# anti-MAG Antibodies ELISA

## MAG = Glikoproteina związana z mieliną

Do diagnostyki *in vitro*

EK-MAG 96 testów

Data wydania: 2026-09-09
Wersja A5

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

# POLSKI

## PRZEZNACZENIE

Test anti-MAG Antibodies ELISA to oznaczenie do diagnostyki *in vitro* służące do półilościowego oznaczania przeciwciał IgM anty-MAG w próbkach surowicy ludzkiej z objawami demielinizacyjnej neuropatii obwodowej i/lub pacjentów z gammopatią monoklonalną IgM oraz objawami neurologicznymi. Test służy jako pomoc w diagnozowaniu neuropatii anty-MAG w połączeniu z innymi wynikami klinicznymi i laboratoryjnymi.

Wyłącznie do zastosowań laboratoryjnych przez pracowników służby zdrowia. Nie automatyczny.

## ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test anti-MAG Antibodies ELISA pozwala na pomiar przeciwciał IgM przeciwko glikoproteinie związanej z mieliną (MAG) w surowicy za pomocą testu ELISA typu "kanapkowego". Płytka do mikromiareczkowania jest pokryta oczyszczonym MAG z ludzkiego mózgu. Surowice pacjentów, kontrole i kalibratory są dodawane do studzienek płytki do mikromiareczkowania. Po 2 godzinach inkubacji w temperaturze 2-8 °C i etapach przemywania, przeciwciało detekcyjne skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP) wykrywa przeciwciała anty-MAG związane z ludzkim MAG na płytce. Po kolejnych 2 godzinach inkubacji i dalszym przemywaniu, dodaje się chromogeniczny substrat HRP, tetrametylobenzydynę (TMB), (tworzenie się niebieskiego zabarwienia), po czym następuje zatrzymanie reakcji (zmiana koloru na żółty). Absorpcję mierzy się przy 450 nm.

Poziom przeciwciał anty-MAG jest określany za pomocą krzywej kalibracyjnej wygenerowanej na podstawie zmierzonych wartości kalibratora i jest wyrażany jako jednostka miana BÜHLMANN (BTU).

## DOSTARCZONE ODCZYNNIKI I ICH PRZYGOTOWANIE

| Odczynniki | Ilość | Kod | Rekonstytucja |
|---|---|---|---|
| **Płytka do mikromiareczkowania**<br>96 studzienek opłaszczonych ludzkim MAG | 12 x 8-dołkowe paski z ramką | B-MAG-MP | Gotowy do użycia |
| **Folia do płytek** | 3 sztuki | - | Gotowe do użycia |
| **Koncentrat buforu płuczącego (10x)** | 1 butelka x 100 mL | B-MAG-WB | Rozcieńczyć z 900 mL wody dejonizowanej |
| **Bufor inkubacyjny**<br>z środkami konserwującymi | 1 butelka x 100 mL | B-MAG-IB | Gotowy do użycia |
| **Kalibratory od A do D**[1]<br>zliofilizowane ze środkami konserwującymi | 4 fiolki | B-MAG-CASET | Dodać 1 mL buforu inkubacyjnego |
| **Kontrola Niska i Wysoka**[2]<br>zliofilizowane ze środkami konserwującymi | 2 fiolki | B-MAG-CONSET | Dodać 1 mL buforu inkubacyjnego |
| **Oznakowany enzym IgM**<br>anty-ludzkie przeciwciało IgM skoniugowane z HRP w matrycy buforowej ze środkami konserwującymi | 1 fiolka x 11 mL | B-MAG-ELM | Gotowy do użycia<br>Niebieski roztwór |
| **Substrat TMB**<br>TMB w buforze cytrynianowym | 1 fiolka x 11 mL | B-TMB | Gotowy do użycia |
| **Roztwór zatrzymujący reakcję**<br>0,25 M kwas siarkowy | 1 fiolka x 11 mL | B-STS | Gotowy do użycia<br>**Środek żrący** |

Tabela 1

[1] Po rekonstytucji kalibratory A, B, C i D zawierają odpowiednio 70000, 15000, 3000 i 1000 jednostek miana BÜHLMANN (BTU) przeciwciał anty-MAG.

[2] Kontrole zawierają specyficzne dla partii ilości przeciwciał anty-MAG. Rzeczywiste poziomy znajdują się w dodatkowym arkuszu danych QC.

## PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ ODCZYNNIKÓW

| **Zamknięte odczynniki/nieotwarte odczynniki** | |
|---|---|
| Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykiecie. | |
| **Otwarte / rekonstytuowane odczynniki** | |
| Płytka do mikromiareczkowania | Niezużyte stripy natychmiast włożyć z powrotem do torebki foliowej zawierającej saszetki ze środkiem osuszającym i ponownie szczelnie zamknąć wzdłuż całej krawędzi torebki.<br>Przechowywać do 3 miesięcy w temperaturze 2-8 °C. |
| Rozcieńczony bufor płuczący | Przechowywać do 3 miesięcy w temperaturze 2-8 °C. |
| Bufor inkubacyjny | |
| Oznakowany enzym IgM | |
| Substrat TMB | |
| Kontrole | Po rekonstytucji rozporcjować i przechowywać w temperaturze ≤ -20 °C. Przechowywać do trzech miesięcy w temperaturze ≤ -20 °C.[1] |
| Kalibratory | |
| Roztwór zatrzymujący reakcję | Przechowywać do 3 miesięcy w temperaturze 18-28 °C. |

Tabela 2

[1] Rekonstytuowane kalibratory i kontrole można poddać trzem cyklom zamrażania i rozmrażania w ciągu 3 miesięcy.

## NIEZBĘDNE MATERIAŁY, KTÓRE NIE ZOSTAŁY DOSTARCZONE

- Automatyczne pipety z jednorazowymi końcówkami: 0,5-10 µL i 100-1000 µL
- Jednorazowe probówki polistyrenowe lub polipropylenowe do przygotowywania rozcieńczeń próbek
- 1000 mL cylinder do rozcieńczania buforu płuczącego
- Płuczka do płytek do mikromiareczkowania
- Bibuła matująca
- Wytrząsarka do płytek do mikromiareczkowania
- Czytnik płytek do mikromiareczkowania do pomiaru absorbancji przy 450 nm.

## OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

### Środki ostrożności

- Niniejszy test jest przeznaczony wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Zaleca się, by test był obsługiwany przez wykwalifikowany personel zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP):
  - Kalibratory, kontrole i płytka do mikromiareczkowania tego zestawu zawierają składniki pochodzenia ludzkiego. Chociaż testy na obecność HBV, HCV i HIV 1/2 dały wynik ujemny, to z odczynnikami należy obchodzić się tak, jakby były zdolne do przenoszenia infekcji.
  - Bufor inkubacyjny oraz oznakowany enzym zawierają potencjalnie zakaźne substancje pochodzenia zwierzęcego.
- Zestaw zawiera składniki sklasyfikowane zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:
  - Roztwór zatrzymujący reakcję zawiera kwas siarkowy (stęż. 2,5-5 %), w związku z tym, odczynniki mogą wywoływać podrażnienie skóry (H315), silne podrażnienie oczu (H319), i mogą powodować korozję metali (H290).
  - Kalibratory i kontrole zawierają siarczan gentamycyny (proszek), w związku z tym, odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317) i objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania (H334). Zawierają tiomersal (proszek), dlatego odczynnik jest śmiertelny w przypadku połknięcia, kontaktu ze skórą lub w przypadku wdychania (H300+H310+H330).
  - Bufor inkubacyjny i oznakowany enzym zawierają siarczan gentamycyny (stęż. < 1 %), w związku z tym odczynniki mogą powodować reakcje alergiczne skóry (H317).
- Unikać kontaktu odczynników ze skórą, oczami lub błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu, natychmiast przemyć narażone miejsce dużą ilością wody; w przeciwnym razie może dojść do podrażnienia/oparzeń.
- Odczynniki, próbki pacjentów i wszelkie odrzucone materiały muszą być traktowane jako odpady zakaźne, zgodnie z krajowymi wytycznymi i przepisami dotyczącymi zagrożeń biologicznych.

### Techniczne środki ostrożności

- Należy zapoznać się z instrukcją przed wykonaniem testu. Niewłaściwe rozcieńczanie, modyfikowanie lub przechowywanie odczynników w warunkach innych niż opisane w niniejszej instrukcji będzie miało negatywny wpływ na wydajność testu.
- Składników nie wolno używać po upływie daty ważności wydrukowanej na opakowaniu.
- Nie mieszać odczynników o różnych numerach partii.
- Należy dołożyć wszelkich starań, aby nie doszło do zanieczyszczenia krzyżowego między odczynnikami, próbkami lub między studzienkami.
- Mikrostudzienki nie mogą być użyte ponownie.

### Procedura testu ELISA

#### Temperatura odczynników

- Należy przygotować odczynniki przed rozpoczęciem procedury oznaczania. Etapy 3-9: Odczynniki użyte w etapach 3-9 muszą być zimne (2-8 °C) i utrzymywane w niskiej temperaturze podczas pipetowania i płukania. Zalecenie: Przygotować bufor płuczący dzień przed wykonaniem testu i zostawić na noc w lodówce.
- Wszystkie etapy płukania wykonać za pomocą zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego.
- Substrat TMB i roztwór zatrzymujący reakcję doprowadzić do temperatury pokojowej (18-28 °C) na początku procedury oznaczania.

