anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Su mielinu susijęs glikoproteinas

In vitro diagnostikai

EK-MAG 96 testai

Išleidimo data: 2026-09-09
Versija A5

Gamintojas
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Šveicarija
Tel.: +41 61 487 12 12
Faks.: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

LIETUVIŠKAI

PASKIRTIS

Anti-MAG Antibodies ELISA - tai *in vitro* diagnostinis tyrimas, skirtas pusiau kiekybiniam anti-MAG IgM antikūnų nustatymui žmogaus serumo mėginiuose pacientams, turintiems demielinizuojančios periferinės neuropatijos simptomų ir (arba) pacientams, sergantiems IgM monoklonine gamapatija ir turintiems neurologinių simptomų. Tyrimas skirtas anti-MAG neuropatijos diagnozavimui kartu su kitais klinikiniais ir laboratoriniais duomenimis.

Tik laboratoriniam naudojimui sveikatos priežiūros specialistams. Neautomatizuota.

TYRIMO PRINCIPAS

Anti-MAG Antibodies ELISA leidžia išmatuoti IgM antikūnus prieš su mielinu susijusį glikoproteiną (MAG) serume naudojant „sumuštinio principo“ ELISA testą. Mikrotitravimo plokštelė yra padengta iš žmogaus smegenų išgrynintu MAG. Paciento serumai, kontroliniai mėginiai ir kalibratoriai dedami į mikrotitravimo plokštelės šulinėlius. Po 2 valandų inkubavimo 2-8 °C temperatūroje ir plovimo etapų, aptikimo antikūnas, konjuguotas su krienų peroksidaze (HRP), aptinka anti-MAG antikūnus, prijungtus prie žmogaus MAG plokštelėje. Po dar 2 valandų inkubacijos ir tolesnių plovimo etapų pridedamas chromogeninis HRP substratas tetrametilbenzidinas (TMB) (susidaro mėlyna spalva), po to sustabdoma reakcija (pakeičia į geltoną spalvą). Absorbcija matuojama esant 450 nm.

Anti-MAG antikūnų lygis nustatomas naudojant kalibravimo kreivę, sudarytą pagal išmatuotas kalibratoriaus vertes, ir išreiškiamas BÜHLMANN titro vienetu (BTU).

PATEIKTI REAGENTAI IR PARUOŠIMAS

Reagentai	Kiekis	Kodas	Pristatymas
Mikrotitro plokštelė 96 šulinėliai, iš anksto padengti žmogaus MAG	12 x 8-šulinėlių juostelės su rėmeliu	B-MAG-MP	Paruoštas naudojimui
Plokštės sandariklis	3 vienetai	-	Paruoštas naudojimui
Plovimo buferio koncentratas (10x)	1 butelis x 100 mL	B-MAG-WB	Praskieskite su 900 mL dejonizuoto vandens
Inkubavimo buferis su konservantais	1 butelis x 100 mL	B-MAG-IB	Paruoštas naudojimui
Kalibratoriai nuo A iki D[1] liofilizuoti su konservantais	4 mėgintuvėliai	B-MAG-CASET	Įpilkite 1 mL inkubacinio buferio
Kontrolės žema ir aukšta[2] liofilizuoti su konservantais	2 mėgintuvėliai	B-MAG-CONSET	Įpilkite 1 mL inkubacinio buferio
Fermento žymuo IgM anti-žmogaus IgM antikūnas, konjuguotas su HRP buferinėje matricoje su konservantais	1 mėgintuvėlis x 11 mL	B-MAG-ELM	Paruoštas naudojimui Mėlynas tirpalas
TMB Substratas TMB citrato buferyje	1 mėgintuvėlis x 11 mL	B-TMB	Paruoštas naudojimui
Stop tirpalas 0,25 M sieros rūgštis	1 mėgintuvėlis x 11 mL	B-STS	Paruoštas naudojimui **Ardanti medžiaga**

1 lentelė

[1] Po ištirpinimo kalibratoriuose A, B, C ir D yra atitinkamai 70000, 15000, 3000 ir 1000 BÜHLMANN titro vienetų (BTU) anti-MAG antikūnų.

[2] Kontrolėse yra specifinis anti-MAG antikūnų kiekis. Faktinius lygius žr. papildomame KK duomenų lape.

