

# anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = glykoprotein asociovaný s myelinem

Pro *in vitro* diagnostiku

EK-MAG      testů 96

Datum vydání: 2023-05-31  
Verze A2

## URČENÉ POUŽITÍ

Anti-MAG Antibodies ELISA je *in vitro* diagnostický test pro semikvantitativní stanovení protilátek anti-MAG IgM ve vzorcích lidského séra. Test je určen jako pomůcka pro diagnostiku anti-MAG neuropatie ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Pouze pro laboratorní účely.

## PRINCIP TESTU

Anti-MAG Antibodies ELISA umožňuje měření IgM protilátek proti glykoproteinu asociovanému s myelinem (MAG) v séru pomocí sendvičové metody ELISA. Mikrotitrační destička je potažena purifikovaným MAG z lidského mozku. Do jamek mikrotitrační destičky se přidají séra pacientů, kontroly a kalibrátory. Po 2 hodinách inkubace při 2-8 °C a promytí detekční protilátkou konjugovanou s křenovou peroxidázou (HRP) se detekují protilátky proti MAG navázané na lidský MAG na destičce. Po dalších 2 hodinách inkubace a dalších promývacích krocích se přidá chromogenní substrát HRP, tetrametylbenzidin (TMB) (tvorba modré barvy) a následuje zastavení reakce (změna na žlutou barvu). Absorbance se měří při 450 nm.

Hladina protilátek anti-MAG se stanoví pomocí kalibrační křivky vytvořené z naměřených hodnot kalibrátoru a vyjadřuje se jako BÜHLMANN Titer Unit (BTU).

## DODÁVANÉ REAGENCIE A PŘÍPRAVA

Reagencie	Množství	Kat.č.	Příprava
<b>Mikrotitrační destička</b> 96 jamek s lidským MAG	12 x 8 jamek s rámečkem	B-MAG-MP	Připraveno k použití
<b>Lepicí fólie</b>	3 kusy	-	Připraveno k použití
<b>Koncentrát promývacího roztoku (10x)</b>	1 láhev x 100 mL	B-MAG-WB	Zředte 900 mL deionizované vody
<b>Inkubační roztok s konzervačními látkami</b>	1 láhev x 100 mL	B-MAG-IB	Připraveno k použití
<b>Kalibrátory A až D<sup>1</sup></b> lyofilizované s konzervačními látkami	4 lahvičky	B-MAG-CASET	Přidejte 1 mL inkubačního roztoku
<b>Kontrola nízká a vysoká<sup>2</sup></b> lyofilizované s konzervačními látkami	2 lahvičky	B-MAG-CONSET	Přidejte 1 mL inkubačního roztoku

Reagencie	Množství	Kód	Příprava
<b>Enzymová značka IgM</b> protilátka proti lidskému IgM konjugovaná s HRP v roztoku s konzervačními látkami	1 lahvička x 11 mL	B-MAG-ELM	Připraveno k použití Modrý roztok
<b>Substrát TMB</b> TMB v citrátovém pufru	1 lahvička x 11 mL	B-TMB	Připraveno k použití
<b>Zastavovací roztok</b> 0,25 M kyselina sírová	1 lahvička x 11 mL	B-ST5	Připraveno k použití <b>Žíravina</b>

Tabulka 1

<sup>1</sup> Po ředění obsahují kalibrátory A, B, C a D 70000, 15000, 3000 a 1000 BÜHLMANN titračních jednotek (BTU) protilátek anti-MAG.

<sup>2</sup> Kontroly obsahují množství protilátek anti-MAG specifických pro danou šarži. Skutečné hladiny jsou uvedeny v doplňkovém listu pro kontrolu kvality.

## SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST REAGENCIÍ

Zapečetěná / neotevřená činidla	
Skladujte při teplotě 2-8 °C. Nepoužívejte činidla po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.	
Otevřená / zředěná činidla	
Mikrotitrační destička	Nepoužité stripy ihned vraťte do fóliového sáčku s vysoušecími balíčky a znovu je uzavřete podél celého okraje zipu. Skladujte až 5 měsíců při teplotě 2-8 °C.
Zředěný promývací roztok	Skladujte až 5 měsíců při teplotě 2-8 °C.
Inkubační roztok	
Enzymová značka IgM	
Substrát TMB	
Kontroly	Po rozředění alikvotujte a uchovávejte při ≤-20 °C. Uchovávejte až 5 měsíců při teplotě ≤-20 °C. <sup>1</sup>
Kalibrátory	
Zastavovací roztok	Skladujte až 5 měsíců při teplotě 18-28 °C.

