# anti-MAG Antibodies ELISA

## MAG = mijelin udruženi glikoprotein

za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

EK-MAG 96 testova

Datum izdavanja: 2026-09-09
Verzija A5

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

# SRPSKI

## NAMENA

Anti-MAG Antibodies ELISA je *in vitro* dijagnostički test za semikvantitativno određivanje anti-MAG IgM antitela u uzorcima humanog seruma pacijenata sa simptomima demijelinizirajuće periferne neuropatije i/ili pacijenata sa IgM monoklonskom gamopatijom i neurološkim smptomima. Test je namenjen kao pomoć prilikom postavljanja dijagnoze neuropatije udružene sa anti-MAG antitelima, zajedno sa drugom kliničkim i laboratorijskim nalazima.

Samo za laboratorijsku upotrebu od strane zdravstvenih radnika. Nije automatizovano.

## PRINCIP TESTA

Anti-MAG Antibodies ELISA test omogućava merenje IgM antitela na mijelin udruženi glikoprotein (MAG) u serumu, ELISA testom po principu sendviča. Mikrotitar ploča je obložena prečišćenim MAG humanog mozga. Serumi pacijenata, kontrole i kalibratori se dodaju u udubljenja mikrotitar ploče. Posle 2 sata inkubacije na 2-8°C i koraka ispiranja, detekciono antitelo konjugovano sa peroksidazom rena (HRP) detektuje anti-MAG antitela vezana za humani MAG na ploči. Posle još 2 sata inkubacije i daljih koraka ispiranja, dodaje se hromogeni HRP supstrat, tetrametilbenzidin (TMB), (nastaje plava boja), a zatim se reakcija zaustavlja (boja se menja u žutu). Apsorbanca se meri na 450 nm.

Nivo anti-MAG antitela se određuje korišćenjem kalibracione krive generisane na osnovu izmerenih vrednosti kalibratora i izražava se kao BÜHLMANN jedinica titra (BTU).

## OBEZBEĐENI REAGENSI I PRIPREMA

| Reagensi | Količina | Kod | Rekonstitucija |
|---|---|---|---|
| **Mikrotitar ploča**<br>96 udubljenja obložena humanim MAG | 12 stripova sa po 8 udubljenja u ramu | B-MAG-MP | Spremna za upotrebu |
| **Folija za ploču** | 3 komada | - | Spremna za upotrebu |
| **Koncentrat pufera za ispiranje (10x)** | 1 boca<br>x 100 mL | B-MAG-WB | Razblažiti sa 900 mL dejonizovane vode |
| **Pufer za inkubaciju**<br>Sa konzervansima | 1 boca<br>x 100 mL | B-MAG-IB | Spreman za upotrebu |
| **Kalibratori A do D**[1]<br>Liofilizat sa konzervansima | 4 bočice | B-MAG-CASET | Dodati 1 mL Pufera za inkubaciju |
| **Kontrola Niska i Visoka**[2]<br>Liofilizat sa konzervansima | 2 bočice | B-MAG-CONSET | Dodati 1 mL Pufera za inkubaciju |
| **IgM obeležen enzimom**<br>anti-humano IgM antitelo konjugovano sa HRP-om u puferskom matriksu sa konzervansima | 1 bočica<br>x 11 mL | B-MAG-ELM | Spreman za upotrebu<br>Rastvor plave boje |
| **TMB supstrat**<br>TMB u citratnom puferu | 1 bočica<br>x 11 mL | B-TMB | Spreman za upotrebu |
| **Rastvor za zaustavljanje reakcije**<br>0,25 M sumporna kisleina | 1 bočica<br>x 11 mL | B-STS | Spreman za upotrebu<br>**Korozivan agens** |

Tabela 1

[1] Nakon rekonstitucije, kalibratori A, B, C i D sadrže 70000, 15000, 3000 i 1000 BÜHLMANN jedinica titra (BTU) anti-MAG antitela, tim redosledom.

[2] Sadržaj anti-MAG antitela u kontrolama je specifičan za lot. Za tačnu koncentraciju pogledati dodatni dokument kontrole kvaliteta.

