anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Glycoprotéine associée à la myéline

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*

EK-MAG 96 tests

Date de publication: 2026-09-09
Version A5

Fabricant
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Suisse
Tél.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

FRANCAIS

UTILISATION PRÉVUE

Le test anti-MAG Antibodies ELISA est un test de diagnostic *in vitro* destiné à la détermination semi-quantitative des anticorps IgM anti-MAG dans des échantillons de sérum humain de patients atteints de symptômes de neuropathie périphérique démyélinisante et/ou de patients atteints de gammapathie monoclonale à IgM et de symptômes neurologiques. Le dosage est destiné à aider au diagnostic de la neuropathie anti-MAG en association avec d'autres résultats cliniques et analyses de laboratoires.
Pour utilisation en laboratoire par des professionnels de santé uniquement. Non automatisé.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le test anti-MAG Antibodies ELISA permet la mesure des anticorps IgM dirigés contre la glycoprotéine associée à la myéline (MAG) dans le sérum par ELISA sandwich. La plaque de microtitration est coatée de MAG purifiée issue provenant de cerveau humain. Les sérums de patient, les contrôles et les calibrateurs sont ajoutés aux puits de la plaque de microtitration. Après 2 heures d'incubation à 2-8 °C et des étapes de lavage, un anticorps de détection conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) détecte les anticorps anti-MAG liés à la MAG humaine sur la plaque. Après 2 nouvelles heures d'incubation et des étapes de lavage supplémentaires, le substrat chromogène de la HRP, la tétraméthylbenzidine (TMB), est ajouté. La solution prend une coloration bleue qui vire au jaune après l'ajout de la solution stop. L'absorbance est mesurée à 450 nm.
Le niveau des anticorps anti-MAG est déterminé en utilisant la courbe d'étalonnage générée à partir des valeurs mesurées de calibrateurs et est exprimé en unités de titre BÜHLMANN (BTU).

RÉACTIFS FOURNIS ET PRÉPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Reconstitution
Plaque de microtitration 96 puits pré-coatés de MAG humaine	12 x 8-barrettes de 8 puits avec support	B-MAG-MP	Prêt à l'emploi
Film adhésif	3 exemplaires	-	Prêt à l'emploi
Tampon de lavage concentré (10x)	1 flacon x 100 mL	B-MAG-WB	A diluer avec 900 mL d'eau déionisée
Tampon d'incubation avec conservateurs	1 flacon x 100 mL	B-MAG-IB	Prêt à l'emploi
Calibrateurs A à D[1] lyophilisés avec conservateurs	4 flacons	B-MAG-CASET	Ajouter 1 mL de tampon d'incubation
Contrôles bas et haut[2] lyophilisés avec conservateurs	2 flacons	B-MAG-CONSET	Ajouter 1 mL de tampon d'incubation
Marqueur enzymatique IgM anticorps anti-IgM humain conjugué à la HRP dans un tampon de matrice contenant des conservateurs	1 flacon x 11 mL	B-MAG-ELM	Prêt à l'emploi Solution bleue
Substrat TMB TMB dans un tampon citrate	1 flacon x 11 mL	B-TMB	Prêt à l'emploi
Solution stop acide sulfurique 0,25 M	1 flacon x 11 mL	B-STS	Prêt à l'emploi **Agent corrosif**

Tableau 1

[1] Après reconstitution, les calibrateurs A, B, C et D contiennent respectivement 70000, 15000, 3000 et 1000 unités de titre BÜHLMANN (BTU) d'anticorps anti-MAG.
[2] Les contrôles contiennent des quantités d'anticorps anti-MAG spécifiques à chaque lot. Se référer à la fiche technique de contrôle qualité pour connaître les niveaux réels.