REAGENTŲ LAIKYMAS IR TINKAMUMO LAIKAS

Neatidaryti reagentai	
Laikyti 2-8 °C temperatūroje. Nenaudokite reagentų pasibaigus galiojimo laikui, nurodytam etiketėse.	
Atidaryti reagentai	
Mikrotitro plokštelė	Nepanaudotas juosteles nedelsdami grąžinkite į folijos maišelį, kuriame yra sausiklio pakuotės, ir vėl užsandarinkite per visą užtrauktuko sandariklio kraštą. Laikyti iki 3 mėnesių 2-8 °C.
Skiestas plovimo buferis	Laikyti iki 3 mėnesių 2-8 °C.
Inkubacijos buferis	
Fermento žymuo IgM	
TMB substrataas	
Kontrolės	Ištirpinus padalykite alikvotą ir laikykite ≤ -20 °C temperatūroje. Laikyti iki 3 mėnesių ≤ -20 °C.[1]
Kalibratoriai	
Stop tirpalas	Laikyti iki 3 mėnesių 18-28 °C.

2 lentelė

[1] Atstatytus kalibratorius ir kontrolines medžiagas per 3 mėnesius galima tris kartus užšaldyti ir atšildyti.

REIKALINGOS, BET NETIEKIAMOS MEDŽIAGOS

- Tikslios pipetės su vienkartiniais antgaliais: 0,5-10 µL, ir 100-1000 µL
- Vienkartiniai polistireno arba polipropileno mėgintuvėliai mėginių skiedimams ruošti
- 1000 mL talpos cilindras plovimo buferiui praskiesti
- Mikrotitravimo plokštelės ploviklis
- Sugeriamasis popieriaus
- Mikrotitravimo plokštelių purtyklė
- Mikrotitravimo plokštelės skaitytuvas absorbcijai prie 450 nm matuoti

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Saugos priemonės

- Testas skirtas tik *In vitro* diagnostikai.
- Rekomenduojama, kad tyrimą atliktų kvalifikuoti darbuotojai, laikantis Geros laboratorinės praktikos (GLP) gairių:
  - Šio rinkinio kalibratoriai, kontrolinės priemonės ir mikrotitravimo plokštelės yra pagaminti iš žmogaus kilmės komponentų. Nors jie ištirti ir nustatyti neigiami dėl HBV, HCV ir ŽIV1/2, šiuos reagentus reikia tvarkyti taip, lyg jie galėtų perduoti infekcijas.
  - Inkubacinis buferis ir fermentų žymuo turi galimai užkrečiamų gyvūninės kilmės medžiagų.
- Šiame rinkinyje yra komponentų, klasifikuojamų pagal Reglamentą (EB) Nr. 1272/2008:
  - Stop tirpale yra sieros rūgšties (2,5-5 %), todėl reagentai gali sudirginti odą (H315), stipriai sudirginti akis (H319) ir ėsdinti metalus (H290).
  - Kalibratoriuose ir kontrolinėse priemonėse yra gentamicino sulfato (miltelių), todėl įkvėpti reagentai gali sukelti alerginę odos reakciją (H317) ir alergijos ar astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą (H334). Juose yra tiomersalio (miltelių), todėl reagentas yra mirtinas prarijus, susilietus su oda arba įkvėpus (H300+H310+H330).
  - Inkubacijos buferis ir fermento žymenyje yra gentamicino sulfato (konc. < 1 %), todėl reagentai gali sukelti alerginę odos reakciją (H317).
- Venkite reagentų sąlyčio su oda, akimis ar gleivinėmis. Jei atsirado kontaktas, nedelsiant nuplaukite dideliu kiekiu vandens; kitu atveju gali atsirasti dirginimas/nudegimai.
- Reagentai, paciento mėginiai ir visos atliekos turi būti tvarkomos kaip pavojingos atliekos, vadovaujantis nacionalinėmis biologinio pavojaus saugos gairėmis arba reglamentais.

Techninės atsargumo priemonės

- Prieš atlikdami testą, atidžiai perskaitykite instrukcijas. Jei reagentai bus neteisingai skiedžiami, modifikuojami arba laikomi kitomis sąlygomis nei nurodytos šioje naudojimo instrukcijoje, tai turės neigiamos įtakos testo veikimui.
- Komponentų negalima naudoti pasibaigus galiojimui laikui, nurodytam etiketėse.
- Nemaišykite skirtingų reagentų partijų.
- Reikia dėti visas pastangas siekiant užtikrinti, kad tarp reagentų, mėginių ar tarp šulinėlių nebūtų kryžminio užteršimo.
- Mikrošulinėlių pakartotinai naudoti negalima.

