anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Glicoproteína associada à mielina

Para uso em diagnósticos *in vitro*

EK-MAG 96 tests

Data de lançamento: 2026-09-09
Version A5

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

PORTUGUÊS

USO PRETENDIDO

O anti-MAG Antibodies ELISA é um teste de diagnóstico *in vitro* para determinação semiquantitativa de anticorpos anti-MAG IgM em amostras de soro humano de pacientes com sintomas de neuropatia periférica desmielinizante e/ou pacientes com gamopatia monoclonal IgM e sintomas neurológicos. O teste tem a finalidade de atuar como auxiliar no diagnóstico da neuropatia anti-MAG, em conjunção com outros resultados clínicos e laboratoriais.

Somente para uso laboratorial por profissionais da área de saúde. Não automatizado.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O anti-MAG Antibodies ELISA permite medir os anticorpos IgM contra a glicoproteína associada à mielina (MAG) no soro, por meio do método tipo sandwich ELISA. A placa de microtitulação é revestida com MAG purificada do cérebro humano. O soro dos pacientes, controles e calibradores são adicionados aos poços da placa de microtitulação. Depois de 2 horas de incubação a 2-8 °C e de etapas de lavagem, um anticorpo de detecção conjugado a uma peroxidase de raiz forte (HRP) detecta os anticorpos anti-MAG ligados à MAG humana na placa. Depois de mais 2 horas de incubação e de etapas adicionais de lavagem, o substrato cromogênico da HRP, tetrametilbenzidina (TMB), é adicionado (formação da cor azul), seguido de uma solução de parada (mudança para a cor amarela). A absorção é medida a 450 nm.

O nível final de anticorpos anti-MAG é determinado usando-se a curva de calibração gerada a partir dos valores medidos dos calibradores e é expresso em Unidades de Título BÜHLMANN (BTU).

REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

Reagentes	Quantidade	Código	Reconstituição
Placa de microtitulação 96 poços pré-revestidos com MAG humana	12 tiras x 8 poços com suporte	B-MAG-MP	Pronto para utilização
Selador da placa	3 unidades	-	Pronto para utilização
Tampão de lavagem concentrado (10x)	1 frasco x 100 mL	B-MAG-WB	Diluir com 900mL de água deionizada
Tampão de incubação com conservantes	1 frasco x 100 mL	B-MAG-IB	Pronto para utilização
Calibradores A a D[1] liofilizados, com conservantes	4 frascos	B-MAG-CASET	Adicionar 1 mL de tampão de incubação
Controles alto e baixo [2] liofilizados, com conservantes	2 frascos	B-MAG-CONSET	Adicionar 1 mL de tampão de incubação
Marcador enzimático IgM Anticorpo anti-IgM humano conjugado à HRP em uma matriz de tampão com conservantes	1 frasco x 11 mL	B-MAG-ELM	Pronto para utilização Solução azul
Substrato de TMB TMB em tampão de citrato	1 frasco x 11 mL	B-TMB	Pronto para utilização
Solução de parada Ácido sulfúrico 0,25 M	1 frasco x 11 mL	B-STS	Pronto para utilização **Agente corrosivo**

Tabela 1

[1] Depois da reconstituição, os calibradores A, B, C e D contêm 70000, 15000, 3000 e 1000 Unidades de Título BÜHLMANN (BTU) de anticorpos anti-MAG, respectivamente.

[2] Os controles contêm quantidades de anticorpos anti-MAG específicas a cada lote. Consulte a folha de dados de CQ adicional para obter os níveis reais.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

Reagentes selados / não abertos	
Guarde a uma temperatura na faixa de 2-8 °C. Não use os reagentes depois da data de validade impressa nos rótulos.	
Reagentes abertos / reconstituídos	
Placa de microtitulação	Retorne imediatamente as tiras não usadas para a embalagem aluminizada contendo os sachês de dessecante e torne a selar ao longo de toda a borda do fecho tipo zip. Armazenar por até 3 meses a 2-8 °C.
Tampão de lavagem diluído	Armazenar por até 3 meses a 2-8 °C.
Tampão de incubação	
Marcador enzimático IgM	
Substrato de TMB	
Controles	Separe as alíquotas após a reconstituição e armazene a uma temperatura ≤ -20 °C. Armazenar por até 3 meses a uma temperatura ≤ -20 °C.[1]
Calibradores	
Solução de parada	Armazenar por até 3 meses a 18-28 °C.