## ČUVANJE I ROK UPOTREBE REAGENASA

| **Zatvoreni/neotvoreni reagensi** | |
|---|---|
| Čuvati na 2-8 °C. Ne koristiti reagense nakon isteka roka upotrebe datog na nalepnicama. | |
| **Otvoreni/Rekonstituisani reagensi** | |
| Mikrotitar ploča | Stripove koji se neće koristiti vratiti odmah u kesicu zajedno sa desikantom i ponovo zatvoriti celom dužinom zip zatvarača.<br>Čuvati na 2-8 °C do 3 meseca. |
| Razblaženi pufer za ispiranje | Čuvati na 2-8 °C do 3 meseca. |
| Pufer za inkubaciju | |
| Enzimski obeležen IgM | |
| TMB supstrat | |
| Kontrole | Alikvotisati nakon rekonstitucije i čuvati na ≤ -20 °C. Čuvati na ≤ -20 °C do 3 meseca.[1] |
| Kalibratori | |
| Rastvor za zaustavljanje reakcije | Čuvati na 18-28 °C do 3 meseca. |

Tabela 2

[1] Rekonstituisani kalibratori i kontrole mogu da budu predmet tri ciklusa smrzavanja-odmrzavanja tokom 3 meseca.

## MATERIJALI KOJI SU POTREBNI I NISU OBEZBEĐENI

- Precizne pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu: pipete od 0,5-10 µL, i 100-1000 µL
- Polistirenske ili polipropilenske epruvete za jednokratnu upotrebu za pripremu razblaženja uzoraka
- Erlenmajer od 1000 mL za razblaživanje pufera za ispiranje
- Ispirač (washer) za mikrotitar ploče
- Apsorbujući papir
- Šejker (shaker) za mikrotitar ploče
- Čitač (reader) za mikrotitar ploče za merenje apsorbance na 450 nm

## UPOZORENJA I PREDOSTROŽNOSTI

### Bezbednosne predostrožnosti

- Ovaj test je samo za *in vitro* dijagnostiku.
- Preporučuje se da testom rukuju kvalifikovane osobe, u skladu sa dobrom laboratorijskom praksom (GLP):
  - Kalibratori, kontrole i mikrotitar ploče ovog kompleta sadrže komponente humanog porekla. Iako su testirani i utvrđeno je da su negativni na HBV, HCV i HIV1/2, reagensima treba rukovati kao da mogu da prenesu infekcije.
  - Pufer za inkubaciju i enzimski obeleživač sadrže potencijalno infektivne supstance animalnog porekla.
- Kit sadrži komponente klasifikovane u skladu sa Regulation (EC) No. 1272/2008:
  - Rastvor za zaustavljanje reakcije sadrži sumpornu kiselinu (konc. 2,5-5 %), stoga ovaj reagens može izazvati iritaciju kože (H315), ozbiljnu iritaciju oka (H319) i može biti korozivan za metale (H290).
  - Kalibratori i kontrole sadrže gentamicin sulfat (prah), tako da reagensi mogu izazvati alergijsku reakciju kože (H317) i simptome alergije ili astme ili poteškoće sa disanjem ako se udahnu (H334). Sadrže tiomersal (prah), stoga su reagensi fatalni ako se progutaju, dođu u kontakt sa kožom ili ako se udahnu (H300+H310+H330).
  - Pufer za inkubaciju i enzimski obeleživač sadrže gentamicin sulfat (konc. < 1 %), stoga reagens može izazvati alergijsku reakciju kože (H317).
- Sprečiti kontakt reagensa sa kožom, očima ili sluzokožom. Ako dođe do kontakta, odmah isprati velikom količinom vode; u suprotnom može doći do iritacije/opekotina.
- Reagense, uzorke pacijenata i bilo koje odbačene materijale treba tretirati kao opasan otpad u skladu sa nacionalnim smernicama ili propisima za bezbednost od biološku opasnost.

### Tehničke predostrožnosti

- Pažljivo pročitati uputstvo pre izvođenja testa. Na performanse testa će negativno uticati ako se reagensi pogrešno razblaže, modifikuju ili čuvaju u uslovima drugačijim od onih opisanih u ovom uputstvu za upotrebu.
- Komponente se ne smeju koristiti nakon isteka roka upotrebe odštampanog na etiketi.
- Ne kombinovati različite lotove reagenasa.
- Treba učiniti sve da se osigura da ne dođe do unakrsne kontaminacije između reagensa, uzoraka ili između udubljenja.
- Udubljenja ploče se ne mogu ponovo koristiti.

