιογραφίας με κριτές. Επτά μελέτες ασχολήθηκαν με την κλινική απόδοση του anti-MAG Antibodies ELISA στη διάγνωση της απομυελινωτικής περιφερικής νευροπάθειας με IgM μονοκλωνική γαμμαπάθεια (αναφ. 3-9). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης και οι λεπτομέρειες της μελέτης παρέχονται στον πίνακα 5 και στον πίνακα 13, αντίστοιχα.

N νευροπάθεια	344
N μάρτυρες	447
Ευαισθησία (95 % CI)	58,9 % (47,2 – 69,6 %)
Ειδικότητα (95 % CI)	98,2 % (89,7 – 99,7 %)
ROC AUC	0,75

Πίνακας 5

CI - διάστημα εμπιστοσύνης
ROC AUC - περιοχή κάτω από την χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας του δέκτη

ΠΑΡΕΜΒΑΙΝΟΥΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Η ευαισθησία της ανάλυσης Anti-MAG Antibodies ELISA σε από του στόματος και ενέσιμα φαρμακευτικά προϊόντα, καθώς και σε ενδογενείς ουσίες αξιολογήθηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια γραμμή CLSI EP07-A3. Η μεροληψία σε αποτελέσματα άνω του 20 % θεωρήθηκε παρεμβολή.

Δεν ανιχνεύθηκε παρεμβολή με τις ακόλουθες ουσίες μέχρι τις αναφερόμενες συγκεντρώσεις: ενδοφλέβια ανοσοσφαιρίνη (20 mg/mL), κλαδριβίνη (273 ng/mL), ιντερφερόνη άλφα-2a (49,5 ng/mL), ιβουπροφαίνη (0,22 mg/mL), ρευματοειδής παράγοντας (680 IU/mL), αιμοσφαιρίνη (10 mg/mL), αιμολυμένο (10 mg/mL), τριγλυκερίδιο (20 mg/mL), συζευγμένη χολερυθρίνη (0,4 mg/mL), μη συζευγμένη χολερυθρίνη (0,4 mg/mL).

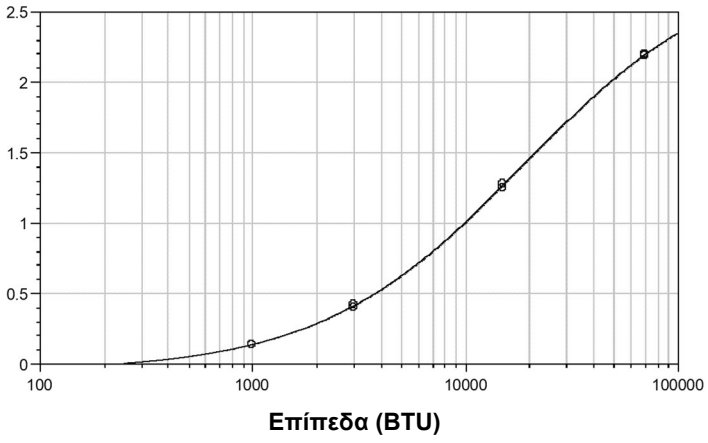
ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

Παράδειγμα αποτελεσμάτων

	Επίπεδο [BTU]	Απορρόφηση [OD]	Υπολογ. Επίπεδο [BTU]	CV [%]
Κενό 1		0,046		
Κενό 2		0,049		
Μέση τιμή		**0,048**		
Βαθμονομητής A	70000	2,195	70497	
Βαθμονομητής A	70000	2,188	69508	
Μέση τιμή	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Βαθμονομητής B	15000	1,272	15313	
Βαθμονομητής B	15000	1,245	14693	
Μέση τιμή	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Βαθμονομητής C	3000	0,417	3070	
Βαθμονομητής C	3000	0,400	2931	
Μέση τιμή	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Βαθμονομητής D	1000	0,135	1009	
Βαθμονομητής D	1000	0,132	991	
Μέση τιμή	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Χαμηλός μάρτυρας		0,360	2602	
Χαμηλός μάρτυρας		0,376	2731	
Μέση τιμή		**0,368**	**2666**	**3,1**
Υψηλός μάρτυρας		1,395	18433	
Υψηλός μάρτυρας		1,383	18090	
Μέση τιμή		**1,389**	**18261**	**0,6**
Δείγμα 1		0,001	255	
Δείγμα 1		0,009	297	
Μέση τιμή		**0,005**	**276**	**116,5**
Δείγμα 2		1,092	11599	
Δείγμα 2		0,969	9511	
Μέση τιμή		**1,030**	**10555**	**8,5**