ELISA procedūra

Reagentų temperatūra

- Prieš pradėdami tyrimo procedūrą, paruoškite reagentus. 3-9 žingsniai: 3-9 etapuose naudojami reagentai turi būti šalti (2-8 °C) ir laikomi šaltai pipetuojant ir plaunant. Rekomendacija: paruoškite plovimo buferį dieną prieš tyrimą ir per naktį laikykite šaldytuve.
- Atlikite visus plovimo veiksmus su šaltu(!) (2-8 °C) plovimo buferiu.
- Pradėdami tyrimo procedūrą, pašildykite TMB substratą ir stop tirpalą iki kambario temperatūros (18-28 °C).

Plovimo žingsniai

- 3, 6 ir 9 plovimo etapai yra labai svarbūs norint pašalinti gamybos proceso likučius ir (arba) galimai nesurištus antikūnus šuliniuose.
- Primygtinai rekomenduojama naudoti automatinį plovimo įrenginį, veikiantį „plokštelės režimu“, t. y. kiekvienas proceso etapas (išpilstymas/išsiurbimas) turi būti atliekamas visoms juostelėms, nuosekliai, prieš instrumentui tęsiant kitą plovimo ciklą.
- Įsitikinkite, kad po paskutinio plovimo ciklo visi šulinėliai yra visiškai tušti.

Substrato inkubacija

- 11 veiksmas: purtykite mikrotitravimo plokšteles inkubuojant su substratu. Priklausomai nuo plokštelių purtyklės modelio, rekomenduojame 400-600 aps./min. Tirpalas turi judėti šuliniuose, bet neturi išsilieti.

Papildomas mėginio skiedimas

- Mėginius, viršijančius 70000 BTU, galima atskiesti į analitinio matavimo diapazoną (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Serumo mėginiams praskiesti naudokite inkubacinį buferį.

MĖGINIŲ ĖMIMAS IR SANDĖLIAVIMAS

Procedūrai reikia atitinkamai < 0,1 mL kraujo arba < 50 µL serumo.

Surinkite kraują į paprastus venų punkcijos mėgintuvėlius be jokių priedų ir išvengsite hemolizės. Paruoškite serumą pagal gamintojo instrukcijas. Nupilkite serumą.

Serumo mėginiai gali būti laikomi 2-8 °C temperatūroje iki 16 dienų arba -20 °C temperatūroje iki 12 mėnesių. Užšaldytus mėginius prieš naudojimą reikia atšildyti ir kruopščiai sumaišyti švelniai sukant arba vartant.
Rekomenduojame paruošti serumo mėginių padalijimus prieš užšaldant, kad būtų išvengta pasikartojančių užšaldymo/atšildymo ciklų.

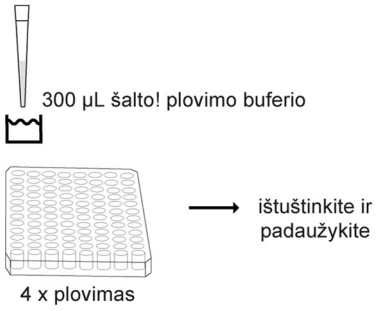
TYRIMO PROCEDŪRA

Pastaba: TMB substrato tirpalą atšildykite iki kambario temperatūros (18-28 °C).

1. Atskieskite mėginius 1:1000 inkubaciniu buferiu. Naudokite pvz. 1 µL serumo + 1000 µL šalto(!) (2-8 °C) inkubacinio buferio. Kruopščiai sumaišykite ir palikite atskiestus mėginius bei paruoštus kalibratorius ir kontrolines medžiagas 2-8 °C temperatūroje 30 minučių prieš atliekant pilstymus pipete (žr. 4a-c veiksmus).
2. Paruoškite plokštelės rėmą su pakankamai juostelių, kad galėtumėte ištirti reikiamą kalibratorių, kontrolinių elementų ir mėginių skaičių. Nuimkite perteklines juosteles nuo rėmo ir nedelsdami vėl įdėkite į folijos maišelį su sausiklio pakuotėmis. Laikykite šaldytuve.

Pastaba: 3-9 žingsniuose naudokite šaltus reagentus.

3. Išplaukite šulinėlius keturis kartus, naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto(!) (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštę ant sugeriančio popieriaus, kad visiškai pašalintumėte likusį skystį.



Pastaba: nedelsdami pereikite prie kitų veiksmų.