Tabulka 2

<sup>1</sup> Rozředěné kalibrátory a kontroly mohou být během 5 měsíců podrobeny třem cyklům zmrazování a rozmrazování.

## POŽADOVANÉ MATERIÁLY NEDODÁVANÉ SE SOUPRAVOU

- Přesné pipety s jednorázovými špičkami: 10 µL, 20 µL, 100 µL a 1000 µL
- Jednorázové polystyrenové nebo polypropylenové zkumavky pro přípravu ředění vzorků
- 1000 mL láhev pro ředění promývacího roztoku
- Podložka pod mikrotitrační destičky
- Blotovací papír
- Třepačka mikrotitračních destiček
- Čtečka mikrotitračních destiček pro měření absorbance při 450 nm

## UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ

### Bezpečnostní opatření

- Kalibrátory, kontroly a mikrotitrační destičky této soupravy obsahují složky lidského původu. Přestože byly testovány a shledány negativními na HBV, HCV a HIV1/2, s reagensiemi by se mělo zacházet, jako by mohly přenášet infekce, a mělo by se s nimi zacházet v souladu se správnou laboratorní praxí (SLP) za použití vhodných bezpečnostních opatření.
- Tato sada obsahuje součásti klasifikované v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008:
  - Zastavovací roztok obsahuje kyselinu sírovou (konc. 2,5 - 5%), proto může dráždit kůži (H315), způsobit vážné podráždění očí (H319) a může být korozivní pro kovy (H290).
  - Kalibrátory a kontroly obsahují gentamicin sulfát (prášek), proto mohou činnidla vyvolat alergickou kožní reakci (H317) a při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže (H334). Obsahují také thiomersal (prášek), proto při požití může způsobit smrt, při styku s kůží může způsobit smrt nebo při vdechování může způsobit smrt (H300+H310+H330).
  - Inkubační roztok a promývací roztok obsahují Triton™ X-100 (polyethylenglykol-terc-oktylfenylether, konc. <1%), způsobuje vážné podráždění očí (H319).
  - Enzymová značka obsahuje Triton™ X-100 (polyethylenglykol-terc-oktylfenylether, konc. < 1%), způsobuje vážné podráždění očí (H319). Obsahuje také gentamicin sulfát (konc. <1%), může vyvolat vážnou alergickou kožní reakci (H317).
- Zabraňte kontaktu činnidel s kůží, očima nebo sliznicemi. Dojde-li ke kontaktu s činnidlem, okamžitě je omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k podráždění / popálení.
- S činnidly a chemikáliemi se musí zacházet jako s nebezpečným odpadem podle národních bezpečnostních směrnic nebo nařízení o biologickém nebezpečí.

### Technická opatření

- Před provedením testu si pečlivě přečtete pokyny. Pokud jsou činnidla nesprávně naředěna, upravena nebo skladována za jiných podmínek, než je uvedeno v tomto návodu k použití, bude to mít nepříznivý vliv na výsledky testu.

### ELISA postup

#### Teplota činnidel

- Před zahájením postupu analýzy si připravte činnidla. Kroky 3-9: Reagencie používané v krocích 3-9 musí být chlazené (2-8 °C) a při pipetování a promývání musí být uchovávány v chladu. Doporučení: Doporučujeme připravit promývací roztok den před provedením testu a umístit jej přes noc do chladničky.
- Všechny promývací kroky provádějte se studeným (2-8 °C) promývacím roztokem.
- Na začátku postupu analýzy upravte substrát TMB a zastavovací roztok na pokojovou teplotu (18-28 °C).

### Kroky promývání

- Promývací kroky 3, 6 a 9 mají zásadní význam pro odstranění zbytků vzniklých při výrobním procesu a/nebo potenciálně nenavázaných protilátek v jamkách.
- Důrazně se doporučuje automatická promývačka pracující v "režimu desek", tj. každý procesní krok (dávkování/aspirace) se provede postupně na všech stripech, než přístroj pokračuje dalším promývacím cyklem.
- Po posledním promývacím cyklu se ujistěte, že jsou všechny jamky zcela prázdné.