Tabela 2

[1] Os calibradores e controles reconstituídos podem ser submetidos a 3 ciclos de congelamento-descongelamento durante os 3 meses.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

- Pipetas de precisão com ponteiras descartáveis: pipetas de 0,5-10 µL e 100-1000 µL
- Tubos descartáveis de poliestireno ou polipropileno para a preparação de diluições de amostras
- Cilindro de 1000 mL para a diluição do tampão de lavagem
- Lavador para a placa de microtitulação
- Papel mata-borrão
- Agitador da placa de microtitulação
- Leitor de placa de microtitulação para medição da absorbância a 450 nm

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Precauções de segurança

- Este teste se destina somente ao uso para diagnósticos *in vitro.*
- Recomenda-se que este teste seja executado por pessoas qualificadas, de acordo com os princípios de boas práticas laboratoriais (BPL):
  - Os calibradores, controles e a placa de microtitulação deste kit contêm componentes de origem humana. Embora testados negativos para HBV, HCV e HIV1/2, os reagentes devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções.
  - O tampão de incubação e o marcador enzimático contêm substâncias de origem animal potencialmente infecciosas.
- Este kit contém componentes classificados de acordo com a Regulamentação (CE) n.º 1272/2008:
  - A solução de parada contém ácido sulfúrico (conc. 2,5-5 %), portanto, os reagentes podem provocar irritação da pele (H315) e irritação ocular grave (H319), e podem ser corrosivos para metais (H290).
  - Os calibradores e controles contém sulfato de gentamicina (pó), portanto, os reagentes podem provocar reação alérgica da pele (H317) e, em caso de inalação, sintomas alérgicos, de asma, ou dificuldades respiratórias (H334). Eles também contém timerosal (pó), portanto, os reagentes são fatais se ingeridos, em contato com a pele, ou inalados (H300+H310+H330).
  - O tampão de incubação e o marcador enzimático contém sulfato de gentamicina (conc. < 1 %), portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas da pele (H317).
- Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com quantidades abundantes de água; caso contrário, irritação ou queimaduras poderão ocorrer.
- Os reagentes, amostras de pacientes e todos os materiais descartados devem ser tratados como resíduos perigosos, em conformidade com as diretrizes ou regulamentações nacionais de biossegurança.

Precauções técnicas

- Leia atenciosamente as instruções antes de executar o teste. O desempenho dos testes será afetado negativamente se os reagentes forem diluídos incorretamente, modificados, ou armazenados em condições diferentes daquelas detalhadas nestas instruções de uso.
- Os componentes não devem ser usados depois da data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes diferentes de reagentes.
- Todas as providências devem ser tomadas para assegurar que não ocorra contaminação cruzada entre os reagentes, amostras ou entre poços.
- Os micropoços não podem ser reutilizados.

Procedimento ELISA

Temperatura dos reagentes

- Prepare os reagentes antes de iniciar o procedimento de teste. Etapas 3-9: Os reagentes utilizados nas etapas 3-9 devem estar frios (28 °C) e devem ser mantidos frios durante a pipetagem e lavagem. Recomendação: Prepare o tampão de lavagem no dia anterior à execução do ensaio e deixe-o no refrigerador a noite toda.
- Todas etapas de lavagem devem ser realizadas com o tampão de lavagem frio(!) (2-8 ˚C).
- Deixe que o substrato de TMB e a solução de parada atinjam a temperatura ambiente (18-28 °C) no início do procedimento de teste.

Etapas de lavagem

- As etapas de lavagem 3, 6 e 9 são fundamentais para a remoção de resíduos gerados pelo processo de produção e/ou anticorpos potencialmente não ligados dos poços.
- Recomenda-se enfaticamente usar um lavador automático operando no “modo de placa”, i.e., cada etapa do processo (distribuição/aspiração) é executada em todas as tiras sequencialmente, antes que o instrumento passe para o próximo ciclo de lavagem.
- Certifique-se de que todos os poços estão completamente vazios depois do último ciclo de lavagem.

Incubação do substrato

- Etapa 11: Agite as placas de microtitulação durante a incubação com o substrato. Dependendo do modelo do agitador de placas, recomendamos 400-600 rpm. A solução deve se movimentar nos poços, mas sem derramar.