4a. Įpilkite pipete 100 µL inkubacinio buferio (tuščio) į du šulinėlius ir

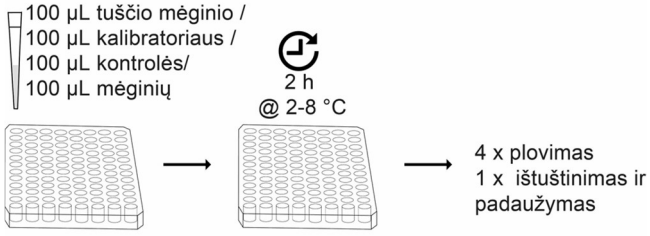
įpilkite pipete po 100 µL kalibratoriaus A-D po du šulinėlius, atitinkamai.

4b. Atitinkamai po du šulinėlius pipete įpilkite 100 µL žemo ir aukšto kontrolinių mėginių.

4c. Po 100 µL kiekvieno praskiesto mėginio pipete įpilkite į sekančius šulinėlius.

5. Uždenkite plokštę plokštelės sandarikliu ir inkubuokite 2 valandas (± 5 min.) 2-8 °C temperatūroje (plokštelės nejudinkite).

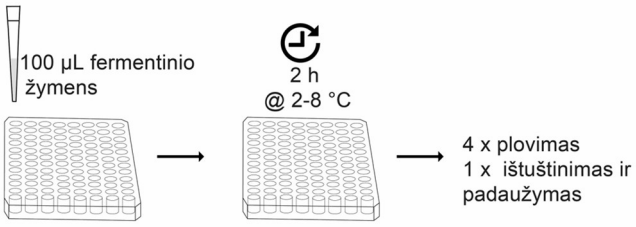
6. Nuimkite plokštelės sandariklį. Ištuštinkite šulinukus ir keturis kartus išplaukite naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto(!) (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštelę ant sugerenčio popieriaus, kad visiškai pašalintumėte plovimo buferį.



7. Į visus šulinėlius įpilkite 100 µL fermento žymens IgM.

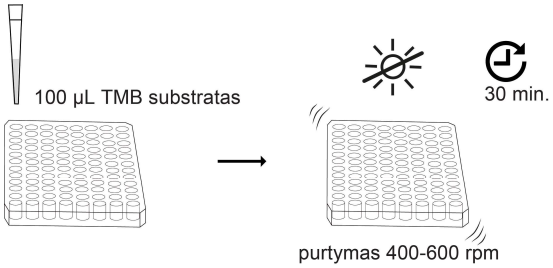
8. Uždenkite plokštelę plokštelės sandarikliu ir inkubuokite 2 valandas (± 5 min.) 2-8 C temperatūroje (lėkštelės nejudinkite).

9. Nuimkite plokštelės sandariklį. Ištuštinkite šulinukus ir keturis kartus išplaukite naudodami ne mažiau kaip 300 µL šalto(!) (2-8 °C) plovimo buferio vienoje duobutėje. Ištuštinkite šulinukus ir tvirtai patapšnokite plokštelę ant sugerenčio popieriaus.



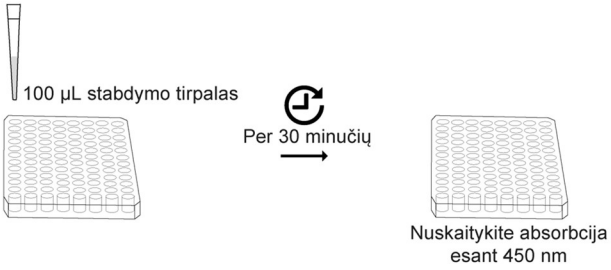
10. Į kiekvieną šulinėlį įpilkite 100 µL TMB substrato tirpalo (atšildyto iki kambario temperatūros).

11. Uždenkite plokštę plokštelės sandarikliu, apsaugokite plokštę nuo šviesos ir inkubuokite ant lėkštelės purtyklės, nustatytos 400-600 rpm., 18-28 °C temperatūroje 30 ± 2 min.



12. Į visus šulinėlius įpilkite 100 µL stop tirpalo. Pipetės antgaliu pašalinkite oro burbuliukus. Per 30 minučių pereikite prie 13 veiksmo.

13. Mikrotitravimo plokštelės skaitytuvu nuskaitykite absorbciją esant 450 nm.



KOKYBĖS KONTROLĖ

Norint sėkmingai naudoti gaminį, būtina gerai suprasti šią naudojimo instrukciją. Patikimi rezultatai bus gauti tik naudojant tikslius laboratorinius metodus ir tiksliai laikantis šios naudojimo instrukcijos.