### ELISA procedura

#### Temperatura reagenasa

- Pripremiti reagense pre početka postupka analize. Koraci 3-9: Reagensi koji se koriste u koracima 3-9 moraju biti hladni(!) (2-8 °C) i moraju se držati na hladnom tokom pipetiranja i ispiranja. Preporuka: Pripremiti pufer za ispiranje dan pre izvođenja testa i staviti ga u frižider preko noći.
- Obaviti sve korake ispiranja hladnim(!) (2-8 ˚C) puferom za pranje.
- Omogućiti da TMB supstrat i rastvor za zaustavljanje reakcije dostignu sobnu temperaturu (18-28 °C) na početku postupka analize.

#### Koraci ispiranja

- Koraci ispiranja 3, 6 i 9 su ključni za uklanjanje ostataka nastalih u procesu proizvodnje i/ili potencijalno nevezanih antitela u udubljenjima.
- Strogo se preporučuje upotreba uređaja za automatsko za ispiranje koji radi u režimu „plate mode“, tj. svaki korak procesa (doziranje/aspiracija) se izvodi na svim stripovima, uzastopno, pre nego što instrument nastavi sa sledećim ciklusom ispiranja.
- Proveriti da li su sva udubljenja potpuno prazna nakon poslednjeg ciklusa ispiranja.

#### Inkubacija supstrata

- Korak 11: Protresti mikrotitar ploču tokom inkubacije sa supstratom. U zavisnosti od modela šejkera za ploče preporučujemo 400-600 o/min. Rastvor treba da se kreće u udubljenjima, ali ne sme da se prelije.

#### Dodatno razblaživanje uzorka

- Uzorci sa vrednostima iznad 70000 BTU mogu se razblažiti u analitičkom opsegu merenja (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Koristiti inkubacioni pufer za razblaživanje uzoraka seruma.

## SAKUPLJANJE I ČUVANJE UZORAKA

Za proceduru je potrebno < 0,1 mL krvi ili < 50 µL seruma.

Sakupiti krv u obične epruvete za venepunkciju bez ikakvih aditiva i sprečiti hemolizu. Pripremiti serum prema uputstvima proizvođača. Odliti serum.

Uzorci seruma mogu se čuvati na 2-8 °C do 16 dana ili na -20 °C do 12 meseci. Zamrznute uzorke pre upotrebe treba odmrznuti i dobro izmešati blagim kružnim pokretima ili inverzijom.

Preporučujemo pripremu alikvota uzoraka seruma pre zamrzavanja kako bi se izbegli ponovljeni ciklusi zamrzavanja/odmrzavanja.

## PROCEDURA TESTIRANJA

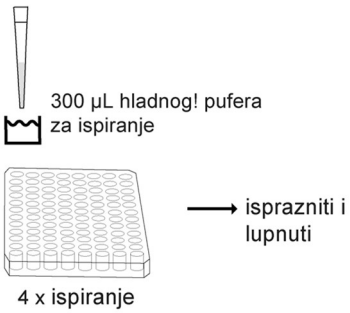
*Napomena: Omogućiti da rastvor TMB supstrata dostigne sobnu temperaturu (18-28 °C).*

1. Razblažiti uzorke 1:1000 inkubacionim puferom. Koristiti npr. 1 µL seruma + 1000 µL hladnog(!) (2-8 °C) inkubacionog pufera. Temeljno promešati mešanjem na vorteks mešalici i ostaviti razblažene uzorke, kao i rekonstituisane kalibratore i kontrole na 2-8 °C 30 minuta pre pipetiranja (pogledati korake 4a - c).
2. Pripremiti okvir ploče sa dovoljno stripova za testiranje potrebnog broja kalibratora, kontrola i uzoraka. Ukloniti višak stripova iz okvira i ponovo ga zatvoriti u foliju zajedno sa desikantom bez odlaganja. Čuvati u frižideru.

