anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = myelinassocierat glykoprotein

För *in vitro*-diagnostisk användning

EK-MAG 96 tester

Utgivningsdatum: 2026-09-09
Version A5

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

SVENSKA

AVSEDD ANVÄNDNING

Anti-MAG Antibodies ELISA är ett *in vitro*-diagnostiskt test för semikvantitativ bestämning av anti-MAG IgM-antikroppar i mänskliga serumprover från patienter med symtom på demyeliniserande perifer neuropati och/eller patienter med monoklonal IgM-gammopati och neurologiska symtom. Analysen är avsedd som ett hjälpmedel vid diagnostisering av anti-MAG-neuropati i kombination med andra kliniska och laboratoriska fynd.

Endast för användning på laboratorium av hälso- och sjukvårdspersonal. Ej automatiserad.

ANALYSPRINCIP

Anti-MAG Antibodies ELISA används för mätning av IgM-antikroppar mot myelinassocierat glykoprotein (MAG) i serum med sandwich-ELISA. Mikrotiterplattan är belagd med renat MAG från mänsklig hjärna. Patientserum, kontroller och kalibratorer tillsätts i brunnarna på mikrotiterplattan. Efter 2 timmars inkubation vid 2-8 °C och tvättsteg detekterar en detektionsantikropp konjugerad till pepparrotsperoxidas (HRP) anti-MAG-antikropparna som bundit till mänskligt MAG på plattan. Efter ytterligare 2 timmars inkubation och ytterligare tvättsteg tillsätts kromogent HRP-substrat och tetrametylbensidin (TMB) (blå färg bildas) följt av en stoppreaktion (färgändring till gult). Absorptionen mäts vid 450 nm.

Nivån av anti-MAG-antikroppar fastställs med hjälp av kalibreringskurvan som genereras från de uppmätta kalibreringsvärdena och uttrycks som BÜHLMANN Titer Unit (BTU).

MEDFÖLJANDE REAGENSER OCH FÖRBEREDELSE

Reagenser	Mängd	Kod	Rekonstituering
Mikrotiterplatta 96 brunnar förbelagda med mänskligt MAG	12 x 8 brunnar i en strip med ram	B-MAG-MP	Bruksfärdig
Lock	3 st.	–	Bruksfärdig
Tvättbuffert-koncentrat (10x)	1 flaska x 100 mL	B-MAG-WB	Spädning med 900 mL avjoniserat vatten
Inkubationsbuffert med konserveringsmedel	1 flaska x 100 mL	B-MAG-IB	Bruksfärdig
Kalibratorer A till D[1] frystorkad med konserveringsmedel	4 flaskor	B-MAG-CASET	Tillsätt 1 mL inkubationsbuffert
Kontroll Låg och Hög[2] frystorkad med konserveringsmedel	2 flaskor	B-MAG-CONSET	Tillsätt 1 mL inkubationsbuffert
Enzymmärkt IgM anti-human IgM-antikropp konjugerad till HRP i en buffertmatrix med konserveringsmedel	1 flaska x 11 mL	B-MAG-ELM	Bruksfärdig Blå lösning
TMB-substrat TMB i citratbuffert	1 flaska x 11 mL	B-TMB	Bruksfärdig
Stopplösning 0,25 M svavelsyra	1 flaska x 11 mL	B-STS	Bruksfärdig **Korrosivt ämne**

Tabell 1

[1] Efter rekonstitution innehåller kalibratorerna A, B, C och D 70000, 15000, 3000 respektive 1000 BÜHLMANN Titer Units (BTU) anti-MAG-antikroppar.

[2] Kontrollerna innehåller lotspecifika mängder anti-MAG Antibodies. Se QC-databladet för faktiska nivåer.