#### Etapy płukania

- Etapy płukania 3, 6 i 9 są kluczowe dla usunięcia pozostałości powstałych w wyniku procesu produkcyjnego i/lub potencjalnie niezwiązanych przeciwciał w studzienkach.
- Zdecydowanie zaleca się automatyczną myjkę działającą w trybie “plate mode”, tj. każdy etap procesu (dozowanie/zasysanie) jest wykonywany na wszystkich paskach, sekwencyjnie, zanim urządzenie przejdzie do następnego cyklu płukania.
- Należy upewnić się, że wszystkie studzienki są całkowicie opróżnione po ostatnim cyklu płukania.

#### Inkubacja substratu

- Etap 11: Podczas inkubacji z substratem należy wstrząsnąć płytkami do mikromiareczkowania. W zależności od modelu wytrząsarki do płytek, zaleca się wytrząsanie przy 400-600 rpm. Roztwór powinien poruszać się w studzienkach, ale nie może się rozlewać.

#### Dodatkowe rozcieńczanie próbek

- Próbki przekraczające 70000 BTU mogą być rozcieńczone do analitycznego zakresu pomiarowego (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Należy użyć buforu inkubacyjnego do rozcieńczenia próbek surowicy.

## POBIERANIE PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Procedura wymaga odpowiednio < 0,1 mL krwi lub < 50 µL surowicy.

W celu uniknięcia hemolizy, pobrać krew do zwykłych probówek bez żadnych dodatków. Przygotować surowicę zgodnie z zaleceniami producenta. Zdekantować surowicę.

Próbki surowicy mogą być przechowywane w temperaturze 2-8 °C do 16 dni lub w temperaturze -20 °C do 12 miesięcy. Zamrożone próbki należy przed użyciem rozmrozić i dokładnie wymieszać poprzez delikatne obracanie lub odwracanie.
Zaleca się rozporcjowanie próbek surowicy przed zamrożeniem w celu uniknięcia powtarzających się cykli zamrażania/rozmrażania.

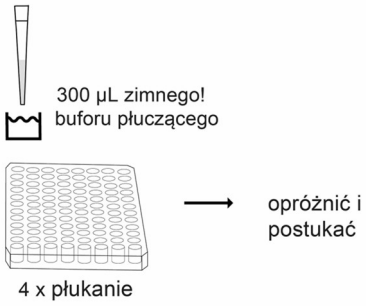
## PROCEDURA WYKONANIA TESTU

*Uwaga: Zrównoważyć roztwór substratu TMB do temperatury pokojowej (18-28 °C).*

1. Rozcieńczyć próbki 1:1000 z buforem inkubacyjnym. Należy użyć np. 1 µL surowicy + 1000 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu inkubacyjnego. Dokładnie wymieszać przez worteksowanie i pozostawić rozcieńczone próbki, jak również rekonstytuowane kalibratory i kontrole w temperaturze 2-8 °C na 30 minut przed pipetowaniem (należy odnieść się do etapów 4a - c).
2. Przygotować ramkę płytki z wystarczającą ilością pasków do przetestowania wymaganej liczby kalibratorów, kontroli i próbek. Usunąć nadmiar pasków z ramki i bezzwłocznie zamknąć je ponownie w torebce foliowej wraz ze środkiem pochłaniającym wilgoć. Przechowywać w warunkach chłodniczych.

*Uwaga: W etapach 3 do 9 użyć zimnych odczynników.*

3. Przepłukać studzienki cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę, aby usunąć całkowicie pozostały płyn.




*Uwaga: Natychmiast przejść do kolejnych etapów.*

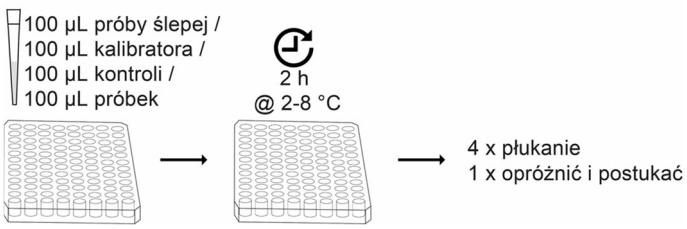
4a. Odpipetować 100 µL buforu inkubacyjnego (ślepa próba) w dwóch powtórzeniach i

Odpipetować 100 µL kalibratorów A-D w dwóch powtórzeniach do odpowiednich studzienek.