### Inkubace substrátu

- Krok 11: Během inkubace se substrátem mikrotitrační destičky protřepejte. V závislosti na modelu třepačky destiček doporučujeme 400-600 otáček za minutu. Roztok by se měl v jamkách pohybovat, ale nesmí se přelévat.

### Dodatečné ředění vzorku

- Vzorky přesahující 70'000 BTU lze ředit do rozsahu analytického měření (>1000 BTU, <70'000 BTU). Pro ředění vzorků séra použijte inkubační roztok.

### Součásti sady

- Složky se nesmí používat po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích.
- Nezaměňujte různé šarže činnidel.
- Je třeba vynaložit veškeré úsilí, aby nedošlo ke křížové kontaminaci mezi činnidly, vzorky nebo jamkami.
- Mikrotitrační jamky nelze použít opakovaně.

## ODBĚR A SKLADOVÁNÍ

K postupu je zapotřebí <0,1 mL krve, resp. <50 µL séra.

Krev odebírejte do obyčejných venepunkčních zkumavek bez jakýchkoli přísad a zabraňte hemolýze. Přípravu séra proveďte podle pokynů výrobce. Sérum dekantujte.

Vzorky séra lze skladovat při teplotě 2-8 °C až 16 dní nebo při -20 °C až 12 měsíců. Zmrazené vzorky je třeba před použitím rozmrazit a důkladně promíchat jemným otáčením nebo převrácením.

Doporučujeme připravit alikvoty vzorků séra před zmrazením, aby se předešlo opakovaným cyklům zmrazení/rozmrazení.

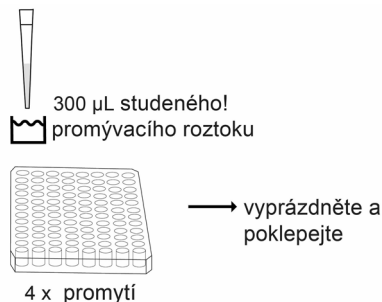
## POSTUP TESTU

*Poznámka: Roztok substrátu TMB upravte na pokojovou teplotu (18-28 °C).*

1. Vzorky naředěte 1:1000 inkubačním roztokem. Použijte např. 2 µL séra + 2000 µL studeného! (2-8 °C) inkubačního roztoku. Důkladně promíchejte vířením a zředěné vzorky i rekonstituované kalibrátory a kontroly nechte před pipetováním 30 minut při teplotě 2-8 °C. (viz kroky 4a - c).
2. Připravte si rámeček s dostatečným počtem stripů pro testování požadovaného počtu kalibrátorů, kontrol a vzorků. Odstraňte přebytečné stripy z rámečku a neprodleně je znovu uzavřete do fóliového sáčku spolu s vysoušedlem. Uchovávejte v chladu.

*Poznámka: V krocích 3 až 9 použijte studená činnidla.*

3. Jamky čtyřikrát promyjte alespoň 300  $\mu\text{L}$  studeného! (2-8  $^{\circ}\text{C}$ ) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na papír, abyste zcela odstranili zbývající tekutinu.



*Poznámka: Okamžitě přejděte k dalším krokům.*

- 4a. Dvakrát odpipetujte 100  $\mu\text{L}$  inkubačního roztoku (slepý vzorek).

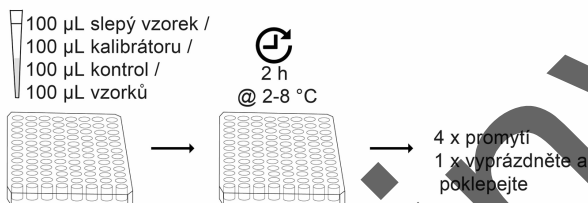
Do příslušných jamek napipetujte 100  $\mu\text{L}$  kalibrátoru A-D ve dvou opakováních.

- 4b. Do příslušných jamek napipetujte 100  $\mu\text{L}$  nízké a vysoké kontroly.

- 4c. Naipetujte 100  $\mu\text{L}$  každého naředěného vzorku do následujících jamek.

5. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin ( $\pm 5$  min) při teplotě 2-8  $^{\circ}\text{C}$  (destičkou netřepejte).

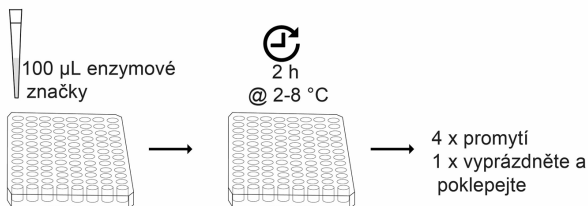
6. Odstraňte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a čtyřikrát je promyjte pomocí nejméně 300  $\mu\text{L}$  studeného! (2-8  $^{\circ}\text{C}$ ) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír, aby se promývací roztok zcela odstranil.



7. Do všech jamek přidejte 100  $\mu\text{L}$  enzymaticky značeného IgM.

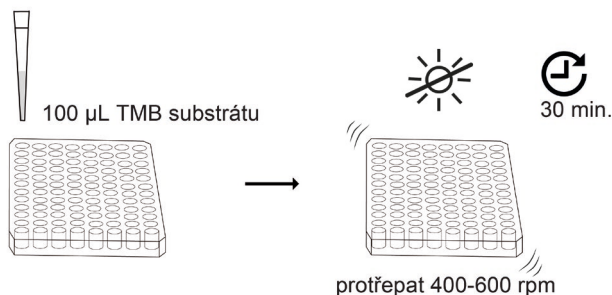
8. Přikryjte destičku lepicí fólií a inkubujte po dobu 2 hodin ( $\pm 5$  min) při teplotě 2-8  $^{\circ}\text{C}$  (destičkou netřepejte).

9. Odstraňte lepicí fólii z destičky. Vyprázdněte jamky a čtyřikrát je promyjte pomocí nejméně 300  $\mu\text{L}$  studeného! (2-8  $^{\circ}\text{C}$ ) promývacího roztoku na jamku. Vyprázdněte jamky a pevně poklepejte destičkou na blotovací papír.



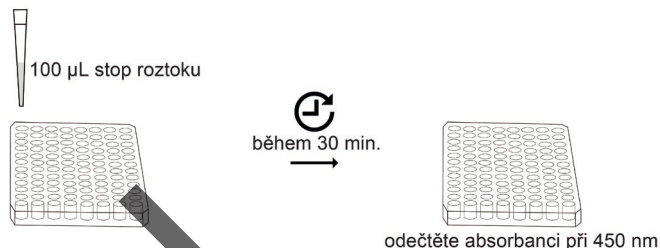
10. Do každé jamky přidejte 100  $\mu\text{L}$  roztoku substrátu TMB (ekvibrovaného na pokojovou teplotu).

11. Přikryjte destičku lepicí fólií, chraňte ji před světlem a inkubujte na třepačce nastavené na 400-600 otáček za minutu při teplotě 18-28  $^{\circ}\text{C}$  po dobu 30  $\pm 2$  minut.



12. Do všech jamek přidejte 100  $\mu\text{L}$  zastavovacího roztoku. Odstraňte vzduchové bubliny špičkou pipety. Do 30 minut přejděte ke kroku 13.

13. Odečtěte absorbanci při 450 nm ve čtečce mikrotitračních destiček.



## KONTROLA KVALITY

Důkladné seznámení s tímto návodem k použití je nezbytné pro úspěšné používání výrobku. Spolehlivých výsledků lze dosáhnout pouze za použití přesných laboratorních technik a přesného dodržování tohoto návodu k použití.

Souprava anti-MAG Antibodies ELISA se dodává se dvěma kontrolami: nízkou a vysokou kontrolou. Kontroly mají přiřazené rozsahy hodnot uvedené na listu s údaji o kontrole kvality dodávaném s každou soupravou. Pro získání platných výsledků musí být kontrolní měření v uvedeném rozmezí hodnot.

Kromě kontrolních souprav doporučujeme pro interní kontrolu kvality používat sérum.