*Napomena: U koracima 3 do 9 koristiti hladne reagense.*

3. Isprati udubljenja četiri puta upotrebom najmanje 300 µL hladnog(!) (2-8 °C) pufera za ispiranje po

udubljenju. Isprazniti udubljenja i snažno lupnuti ploču o ubrus da bi se zaostala tečnost uklonila u potpunosti.




*Napomena: odmah preći na sledeći korak.*

4a. Pipetirati 100 µL inkubacionog pufera (slepa proba) u duplikatu i

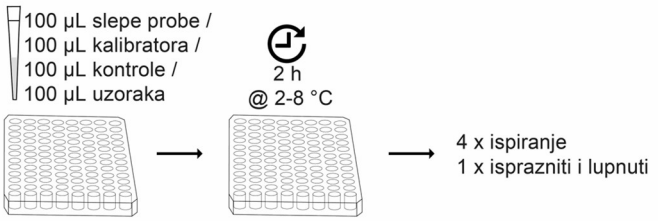
Pipetirati 100 µL kalibratora A-D u duplikatu u odgovarajuća udubljenja.

4b. Pipetirati 100 µL kontrola visokih i niskih vrednosti u duplikatu u odgovarajuća udubljenja.

4c. Pipetirati 100 µL svakog razblaženog uzorka u susedna udubljenja.

5. Pokriti ploču folijom i inkubirati 2 sata (± 5 min) na 2-8 °C (ne mućkati sadržaj u ploči).

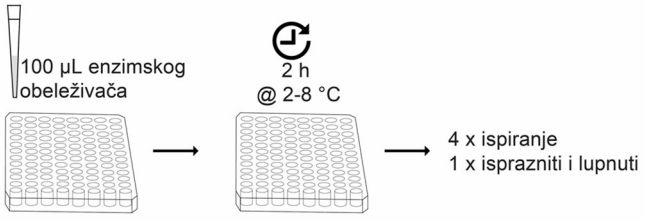
6. Ukloniti foliju. Isprazniti udubljenja i isprati četiri puta upotrebom najmanje 300 µL hladnog(!) (2-8 °C) pufera za ispiranje po udubljenju. Isprazniti udubljenja i snažno lupnuti ploču o ubrus da bi se zaostala tečnost uklonila u potpunosti.




7. Dodati 100 µL enzimom obeleženog IgM u sva udubljenja.

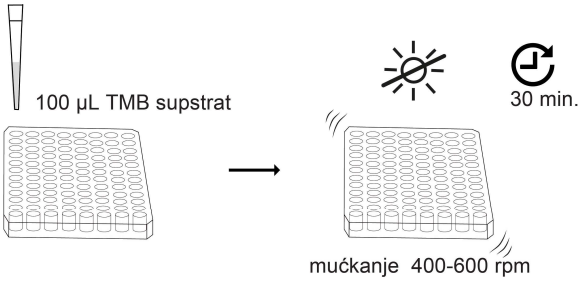
8. Pokriti ploču folijom i inkubirati 2 sata (± 5 min) na 2-8 °C (ne mućkati sadržaj u ploči).

9. Ukloniti foliju. Isprazniti udubljenja i isprati četiri puta upotrebom najmanje 300 µL hadnog(!) (2-8 °C) pufera za ispiranje po udubljenju. Isprazniti udubljenja i snažno lupnuti ploču o ubrus da bi se zaostala tečnost uklonila u potpunosti.



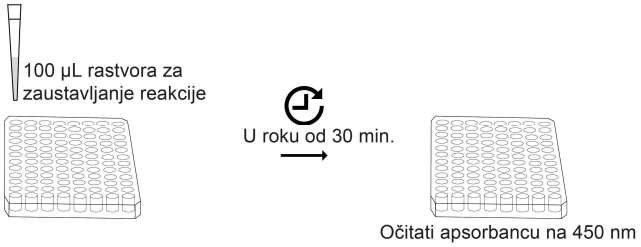

10. Dodati 100 µL rastvora TMB supstrata (koji je dostigao sobnu temperaturu) u svako udubljenje.

11. Pokriti ploču folijom, zaštiti od svetla i inkubirati na šejkeru za ploče koji je podešen na 400-600 rpm, na 18-28 °C 30 ± 2 minuta.