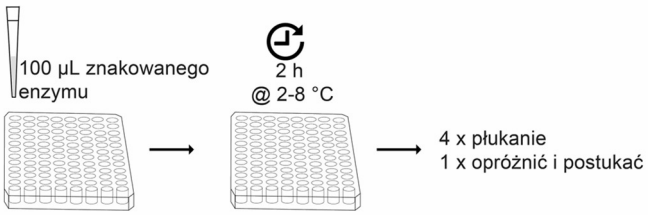
4b. Odpipetować po 100 µL kontroli niskiej i wysokiej w dwóch powtórzeniach do odpowiednich studzienek.

4c. Odpipetować 100 µL każdej rozcieńczonej próbki do kolejnych studzienek.

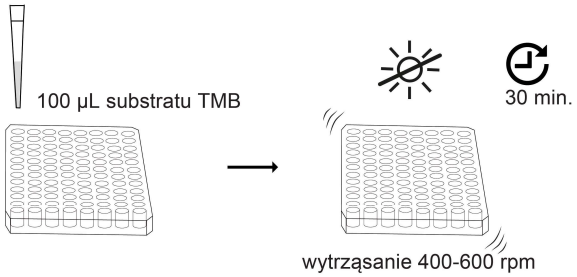
5. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (± 5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytki).
6. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i mocno stuknąć płytką o bibułę w celu całkowitego pozbycia się buforu płuczącego.



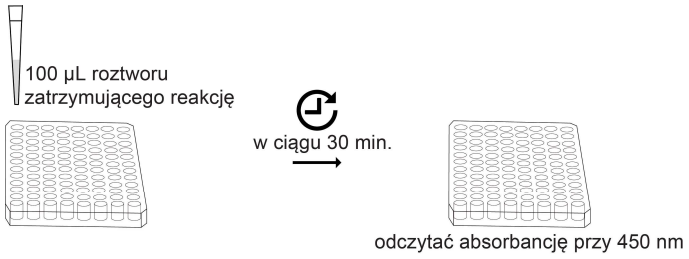

7. Dodać 100 µL znakowanego enzymu IgM do wszystkich studzienek.
8. Przykryć płytkę folią do płytek i inkubować przez 2 godziny (± 5 min) w temperaturze 2-8 °C (nie wstrząsać płytką).
9. Zdjąć folię z płytki. Opróżnić studzienki i przepłukać cztery razy przy użyciu co najmniej 300 µL zimnego(!) (2-8 °C) buforu płuczącego na studzienkę. Opróżnić studzienki i postukać mocno płytką w bibułę.




10. Dodać 100 µL roztworu substratu TMB (zrównoważonego do temperatury pokojowej) do każdej studzienki.
11. Przykryć płytkę folią do płytek, chronić płytkę przed światłem i inkubować na wytrząsarce do płytek przy 400-600 rpm, w temperaturze 18-28 °C przez 30 ± 2 minuty.




12. Dodać 100 µL roztworu zatrzymującego reakcję do wszystkich studzienek. Usunąć bąble powietrza przy pomocy końcówki od pipety. Przejść do etapu 13 w ciągu 30 minut.
13. Odczytać absorbancję przy 450 nm przy użyciu czytnika do płytek.




## KONTROLA JAKOŚCI

Dokładne zrozumienie niniejszej instrukcji jest konieczne do prawidłowego użytkowania produktu. Wiarygodne wyniki można uzyskać tylko przy użyciu precyzyjnych technik laboratoryjnych i dokładnego przestrzegania niniejszej instrukcji.

Zestaw anti-MAG Antibodies ELISA zawiera dwie kontrole: kontrolę niską i wysoką. Kontrolom przypisano zakresy wartości wskazane w arkuszu danych QC dostarczonym z każdym zestawem. Pomiary kontrolne muszą mieścić się we wskazanych zakresach wartości, aby uzyskać prawidłowe wyniki. Oprócz kontroli z zestawu, zaleca się stosowanie pul surowicy do wewnętrznej kontroli jakości.

Odtwarzalność parametrów krzywej standardowej i wartości kontrolnych powinna mieścić się w ustalonych

granicach dopuszczalności laboratoryjnej. Jeżeli wydajność testu nie spełnia ustalonych limitów, a powtarzalność wykluczyła błędy techniczne, należy sprawdzić następujące kwestie: *i)* kontrolowanie temperatury (odczynniki stosowane w etapach 3-9 przechowywać w temperaturze 2-8 °C); *ii)* dokładność termometrów, pipet i czasomierzy; *iii)* ustawienia czytnika ELISA; *iv)* daty ważności odczynników; *v)* warunki przechowywania i inkubacji; *vi)* kolor roztworu substratu TMB (powinien być bezbarwny); *vii)* czystość wody; *viii)* metody aspiracji i płukania.