CONSERVATION ET PÉREMPTION DES RÉACTIFS

Réactifs scellés / non ouverts	
Stocker à 2-8 °C. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption figurant sur les étiquettes.	
Réactifs ouverts / reconstitués	
Plaque de microtitration	Replacer immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette contenant les sachets de dessiccateur puis refermer soigneusement le joint d'étanchéité. Stocker jusqu'à 3 mois à 2-8 °C.
Tampon de lavage dilué	Stocker jusqu'à 3 mois à 2-8 °C.
Tampon d'incubation	
IgM marqueur enzymatique	
Substrat TMB	
Contrôles	Après reconstitution, conserver sous forme d'aliquots à ≤ -20 °C. Stocker jusqu'à 3 mois à ≤ -20 °C.[1]
Calibrateurs	
Solution stop	Stocker jusqu'à 3 mois à 18-28 °C.

Tableau 2

[1] Les calibrateurs et contrôles reconstitués peuvent être soumis à trois cycles de congélation-décongélation au cours de ces 3 mois.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipettes de précision à pointes jetables : pipettes de 0,5-10 µL et 100-1000 µL
- Tubes jetables en polypropylène ou polystyrène pour la préparation des dilutions d'échantillons
- Éprouvette graduée de 1000 mL pour la dilution du tampon de lavage
- Laveur de plaques de microtitration
- Papier absorbant
- Agitateur de plaques de microtitration
- Lecteur de plaques de microtitration pour la mesure de l'absorbance à 450 nm

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions de sécurité

- Ce test est uniquement pour une utilisation en diagnostic *in vitro.*
- Il est recommandé que le test soit réalisé par du personnel qualifié, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL) :
  - Les calibrateurs, les contrôles et la plaque de microtitration du présent kit contiennent des composants d'origine humaine. Bien qu'ils aient été testés négatifs au VHB, au VHC et au VIH1/2, les réactifs doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux.
  - Le tampon d'incubation et le marqueur enzymatique contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine animale.
- Ce kit contient des composants classés conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 :
  - La solution stop contient de l'acide sulfurique (conc. 2,5-5 %) ; ainsi, les réactifs peuvent provoquer une irritation cutanée (H315), une irritation oculaire grave (H319), et peuvent être corrosifs pour les métaux (H290).
  - Les calibrateurs et les contrôles contiennent du sulfate de gentamicine (en poudre) ; ainsi, les réactifs peuvent provoquer une allergie cutanée (H317) ainsi que des symptômes d'allergie ou d'asthme ou des difficultés respiratoires en cas d'inhalation (H334). Ils contiennent également du thiomersal (en poudre) ; ainsi, le réactif est mortel en cas d'ingestion, par contact cutané ou par inhalation (H300+H310+H330).
  - Le tampon d'incubation et le marqueur enzymatique contiennent du sulfate de gentamicine (conc. < 1 %) ; ces réactifs peuvent provoquer une allergie cutanée (H317).
- Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact accidentel, rincer immédiatement à grande eau pour éviter tout risque d'irritation/ brûlures.
- Traiter les réactifs, les échantillons des patients ainsi que tout matériel éliminé comme des déchets dangereux conformément aux réglementations de sécurité nationales relatives aux substances présentant un risque biologique.

Précautions techniques

- Lire attentivement les instructions avant de réaliser le test. Les performances du test seront dégradées par une altération ou une mauvaise dilution des réactifs, ou si ces derniers sont stockés dans des conditions ne respectant pas les instructions d'utilisation ci-détaillées.
- Chaque composant ne doit pas être utilisé après la date de péremption imprimée sur les étiquettes.
- Ne pas mélanger les réactifs issus de lots différents.
- S'assurer impérativement qu'aucune contamination entre réactifs, échantillons ou puits ne se produit.
- Les micropuits ne peuvent pas être réutilisés.

Procédure ELISA

Température des réactifs

- Préparer les réactifs avant de démarrer la procédure de dosage. Étapes 3-9 : Les réactifs utilisés dans les étapes 3 à 9 doivent être froids (2-8 °C) et maintenus à basse température lors du pipetage et du lavage. Recommandation : Préparer le tampon de lavage le jour qui précède la réalisation du dosage et le placer au réfrigérateur pendant une nuit.
- Réaliser toutes les étapes de lavage avec du tampon de lavage froid(!) (2-8 ˚C).
- Equilibrer le substrat TMB et la solution stop à température ambiante (18-28 °C) au début de la procédure de dosage.