Πίνακας 6

Παράδειγμα τυπικής καμπύλης (OD_{450})



Γράφημα 1

Εργαστηριακή ακρίβεια

AA	Μέσο επίπεδο, BTU	n	Εντός εκτέλεσης		Μεταξύ εκτελέσεων		Μεταξύ των ημερών		Εντός εργαστηρίου	
			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

Πίνακας 7

AA	Περιγραφή	n	Μέσο επίπεδο, BTU	% Εντός κατηγορίας
S1	< 1000 BTU (αρνητικό)	80	213	98,8

Πίνακας 8

Αναπαραγωγιμότητα

AA	Μέσο επίπεδο BTU	n	Εντός εκτέλεσης		Μεταξύ εκτελέσεων		Μεταξύ των ημερών		Εντός εργαστηρίου	
			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

Πίνακας 9

AA	Περιγραφή	n	Μέσο επίπεδο, BTU	% Εντός κατηγορίας
S1	< 1000 BTU (αρνητικό)	75	55	100,0

Πίνακας 10

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Αντισώματα		#
Αντι-ουδετερόφιλο κυτταροπλασματικό αντίσωμα (ANCA)		13
Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)		23
Αντισώματα κατά της θυρεοσφαιρίνης (anti-Tg)		5
Αντισώματα κατά της ριβονουκλεοπρωτεΐνης		1
Αντι-Γαγγλιοσίδη αντισώματα	αντι-GD1b	4
	αντι-GM1	3
	αντι-GQ1b	5
Αντισώματα κατά των υποδοχέων ακετυλοχολίνης και αντισώματα κατά της ειδικής για τους μυς κινάσης τυροσίνης		7

Πίνακας 11

Περιφερικές νευροπάθειες	#
Αλκοολικός/Αλκοολισμός	1
Διαβήτης	5
Περιφερική νευροπάθεια που μιμείται διαταραχές	**#**
Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση	14
Νόσος Chagas	5
Ιδιοπαθής περιφερική νευροπάθεια	1
Σαρκοείδωση	4
Νόσος Waldenstrom	4
Κοκκιομάτωση Wegener	1

Πίνακας 12

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΕΣ

Κλινική απόδοση

Μελέτη	Θετικοί μάρτυρες	Αρνητικοί μάρτυρες	Όριο	Ευαισθ.	Ειδικ.
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

Πίνακας 13

DPN+IgM MG, Απομυελινωτική πολυνευροπάθεια με μονοκλωνική γαμμοπάθεια IgM. MGUS PN, Πολυνευροπάθεια που σχετίζεται με μονοκλωνική γαμμαπάθεια άγνωστης σημασίας. OPN, άλλη πολυνευροπάθεια. HC, υγιής έλεγχος. HDC, αιματολογικά νοσούντα μάρτυρες

ΒΡΑΧΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Σημαντικό: Το βραχύ πρωτόκολλο δεν υποκαθιστά τις αναλυτικές πληροφορίες που περιγράφονται στην παρούσα οδηγία χρήσης.

Πριν από την ημέρα της δοκιμής

Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης

Αραιώστε το συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε αναλογία 1:10 με απιονισμένο νερό

↓

Σύσταση: ετοιμάστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης την ημέρα πριν από την εκτέλεση του προσδιορισμού και τοποθετήστε το στο ψυγείο όλη τη νύχτα.