LAGRING OCH HÅLLBARHET FÖR REAGENS

Förslutna/oöppnade reagens	
Förvara vid 2-8 °C. Använd inte reagensen efter att utgångsdatumet som är tryckt på etiketten har passerat.	
Öppnade/rekonstituerade reagens	
Mikrotiterplatta	Lägg omedelbart tillbaka oanvända remsor i foliepåsen som innehåller torkmedel och förslut noggrant längs hela förseglingen. Förvara i upp till 3 månader vid 2-8 °C.
Utspädd tvättbuffert	Förvara i upp till 3 månader vid 2-8 °C.
Inkubationsbuffert	
Enzymmärkt IgM	
TMB-substrat	
Kontroller	Mät upp efter rekonstitution och förvara vid ≤ -20 °C. Förvara i upp till 3 månader vid ≤ -20 °C.[1]
Kalibratorer	
Stopplösning	Förvara i upp till 3 månader vid 18-28°C.

Tabell 2

[1] Efter rekonstitution kan kalibratorerna och kontrollerna genomgå tre frys- och tiningscykler under de 3 månaderna.

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

- Precisionspipetter med engångsspetsar: pipetter om 0,5-10 µL och 100-1000 µL
- Provrör i polystyren eller polypropylen för engångsbruk för beredning av provspädningar
- 1000 mL cylinder för spädning av tvättbuffert
- Tvätt för mikrotiterplatta
- Blottingpapper
- Skak för mikrotiterplatta
- Plattläsare för mikrotiterplatta för mätning av absorbans vid 450 nm

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Försiktighetsåtgärder

- Detta test är endast avsett för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Det rekommenderas att testet hanteras av kvalificerad personal enligt god laboratoriesed (Good Laboratory Practice, GLP):
  - Kalibratorerna, kontrollerna och mikrotiterplattan i detta kit innehåller komponenter av mänskligt ursprung. Även om reagensen har testats och uppvisat negativa resultat för HBV, HCV and HIV1/2, ska reagenserna hanteras som potentiellt smittförande material.
  - Inkubationsbufferten och enzymkonjugatet innehåller potentiellt smittförande material av animaliskt ursprung.
- Denna sats innehåller komponenter som klassificeras i enlighet med förordning (EG) nr 1272/2008:
  - Stopplösningen innehåller svavelsyra (konc. 2,5-5 %) och reagensen kan orsaka hudirritation (H315), allvarlig ögonirritation (H319) och kan vara korrosivt för metaller (H290).
  - Kalibratorer och kontroller innehåller gentamicinsulfat (pulver) och reagensen kan orsaka allergisk hudreaktion (H317) och kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning (H334). De innehåller även tiomersal (pulver) vilket kan vara dödligt vid förtäring, hudkontakt eller inandning (H300 + H310 + H330).
  - Inkubationsbufferten och enzymmärkningen innehåller gentamicinsulfat (konc. < 1%), och reagensen kan därmed orsaka allergisk hudreaktion (H317).
- Undvik att reagensen kommer i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Vid kontakt, skölj omedelbart med rikliga mängder vatten, annars kan irritation/brännskador uppstå.
- Reagenser, patientprover och allt avfallsmaterial ska hanteras som farligt avfall enligt nationella säkerhetsföreskrifter eller riktlinjer för biologiskt riskavfall.

Tekniska försiktighetsåtgärder

- Läs instruktionerna noga innan testet utförs. Testets prestanda kan påverkas negativt om reagensen späds på felaktigt sätt, ändras eller lagras under andra förhållanden än de som anges i denna bruksanvisning.
- Komponenterna får inte användas efter att utgångsdatumet som är tryckt på etiketterna passerat.
- Blanda inte reagens från olika lotter.
- Åtgärder ska vidtas för att säkerställa att ingen korskontaminering uppstår mellan reagens, prover eller mellan brunnar.
- Mikrobrunnar kan inte återanvändas.

ELISA-procedur

Reagenstemperatur

- Förbered reagensen innan analysproceduren påbörjas. Steg 3-9: Reagens som används i steg 3-9 måste vara kalla (2-8 °C) och ska hållas kylda under pipettering och tvättning. Rekommendation: Förbered tvättbufferten dagen innan analysen ska utföras och ställ den i kylen över natten.
- Utför alla tvättsteg med kall(!) (2-8 ˚C) tvättbuffert.
- Låt TMB-substrat och stopplösning uppnå rumstemperatur (18-28 °C) när analysproceduren startas.