12. Dodati 100 µL rastvora za zaustavljanje reakcije u sva udubljenja. Pomoću nastavka za pipete ukloniti sve mehuriće vazduha. Preći na korak 13 unutar 30 minuta.

13. Očitati apsorbancu na 450 nm na čitaču za mikrotitar ploče.




## KONTROLA KVALITETA

Za uspešnu upotrebu proizvoda neophodno je detaljno razumevanje ovog uputstva za upotrebu. Pouzdani rezultati će se dobiti samo korišćenjem preciznih laboratorijskih tehnika i tačnim poštovanjem ovog uputstva za upotrebu.

Anti-MAG Antibodies ELISA kit dolazi sa dve kontrole: niska i visoka kontrola. Kontrolama su dodeljeni rasponi vrednosti naznačeni na QC podacima koji se isporučuju sa svakim kompletom. Rezultati merenja kontrola moraju biti unutar naznačenih opsega vrednosti da bi rezultati bili validni.

Pored kontrola kompleta, preporučujemo upotrebu pula seruma za internu kontrolu kvaliteta.

Reproducibilnost parametara standardne krive i kontrolnih vrednosti treba da bude unutar utvrđenih granica laboratorijske prihvatljivosti. Ako performanse testa ne zadovoljavaju utvrđene granice i ponavljanje je isključilo greške u tehnici, proveriti sledeća pitanja: *i)* kontrolu temperature (reagensi koji se koriste u koraku 3-9 čuvaju se na 2-8 °C); *ii)* tačnost termometara, uređaja za pipetiranje i merenje vremena; *iii)* podešavanja ELISA čitača; *iv)* rok upotrebe reagensa; *v)* uslove skladištenja i inkubacije; *vi)* boju rastvora TMB supstrata (treba da bude bezbojan); *vii)* čistoću vode; *viii)* metode aspiracije i ispiranja.

## STANDARDIZACIJA I METROLOŠKA SLEDLJIVOST

Ne postoje međunarodno ili nacionalno priznati referentni materijali ili referentni postupci merenja anti-MAG antitela u uzorcima seruma. Anti-MAG Antibodies ELISA kit je standardizovan u odnosu na interno ustanovljen referentni materijal. Vrednosti kalibratora i kontrola se dodeljuju u skladu sa protokolom prenosa vrednosti

(ref. 1, 2), da bi se garantovala metrološka sledljivost i naznačene su u arbitrarnim BÜHLMANN jedinicama titra. Interval pouzdanosti od 95 % kombinovane nesigurnosti kalibratora i kontrola proizvoda je manji od 35 %.

## IZRAČUNAVANJE REZULTATA TESTA

**Standardna kriva**

Koristiti softverski program koji može da izvrši sledeće proračune:

- oduzimanje OD slepe probe svakog udubljenja sa kalibratorom za izračunavanje vrednosti kalibratora.
- kreiranje standardne krive upotrebom 4-parameter logistic (4 PL) fit.

**Kontrole i uzorci**

Koristiti softverski program koji može da izvrši sledeće proračune;

- oduzimanje OD slepe probe svakog udubljenja sa kontrolom/uzorkom. Izračunati nivo anti-MAG antitela u kontrolama/uzorku u svakom udubljenju, u BTU, koristeći utvrđenu standardnu krivu.

*Napomena: Rezultati prikazani u tabeli 6 i na slici 1 su primeri i dati su samo u svrhu demonstracije. Kalibraciona kriva mora biti generisana za svaki set uzoraka koji se testira.*

## OGRANIČENJA

- Ovaj test nije validiran za likvor i plazmaferezu.
- Intravenski imunoglobulini (IVIg) i krioglobulini mogu uticati na rezultate testova.

## INTERPRETACIJA REZULTATA

| Rezultat | Interpretacija |
|---|---|
| < cut-off | Negativan rezultat |
| ≥ cut-off | Pozitivan rezultat (indikacija prisustva anti-MAG antitela) |

Tabela 3

Rezultate testa treba tumačiti zajedno sa dostupnim informacijama dobijenih kliničkom procenom pacijenta i drugim dijagnostičkim procedurama.