Reprodukovatelnost parametrů standardní křivky a kontrolních hodnot by měla být v rámci stanovených mezí laboratorní přijatelnosti. Pokud provedení testu nesplňuje stanovené meze a opakování vyloučilo chyby v technice, zkontrolujte následující problémy: i) kontrola teploty (činidla použitá v kroku 3-9 udržovaná při 2-8  $^{\circ}\text{C}$ ) ii) přesnost teploměru, pipetovacích a časovacích zařízení; iii) nastavení čtečky ELISA; iv) datum spotřeby činidel; v) podmínky skladování a inkubace; vi) barva roztoku substrátu TMB (měl by být bezbarvý); vii) čistota vody; viii) metody odsávání a promývání.

## STANDARDIZACE A METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Neexistují žádné mezinárodně nebo národně uznávané referenční materiály nebo referenční postupy měření protilátek anti-MAG ve vzorcích séra. Test anti-MAG Antibodies ELISA je standardizován na základě interně zavedeného referenčního materiálu. Hodnoty kalibrátoru a kontroly jsou přiřazeny podle protokolu o přenosu hodnot (ref. 1,2), aby byla zaručena metrologická návaznost, a jsou uvedeny v libovolných jednotkách BÜHLMANN Titer. Interval spolehlivosti 95%

kombinované nejistoty kalibrátorů a kontrol produktů je nižší než 35%.

## VÝPOČET VÝSLEDKŮ TESTŮ

### Standardní křivka

Použijte softwarový program, který je schopen provést následující výpočty:

- odečtete hodnotu OD slepé jamky od každé jamky kalibrátoru a vypočítejte hodnotu kalibrátoru.
- sestavte standardní křivku pomocí čtyřparametrové logistické (4 PL) křivky.

### Kontroly a vzorky

Použijte softwarový program, který je schopen provést následující výpočty;

- odečtete hodnotu OD slepého vzorku od každé kontrolní jamky/jamky se vzorkem. Vypočítejte hladinu protilátek anti-MAG v každé jamce v BTU pomocí stanovené standardní křivky.

*Poznámka: Výsledky uvedené v tabulce 6 a na obrázku 1 jsou příklady a slouží pouze k demonstraci. Kalibrační křivka musí být vytvořena pro každou sadu testovaných vzorků.*

## OMEZENÍ

- V současné době neexistuje žádná mezinárodně uznávaná referenční metoda pro detekci protilátek anti-MAG IgM. Viz kapitola "Standardizace a metrologická návaznost". Výsledky by měly být interpretovány s použitím hraničních hodnot uvedených v tomto návodu k použití.
- Tento test nebyl validován pro vzorky z CSF a plazmaferézy.
- Intravenózní imunoglobuliny (IVIg) a kryoglobuliny mohou ovlivnit výsledek testu.

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledek	Interpretace
< mezní hodnota	Negativní výsledek
≥ mezní hodnota	Pozitivní výsledek (indikace přítomnosti protilátek anti-MAG)

Tabulka 3

Výsledky testů by měly být interpretovány ve spojení s informacemi dostupnými z klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.

## REFERENČNÍ INTERVALY A MEZNÍ HODNOTY

Referenční interval testu anti-MAG Antibodies ELISA byl stanoven podle CLSI EP28-A3 se 141 vzorky séra od zjevně zdravých jedinců ve věku 18 až 70 let. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Referenční interval [BTU]	
2,5 <sup>th</sup> percentil (90% CI)	97,5 <sup>th</sup> percentil (90% CI)
0 (0 - 0)	0 (0 - 988)

Tabulka 4

Tisíc (1000) BTU je zavedená mezní hodnota, která se používá v publikovaných studiích (ref. 5, 6, 9).

V odborné literatuře byly použity také odchylné hraniční hodnoty (ref. 3, 4, 7, 8, tabulka 13) a byly navrženy kategorie titrů pro pozitivní výsledky testů (ref. 10).

## VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky jsou založeny na průměrných výsledcích ze 2 jamek.

**Opakovatelnost: 3,2 - 11,8% CV**

**Přesnost v rámci laboratoře: 5,5 - 15,9% CV**

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle pokynu CLSI EP05-A3 za použití standardizovaného plánu studie 20 dní x 2 série x 2 opakování. Byly testovány čtyři (4) směsné vzorky lidského séra, které pokrývají rozsah měření testu.