Anti-MAG Antibodies ELISA rinkinyje yra dvi kontrolės: žemas ir aukštas kontroliniai elementai. Kontrolės turi priskirtus verčių diapazonus, nurodytus su kiekvienu rinkiniu pateiktame KK duomenų lape. Norint gauti tinkamus rezultatus, kontroliniai matavimai turi būti nurodytose verčių intervaluose.

Be rinkinio kontrolės, vidinei kokybės kontrolei rekomenduojame naudoti serumo pulus.

Standartinių kreivės parametrų ir kontrolinių verčių atkuriamumas turėtų neviršyti nustatytų laboratorinių priimtinumo ribų. Jei tyrimo atlikimas neatitinka nustatytų ribų, o pakartojimas pašalino technikos klaidas, patikrinkite šias problemas: *i)* temperatūros kontrolę (3-9 veiksme naudojami reagentai laikomi 2-8 °C temperatūroje); *ii)* termometrų, pipetavimo ir laiko matavimo prietaisų tikslumą; *iii)* ELISA skaitytuvo nustatymus; *iv)* reagentų galiojimo laikus; *v)* laikymo ir inkubavimo sąlygas; *vi)* TMB substrato tirpalo spalvą (turėtų būti bespalvė); *vii)* vandens grynumą; *viii)* įsiurbimo ir plovimo metodus.

STANDARTIZAVIMAS IR METROLOGINIS ATSEKAMUMAS

Nėra tarptautiniu ar nacionaliniu mastu pripažintų etaloninių medžiagų ar etaloninių matavimo procedūrų anti-MAG antikūnams serumo mėginiuose. Anti-MAG Antibodies ELISA yra standartizuotas pagal viduje nustatytą etaloninę medžiagą. Kad būtų užtikrintas metrologinis atsekamumas, kalibratoriaus ir kontrolinės

vertės priskiriamos pagal vertės perdavimo protokolą (1, 2 nuoroda), ir yra nurodytos sutartiniais BÜHLMANN titro vienetais. Produkto kalibratorių ir kontrolinių elementų bendros neapibrėžties 95 % pasikliautinasis intervalas yra mažesnis nei 35 %.

TYRIMO REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

Standartinė kreivė

Naudokite programinę įrangą, galinčią atlikti šiuos skaičiavimus:

- atimkite tuščią OD vertę iš kiekvieno kalibratoriaus šulinėlio, kad apskaičiuotumėte kalibratoriaus vertę.
- Sukurkite standartinę kreivę naudodami 4 parametrų logistikos (4 PL) pritaikymą.

Kontrolės ir mėginiai

Naudokite programinę įrangą, galinčią atlikti šiuos skaičiavimus;

- atimkite tuščiąją OD vertę iš kiekvieno kontrolinio/mėginio šulinėlio. Apskaičiuokite anti-MAG antikūnų lygį kiekvienoje duobutėje BTU vienetais, naudodami nustatytą standartinę kreivę.

Pastaba: 6 lentelėje ir 1 paveiksle pateikti rezultatai yra pavyzdžiai ir pateikiami tik demonstravimo tikslais. Kiekvienam bandinių rinkiniui turi būti sudaryta kalibravimo kreivė.

APRIBOJIMAI

- Šis testas nebuvo patvirtintas CSF ir plazmaferezei.
- Intraveniniai imunoglobulinai (IVIg) ir krioglobulinai gali turėti įtakos tyrimo rezultatams.

REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Rezultatas	Interpretacija
< ribinė vertė	Neigiamas rezultatas
≥ ribinė vertė	Teigiamas rezultatas (rodo, kad yra antikūnų prieš MAG)

3 lentelė

Tyrimo rezultatai turėtų būti interpretuojami kartu su informacija, gauta iš klinikinio paciento įvertinimo ir kitų diagnostinių procedūrų.

ATSKAITINIAI INTERVALAI IR RIBINĖ VERTĖ

Anti-MAG Antibodies ELISA tyrimo atskaitos intervalas buvo nustatytas pagal CLSI EP28-A3 su 141 serumo mėginiu iš akivaizdžiai sveikų 18-70 metų amžiaus asmenų. Rezultatai pateikti 4 lentelėje.