Étapes de lavage

- Les étapes de lavage 3, 6 et 9 sont cruciales pour éliminer les résidus résultant du processus de production et/ou les éventuels anticorps potentiellement non liés dans les puits.
- Un laveur automatique fonctionnant en « mode plaque » est fortement recommandé : chaque étape du processus (distribution/aspiration) est ainsi mise en œuvre sur la totalité des barrettes, séquentiellement, avant que l'instrument ne passe au cycle de lavage suivant.
- Vérifier que tous les puits sont complètement vides après le dernier cycle de lavage.

Incubation du substrat

- Étape 11 : agiter les plaques de microtitration pendant l'incubation avec le substrat. En fonction du modèle d'agitateur de plaque, une vitesse de 400 à 600 rpm est recommandée. La solution doit bouger dans les puits sans déborder ni se renverser.

Dilution supplémentaire des échantillons

- Les échantillons de plus de 70000 BTU peuvent être dilués dans la gamme de mesure analytique (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Utiliser le tampon d'incubation pour diluer les échantillons de sérum.

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

La procédure exige respectivement < 0,1 mL de sang ou < 50 µL de sérum.

Prélever le sang dans des tubes pour ponction veineuse simples sans aucun additif et éviter toute hémolyse. Préparer le sérum conformément aux instructions du fabricant. Décanter le sérum.

Les échantillons de sérum peuvent être conservés à 2-8 °C jusqu'à 16 jours ou à -20 °C jusqu'à 12 mois. Les échantillons congelés doivent être décongelés et mélangés soigneusement par rotation ou retournement à faible vitesse avant utilisation.
Il est recommandé de préparer des aliquots d'échantillons de sérum avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation/décongélation.

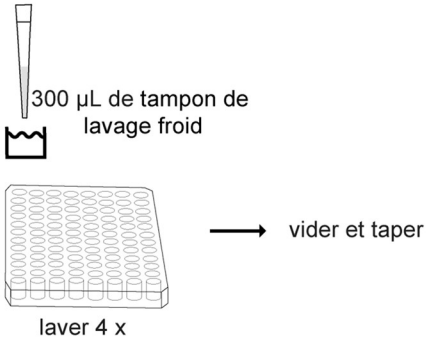
PROCEDURE DE DOSAGE

<u>Remarque :</u> Équilibrer la solution de substrat TMB à température ambiante (18-28 °C).

1. Diluer les échantillons au 1/1000e avec du tampon d'incubation. Utiliser p. ex. 1 µL de sérum + 1000 µL de tampon d'incubation froid(!) (2-8 °C). Mélanger soigneusement au vortex et conserver les échantillons dilués, ainsi que les calibrateurs et contrôles reconstitués, à <u>2-8 °C pendant 30 minutes</u> avant pipetage (se référer aux étapes 4a-c).
2. Préparer un support de plaque avec un nombre de barrettes suffisant pour tester le nombre requis de calibrateurs, de contrôles et d'échantillons. Retirer les barrettes en surplus du support et les replacer <u>immédiatement</u> dans la pochette prévue à cet effet contenant les sachets de dessiccateur. Conserver au réfrigérateur.

<u>Remarque :</u> Utiliser des réactifs froids dans les étapes 3 à 9.

3. Laver les puits quatre fois avec au moins 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant pour éliminer complètement le liquide restant.



<u>Remarque :</u> Continuer sans interruption avec l'étape suivante.