Pátý negativní vzorek při 213 BTU poskytl 79/80 výsledků (98,8%) v rámci kategorie (< 1 000 BTU). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 7 a 8.

**Reprodukovatelnost: 10,0 - 21,6% CV**

Reprodukovatelnost byla stanovena podle pokynu CLSI EP05-A3 provedením měření s využitím plánu studie 3 operátoři x 3 přístroje/šarže x 5 dní x 5 opakování. Testovány byly čtyři (4) sdružené vzorky lidského séra, které pokrývaly rozsah měření testu. Pátý negativní vzorek při 55 BTU poskytl 75/75 výsledků (100,0%) v rámci kategorie (< 1 000 BTU). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 9 a 10.

**Mez detekce (LoD): 113 BTU**

LoD byla stanovena podle pokynu CLSI EP17-A2 a s podílem falešně pozitivních výsledků ( $\alpha$ ) menším než 5% a falešně negativních výsledků ( $\beta$ ) menším než 5% na základě 120 stanovení s 60 slepými a 60 nízkourovňovými replikáty a **LoB 17 BTU**.

**Hook efekt při vysoké dávce**

Vzorky s hladinami protilátek anti-MAG až do  $2,8 \cdot 10^5$  BTU lze měřit bez omezení rozsahu měření testu.

**Zkřížená reaktivita / jiná etiologie**

Zkřížená reaktivita anti-MAG Antibodies ELISA byla testována u vzorků s autoimunitním onemocněním. Různé typy autoimunitních onemocnění a související přítomnost protilátek jsou uvedeny v tabulce 11.

Další vzorky s různou etiologií byly rovněž testovány pomocí anti-MAG Antibodies ELISA a jsou uvedeny v tabulce 12.

Všechny vzorky, s výjimkou jednoho z pěti GD1b pozitivních vzorků, byly pod technickou hranicí (1 000 BTU).

## KLINICKÝ VÝKON

Klinický výkon byl hodnocen metaanalýzou recenzované vědecké literatury. Sedm studií se zabývalo klinickým výkonem anti-MAG Antibodies ELISA při diagnostice neuropatií spojených s monoklonální gamapatií IgM (ref. 3-9). Výsledky analýzy a podrobnosti o studiích jsou uvedeny v tabulce 5 a v tabulce 13.

N neuropatie	344
N kontroly	447
Sensitivita (95% CI)	58,9% (47,2 – 69,6 %)
Specifická (95% CI)	98,2% (89,7 – 99,7%)
ROC AUC	0,75

Tabulka 5

CI - interval spolehlivosti

ROC AUC - plocha pod charakteristickou operační křivkou

## INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Citlivost testu anti-MAG Antibodies ELISA na perorální a injekční léčiva a na endogenní látky byla hodnocena podle pokynů CLSI EP07-A3. Zkreslení výsledků přesahující 20% bylo považováno za interferenci.

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami až do uvedených koncentrací: intravenózní imunoglobulin (20 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), revmatoidní faktor (680 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolyzát (10 mg/mL), triglyceridy (20 mg/mL), konjugovaný bilirubin (0,4 mg/mL), nekonjugovaný bilirubin (0,4 mg/mL).