Tvättsteg

- Tvättsteg 3, 6 och 9 är avgörande för att avlägsna rester som uppstått från produktionsprocessen och/eller potentiellt obundna antikroppar i brunnarna.
- En automatisk tvättare som körs i ”plattläge” rekommenderas, dvs. varje processteg (dispensering/aspiration) utförs sekventiellt på alla remsor innan instrumentet fortsätter med nästa tvättcykel.
- Säkerställ att alla brunnar är helt tomma efter den sista tvättcykeln.

Substratinkubation

- Steg 11: Skaka mikrotiterplattorna under inkubation med substrat. Beroende på plattskaksmodell rekommenderas 400-600 rpm. Lösningen ska röra sig i brunnarna men får inte spillas ut.

Ytterligare provspädning

- Prover som överskrider 70000 BTU kan spädas in i det analytiska mätområdet (> 1000 BTU, < 70000 BTU). Använd inkubationsbuffert för spädning av serumprover.

PROVINSAMLING OCH LAGRING

Proceduren kräver < 0,1 mL blod eller < 50 µL serum.

Samla in blod i vanliga rör för venpunktion utan tillsatser och undvik hemolys. Utför serumberedning i enlighet med tillverkarens instruktioner. Dekantera serumet.

Outspädda prover kan förvaras vid 2-8 °C i upp till 16 dagar eller vid -20 °C i upp till 12 månader. Frysta prover ska tinas och blandas väl genom försiktig centrifugering eller vändning före användning.
Vi rekommenderar att serumprover förbereds i alikvoter innan frysning för att undvika upprepade frys- och tiningscykler.

ANALYSPROCEDUR

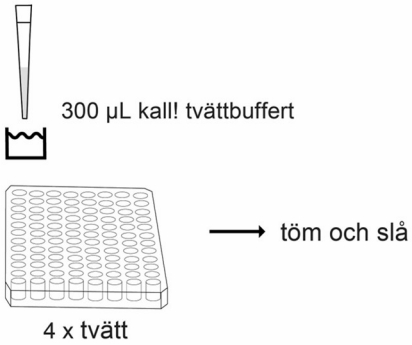
Obs: Låt TMB-substratlösningen uppnå rumstemperatur (18-28 °C).

1. Späd prover 1:1 000 med inkubationsbuffert. Använd t.ex. 1 µL serum +1 000 µL kall(!) (2-8 °C) inkubationsbuffert. Blanda med hjälp av vortex och låt spädda prover och rekonstituerade kalibratorer och kontroller stå vid 2–8 °C i 30 minuter före pipettering (se steg 4a-c).
2. Bered en plattram med tillräckliga remsor för att testa det aktuella antalet kalibratorer, kontroller och prover. Avlägsna överflödiga remsor från ramen och lägg omedelbart tillbaka dem i foliepåsen tillsammans med torkmedlet. Förvara i kyl.

Obs: Använd kalla reagens i steg 3 till 9.

3. Tvätta brunnarna fyra gånger med hjälp av minst

300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper för att avlägsna all återstående vätska.



<u>Obs:</u> Fortsätt omedelbart till nästa steg.

4a. Pipettera i duplikat 100 µL inkubationsbuffert (blank) och

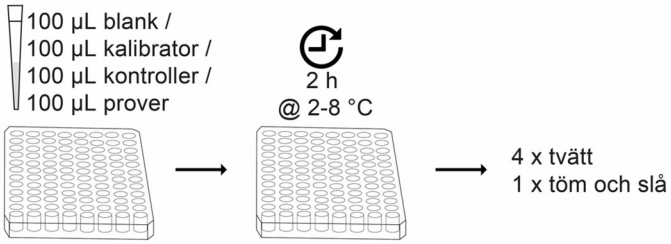
pipettera i duplikat 100 µL kalibrator A-D i respektive brunnar.