## STANDARYZACJA I ZGODNOŚĆ METROLOGICZNA

Nie ma uznanych na szczeblu międzynarodowym ani krajowym materiałów referencyjnych ani referencyjnych procedur pomiarowych dla przeciwciał anty-MAG w próbkach surowicy. Zestaw anti-MAG Antibodies ELISA jest standaryzowany względem wewnętrznie ustalonego materiału referencyjnego. Wartości kalibratorów i kontroli są przypisywane zgodnie z protokołem transferu wartości. (ref. 1, 2), w celu zagwarantowania spójności metrologicznej i są wskazane w jednostkach miana BÜHLMANN. 95 % przedział ufności połączonej niepewności kalibratorów i kontroli produktów jest niższy niż 35 %.

## OBLICZANIE WYNIKÓW TESTU

### Krzywa kalibracyjna

Należy użyć oprogramowania, który wykona następujące obliczenia:

- odejmie wartość OD próby ślepej z każdej studzienki z kalibratorem, aby obliczyć wartość kalibratora.
- ustanowi krzywą standardową za pomocą 4-parametrowego dopasowania logistycznego (4 PL).

### Kontrole i próbki

Należy użyć oprogramowania zdolnego do następujących kalkulacji;

- odjęcie ślepej wartości OD od każdej studzienki z kontrolą/próbką. Obliczenie poziomu przeciwciał anty-MAG w każdej studzience z kontrolami/próbką, w BTU, przy wykorzystaniu ustalonej krzywej kalibracyjnej.

*Uwaga: Wyniki przedstawione w tabeli 6 i na rycinie 1 są przykładami i służą wyłącznie do celów demonstracyjnych. Krzywa kalibracyjna musi być wygenerowana dla każdego zestawu próbek do przetestowania.*

## OGRANICZENIA

- Test nie został zwalidowany dla płynu mózgowo-rdzeniowego i plazmaferezy.
- Dożylne immunoglobuliny (IVIg) i krioglobuliny mogą wpływać na wyniki testu.

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

| Wynik | Interpretacja |
|---|---|
| < cut-off | Wynik negatywny |
| ≥ cut-off | Wynik pozytywny (wskazujący na obecność przeciwciał anty-MAG) |

Tabela 3

Wyniki badań należy interpretować w połączeniu z informacjami dostępnymi z oceny klinicznej pacjenta i innych procedur diagnostycznych.

## PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE I WARTOŚCI CUT-OFF

Przedział referencyjny dla testu anti-MAG Antibodies ELISA był ustalony zgodnie z CLSI EP28-A3 dla 141 próbek surowicy od pozornie zdrowych pacjentów w wieku od 18 do 70 lat. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

| Przedział referencyjny [BTU] | |
|---|---|
| **2,5 percentyla (90% CI)** | **97,5 percentyla (90% CI)** |
| 0 (0 - 0) | 0 (0 - 988) |

Tabela 4

Tysiąc (1000) BTU to ustalona wartość cut-off i stosowana jest w opublikowanych badaniach (ref. 5, 6, 9).
Odmienne wartości cut-off były również stosowane w literaturze naukowej (ref. 3, 4, 7, 8, tabela 13) i proponowane były kategorie miana dla pozytywnych wyników testów (ref. 10).

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Charakterystyka wydajności jest określana na podstawie średnich wyników z dwóch studzienek.

### Powtarzalność: 3,2 – 11,8 % CV

### Precyzja wewnątrzlaboratoryjna: 5,5 – 15,9 % CV

Powtarzalność i precyzję wewnątrzlaboratoryjną ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując standardowy projekt badania 20 dni x 2 serie x 2 powtórzenia. Testowano cztery (4) zbiorcze próbki surowicy ludzkiej, pokrywające zakres pomiarowy testu. Piąta próbka ujemna przy 213 BTU dała 79/80 wyników (98,8 %) w ramach kategorii (< 1000 BTU). Wyniki podsumowano w tabelach 7 i 8.

### Odtwarzalność: 10,0 – 21,6 % CV

Odtwarzalność ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykorzystując standardowy projekt badania 3 operatorów x 3 urządzenia/numery partii x 5 dni x 5 powtórzeń. Testowano cztery (4) zbiorcze próbki surowicy, pokrywające zakres pomiarowy testu. Piąta próbka ujemna przy 55 BTU dała 75/75 wyników (100,0 %) w ramach kategorii (< 1000 BTU). Wyniki podsumowano w tabelach 9 i 10.