## REFERENTNI INTERVALI I CUT-OFF

Referentni interval anti-MAG Antibodies ELISA testa je ustanovljen prema CLSI EP28-A3 na 141 uzorka seruma naizgled zdravih osoba, starosti od 18 do 70 godina. Rezultati su dati u tabeli 4.

| Referentni interval [BTU] | |
|---|---|
| **2.5$^{ti}$ percentil (90% CI)** | **97.5$^{ti}$ percentil (90% CI)** |
| 0 (0 - 0) | 0 (0 - 988) |

Tabela 4

Hiljadu (1000) BTU je ustanovljen cut-off i koristi se u objavljenim studijama (ref. 5, 6, 9).
Odstupajuće cut-off vrednosti su takođe korišćene u naučnoj literaturi (ref. 3, 4, 7, 8, tabela 13) i predložene su kategorije titra za pozitivne rezultate (ref. 10).

## KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Karakteristike performansi su bazirane na srednjim vrednostima rezultata 2 udubljenja.

**Ponovljivost: 3,2 – 11,8 % CV**

**Preciznost unutar laboratorije: 5,5 – 15,9 % CV**

Ponovljivost i preciznost unutar laboratorije utvrđene su prema CLSI smernici EP05-A3 korišćenjem standardizovanog dizajna studije od 20 dana x 2 ciklusa x 2 ponavljanja. Ispitana su četiri (4) pulirana uzorka humanog seruma, koji pokrivaju merni opseg testa.
Peti negativan uzorak na 213 BTU dao je 79/80 rezultata (98,8 %) unutar kategorije (< 1000 BTU). Rezultati su sumirani u tabelama 7 i 8.

**Reproducibilnost: 10,0 – 21,6 % CV**

Reproducibilnost je utvrđena u skladu sa CLSI smernicom EP05-A3 izvođenjem dizajna studije merenja od strane 3 operatera x 3 instrumenta/lota x 5 dana x 5 ponavljanja. Ispitana su četiri (4) objedinjena uzorka humanog seruma, koji pokrivaju merni opseg testa. Peti negativan uzorak na 55 BTU dao je 75/75 rezultata (100,0 %) unutar kategorije (< 1000 BTU). Rezultati su sumirani u tabeli 9 i 10.

**Limit detekcije (LoD): 305 BTU**

LoD je ustanovljen na osnovu CLSI smernica EP17-A2 korišćenjem neparametarske analize sa proprocijom lažno pozitivnih (α) manjom od 5 % i lažno negativnih (β) manjom od 5 % na osnovu 120 određivanja, sa 60 slepih proba i 60 ponavljanja niskih vrednosti;
i **LoB od 138 BTU**.

**Visokodozni hook efekat**

Uzorci sa nivoom anti-MAG antitela do $2{,}8 \times 10^5$ BTU mogu se izmeriti bez ograničenja mernog opsega testa.

**Ukrštena reaktivnost**

Ukrštena reaktivnost anti-MAG Antibody ELISA testa je testirana za uzorke koji su označeni kao uzorci pacijenata sa autoimunim bolestima ili povezanim prisustvom antitela. Antitela i broj testiranih uzoraka prikazani su u tabeli 11.

Drugi uzorci pacijenata sa bolestima koje imaju simptome slične perifernim neuropatijama su takođe testirani pomoću anti-MAG Antibody ELISA testa i predstavljeni su u tabeli 12.

Jedan (1) od četiri (4) testiranih uzorka pacijenata sa Waldenstrom oboljenjen bio je blago seropozitivan na anti MAG antitela u opsegu od 1000-1500 BTU.

## KLINIČKE PERFORMANSE

Kliničke performanse su procenjene meta-analizom recenzirane naučne literature. Sedam studija se bavilo kliničkim performansama anti-MAG Antibodies ELISA u dijagnozi demijelinizirajućih perifernih neuropatija sa IgM monoklonskom gamopatijom (ref. 3-9). Rezultati analize i detalji studije dati su u tabeli 5 i tabeli 13, tim redosledom.