4b. Pipettera i duplikat 100 µL kontrollerna låg och hög i respektive brunnar.

4c. Pipettera 100 µL av varje utspätt prov i efterföljande brunnar.

5. Täck plattan med ett lock och inkubera i 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C (skaka inte plattan).

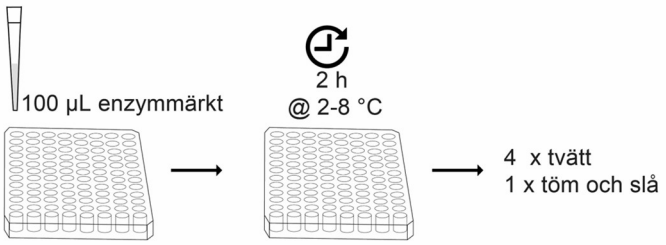
6. Avlägsna locket. Töm brunnarna och tvätta fyra gånger med hjälp av minst 300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper för att avlägsna all tvättbuffert.



7. Tillsätt 100 µL enzymmärkt IgM i alla brunnar.

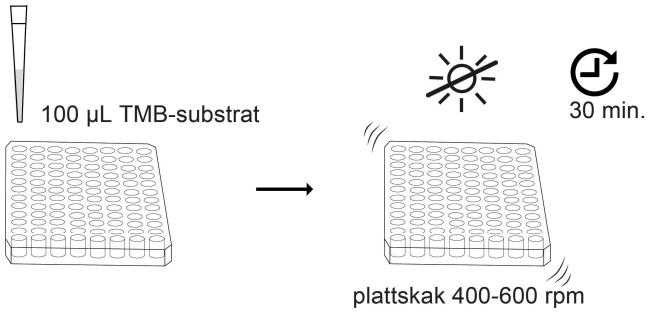
8. Täck plattan med ett lock och inkubera i 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C (skaka inte plattan).

9. Avlägsna locket. Töm brunnarna och tvätta fyra gånger med hjälp av minst 300 µL kall(!) (2-8 °C) tvättbuffert per brunn. Töm brunnarna och slå plattan ordentligt mot blottingpapper.



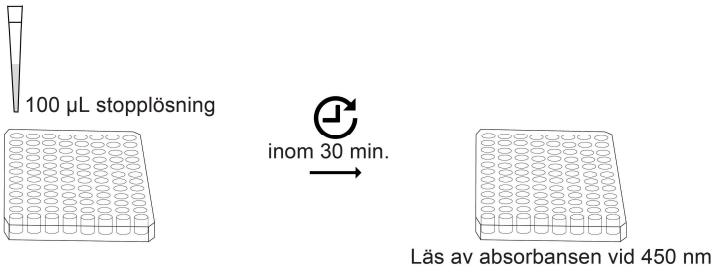
10. Tillsätt 100 µL TMB-substratlösning (som balanserats till rumstemperatur) i varje brunn.

11. Täck plattan med ett lock, skydda plattan från ljus och inkubera på en plattskak som ställts in till 400-600 rpm vid 18-28 °C i 30 ± 2 minuter.



12. Tillsätt 100 µL stopplösning i brunnarna. Avlägsna luftbubblor med en pipettspets. Fortsätt till steg 13 inom 30 minuter.