Ημέρα δοκιμής

Προετοιμασία Δειγμάτων / Οροί ελέγχου / Βαθμονομητών

Αραιώστε τα δείγματα ορού 1:1000 με (ψυχρό!) ρυθμιστικό διάλυμα επώασης και αναμείξτε καλά με vortex

Ανασύσταση ή απόψυξη των (απομονωμένων) ανασυγκροτημένων ορών ελέγχου και βαθμονομητών

↓

αφήστε 30 λεπτά στους 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Προεπικαλυμμένη πλάκα

↓

πλύση 4 x με ≥ 300 µL (ψυχρό!) ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

100 µL ρυθμιστικού διαλύματος επώασης, βαθμονομητές, μάρτυρες ή δείγματα ορού (1:1000)

↓

Επώαση 2 ώρες (± 5 min) στους 2-8 °C

↓

πλύση 4 x με ≥ 300 µL (ψυχρό!) ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

Προσθήκη 100 µL σημασμένου ενζύμου

↓

Επώαση 2 ώρες (± 5 min) στους 2-8 °C

↓

πλύση 4 x με ≥ 300 µL (ψυχρό!) ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

Προσθήκη 100 µL υποστρώματος TMB

↓

Επώαση 30 λεπτών (± 2 min) στους 18-28 °C
Σε αναδευτήρα πλάκας ~400-600 rpm

Προσθήκη 100 µL ανασχετικού διαλύματος

➡ **Ανάγνωση απορρόφησης στα 450 nm (εντός 30 λεπτών)**

ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ: 5 ΩΡΕΣ

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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).

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΛΛΑΓΩΝ

Ημερομηνία	Εκδοχή	Αλλαγή
2026-09-09	A5	Ακρίβεια του κεφαλαίου *Προβλεπόμενη* χρήση με την προσθήκη πληροφοριών σχετικά με τον πληθυσμό δοκιμασίας, τον προβλεπόμενο χρήστη και την αυτοματοποίηση δοκιμασίας. Ενημέρωση των κεφαλαίων *Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται*, *Διαδικασία δοκιμασίας*, *Έλεγχος ποιότητας*, *Κλινική απόδοση*, *Πίνακες και γραφήματα* (Πίνακας 12) και *Βραχύ πρωτόκολλο*. Αναθεώρηση των κεφαλαίων *Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις* και *Σύμβολα*. Ενημέρωση του συμβόλου eIFU στο εξώφυλλο (ισχύει μόνο για την αγγλική έκδοση του εγγράφου).

ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΑ ΚΡΑΤΗ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΕΕ

Εάν έχει συμβεί οποιοδήποτε σοβαρό περιστατικό σε σχέση με αυτήν τη συσκευή, αναφέρετε χωρίς καθυστέρηση στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή του κράτους μέλους σας.

ΖΗΜΙΑ ΑΠΟΣΤΟΛΗΣ

Παρακαλούμε ενημερώστε τον διανομέα σας, εάν αυτό το προϊόν παραλήφθηκε κατεστραμμένο.

ΣΥΜΒΟΛΑ

Η BÜHLMANN χρησιμοποιεί σύμβολα και σημεία που παρατίθενται και περιγράφονται στο ISO 15223-1.
Για τον ορισμό των συμβόλων δείτε το γλωσσάριο συμβόλων στη διεύθυνση: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Επιπλέον, χρησιμοποιούνται τα ακόλουθα σύμβολα και σημεία:

Σύμβολο	**Εξήγηση**
MP	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
BUF INC	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
BUF WASH 10X	Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x)
CONTROL L	Χαμηλός Μάρτυρας
CONTROL H	Υψηλός Μάρτυρας
CAL A - CAL D	Βαθμονομητής A - D
EL IgM	Σημασμένο Ένζυμο IgM
SUBS TMB	Υπόστρωμα TMB
SOLN STOP	Ανασχετικό διάλυμα

CE 0123