Diluição adicional das amostras

- As amostras acima de 70000 BTU podem ser diluídas até a faixa de medição analítica (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Use o tampão de incubação para diluir amostras de soro.

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

O procedimento requer menos de 0,1 mL de sangue ou menos de 50 µL de soro, respectivamente.

Colete o sangue em tubos simples para venopunção sem nenhum aditivo, e evite a hemólise. Execute a preparação do soro de acordo com as instruções do fabricante. Decante o soro.

As amostras de soro podem ser armazenadas a 2-8 °C por até 16 dias, ou a -20 °C por até 12 meses. As amostras congeladas devem ser descongeladas e misturadas bem por meio de movimentos circulares suaves ou inversão antes da utilização.
Recomendamos preparar alíquotas de amostras de soro antes do congelamento para evitar ciclos repetidos de congelamento/descongelamento.

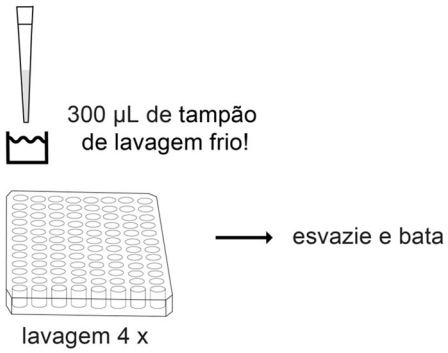
PROCEDIMENTO

Nota: Deixe que a solução do substrato de TMB atinja a temperatura ambiente (18-28 °C).

1. Dilua as amostras a 1:1000 com o tampão de incubação. Por exemplo, use 1 µL de soro + 1000 µL de tampão de incubação frio(!) (2-8 °C). Misture bem em agitador tipo vórtex e deixe as amostras diluídas e os calibradores e controles reconstituídos em repouso por 30 minutos a 2-8 °C antes de pipetar (consulte as etapas 4a - c).
2. Prepare um suporte de placa com tiras suficientes para testar a quantidade requerida de calibradores, controles e amostras. Remova o excesso de tiras do suporte e torne a selá-las sem demora na embalagem aluminizada, juntamente com os sachês de dessecante. Mantenha sob refrigeração.

Nota: Use reagentes frios nas etapas 3 a 9.

3. Lave os poços quatro vezes, usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio(!) (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão para remover completamente todo o líquido remanescente.



Nota: Proceda imediatamente com as próximas etapas.

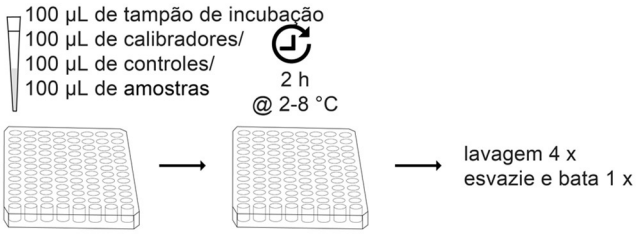
4a. Pipete 100 µL do tampão de incubação (branco) em duplicata e

Pipete 100 µL dos calibradores A-D nos respectivos poços.

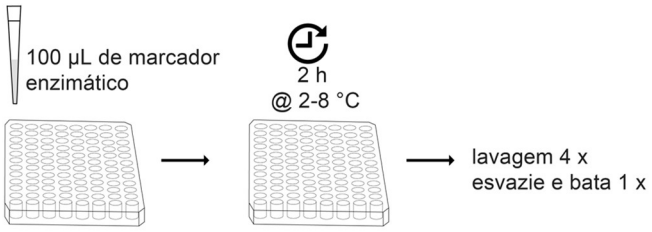
4b. Pipete 100 µL dos controles baixo e alto em duplicata nos respectivos poços.

4c. Pipete 100 µL de cada amostra diluída nos poços subsequentes.

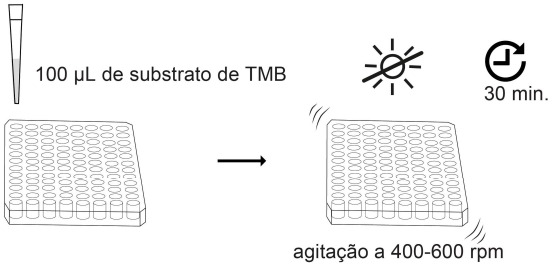
5. Cubra a placa com um selador e incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2-8 °C (não agite a placa).
6. Remova o selador da placa. Esvazie os poços e lave-os quatro vezes usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio(!) (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão para remover o tampão de lavagem completamente.