13. Läs av absorbansen vid 450 nm i en plattläsare.



KVALITETSKONTROLL

Det är viktigt att förstå bruksanvisningen för optimal användning av produkten. Det är endast möjligt att uppnå tillförlitliga resultat genom att använda exakta laboratorietekniker och att noga följa bruksanvisningen.
Anti-MAG Antibodies ELISA-kittet inkluderar två kontroller: kontroller låg och hög. Kontrollösningarna har tilldelade värdeområden som anges i QC-databladet som medföljer varje kit. Kontrollmätningarna måste vara inom de angivna värdeområdena för att erhålla giltiga resultat.
Utöver kontrollerna i kittet rekommenderar vi användning av serumpooler för intern kvalitetskontroll.
Reproducerbarheten av standardkurvans parametrar och kontrollvärden ska ligga inom de fastställda gränserna för laboratoriets acceptans. Om analysens prestanda inte uppfyller de fastställda gränserna och upprepning har exkluderat fel i tekniken, kontrollera följande: *i)* temperaturkontroll (reagens som används i steg 3-9 ska förvaras vid 2-8 °C); *ii)* noggrannhet för termometrar, pipetterings- och tidtagningsenheter; *iii)* ELISA-läsarens inställningar; *iv)* utgångsdatum för reagens; *v)* lagrings- och inkubationsförhållanden; *vi)* färgen på TMB-substratlösningen (ska vara färglös); *vii)* vattnets renhet; *viii)* aspirations- och tvättmetoder.

STANDARDISERING OCH METROLOGISK SPÅRBARHET

Det finns inga internationellt eller nationellt erkända referensmaterial eller referensmätningsprocedurer för anti-MAG-antikroppar i serumprover. Anti-MAG Antibodies ELISA är standardiserade mot ett internt fastställt referensmaterial. Kalibrator- och kontrollvärden tilldelas enligt ett värdeöverföringsprotokoll (ref. 1, 2) för att garantera metrologisk spårbarhet och anges i arbiträra enheter, BÜHLMANN Titer Units. Konfidensintervallet på 95 % för den kombinerade osäkerheten hos produktkalibratorer och kontroller är lägre än 35 %.

BERÄKNING AV TESTRESULTAT

Standardkurva

Använd en programvara med kapacitet för följande beräkningar:

- subtrahera OD-värdet för blank från varje kalibratorbrunn för att beräkna kalibratorvärdet.
- fastställa en standardkurva med hjälp av en kalkylator för fjärdepartslogistik (4 PL).

Kontroller och prover

Använd en programvara med kapacitet för följande beräkningar:

- subtrahera OD-värdet för blank från varje kontroll/ prov-brunn. Beräkna nivå av anti-MAG-antikropp för kontroller/prover i varje brunn, i BTU, med hjälp av den fastställda standardkurvan.

Obs: Resultaten som presenteras i tabell 6 och figur 1 är exempel och tillhandahålls enbart i demonstrationssyften. En kalibreringskurva måste genereras för varje provuppsättning som ska testas.

BEGRÄNSNINGAR

- Detta test har inte validerats för CSV och plasmaferes.
- Intravenösa immunglobuliner (IVIg) och kryoglobuliner kan påverka resultaten.

TOLKNING AV RESULTAT

Resultat	Tolkning
< cut-off	Negativt resultat
≥ cut-off	Positivt resultat (indikation på förekomst av anti-MAG-antikroppar)

Tabell 3

Testresultaten ska tolkas i kombination med tillgänglig information från klinisk bedömning och andra diagnostiska procedurer.

REFERENSINTERVALLER OCH CUT-OFF

Referensintervallet för anti-MAG Antibodies ELISA-testet fastställdes enligt CLSI EP28-A3 med 141 serumprover från till synes friska personer i åldrarna 18 till 70 år. Resultaten sammanfattas i tabell 4.

Referensintervall [BTU]	
2,5:e percentilen (90 % CI)	**97,5:e percentilen (90 % CI)**
0 (0–0)	0 (0–988)

Tabell 4

Ettusen (1000) BTU är en fastställd cut-off som använts i publicerade studier (ref. 5, 6, 9).
Avvikande cut-off värden har också använts i vetenskaplig litteratur (ref. 3, 4, 7, 8, tabell 13) och titerkategorier för positiva testresultat har föreslagits (ref. 10).

PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandaegenskaperna baseras på genomsnittliga resultat från 2 brunnar.

Repeterbarhet: 3,2 – 11,8 % variationskoefficient (CV)

Precision inom laboratoriet: 5,5 – 15,9 %CV

Repeterbarhet och precision inom laboratoriet fastställdes enligt CLSI-riktlinjen EP05-A3 med hjälp av den standardiserade studiedesignen för 20 dagar x 2 körningar x 2 upprepningar. Fyra (4) poolade mänskliga serumprover, som täckte mätområdet för analysen, testades.
Ett femte negativt prov vid 213 BTU gav 79/80 resultat (98,8 %) inom kategorin (< 1000 BTU). Resultaten sammanfattas i tabell 7 och 8.