### Granica wykrywalności (LoD): 305 BTU

Wartość LoD ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP17-A2 przy użyciu analizy nieparametrycznej z odsetkiem wyników fałszywie dodatnich (α) mniejszym niż 5 % i fałszywie ujemnych (β) mniejszym niż 5 % w oparciu o 120 oznaczeń, w tym 60 ślepych prób i 60 powtórzeń niskiego poziomu, oraz o **LoB 138 BTU**.

### "Efekt haka" w wysokiej dawce

Próbki z poziomami przeciwciał anty-MAG do $2{,}8 \times 10^5$ BTU mogą być mierzone bez ograniczania zakresu pomiarowego testu.

**Reaktywność krzyżowa**

Reaktywność krzyżowa testu anti-MAG Antibody ELISA została przetestowana dla próbek, którym przypisano chorobę autoimmunologiczną lub związaną z nią obecność przeciwciał. Przeciwciała i liczbę badanych próbek przedstawiono w tabeli 11.

Inne próbki z różnymi mimetykami neuropatii obwodowej zostały również przetestowane za pomocą testu anti-MAG Antibody ELISA i zostały przedstawione w tabeli 12.

Jedna (1) z czterech (4) badanych próbek od pacjentów z chorobą Waldenstroma była nieznacznie seropozytywna dla przeciwciał anty-MAG w zakresie 1000-1500 BTU.

## WYDAJNOŚĆ KLINICZNA

Wydajność kliniczną oceniono na podstawie metaanalizy recenzowanej literatury naukowej. Przeprowadzono siedem badań w celu oceny wydajności klinicznej testu anti-MAG Antibodies ELISA w diagnostyce demielinizacyjnej neuropatii obwodowej z gammopatią monoklonalną IgM (ref. 3-9). Wyniki analizy i szczegóły badania przedstawiono odpowiednio w tabeli 5 i tabeli 13.

| | |
|---|---|
| N neuropatia | 344 |
| N kontrole | 447 |
| Wrażliwość (95 % CI) | 58,9 % (47,2 – 69,6 %) |
| Specyficzność (95 % CI) | 98,2 % (89,7 – 99,7 %) |
| ROC AUC | 0,75 |

Tabela 5

CI – przedział ufności
ROC AUC – obszar pod krzywą charakterystyki operacyjnej odbiornika

## SUBSTANCJE INTERFERUJĄCE

Wrażliwość testu Anti-MAG Antibodies ELISA na farmaceutyki podawane doustnie i we wstrzyknięciach oraz na substancje endogenne oceniono zgodnie z wytycznymi CLSI EP07-A3. Błąd systematyczny w wynikach przekraczający 20% uznano za interferencję.

Nie wykryto interferencji z następującymi substancjami do podanych stężeń: immunoglobulina dożylna (20 mg/mL), kladrybina (273 ng/mL), Interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), czynnik reumatoidalny (680 IU/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolizat (10 mg/mL), triglicerydy (20 mg/mL), związana bilirubina (0,4 mg/mL), niezwiązana bilirubina 0,4 mg/mL).