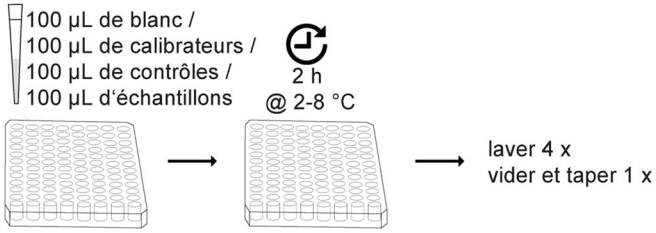
4a. Pipeter 100 µL de tampon d'incubation (blanc) en duplicat et

Pipeter 100 µL des calibrateurs A-D en duplicat dans les puits correspondants.

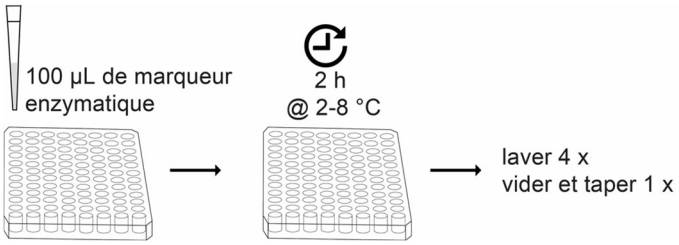
4b. Pipeter 100 µL des contrôles bas et haut en duplicat dans les puits correspondants.

4c. Pipeter 100 µL de chaque échantillon dilué dans les puits suivants.

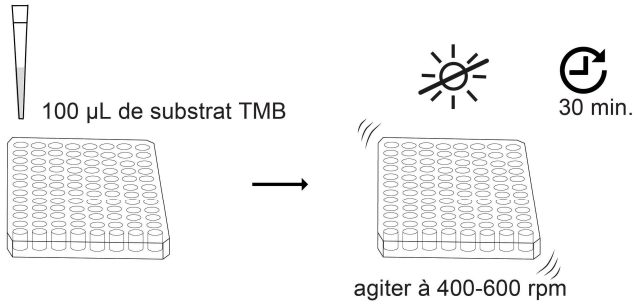
5. Recouvrir la plaque d'un film adhésif et incuber pendant 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C (ne pas secouer la plaque).
6. Retirer le film adhésif de la plaque. Vider les puits et les laver quatre fois avec au moins 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant pour éliminer complètement le tampon de lavage.



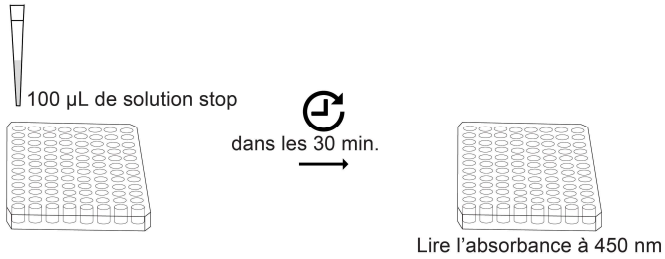
7. Ajouter 100 µL de marqueur enzymatique IgM dans tous les puits.
8. Recouvrir la plaque d'un film adhésif et incuber pendant 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C (ne pas secouer la plaque).
9. Retirer le film adhésif de la plaque. Vider les puits et les laver quatre fois avec au moins 300 µL de tampon de lavage froid(!) (2-8 °C) par puits. Vider les puits et taper fermement la plaque sur le papier absorbant.



10. Ajouter 100 µL de solution de substrat TMB (équilibré à la température ambiante) dans chaque puits.
11. Recouvrir la plaque d'un film adhésif, protéger la plaque de la lumière et incuber sur un agitateur de plaque réglé à 400-600 rpm, à 18-28 °C pendant 30 ± 2 minutes.



12. Ajouter 100 µL de solution stop dans chaque puits. Retirer les bulles d'air avec une pointe de pipette. Passer à l'étape 13 dans les 30 minutes qui suivent.
13. Lire l'absorbance à 450 nm à l'aide d'un lecteur de plaques de microtitration.