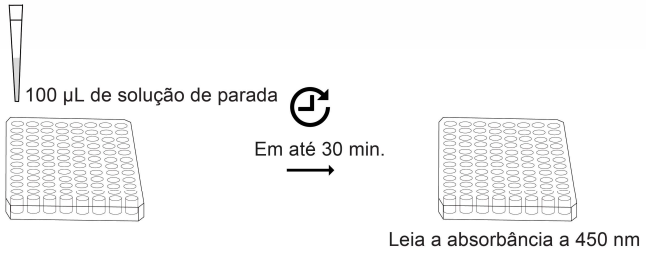
7. Adicione 100 µL do marcador enzimático IgM a todos os poços.
8. Cubra a placa com um selador e incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2-8 °C (não agite a placa).
9. Remova o selador da placa. Esvazie os poços e lave-os quatro vezes usando pelo menos 300 µL de tampão de lavagem frio(!) (2-8 °C) por poço. Esvazie os poços e bata a placa com firmeza sobre papel mata-borrão.



10. Adicione 100 µL de solução do substrato de TMB (equilibrada à temperatura ambiente) a cada poço.
11. Cubra a placa com um selador, proteja a placa contra luz e incube em um agitador de placas ajustado para 400-600 rpm a 18-28 °C por 30 ± 2 minutos.



12. Adicione 100 µL de solução de parada a todos os poços. Remova bolhas de ar com a ponta de uma pipeta. Execute a etapa 13 dentro de até 30 minutos.
13. Leia a absorbância a 450 nm em um leitor de placa de microtitulação.



CONTROLE DE QUALIDADE

Para que se possa utilizar o produto com sucesso, é necessário compreender bem estas instruções de uso. Somente serão obtidos resultados confiáveis se técnicas laboratoriais precisas forem empregadas, seguindo-se estas instruções de uso à risca.

O kit anti-MAG Antibodies ELISA é fornecido com dois controles: alto e baixo. Faixas de valores são atribuídas aos controles, conforme indicado na folha de dados de CQ fornecida com cada kit. As medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas para que resultados válidos sejam obtidos.

Em adição aos controles do kit, também recomendamos o uso de um pool de soros para fins de controle de qualidade interno.

A reprodutibilidade de parâmetros da curva-padrão e dos valores de controle deve se manter dentro dos limites estabelecidos de aceitabilidade do laboratório. Se o desempenho do teste não atender aos limites estabelecidos e a repetição houver excluído erros de técnica, verifique os seguintes pontos: *i)* o controle de temperatura (reagentes usados nas etapas 3-9 mantidos a 2-8 °C); *ii)* a precisão dos termômetros, da pipetagem e

dos dispositivos de cronometragem; *iii)* os ajustes do leitor ELISA; *iv)* as datas de validade dos reagentes; *v)* as condições de armazenamento e incubação; *vi)* a aparência da solução do substrato de TMB (deve ser incolor); *vii)* a pureza da água; e, *viii)* os métodos de aspiração e lavagem.

PADRONIZAÇÃO E RASTREABILIDADE METROLÓGICA

Não existem materiais de referência ou procedimentos de medição de referência reconhecidos internacional ou nacionalmente para os anticorpos anti-MAG em amostras de soro. O anti-MAG Antibodies ELISA é padronizado em relação a um material de referência estabelecido internamente. Os valores dos calibradores e dos controles são atribuídos de acordo com um protocolo de transferência de valores (Ref. 1, 2) para garantir a rastreabilidade metrológica, e são indicados em Unidades de Título BÜHLMANN arbitrárias. O intervalo de confiança de 95 % da incerteza combinada dos calibradores e controles do produto é inferior a 35 %.

CÁLCULOS E RESULTADOS

Curva-padrão

Utilize um programa de software que seja capaz de executar os seguintes cálculos:

- Subtrair o valor da densidade óptica (DO) dos brancos de cada poço de calibrador para calcular o valor do calibrador.
- Gerar uma curva-padrão utilizando um ajuste por regressão logística de 4 parâmetros (4 PL).