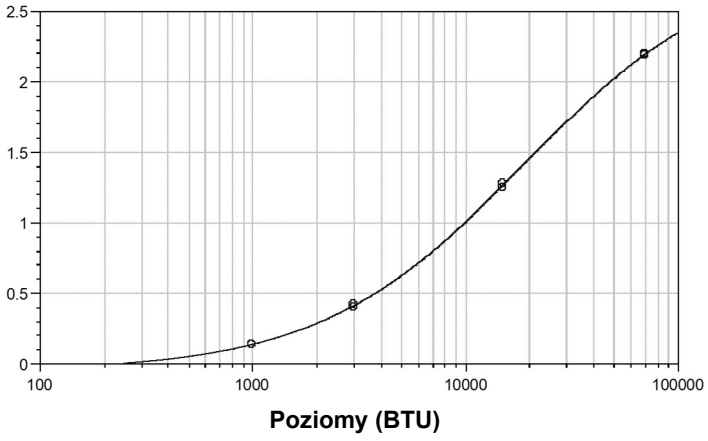
## TABELE I RYCINY

### Przykład wyników

| | Poziom [BTU] | Absorbancja [OD] | Obliczony poziom [BTU] | CV [%] |
|---|---|---|---|---|
| Próba ślepa 1 | | 0,046 | | |
| Próba ślepa 2 | | 0,049 | | |
| **Średnia** | | **0,048** | | |
| Kalibrator A | 70000 | 2,195 | 70497 | |
| Kalibrator A | 70000 | 2,188 | 69508 | |
| **Średnia** | **70000** | **2,191** | **70000** | **0,2** |
| Kalibrator B | 15000 | 1,272 | 15313 | |
| Kalibrator B | 15000 | 1,245 | 14693 | |
| **Średnia** | **15000** | **1,258** | **15000** | **1,5** |
| Kalibrator C | 3000 | 0,417 | 3070 | |
| Kalibrator C | 3000 | 0,400 | 2931 | |
| **Średnia** | **3000** | **0,408** | **3000** | **2,9** |
| Kalibrator D | 1000 | 0,135 | 1009 | |
| Kalibrator D | 1000 | 0,132 | 991 | |
| **Średnia** | **1000** | **0,134** | **1000** | **1,5** |
| Kontrola NISKA | | 0,360 | 2602 | |
| Kontrola NISKA | | 0,376 | 2731 | |
| **Średnia** | | **0,368** | **2666** | **3,1** |
| Kontrola WYSOKA | | 1,395 | 18433 | |
| Kontrola WYSOKA | | 1,383 | 18090 | |
| **Średnia** | | **1,389** | **18261** | **0,6** |
| Próbka 1 | | 0,001 | 255 | |
| Próbka 1 | | 0,009 | 297 | |
| **Średnia** | | **0,005** | **276** | **116,5** |
| Próbka 2 | | 1,092 | 11599 | |
| Próbka 2 | | 0,969 | 9511 | |
| **Średnia** | | **1,030** | **10555** | **8,5** |

Tabela 6

### Przykład krzywej standardowej ($OD_{450}$)




Rycina 1

### Precyzja wewnątrzlaboratoryjna

| ID | Średni poziom, BTU | n | Wewnątrz jednej serii | | Pomiędzy seriami | | Pomiędzy dniami | | Wewnątrz laboratorium | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 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 |

Tabela 7

| ID | Opis | n | Średni poziom, BTU | % Wewnątrz kategorii |
|---|---|---|---|---|
| S1 | < 1000 BTU (negatywny) | 80 | 213 | 98,8 |

Tabela 8

### Odtwarzalność

| ID | Średni poziom, BTU | n | Wewnątrz jednej serii | | Pomiędzy seriami | | Pomiędzy dniami | | Wewnątrz laboratorium | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 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 |

Tabela 9

| ID | Opis | n | Średni poziom, BTU | % Wewnątrz kategorii |
|---|---|---|---|---|
| S1 | < 1000 BTU (negatywny) | 75 | 55 | 100,0 |

Tabela 10

### Reaktywność krzyżowa

| Przeciwciała | | # |
|---|---|---|
| Przeciwciała cytoplazmatyczne przeciwko neutrofilom (ANCA) | | 13 |
| Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) | | 23 |
| Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (anti-Tg) | | 5 |
| Przeciwciała przeciw rybonukleoproteinie | | 1 |
| Przeciwciała przeciw gangliozydom | anty-GD1b | 4 |
| | anty-GM1 | 3 |
| | anty-GQ1b | 5 |
| Przeciwciała przeciw receptorowi acetylocholiny i przeciwciała przeciwko specyficznej dla mięśni kinazie tyrozynowej | | 7 |

Tabela 11

| Neuropatie obwodowe | # |
|---|---|
| Alkoholik/Alkoholizm | 1 |
| Cukrzyca | 5 |
| **Zaburzenia imitujące neuropatię obwodową** | **#** |
| Stwardnienie zanikowe boczne | 14 |
| Choroba Chagasa | 5 |
| Idiopatyczna neuropatia obwodowa | 1 |
| Sarkoidoza | 4 |
| Choroba Waldenstroma | 4 |
| Ziarniniakowatość Wegenera | 1 |

Tabela 12

## TABELE I RYCINY

### Wydajność kliniczna

| Badanie | Kontrole pozytywne | Kontrole negatywne | Cut-off | Wrażliwość | Specyficzność |
|---|---|---|---|---|---|
| Kuijf i inni, 2009 | DPN +IgM MG (n = 68) | OPN + HC (n = 139) | 1500 BTU | 0,72 | 0,97 |
| Mata i inni, 2011 | MGUS PN (n = 46) | | 3200 BTU | 0,37 | |
| Campagnolo i inni, 2015 | DPN +IgM MG (n = 20) | HDC + HC (n = 3) | 1000 BTU | 0,94 | 1,00 |
| Stork i inni, 2014 | DPN +IgM MG (n = 26) | | 1000 BTU | 0,69 | |
| Stork i inni, 2016 | DPN +IgM MG (n = 83) | HC (n=83) | 1000 BTU | 0,59 | 1,00 |
| Taams i inni, 2018 | MGUS PN (n = 101) | | 1500 BTU | 0,51 | |
| Liberatore i inni, 2020 | | OPN + HC (n = 222) | 7000 BTU | | 1,00 |