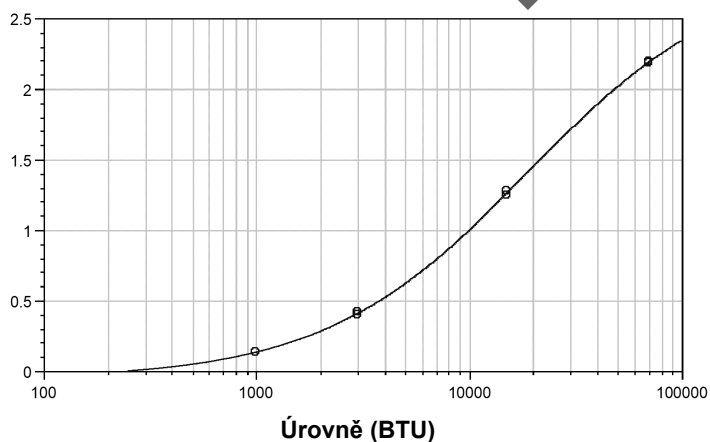
invalid

Příklad výsledků

	Úroveň [BTU]	Absorbance [OD]	Hodnota [BTU]	CV [%]
Slepý vzorek 1		0,046		
Slepý vzorek 2		0,049		
<b>Průměr</b>		<b>0,048</b>		
Kalibrátor A	70000	2,195	70497	
Kalibrátor A	70000	2,188	69508	
<b>Průměr</b>	<b>70000</b>	<b>2,191</b>	<b>70000</b>	<b>0,2</b>
Kalibrátor B	15000	1,272	15313	
Kalibrátor B	15000	1,245	14693	
<b>Průměr</b>	<b>15000</b>	<b>1,258</b>	<b>15000</b>	<b>1,5</b>
Kalibrátor C	3000	0,417	3070	
Kalibrátor C	3000	0,400	2931	
<b>Průměr</b>	<b>3000</b>	<b>0,408</b>	<b>3000</b>	<b>2,9</b>
Kalibrátor D	1000	0,135	1009	
Kalibrátor D	1000	0,132	991	
<b>Průměr</b>	<b>1000</b>	<b>0,134</b>	<b>1000</b>	<b>1,5</b>
Kontrola NÍZKÁ		0,360	2602	
Kontrola NÍZKÁ		0,376	2731	
<b>Průměr</b>		<b>0,368</b>	<b>2666</b>	<b>3,1</b>
Kontrola VYSOKÁ		1,395	18433	
Kontrola VYSOKÁ		1,383	18090	
<b>Průměr</b>		<b>1,389</b>	<b>18261</b>	<b>0,6</b>
Vzorek 1		0,001	255	
Vzorek 1		0,009	297	
<b>Průměr</b>		<b>0,005</b>	<b>276</b>	<b>116,5</b>
Vzorek 2		1,092	11599	
Vzorek 2		0,969	9511	
<b>Průměr</b>		<b>1,030</b>	<b>10555</b>	<b>8,5</b>

Tabulka 6

Příklad standardní křivky (OD)<sub>450</sub>



Obrázek 1

Přesnost v rámci laboratoře

ID	Prům. úroveň, BTU	n	V rámci běhu		Mezi spuštěním		Mezi dny		V rámci laboratoře	
			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

Tabulka 7

ID	Popis	n	Průměrná úroveň, BTU	% V rámci kategorie
S1	< 1'000 BTU (negativní)	80	213	98,8

Tabulka 8

Reprodukovatelnost

ID	Prům. úroveň, BTU	n	V rámci běhu		Mezi jednotlivými běhy		Mezi dny		V rámci laboratoře	
			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

Tabulka 9

ID	Popis	n	Průměrná úroveň, BTU	% V rámci kategorie
S1	< 1'000 BTU (negativní)	75	55	100,0

Tabulka 10

Zkřížená reaktivita/jiná etiologie

Přirazená protilátka	Diagnostika	#
Anti-neutrofilní cytoplazmatická protilátka (ANCA)	Vaskulitida	3
	Ostatní (ANCA pozitivní vzorky)	10
Antijaderné protilátky (ANA)	Systémový lupus erythematoses	5
	Revmatoidní artritida	9
	Sjögrenův syndrom	6
	Ostatní (ANA poz. vzorky)	3
Protilátky proti tyreoglobulinu (anti-Tg)	Autoimunitní tyreoiditida	5
Protilátky proti ribonukleoproteinům	Směšené onemocnění pojivové tkáně	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimunitní periferní neuropatie	1
Protilátky proti acetylcholinovému receptoru a proti svalově specifické tyrozinkináze	Myasthenia gravis	7

Tabulka 11

Etiologie	Diagnostika	#
Periferní neuropatie	Alkoholik/alkoholismus	1
	Diabetes	5
Další neurologická onemocnění a diferenciálně diagn. význam	Amyotrofická laterální skleróza	15
	Chagasova choroba	5
	Sarkoidóza	4
	Waldenströмова choroba	4