Referentinis intervalas [BTU]	
2,5th procentilė (90 % CI)	**97,5th procentilė (90 % CI)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

4 lentelė

Tūkstantis (1000) BTU yra nustatyta riba ir naudojama paskelbtuose tyrimuose (nuoroda 5, 6, 9).
Mokslinėje literatūroje taip pat buvo naudojamos nukrypusios ribinės vertės (nuoroda 3, 4, 7, 8, 13 lentelė), o teigiamiems testo rezultatams buvo pasiūlytos titrų kategorijos (nuoroda 10).

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Veikimo charakteristikos yra pagrįstos vidutiniais rezultatais iš 2 šulinėlių.

Atkartojamumas: 3,2 – 11,8 % CV

Laboratorinis tikslumas: 5,5 – 15,9 % CV

Pakartojamumas ir tikslumas laboratorijoje buvo nustatyti pagal CLSI gairę EP05-A3, naudojant standartizuotą 20 dienų x 2 bandymų x 2 pakartojimų tyrimo planą. Buvo ištirti keturi (4) sujungti žmogaus serumo mėginiai, apimantys tyrimo matavimo diapazoną.
Penktasis neigiamas mėginys, esant 213 BTU, davė 79/80 rezultatus (98,8 %) kategorijoje (< 1000 BTU). Rezultatai apibendrinti 7 ir 8 lentelėse.

Atkuriamumas: 10,0 – 21,6 % CV

Atkuriamumas buvo nustatytas pagal CLSI gairę EP05-A3, atliekant matavimus naudojant 3 operatorių x 3 prietaisų/partijų x 5 dienų x 5 pakartojimų tyrimo planą. Buvo ištirti keturi (4) sujungti žmogaus serumo mėginiai, apimantys tyrimo matavimo diapazoną. Penktasis neigiamas mėginys, esant 55 BTU, davė 75/75 rezultatą (100,0%) kategorijoje (< 1000 BTU). Rezultatai apibendrinti 9 ir 10 lentelėse.

Aptikimo riba (LoD): 305 BTU

LoD buvo nustatytas pagal CLSI gairę EP17-A2 taikant neparametrinę analizę ir remiantis 120 nustatymų, 60 tuščiųjų ir 60 žemo lygio pakartojimų nustatyta jog klaidingai teigiamų (α) proporcija mažesnė nei 5 %, o klaidingai neigiamų (β) mažesnė nei 5 %; ir **138 BTU LoB**.

Didelės dozės "kablio" efektas

Mėginius, kurių anti-MAG antikūnų lygis yra iki 2,8 x 10^5 BTU, galima išmatuoti neribojant tyrimo matavimo diapazono.

Kryžminis reaktyvumas

Kryžminis anti-MAG Antibodies ELISA tyrimo reaktyvumas buvo tikrinamas mėginiams, priskiriamiems autoimuninei ligai arba susijusiems su antikūnų buvimu. Antikūnai ir tirtų mėginių skaičius pateikti 11 lentelėje.

Kiti mėginiai su skirtingais periferinės neuropatijos ligos imitatoriais taip pat buvo tiriami naudojant anti-MAG Antibodies ELISA metodą ir pateikiami 12 lentelėje.

Viename (1) iš keturių (4) tirtų Valdenštromo liga sergančių pacientų mėginių anti-MAG antikūnai buvo šiek tiek seropozityvūs 1000-1500 BTU intervale.

KLINIKINIS VEIKSMINGUMAS

Klinikinis veikimas buvo įvertintas recenzuojamos mokslinės literatūros metaanalizės būdu. Septyni tyrimai įvertino anti-MAG Antibodies ELISA klinikinį veiksmingumą diagnozuojant demielinizuojančią periferinę neuropatiją, susijusią su IgM monoklonine gamapatija (3-9 nuoroda). Analizės rezultatai ir tyrimo detalės pateikti atitinkamai 5 ir 13 lentelėse.

N neuropatija	344
N kontrolė	447
Jautrumas (95 % CI)	58,9 % (47,2 – 69,6 %)
Specifiškumas (95 % CI)	98,2 % (89,7 – 99,7 %)
ROC AUC	0,75

5 lentelė

CI - pasikliautinas intervalas
ROC AUC - plotas po imtuvo veikimo charakteristikos kreive

TRUKDŽIASIOS MEDŽIAGOS

Anti-MAG Antibodies ELISA tyrimo jautrumas geriamiems ir injekciniams vaistams, taip pat endogeninėms medžiagoms buvo įvertintas pagal CLSI gairę EP07-A3. Rezultatų poslinkis, viršijantis 20 %, buvo laikomas trukdžiu.