Tabela 13

DPN+IgM MG, Polineuropatia demielinizacyjna z gammapatią monoklonalną IgM; MGUS PN, Polineuropatia związana z gammapatią monoklonalną o nieznanym znaczeniu; OPN, inna polineuropatia; HC, zdrowa kontrola; HDC, kontrole chorych hematologicznie

**KRÓTKI PROTOKÓŁ**

*Ważne: Krótki protokół nie zastępuje szczegółowych informacji zawartych w niniejszej instrukcji użytkowania.*

**Dzień przed wykonaniem testu**

## Przygotowanie buforu płuczącego

**Rozcieńczyć koncentrat buforu płuczącego wodą dejonizowaną w stosunku 1:10**

↓

*Zalecenie: Przygotować bufor płuczący dzień przed wykonaniem testu i zostawić na noc w lodówce.*

**Dzień wykonania testu**

## Przygotowanie próbek / kontroli / kalibratorów

**Rozcieńczyć próbki surowicy 1:1000 (zimnym!) buforem inkubacyjnym i dokładnie wymieszać przez worteksowanie**

**Odtworzyć lub rozmrozić (rozporcjowane) odtworzone kontrole i kalibratory**

↓

*pozostawić na 30 minut w temperaturze 2-8 °C*

## anti-MAG Antibodies ELISA

**Wstępnie powlekana płytka do mikromiareczkowania**

↓

*przepłukać 4 x przy użyciu ≥ 300 µL (zimnego!) buforu płuczącego*

**100 µL bufor inkubacyjny, kalibratory, kontrole lub próbki surowicy (1:1000)**

↓

*inkubować 2 godziny (± 5 min) w 2-8 °C*

*przepłukać 4 x przy użyciu ≥ 300 µL (zimnego!) buforu płuczącego*

**dodać 100 µL znakowanego enzymu**

↓

*inkubować 2 godziny (± 5 min) w 2-8 °C*

*przepłukać 4 x przy użyciu ≥ 300 µL (zimnego!) buforu płuczącego*

**dodać 100 µL substratu TMB**

↓

*inkubować 30 minut (± 2 min) w 18-28 °C na wytrząsarce do płytek przy ~400-600 rpm*

**dodać 100 µL roztworu zatrzymującego reakcję**

➡ **Odczytać absorbancję przy 450 nm (w ciągu 30 minut)**

**CZAS DO OTRZYMANIA WYNIKÓW: 5 GODZIN**

## REFERENCJE


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).

## LISTA ZMIAN

| Data | Wersja | Zmiana |
|---|---|---|
| 2026-09-09 | A5 | Sprecyzowanie części *Przeznaczenie* przez dodanie informacji dotyczących badanej populacji, użytkownika docelowego oraz automatyzacji testu.<br>Aktualizacje rozdziałów *Niezbędne materiały, które nie zostały dostarczone*, *Procedura wykonania testu*, *Kontrola jakości*, *Wydajność kliniczna*, *Tabele i ryciny* (tabela 12) oraz *Krótki protokół*.<br>Poprawki rozdziałów *Ostrzeżenia i środki ostrożności* oraz *Symbole*.<br>Aktualizacja symbolu eIFU na pierwszej stronie (dotyczy tylko dokumentu w wersji angielskiej). |

## RAPORTOWANIE WYPADKÓW W PAŃSTWACH CZŁONKOWSKICH UE

W przypadku wystąpienia jakiegokolwiek poważnego wypadku z udziałem tego urządzenia, należy bezzwłocznie zgłosić to producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego.

## USZKODZENIE PRZESYŁKI

Jeżeli produkt został uszkodzony należy poinformować o tym dystrybutora.

## SYMBOLE

Firma BÜHLMANN stosuje symbole i oznaczenia wymienione i opisane w normie ISO 15223-1.
Definicje symboli można znaleźć w słowniczku symboli na stronie: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Dodatkowo stosowane są następujące symbole i oznaczenia:

| Symbol | Wyjaśnienie |
|---|---|
| MP | Płytka do mikromiareczkowania |
| BUF INC | Bufor inkubacyjny |
| BUF WASH 10X | Koncentrat buforu płuczącego (10x) |
| CONTROL L | Kontrola Niska |
| CONTROL H | Kontrola Wysoka |
| CAL A - CAL D | Kalibrator A - D |
| EL IgM | Oznakowany Enzym IgM |
| SUBS TMB | Substrat TMB |
| SOLN STOP | Roztwór zatrzymujący reakcję |

CE 0123