Controles e amostras

Utilize um programa de software que seja capaz de executar os seguintes cálculos:

- Subtrair o valor da densidade óptica (DO) dos brancos de cada poço de controle/amostra. Calcular o nível de anticorpos anti-MAG dos controles/amostras em cada poço, em BTU, usando a curva-padrão gerada.

Nota: Os resultados apresentados na Tabela 6 e na Figura 1 são exemplos fornecidos apenas para fins de demonstração. Uma curva de calibração deve ser gerada para cada conjunto de amostras a ser testado.

LIMITAÇÕES

- Este teste ainda não foi validado para fluido cerebrospinal (FCE) e plasmaférese.
- Imunoglobulinas intravenosas (IVIg) e crioglobulinas podem afetar os resultados do teste.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultado	Interpretação
< valor de corte	Resultado negativo
≥ valor de corte	Resultado positivo (indicação da presença de anticorpos anti-MAG)

Tabela 3

Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.

INTERVALOS DE REFERÊNCIA E VALORES DE CORTE

O intervalo de referência do teste anti-MAG Antibodies ELISA foi determinado de acordo com a diretriz EP28-A3 do CLSI, com 141 amostras de soro de indivíduos aparentemente saudáveis, com idades variando entre 18 e 70 anos. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Intervalo de referência [BTU]	
Percentil 2,5 (90 % do IC)	**Percentil 97,5 (90 % do IC)**
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tabela 4

Mil (1000) BTU é um valor de corte estabelecido, usado em estudos publicados (Ref. 5, 6 e 9).
Desvios dos valores de corte também têm sido usados na literatura científica (Ref. 3, 4, 7 e 8, Tabela 13) e categorias de título para resultados positivos de testes já foram propostas (Ref. 10).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho baseiam-se em resultados médios de 2 poços.

Repetibilidade: 3,2 – 11,8 % CV

Precisão intralaboratorial: 5,5 – 15,9 % CV

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo de estudo padronizado de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas. Foram testadas quatro (4) amostras séricas humanas agrupadas, abrangendo a faixa de medição do teste.
Uma quinta amostra negativa a 213 BTU produziu 79/80 resultados (98,8 %) dentro da categoria (< 1000 BTU). Os resultados estão resumidos nas Tabelas 7 e 8.

Reprodutibilidade: 10,0 – 21,6 % do CV

A reprodutibilidade foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, por meio de medições empregando um arranjo de estudo de 3 operadores x 3 instrumentos/lotes x 5 dias x 5 replicatas. Foram testadas quatro (4) amostras séricas humanas agrupadas, abrangendo a faixa de medição do teste. Uma quinta amostra negativa a 55 BTU produziu 75/75 resultados (100,0 %) dentro da categoria (< 1000 BTU). Os resultados estão resumidos nas Tabelas 9 e 10.

Limite de detecção (LoD): 305 BTU

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz CLSI EP17-A2 usando uma análise não paramétrica com uma proporção de falso positivo (α) menor que 5 % e falso negativo (β) menor que 5 % com base em 120 determinações, com 60 réplicas em branco e 60 réplicas de baixo nível, e um **LoB de 138 BTU**.

Efeito gancho com dose elevada

As amostras com níveis de anticorpos anti-MAG até $2{,}8 \times 10^5$ BTU podem ser medidas sem limitar a faixa de medição do teste.

Reatividade cruzada

A reatividade cruzada do ensaio anti-MAG Antibodies ELISA foi testada para amostras designadas com uma doença autoimune ou presença associada de anticorpos. Os anticorpos e o número de amostras testadas são mostrados na Tabela 11.

Outras amostras com diferentes mimetizadores de doenças de neuropatia periférica também foram testadas com o anti-MAG Antibodies ELISA e são apresentadas na Tabela 12.

Uma (1) das quatro (4) amostras testadas de pacientes com doença de Waldenstrom foi levemente soropositiva para anticorpos anti-MAG na faixa de 1000 a 1500 BTU.

DESEMPENHO CLÍNICO

O desempenho clínico foi avaliado por meio de metanálise de literatura científica revisada por pares. Sete estudos abordaram o desempenho clínico do anti-MAG Antibodies ELISA no diagnóstico de neuropatias periféricas desmielinizantes com gamopatia monoclonal de IgM (Ref. 3-9). Os resultados das análises e os detalhes dos estudos podem ser encontrados na Tabela 5 e na Tabela 13, respectivamente.