Reproducerbarhet: 10,0 – 21,6 % CV

Reproducerbarheten fastställdes i enlighet med CLSI-riktlinjen EP05-A3 med mätningar utförda med hjälp av en studiedesign med 3 operatörer x 3 instrument/lotter x 5 dagar x 5 upprepningar. Fyra (4) poolade mänskliga serumprover, som täckte mätområdet för analysen, testades. Ett femte negativt prov vid 55 BTU gav 75/75 resultat (100,0 %) inom kategorin (< 1000 BTU). Resultaten sammanfattas i tabell 9 och 10.

Detektionsgräns (LoD): 305 BTU

LoD fastställdes enligt CLSI-riktlinjen EP17-A2 med hjälp av en icke-parametrisk analys och med proportioner för falskt positivt (α) mindre än 5 % och falskt negativt (β) mindre än 5 % baserat på 120 bestämningar, med 60 blankprov och 60 lågnivåupprepningar; och en **LoB på 138 BTU.**

Högdos-hook-effekt

Prover med anti-MAG-antikroppnivåer på upp till $2,8 \times 10^5$ BTU kan mätas utan begränsning av mätområdet för analysen.

Korsreaktivitet

Korsreaktiviteten hos anti-MAG Antibodies ELISA-analysen testades för prover som tilldelats en autoimmun sjukdom eller associerad förekomst av antikroppar. Antikropparna och antalet testade prover visas i tabell 11.

Andra prover med olika sjukdomsimuleringar av perifer neuropati testades också med anti-MAG Antibodies ELISA och redovisas i tabell 12.

Ett (1) av fyra (4) analyserade prover från patienter med Waldenströms sjukdom var svagt seropositiva för anti-MAG-antikroppar i intervallet 1000-1500 BTU.

KLINISK PRESTANDA

Den kliniska prestandan utvärderades genom metaanalys av granskad vetenskaplig litteratur. Sju studier undersökte den kliniska prestandan hos anti-MAG Antibodies ELISA för diagnostisering av demyeliniserande perifer neuropati med monoklonal IgM-gammopati (ref. 3-9). Resultaten från analysen och studiedetaljer tillhandahålls i tabell 5 respektive tabell 13.

N neuropati	344
N kontroller	447
Sensitivitet (95 % KI)	58,9 % (47,2-69,6 %)
Specificitet (95 % KI)	98,2 % (89,7-99,7 %)
ROC AUC	0,75

Tabell 5

KI – konfidensintervall
ROC AUC – område under mottagarens funktionella egenskapskurva

INTERFERERANDE ÄMNEN

Anti-MAG Antibodies ELISA-analysens mottaglighet för orala och injicerbara läkemedel, samt endogena ämnen bedömdes enligt CLSI-riktlinje EP07-A3. Bias i resultat som överstiger 20 % ansågs som interferens.

Ingen interferens detekterades med följande ämnen upp till de angivna koncentrationerna: intravenöst immunoglobulin (20 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), reumatoidfaktor (680 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglycerid (20 mg/mL), konjugerat bilirubin (0,4 mg/mL), okonjugerat bilirubin (0,4 mg/mL).