CONTRÔLE DE QUALITÉ

Une compréhension approfondie des présentes instructions d'utilisation est recommandée pour l'utilisation correcte du produit. Des résultats fiables ne seront obtenus qu'en utilisant des techniques de laboratoire précises et en suivant scrupuleusement ces instructions d'utilisation.
Le coffret anti-MAG Antibodies ELISA est livré avec deux contrôles, bas et haut. Les valeurs des contrôles sont comprises dans des gammes de valeurs qui sont indiquées sur la fiche de contrôle qualité fournie dans chaque coffret. Les mesures des contrôles doivent être comprises dans les gammes de valeurs indiquées pour obtenir des résultats valides.
En plus des contrôles fournis dans le coffret, nous recommandons d'utiliser des pools de sérum comme contrôle de qualité interne.
La reproductibilité des paramètres de la courbe d'étalonnage et des valeurs de contrôle doit se situer dans les limites d'acceptabilité établies par le laboratoire. Si les performances du dosage ne répondent pas aux limites établies et que la répétition a exclu les erreurs liées aux manipulations techniques, vérifier les points suivants : *i)* contrôle de la température (réactifs utilisés dans les étapes 3 à 9 conservés à 2-8 °C) ; *ii)* précision des thermomètres, des dispositifs de pipetage et de chronométrage ; *iii)* paramètres du lecteur ELISA ; *iv)* dates de péremption des réactifs ; *v)* conditions de stockage et d'incubation ; *vi)* couleur de la solution de substrat TMB (doit être incolore) ; *vii)* pureté de l'eau ; *viii)* méthodes d'aspiration et de lavage.

STANDARDISATION ET TRAÇABILITE METROLOGIQUE

Il n'existe pas de matériel de référence ou de procédures de mesure de référence reconnues au niveau national ou international pour les anticorps anti-MAG dans les échantillons de sérum. Le test anti-MAG Antibodies ELISA est normalisé par rapport à un matériel de référence établi en interne. Les valeurs des calibrateurs et des contrôles sont attribuées selon un protocole de transfert de valeur (réf. 1, 2) pour garantir la traçabilité métrologique et sont indiquées en unités titre BÜHLMANN arbitraires. L'intervalle de confiance à 95 % de l'incertitude combinée des calibrateurs et des contrôles produits est inférieur à 35 %.

CALCUL DES RÉSULTATS DU TEST

Courbe d'étalonnage

Utiliser un logiciel capable d'effectuer les calculs suivants :

- Soustraire la valeur de DO des blancs de chaque puits de calibrateur pour calculer la valeur de calibrateur.
- Etablir une courbe d'étalonnage en utilisant un ajustement logistique à 4 paramètres (4 PL).

Contrôles et échantillons

Utiliser un logiciel capable d'effectuer les calculs suivants :

- Soustraire la valeur de DO des blancs de chaque puits de contrôle/d'échantillon. Calculer le niveau d'anticorps anti-MAG des contrôles/de l'échantillon dans chaque puits, en BTU, en utilisant la courbe d'étalonnage établie.

<u>Remarque :</u> Les résultats présentés dans le tableau 6 et la figure 1 sont des exemples qui sont uniquement fournis à titre de démonstration uniquement. Une courbe d'étalonnage doit être générée pour chaque ensemble d'échantillons à tester.

LIMITES

- Ce test n'a pas été validé pour le LCR, ni la plasmaphérèse.
- Les immunoglobulines intraveineuses (IVIg) et les cryoglobulines peuvent affecter les résultats du test.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat	Interprétation
< seuil	Résultat négatif
≥ seuil	Résultat positif (indication de la présence d'anticorps anti-MAG)

Tableau 3

Les résultats des tests doivent être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.