N.º de neuropatias	344
N.º de controles	447
Sensibilidade (95 % do IC)	58,9 % (47,2-69,6 %)
Especificidade (95 % do IC)	98,2 % (89,7-99,7 %)
AUC DA CURVA ROC	0,75

Tabela 5

IC – intervalo de confiança
AUC da curva ROC – área sob a curva característica de operação do receptor

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

A suscetibilidade do teste anti-MAG Antibodies ELISA a produtos farmacêuticos orais e injetáveis, bem como a substâncias endógenas, foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A3 do CLSI. Desvios superiores a 20 % nos resultados foram considerados como interferências.

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: imunoglobulina intravenosa (20 mg/mL), cladribina (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofeno (0,22 mg/mL), fator reumatoide (680 UI/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolisado (10 mg/mL), triglicérides (20 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,4 mg/mL), bilirrubina não conjugada (0,4 mg/mL).

TABELAS E FIGURAS

Exemplo de resultados

	Nível [BTU]	Absorbância [DO]	Nível calc. [BTU]	CV [%]
Branco 1		0,046		
Branco 2		0,049		
Médio		**0,048**		
Calibrador A	70000	2,195	70497	
Calibrador A	70000	2,188	69508	
Médio	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Calibrador B	15000	1,272	15313	
Calibrador B	15000	1,245	14693	
Médio	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Calibrador C	3000	0,417	3070	
Calibrador C	3000	0,400	2931	
Médio	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Calibrador D	1000	0,135	1009	
Calibrador D	1000	0,132	991	
Médio	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Controle BAIXO		0,360	2602	
Controle BAIXO		0,376	2731	
Médio		**0,368**	**2666**	**3,1**
Controle ALTO		1,395	18433	
Controle ALTO		1,383	18090	
Médio		**1,389**	**18261**	**0,6**
Amostra 1		0,001	255	
Amostra 1		0,009	297	
Médio		**0,005**	**276**	**116,5**
Amostra 2		1,092	11599	
Amostra 2		0,969	9511	
Médio		**1,030**	**10555**	**8,5**

Tabela 6

Exemplo de curva-padrão (DO_{450})

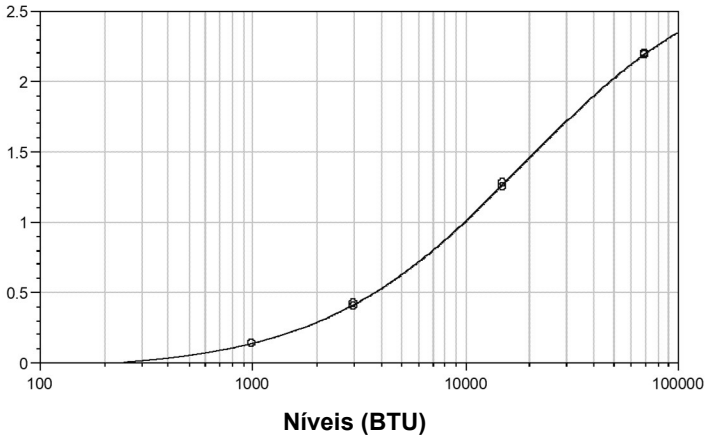


Figura 1

Precisão intralaboratorial

ID	Nível médio, BTU	N	Intracorrida		Intercorridas		Interdias		Intralaboratorial	
			SD	% do CV	SD	% do CV	SD	% do CV	SD	% do 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	Descrição	N	Nível médio, BTU	% na categoria
S1	< 1000 BTU (negativo)	80	213	98,8

Tabela 8

Reprodutibilidade

ID	Nível médio, BTU	N	Intracorrida		Intercorridas		Interdias		Intralaboratorial	
			SD	% do CV	SD	% do CV	SD	% do CV	SD	% do 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	Descrição	N	Nível médio, BTU	% na categoria
S1	< 1000 BTU (negativo)	75	55	100,0

Tabela 10

Reatividade cruzada

Anticorpos		#
Anticorpos anticitoplasmático de neutrófilo (ANCA)		13
Anticorpos antinucleares (ANA)		23
Anticorpos antitireoglobulina (anti-Tg)		5
Anticorpos antirribonucleoproteína		1
Anticorpos antigangliosídeos	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Anticorpos antirreceptores da acetilcolina e anticorpos antitirosina quinase muscular específica		7