Nebuvo aptikta jokių trukdžių šioms medžiagoms iki nurodytų koncentracijų: intraveninis imunoglobulinas (20 mg/mL), kladribinas (273 ng/mL), interferonas alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofenas (0,22 mg/mL), reumatoidinis faktorius (680 IU/mL), hemoglobinas (10 mg/mL), hemolizatas (10 mg/mL), trigliceridas (20 mg/mL), konjuguotas bilirubinas (0,4 mg/mL), nekonjuguotas bilirubinas (0,4 mg/mL).

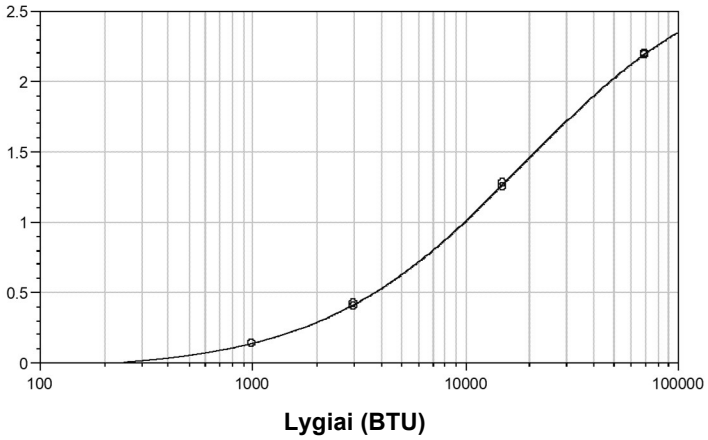
LENTELĖS IR PAVEIKSLĖLIAI

Rezultatų pavyzdžiai

	Lygis [BTU]	Absorbcija [OD]	Apsk. lygis [BTU]	CV [%]
Tuščias 1		0,046		
Tuščias 2		0,049		
Vidurkis		**0,048**		
Kalibratorius A	70000	2,195	70497	
Kalibratorius A	70000	2,188	69508	
Vidurkis	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Kalibratorius B	15000	1,272	15313	
Kalibratorius B	15000	1,245	14693	
Vidurkis	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Kalibratorius C	3000	0,417	3070	
Kalibratorius C	3000	0,400	2931	
Vidurkis	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Kalibratorius D	1000	0,135	1009	
Kalibratorius D	1000	0,132	991	
Vidurkis	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Kontrolė ŽEMA		0,360	2602	
Kontrolė ŽEMA		0,376	2731	
Vidurkis		**0,368**	**2666**	**3,1**
Kontrolė AUKŠTA		1,395	18433	
Kontrolė AUKŠTA		1,383	18090	
Vidurkis		**1,389**	**18261**	**0,6**
Mėginys 1		0,001	255	
Mėginys 1		0,009	297	
Vidurkis		**0,005**	**276**	**116,5**
Mėginys 2		1,092	11599	
Mėginys 2		0,969	9511	
Vidurkis		**1,030**	**10555**	**8,5**

6 lentelė

Standartinės kreivės pavyzdys (OD_{450})



1 paveikslas

Laboratorinis tikslumas

ID	Vidutinis lygis, BTU	n	Vykdymo metu		Tarp vykdymų		Tarp dienos		Tarp laboratorijų	
			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

7 lentelė

ID	Aprašymas	n	Vidutinis lygis, BTU	% tarp kategorijų
S1	< 1000 BTU (neigiamas)	80	213	98,8

8 lentelė

Atkuriamumas

ID	Vidutinis lygis, BTU	n	Vykdymo metu		Tarp vykdymų		Tarp dienos		Tarp laboratorijų	
			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

9 lentelė

ID	Aprašymas	n	Vidutinis lygis, BTU	% tarp kategorijų
S1	< 1000 BTU (negative)	75	55	100,0

10 lentelė

Kryžminis reaktyvumas

Antikūnas		#
Anti-neutrofilų citoplazminis antikūnas (ANCA)		13
Antibranduoliniai antikūnai (ANA)		23
Antikūnai prieš tiroglobulinus (anti-Tg)		5
Antikūnai prieš ribonukleoproteinus		1
Antikūnai prieš gangliozidus	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Antikūnai prieš acetil-cholino receptorių ir Antikūnai prieš raumenims specifinę tirozino kinazę		7

11 lentelė

Periferinės neuropatijos	#
Alkoholis/alkoholizmas	1
Diabetas	5
Periferinės neuropatijos imitacijos sutrikimai	**#**
Amiotrofinė šoninė sklerozė	14
Chagas liga	5
Idiopatinė periferinė neuropatija	1
Sarkoidozė	4
Waldenstrom liga	4
Wegenerio granulomatozė	1