INTERVALLES DE RÉFÉRENCE ET VALEUR SEUIL

L'intervalle de référence du test anti-MAG Antibodies ELISA a été établi selon la directive EP28-A3 du CLSI avec 141 échantillons sériques d'individus apparemment sains âgés de 18 à 70 ans. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Intervalle de référence [BTU]	
2,5^{e} centile (IC à 90%)	**97,5^{e} centile (IC à 90%)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tableau 4

Mille (1000) BTU constitue un seuil établi et utilisé dans des études publiées (réf. 5, 6, 9).
Des valeurs seuils divergentes ont également été utilisées dans la littérature scientifique (réf. 3, 4, 7, 8, tableau 13) et des catégories de titres pour les résultats de test positifs ont été proposées (réf. 10).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance se basent sur la moyenne des résultats de 2 puits.

Répétabilité : 3,2 – 11,8 % CV

Précision intra-laboratoire : 5,5 – 15,9 % CV

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été établies selon la directive EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude normalisé de 20 jours x 2 analyses x 2 réplicats. Quatre (4) échantillons de sérum humain réunis, couvrant la gamme de mesure du dosage, ont été testés. Un cinquième échantillon négatif à 213 BTU a abouti à des résultats 79/80 (98,8 %) dans sa catégorie (< 1000 BTU). Les résultats sont résumés dans les tableaux 7 et 8.

Reproductibilité : 10,0 – 21,6 % CV

La reproductibilité a été établie selon la directive EP05-A3 du CLSI en réalisant les mesures à l'aide d'un modèle d'étude 3 opérateurs x 3 instruments/lots x 5 jours x 5 réplicats. Quatre (4) échantillons de sérum humain réunis, couvrant la gamme de mesure du dosage, ont été testés. Un cinquième échantillon négatif à 55 BTU a abouti à des résultats 75/75 (100,0%) dans sa catégorie (< 1000 BTU). Les résultats sont résumés dans les tableaux 9 et 10.

Limite de détection (LoD) : 305 BTU

La LoD a été établie selon la directive EP17-A2 du CLSI à l'aide d'une analyse non paramétrique et avec une proportion de faux positifs (α) inférieure à 5 % et de faux négatifs (β) inférieure à 5 % à partir de 120 déterminations, avec 60 réplicats de blancs et 60 réplicats de faible niveau ; et une **LoB de 138 BTU**.

« Effet crochet » à dose élevée

Les échantillons avec des niveaux d'anticorps anti-MAG se situant jusqu'à $2,8 \times 10^5$ BTU peuvent être mesurés sans restreindre la gamme de mesure du dosage.

Réactivité croisée

La réactivité croisée du test anti-MAG Antibodies ELISA a été évaluée pour les échantillons sélectionnés avec une maladie auto-immune ou associés à la présence d'anticorps. Les anticorps et le nombre d'échantillons testés sont indiqués dans le tableau 11.

D'autres échantillons présentant différents mimétismes de neuropathie périphérique ont également été testés avec le test anti-MAG Antibodies ELISA et sont présentés dans le tableau 12.

Un (1) des quatre (4) échantillons testés provenant de patients atteints de la maladie de Waldenström était légèrement séropositif pour les anticorps anti-MAG dans la gamme de 1000-1500 BTU.

PERFORMANCES CLINIQUES

Les performances cliniques ont été évaluées par méta-analyse de la littérature scientifique évaluées par des pairs. Sept études se sont intéressées aux performances cliniques du dosage anti-MAG Antibodies ELISA dans le diagnostic de la neuropathie périphérique démyélinisante associée à une gammapathie monoclonale à IgM (réf. 3-9). Les résultats d'analyse et les détails de l'étude sont répertoriés dans le tableau 5 et le tableau 13, respectivement.

N neuropathie	344
N contrôles	447
Sensibilité (IC à 95 %)	58,9 % (47,2 – 69,6 %)
Spécificité (IC à 95 %)	98,2 % (89,7 – 99,7 %)
ROC AUC	0,75

Tableau 5

IC – intervalle de confiance
ROC AUC – Aire sous la courbe de la fonction d'efficacité du récepteur

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

La sensibilité du test anti-MAG Antibodies ELISA aux produits pharmaceutiques oraux et injectables ainsi qu'aux substances endogènes a été évaluée selon la directive EP07-A3 du CLSI. Un biais supérieur à 20 % dans les résultats était considéré comme une interférence.