Tabela 11

Neuropatias periféricas	#
Alcoólatra/alcoolismo	1
Diabetes	5
Distúrbios que se assemelham a neuropatias periféricas	**#**
Esclerose lateral amiotrófica	14
Doença de Chagas	5
Neuropatia periférica idiopática	1
Sarcoidose	4
Doença de Waldenström	4
Granulomatose de Wegener	1

Tabela 12

TABELAS E FIGURAS

Desempenho clínico

Estudo	Controles positivos	Controles negativos	Valor de corte	Sensib.	Especif.
Kuijf et al., 2009	PDN +IgM GM (n = 68)	OPN + CS (n = 139)	1500 BTU	0,72	0,97
Mata et al., 2011	MGUS PN (n = 46)		3200 BTU	0,37	
Campagnolo et al., 2015	PDN +IgM GM (n = 20)	CHD + CS (n = 3)	1000 BTU	0,94	1,00
Stork et al., 2014	PDN +IgM GM (n = 26)		1000 BTU	0,69	
Stork et al., 2016	PDN +IgM GM (n = 83)	CS (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 + CS (n = 222)	7000 BTU		1,00

Tabela 13

PDN +IgM GM, polineuropatia desmielinizante com gamopatia monoclonal de IgM; MGUS PN, Polineuropatia associada a gamopatia monoclonal de causa desconhecida; OPN, outra polineuropatia; CS, controle saudável; CHD, controles hematológicos doentes

PROTOCOLO CURTO

Importante: o protocolo curto não é um substituto para as informações detalhadas descritas nestas instruções de utilização.

Antes do dia do ensaio

Preparação de tampão de lavagem

Diluir o concentrado de tampão de lavagem a 1:10 com água deionizada

Recomendação: Prepare o tampão de lavagem no dia anterior à execução do ensaio e deixe-o no refrigerador a noite toda.

Dia do ensaio

Preparação de amostras / controles / calibradores

Dilua as amostras de soro 1:1000 com o tampão de incubação (frio!) e misture bem em vórtex

Reconstitua ou descongele controles e calibradores reconstituídos (em alíquotas)

deixe 30 minutos a 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Placa de microtitulação pré-revestida

lave 4 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)

100 µL de tampão de incubação, calibradores, controles ou amostras de soro (1:1000)

incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2-8 °C

lave 4 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)

adicione 100 µL de marcador enzimático

incube por 2 horas (± 5 minutos) a 2-8 °C

lave 4 x com 300 µL ou mais de tampão de lavagem (frio!)

adicione 100 µL de substrato de TMB

incube por 30 minutos (± 2 minutos) a 18-28 °C em um agitador de placas a ~ 400-600 rpm

adicione 100 µL da solução de parada

Leia a absorbância a 450 nm (dentro de 30 minutos)

TEMPO ATÉ OBTER OS RESULTADOS: 5 HORAS

REFERÊNCIAS

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).

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Data	Versão	Alteração
2026-09-09	A5	Detalhamento do *Uso pretendido* com a adição de informações a respeito da população de teste, usuários aplicáveis e automação do teste. Revisados os capítulos *Materiais necessários, porém não fornecidos*, *Procedimento*, *Controle de qualidade*, *Desempenho clínico*, *Tabelas e figuras* (Tabela 12) e *Protocolo curto*. Revisados os capítulos *Advertências e precauções* e *Símbolos*. Atualizado o símbolo do eIFU na capa (somente aplicável para a versão em inglês do documento).

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

SIMBOLOS

BÜHLMANN utiliza símbolos e sinais listados e descritos na ISO 15223-1.
Para obter a definição dos símbolos, consulte o glossário de símbolos em: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Além disso, são utilizados os seguintes símbolos e letreiros:

Símbolo	Explicação
MP	Placa de microtitulação
BUF INC	Tampão de incubação
BUF WASH 10X	Tampão de lavagem concentrado (10x)
CONTROL L	Controle Baixo
CONTROL H	Controle Alto
CAL A - CAL D	Calibrador A - D
EL IgM	Marcador enzimático IgM
SUBS TMB	Substrato de TMB
SOLN STOP	Solução de parada

CE 0123