12 lentelė

LENTELĖS IR PAVEIKSLĖLIAI

Klinikinis veikimas

Studija	Teigiamos kontrolės	Neigiamos kontrolės	Ribinė vertė	Jautr.	Spec.
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

13 lentelė

DPN+IgM MG, demielinizuojanti polineuropatija su IgM monoklonaline gamopatija; MGUS PN, polineuropatija, susijusi su nežinomos reikšmės monoklonaline gamopatija; OPN, kita polineuropatija; HC, sveika kontrolė; HDC, hematologinių ligų kontrolė

TRUMPAS PROTOKOLAS

Svarbu: trumpas protokolas nepakeičia išsamios informacijos, pateiktos šioje naudojimo instrukcijoje.

Prieš tyrimo dieną

Plovimo buferio paruošimas

Praskieskite plovimo buferio koncentratą santykiu 1:10 dejonizuotu vandeniu

Rekomendacija: paruoškite plovimo buferį dieną prieš tyrimą ir per naktį laikykite šaldytuve.

Tyrimo diena

Mėginių / kontrolių / kalibratorių paruošimas

Serumo mėginius praskieskite santykiu 1:1000 su (šaltu!) inkubavimo buferiniu tirpalu ir kruopščiai sumaišykite sukdami

Ištirpinkite arba atšildykite (alikvotines) kontrolines ir kalibratorių medžiagas

palikite 30 minučių 2-8 °C temperatūroje

anti-MAG Antibodies ELISA

Iš anksto padengta mikrotitravimo plokštelė

plauti 4 x su ≥ 300 µL (šaltu!) plovimo buferiu

100 µL inkubacinio buferio, kalibratorių, kontrolinių mėginių arba serumo mėginių (1:1000)

inkubuoti 2 val (± 5 min) 2-8 °C temperatūroje

plauti 4 x su ≥ 300 µL (šaltu!) plovimo buferiu

pridėti 100 µL fermentinio žymens

inkubuoti 2 val (± 5 min) 2-8 °C temperatūroje

plauti 4 x su ≥ 300 µL (šaltu!) plovimo buferiu

pridėti 100 µL TMB substrato

inkubuoti 30 minučių (± 2 min) 18-28 °C temperatūroje ant plokštelės purtyklės ~400-600 rpm

pridėti 100 µL stop tirpalo

Nuskaitykite absorbciją esant 450 nm (per 30 minučių)

LAIKAS IKI REZULTATO: 5 VALANDOS

NUORODOS

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).

PAKEITIMAI

Data	Versija	Pakeitimas
2026-09-09	A5	*Paskirties* tikslinimas, pridedant informaciją apie tiriamąją populiaciją, numatytą naudotoją ir tyrimo automatizavimą. Atnaujinti skyriai *Reikalingos, bet netiekiamos medžiagos*, *Tyrimo procedūra*, *Kokybės kontrolė*, *Klinikinis veiksmingumas*, *Lentelės ir paveikslėliai* (12 lentelė) ir *Trumpas protokolas*. Skyrių *Įspėjimai ir atsargumo priemonės* ir *Simboliai peržiūra*. Elektroninės naudojimo instrukcijos ženklo atnaujinimas (taikyti tik anglų kalbos dokumentų versijai).

PRANEŠIMAS APIE ĮVYKIUS ES VALSTYBĖSE NARĖSE

Jei įvyko koks nors rimtas incidentas, susijęs su šiuo įrenginiu, nedelsdami praneškite gamintojui ir savo valstybės narės kompetentingai institucijai.

PRISTATYMO ŽALA

Praneškite savo platintojui, jei gavote sugadintą produktą.

SIMBOLIAI

BÜHLMANN naudoja simbolius ir ženklus, išvardytus ir aprašytus ISO 15223-1.
Apibrėžimas Simbolių žodynėlį žr. nuoroda: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Taip pat naudojami šie simboliai ir ženklai:

Simbolis	Paaiškinimas
MP	Mikrotitro plokštelė
BUF INC	Inkubavimo buferis
BUF WASH 10X	Plovimo buferio koncentratas (10x)
CONTROL L	Žema kontrolė
CONTROL H	Aukšta kontrolė
CAL A - CAL D	Kalibratoriai A - D
EL IgM	Fermentinis žymuo IgM
SUBS TMB	TMB substratas
SOLN STOP	Stop tirpalas

CE 0123