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes jusqu'à la concentration indiquée : immunoglobuline intraveineuse (20 mg/mL), cladribine (273 ng/mL), interféron alpha-2a (49,5 ng/mL), ibuprofène (0,22 mg/mL), facteur rhumatoïde (680 UI/mL), hémoglobine (10 mg/mL), hémolysat (10 mg/mL), triglycéride (20 mg/mL), bilirubine conjuguée (0,4 mg/mL), bilirubine non conjuguée (0,4 mg/mL).

TABLEAUX ET FIGURES

Exemple de résultats

	Niveau [BTU]	Absorbance [OD]	Niveau calc. [BTU]	CV [%]
Blanc 1		0,046		
Blanc 2		0,049		
Moyenne		**0,048**		
Calibrateur A	70000	2,195	70497	
Calibrateur A	70000	2,188	69508	
Moyenne	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Calibrateur B	15000	1,272	15313	
Calibrateur B	15000	1,245	14693	
Moyenne	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Calibrateur C	3000	0,417	3070	
Calibrateur C	3000	0,400	2931	
Moyenne	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Calibrateur D	1000	0,135	1009	
Calibrateur D	1000	0,132	991	
Moyenne	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Contrôle BAS		0,360	2602	
Contrôle BAS		0,376	2731	
Moyenne		**0,368**	**2666**	**3,1**
Contrôle HAUT		1,395	18433	
Contrôle HAUT		1,383	18090	
Moyenne		**1,389**	**18261**	**0,6**
Échantillon 1		0,001	255	
Échantillon 1		0,009	297	
Moyenne		**0,005**	**276**	**116,5**
Échantillon 2		1,092	11599	
Échantillon 2		0,969	9511	
Moyenne		**1,030**	**10555**	**8,5**

Tableau 6

Exemple de courbe d'étalonnage (OD_{450})

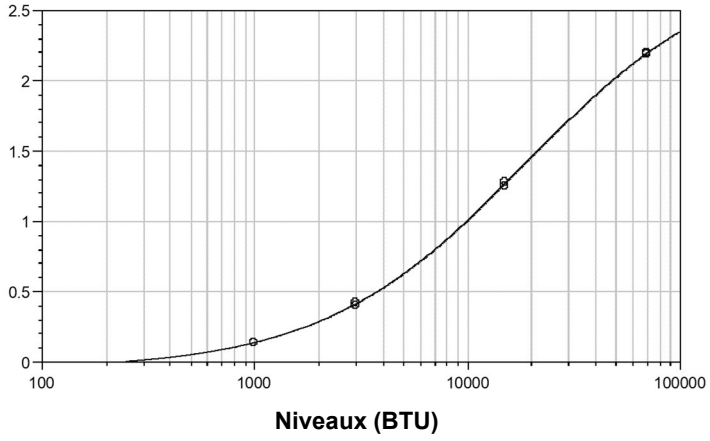


Figure 1

Précision intra-laboratoire

ID	Niveau moyen, BTU	n	Intra-analyse		Entre analyses		Jour-à-jour		Intra-laboratoire	
			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

Tableau 7

ID	Description	n	Niveau moyen, BTU	% dans la catégorie
S1	< 1000 BTU (négatif)	80	213	98,8

Tableau 8

Reproductibilité

ID	Niveau moyen, BTU	n	Intra-analyse		Entre analyses		Jour-à-jour		Intra-laboratoire	
			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

Tableau 9

ID	Description	n	Niveau moyen, BTU	% dans la catégorie
S1	< 1000 BTU (négatif)	75	55	100,0

Tableau 10

Réactivité croisée

Anticorps		#
Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA)		13
Anticorps anti-nucléaires (ANA)		23
Anticorps anti-thyroglobuline (anti-Tg)		5
Anticorps anti-ribonucléoprotéine		1
Anticorps anti-ganglioside	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine et anticorps anti-tyrosine kinase spécifique du muscle		7