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

Tabela 5

CI – interval pouzdanosti
ROC AUC – area under receiver operating characteristic curve

## INTERFERIRAJUĆE SUPSTANCE

Senzitivnost Anti-MAG Antibodies ELISA testa na oralne i injekcione farmaceutske preparate, kao i na endogene supstance procenjena je prema CLSI smernici EP07-A3. Bias rezultata veći od 20 % se smatra interferencijom.

Nisu otkrivene interferencije kod sledećih supstanci do navedenih koncentracija: intravenski imunoglobulin (20 mg/mL), cladribine (273 ng/mL), Interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), reumatoidni faktor (680 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemoliza (10 mg/mL), trigliceridi (20 mg/mL), konjugovani bilirubin (0,4 mg/mL), nekonjugovani bilirubin (0,4 mg/mL).

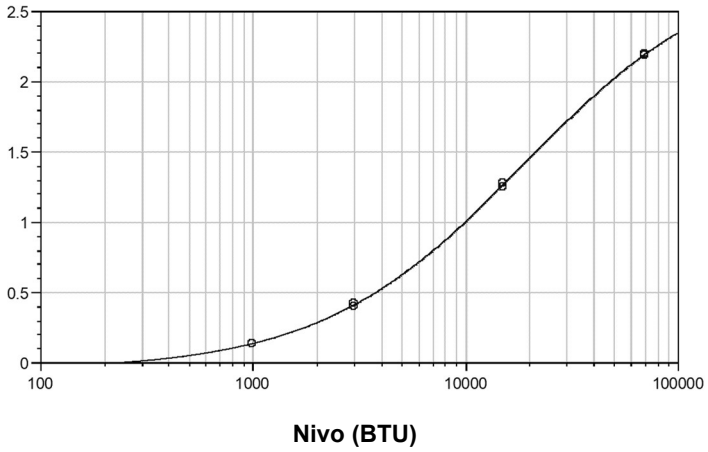
## TABELE I SLIKE

### Primer rezultata

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

Tabela 6

### Primer standardne krive ($OD_{450}$)




Slika 1

### Preciznost unutar laboratorije

| ID | Srednji nivo, BTU | n | Unutar serije | | Između serija | | Između dana | | Unutar laboratorije | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 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 | Srednji nivo, BTU | % Unutar kategorije |
|---|---|---|---|---|
| S1 | < 1000 BTU (negativan) | 80 | 213 | 98,8 |

Tabela 8

### Reproducibilnost

| ID | Srednji nivo, BTU | n | Unutar serije | | Između serija | | Između dana | | Unutar laboratorije | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 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 | Srednji nivo, BTU | % Unutar kategorije |
|---|---|---|---|---|
| S1 | < 1000 BTU (negativan) | 75 | 55 | 100,0 |

Tabela 10

### Ukrštena reaktivnost

| Antitela | | # |
|---|---|---|
| Antitela na citoplazmu neutrofila (ANCA) | | 13 |
| Anti-nukleusna antitela (ANA) | | 23 |
| Anti-tireoglobulinska antitela (anti-Tg) | | 5 |
| Anti-ribonukleoproteinska antitela | | 1 |
| Anti-gangliozidna antitela | anti-GD1b | 4 |
| | anti-GM1 | 3 |
| | anti-GQ1b | 5 |
| Anititela na acetilholinske receptore i antitela na tirozin kinazu specifičnu za mišiće | | 7 |

Tabela 11

| Periferne neuropatije | # |
|---|---|
| Alkoholizam | 1 |
| Dijabetes | 5 |
| **Periferna neuropatija koja oponaša poremećaje** | **#** |
| Amiotrofna lateralna skleroza | 14 |
| Šagasova bolest | 5 |
| Idiopatska periferna neuropatija | 1 |
| Sarkoidoza | 4 |
| Waldenstrom-ova bolest | 4 |
| Wegenerova granulomatoza | 1 |

Tabela 12

## TABELE I SLIKE

### Kliničke performanse

| Studija | Pozitivne kontrole | Negativne kontrole | Cut-off | Sens. | 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 |