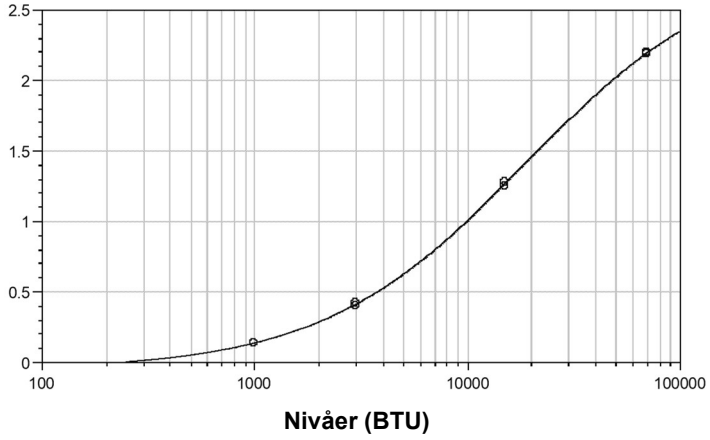
TABELLER OCH FIGURER

Resultatexempel

	Nivå [BTU]	Absorbans [OD]	Beräkn. nivå [BTU]	CV [%]
Blank 1		0,046		
Blank 2		0,049		
Genomsnitt		**0,048**		
Kalibrator A	70000	2,195	70497	
Kalibrator A	70000	2,188	69508	
Genomsnitt	**70000**	**2,191**	**70000**	**0,2**
Kalibrator B	15000	1,272	15313	
Kalibrator B	15000	1,245	14693	
Genomsnitt	**15000**	**1,258**	**15000**	**1,5**
Kalibrator C	3000	0,417	3070	
Kalibrator C	3000	0,400	2931	
Genomsnitt	**3000**	**0,408**	**3000**	**2,9**
Kalibrator D	1000	0,135	1009	
Kalibrator D	1000	0,132	991	
Genomsnitt	**1000**	**0,134**	**1000**	**1,5**
Kontroll LÅG		0,360	2602	
Kontroll LÅG		0,376	2731	
Genomsnitt		**0,368**	**2666**	**3,1**
Kontroll HÖG		1,395	18433	
Kontroll HÖG		1,383	18090	
Genomsnitt		**1,389**	**18261**	**0,6**
Prov 1		0,001	255	
Prov 1		0,009	297	
Genomsnitt		**0,005**	**276**	**116,5**
Prov 2		1,092	11599	
Prov 2		0,969	9511	
Genomsnitt		**1,030**	**10555**	**8,5**

Tabell 6

Exempel på standardkurva (OD_{450})



Figur 1

Precision inom laboratoriet

ID	Genomsnittlig nivå, BTU	n	Inom körning		Mellan körning		Mellan dagar		Inom laboratoriet	
			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

Tabell 7

ID	Beskrivning	n	Genomsnittlig nivå, BTU	% inom kategori
S1	< 1000 BTU (negativt)	80	213	98,8

Tabell 8

Reproducerbarhet

ID	Genomsnittlig nivå, BTU	n	Inom körning		Mellan körning		Mellan dagar		Inom laboratoriet	
			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

Tabell 9

ID	Beskrivning	n	Genomsnittlig nivå, BTU	% inom kategori
S1	< 1000 BTU (negativt)	75	55	100,0

Tabell 10

Korsreaktivitet

Antikroppar		#
Antineutrofila cytoplasmaantikroppar (ANCA)		13
Antinukleära antikroppar (ANA)		23
Antikroppar mot tyreoglobulin (anti-Tg)		5
Antikroppar mot ribonukleoprotein		1
Anti-gangliosid-antikroppar	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Antikroppar mot acetylkolin-receptor och antikroppar mot muskel-specifikt tyrosinkinas		7

Tabell 11

Perifera neuropatier	#
Alkoholist/Alkoholism	1
Diabetes	5
Perifer neuropati – efterliknande sjukdomar	**#**
Amyotrofisk lateralskleros	14
Chagas sjukdom	5
Idiopatisk perifer neuropati	1
Sarkoidos	4
Waldenströms sjukdom	4
Wegeners granulomatos	1