Tableau 11

Neuropathies périphériques	#
Alcoolique/alcoolisme	1
Diabète	5
Troubles imitant les neuropathies périphériques	**#**
Sclérose latérale amyotrophique	14
Maladie de Chagas	5
Neuropathie périphérique idiopathique	1
Sarcoïdose	4
Maladie de Waldenström	4
Granulomatose de Wegener	1

Tableau 12

TABLEAUX ET FIGURES

Performances cliniques

Étude	Contrôles positifs	Contrôles négatifs	Valeur Seuil	Sens.	Spéc.
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

Tableau 13

DPN+IgM MG, Polyneuropathie démyélinisante avec gammapathie monoclonale à IgM ; MGUS PN, Polyneuropathie associée à une gammapathie monoclonale de signification inconnue ; OPN, autre polyneuropathie ; HC, contrôle sain ; HDC, contrôles avec maladie hématologique

MODE OPÉRATOIRE SIMPLIFIÉ

Important : Le mode opératoire simplifié ne saurait remplacer les informations détaillées décrites dans les présentes instructions d'utilisation.

Avant le jour du test

Préparation du tampon de lavage

Diluer le tampon de lavage concentré au 1/10e avec de l'eau déionisée

↓

Recommandation : Préparer le tampon de lavage le jour qui précède la réalisation du dosage et le placer au réfrigérateur pendant une nuit.

Jour du test

Préparation des échantillons / contrôles / calibrateurs

Diluer les échantillons de sérum au 1/1000e avec le tampon d'incubation (froid !) et mélanger soigneusement en vortexant

Reconstituer ou décongeler les contrôles et calibrateurs reconstitués (aliquotés)

↓

laisser 30 minutes à 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Plaque de microtitration pré-coatée

↓

laver 4 x avec ≥ 300 µL de tampon de lavage (froid !)

100 µL de tampon d'incubation, calibrateurs, contrôles ou échantillons de sérum (1/1000e)

↓

incuber 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C

↓

laver 4 x avec ≥ 300 µL de tampon de lavage (froid !)

ajouter 100 µL de marqueur enzymatique

↓

incuber 2 heures (± 5 min) à 2-8 °C

↓

laver 4 x avec ≥ 300 µL de tampon de lavage (froid !)

ajouter 100 µL de substrat TMB

↓

incuber 30 minutes (± 2 min) à 18-28 °C sur un agitateur de plaque ~ 400-600 rpm

ajouter 100 µL de solution stop

➡ **Lire l'absorbance à 450 nm (dans les 30 minutes)**

TEMPS D'OBTENTION DU RÉSULTAT : 5 HEURES

RÉFÉRENCES

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).

JOURNAL DES MODIFICATIONS

Date	Version	Modification
2026-09-09	A5	Précision dans le chapitre *Utilisation prévue* par ajout d'informations concernant la population testée, l'utilisateur prévu et l'automatisation des tests. Mise à jour des chapitres *Matériel requis mais non fourni*, *Procédure de dosage*, *Contrôle de qualité*, *Performances cliniques*, *Tableaux et figures* (Tableau 12) et *Mode opératoire simplifié*. Révision des chapitres *Avertissements et précautions* et *Symboles*. Mise à jour du symbole eIFU sur la première page (ne s'applique qu'à la version en anglais du document).

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Veuillez notifier votre distributeur si vous avez reçu un produit endommagé.

SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1.
Pour la définition des symboles, voir le glossaire disponible à l'adresse suivante :
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
En outre, les symboles et signes suivants sont utilisés:

Symbole	Description
MP	Plaque de microtitration
BUF INC	Tampon d'incubation
BUF WASH 10X	Tampon de lavage concentré (10x)
CONTROL L	Contrôle bas
CONTROL H	Contrôle haut
CAL A - CAL D	Calibrateur A - D
EL IgM	Marqueur enzymatique IgM
SUBS TMB	Substrat TMB
SOLN STOP	Solution stop

CE 0123