Tabela 13

DPN+IgM MG, Demijelinizirajuća polineuropatija sa IgM monoklonskom gamopatijom; MGUS PN, Polineuropatija udružena sa monoklonskom gamopatijom nepoznatog značaja; OPN, druga polineuropatija; HC, kontrola poreklom od zdravih osoba; HDC, kontrola poreklom od osoba obolelih od hematoloških bolesti

## KRATAK PROTOKOL

*Važno: Kratak protokol nije zamena za detaljne informacije koje su date u ovom uputstvu za upotrebu.*

**Pre dana testiranja**

### Priprema pufera za ispiranje

**Razblažiti koncentrat pufera za ispiranje 1:10 sa dejonizovanom vodom**

*Preporuka: Pripremiti pufer za ispiranje dan pre izvođenja testa i staviti ga u frižider preko noći.*

**Na dan testiranja**

### Priprema uzoraka / kontrola / kalibratora

**Razblažiti uzorke seruma 1:1000 sa (hladnim!) puferom za inkubaciju i dobro promešati vorteksiranjem**

**Rekonstituisati ili odmrznuti (alikvote) rekonstituisanih kontrola i kalibratora**

*ostaviti 30 minuta na 2-8 °C*

### anti-MAG Antibodies ELISA

**obložena mikrotitar ploča**

*isprati 4 x sa ≥ 300 µL (hladnog!) pufera za ispiranje*

**100 µL pufera za inkubaciju, kalibratora, kontrola ili uzoraka seruma (1:1000)**

*inkubirati 2 sata (± 5 min) na 2-8 °C*

*isprati 4 x sa ≥ 300 µL (hladnog!) pufera za ispiranje*

**dodati 100 µL enzimskog obeleživa**č

*inkubirati 2 sata (± 5 min) na 2-8 °C*

*isprati 4 x sa ≥ 300 µL (hladnog!) pufera za ispiranje*

**dodati 100 µL TMB supstrata**

*inkubirati 30 minuta (± 2 min) na18-28 °C na šejkeru za ploče ~400-600 rpm*

**dodati 100 µL rastvora za zaustavljanje reakcije**

**Očitati apsorbancu na 450 nm (unutar 30 minuta)**

**VREME DOBIJANJA REZULTATA: 5 SATI**

## REFERENCE


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 CommuTabela 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).

## LOG IZMENA

| Datum | Verzija | Izmena |
|---|---|---|
| 2026-09-09 | A5 | Preciziranje poglavlja *Namena* dodavanjem informacija o populaciji za testiranje, predviđenom korisniku i automatizaciji testiranja.<br>Ažuriranje poglavlja *Materijali koji su potrebni i nisu obezbeđeni*, *Procedura testiranja*, *Kontrola kvaliteta*, *Kliničke performanse*, *Tabele i slike* (tabela 12) i *Kratak protokol*.<br>Revizija poglavlja *Upozorenja i predostrožnosti* i *Simboli*.<br>Ažuriranje simbola eIFU na naslovnoj strani (važi samo za englesku verziju dokumenta). |

## IZVEŠTAVANJE O INCIDENTIMA U ZEMLJAMA EU

Ako se desio bilo kakav ozbiljan incident u vezi sa ovim medicinskim sredstvom, molimo da ga bez odlaganja prijavite proizvođaču i nadležnom organu države članice EU.

## OŠTEĆENJE PRILIKOM TRANSPORTA

Ukoliko ste proizvod primili u oštećenom stanju, molimo da kontaktirate svog distributera.

## SIMBOLI

BÜHLMANN koristi simbole i oznake navedene u ISO 15223-1 standardu.
Za definiciju simbola pogledati rečnik simbola na: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Dodatno se koriste sledeći simboli i oznake:

| Simbol | Objašnjenje |
|---|---|
| MP | Mikrotitar ploča |
| BUF INC | Pufer za inkubaciju |
| BUF WASH 10X | Pufer za ispiranje, koncentrat (10x) |
| CONTROL L | Kontrola sa niskim vrednostima |
| CONTROL H | Kontrola sa visokim vrednostima |
| CAL A - CAL D | Kalibrator A - D |
| EL IgM | Enzimski obeležen IgM |
| SUBS TMB | TMB Supstrat |
| SOLN STOP | Rastvor za zaustavljanje reakcije |

CE 0123