Tabell 12

TABELLER OCH FIGURER

Klinisk prestanda

Studie	Positiva kontroller	Negativa kontroller	Cut-off	Sens.	Spec.
Kuijf et al., 2009	DPN +IgM MG (n = 68)	OPN + HC (n = 139)	1500 B TU	0,72	0,97
Mata et al., 2011	MGUS PN (n = 46)		3200 B TU	0,37	
Campagnolo et al., 2015	DPN +IgM MG (n = 20)	HDC + HC (n = 3)	1000 B TU	0,94	1,00
Stork et al., 2014	DPN +IgM MG (n = 26)		1000 B TU	0,69	
Stork et al., 2016	DPN +IgM MG (n = 83)	HC (n=83)	1000 B TU	0,59	1,00
Taams et al., 2018	MGUS PN (n = 101)		1500 B TU	0,51	
Liberatore et al., 2020		OPN + HC (n = 222)	7000 B TU		1,00

Tabell 13

DPN+IgM MG, demyeliniserande polyneuropati med monoklonal IgM-gammopati; MGUS PN, polyneuropati associerad med monoklonal gammopati av okänd signifikans; OPN, annan polyneuropati; HC, frisk kontroll; HDC, hematologiska sjuka kontroller

KORT PROTOKOLL

Viktigt: Det korta protokollet ersätter inte den detaljerade informationen som finns i denna bruksanvisning.

Före testdagen

Wash Buffer Preparation

Späd tvättbuffertkoncentratet 1:10 med avjoniserat vatten

Rekommendation: Förbered tvättbufferten dagen innan analysen ska utföras och ställ den i kylen över natten.

Testdagen

Beredning av prover / kontroller / kalibratorer

Späd serumproverna 1:1000 med (kall!) inkubationsbuffert och blanda noggrant genom att vortexa

Rekonstituera eller tina upp (aliquoterade) rekonstituerade kontroller och kalibratorer

låt stå i 30 minuter vid 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Förbelagd mikrotiterplatta

tvätta 4 x med ≥ 300 µL (kall!) tvättbuffert

100 µL inkubationsbuffert, kalibratorer, kontroller eller serumprover (1:1000)

inkubera 2 timmar (± 5 min) vid 2-8 °C

tvätta 4 x med ≥ 300 µL (kall!) tvättbuffert

tillsätt 100 µL enzymmärkning

inkubera 2 timmar (± 5 min) vid 2–8 °C

tvätta 4 x med ≥ 300 µL (kall!) tvättbuffert

tillsätt 100 µL TMB-substrat

inkubera 30 minuter (± 2 min) vid 18-28 °C på en plattskak ~400-600 rpm

tillsätt 100 µL stopplösning

Läs av absorbansen vid 450 nm (inom 30 minuter)

TID TILL RESULTAT: 5 TIMMAR

REFERENSER

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).

ÄNDRINGSLOGG

Datum	Version	Ändring
2026-09-09	A5	Förtydligande av *Avsedd användning* genom tillägg av information om testpopulation, avsedd användare och testautomatisering. Uppdatering av kapitlen *Material som krävs men som inte medföljer*, *Analysprocedur*, *Kvalitetskontroll*, *Klinisk prestanda*, *Tabeller och figurer* (Tabell 12) och *Kort protokoll*. Revision av kapitlen *Varningar och försiktighetsåtgärder* och *Symboler*. Uppdatering av eIFU-symbolen på framsidan (gäller endast den engelska versionen av dokumentet).

HÄNDELSERAPPORTERING I EU-MEDLEMSSTATER

Om en allvarlig händelse sker i samband med användning av denna enhet ska detta utan fördröjning rapporteras till tillverkaren och till behörig myndighet i ditt land.

LEVERANSSKADOR

Meddela din distributör om produkten är skadad vid mottagandet.

SYMBOLER

BÜHLMANN använder symboler och märkningar som beskrivs i ISO 15223-1.
För definition av symboler, se symbolordlistan på: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/
Dessutom används följande symboler och märkningar:

Symbol	Förklaring
MP	Mikrotiterplatta
BUF INC	Inkubationsbuffert
BUF WASH 10X	Tvättbuffertkoncentrat (10x)
CONTROL L	Kontroll låg
CONTROL H	Kontroll hög
CAL A - CAL D	Kalibrator A–D
EL IgM	Enzymmärkt IgM
SUBS TMB	TMB-substrat
SOLN STOP	Stopplösning

CE 0123