Tabulka 12

Klinický výkon

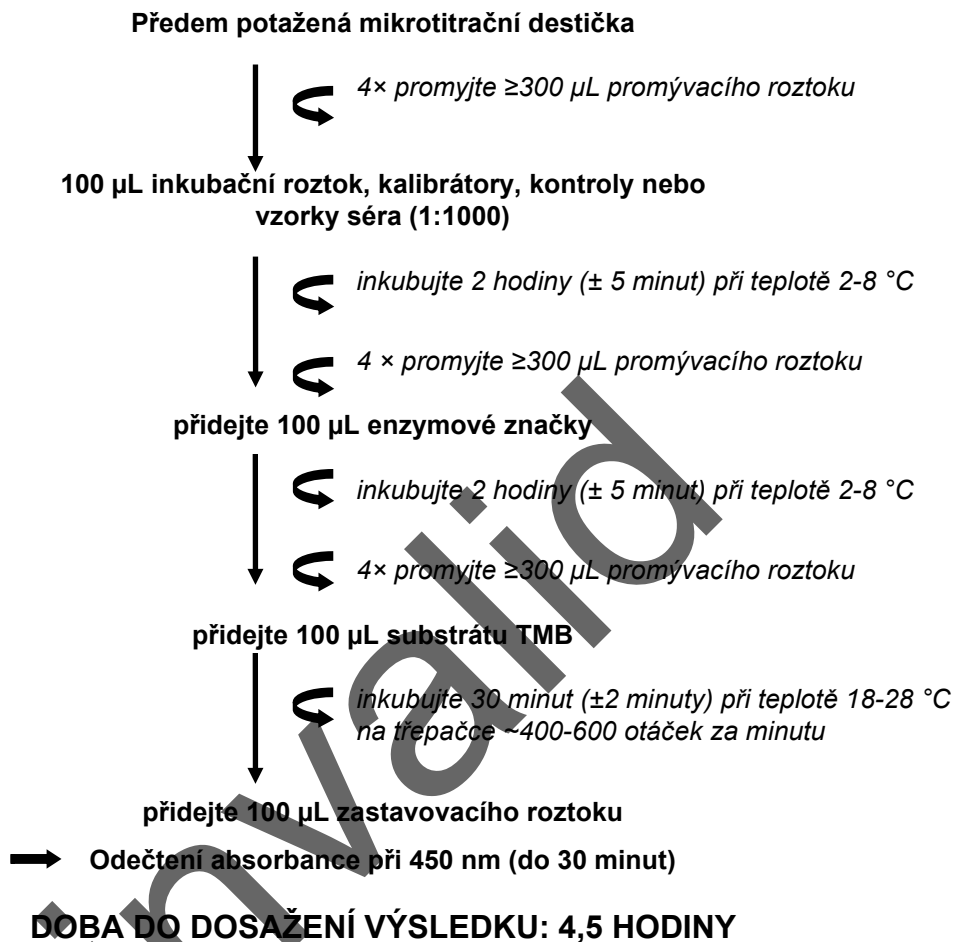
Studie	Pozitivní kontroly	Negativní kontroly	Mezní hodnoty	Sens.	Spec.
Kuijff a kol., 2009	DPN +IgM MG (n = 68)	OPN + HC (n = 139)	1500 BTU	0,72	0,97
Mata a kol., 2011	MGUS PN (n = 46)		3200 BTU	0,37	
Campagnolo et al., 2015	DPN +IgM MG (n = 20)	HDC + HC (n = 3)	1000 BTU	0,94	1,00
Čáp a kol., 2014	DPN +IgM MG (n = 26)		1000 BTU	0,69	
Čáp a kol., 2016	DPN +IgM MG (n = 83)	HC (n=83)	1000 BTU	0,59	1,00
Taams a kol., 2018	MGUS PN (n = 101)		1500 BTU	0,51	
Liberatore et al., 2020		OPN + HC (n = 222)	7000 BTU		1,00

Tabulka 13

DPN+IgM MG, demyelinizační polyneuropatie s monoklonální gamapatií IgM; MGUS PN, polyneuropatie spojená s monoklonální gamapatií neznámého významu; OPN, jiná polyneuropatie; HC, zdravá kontrola; HDC, hematologické onemocnění kontroly.



## anti-MAG Antibodies ELISA



## REFERENCE

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Standardizace proteinů V: Přenos hodnot. Praktický protokol pro přiřazení hodnot sérových proteinů z referenčního materiálu k cílovému materiálu. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46**, 1470-1479 (2008).
2. Pokyny CLSI EP30-A - Characterization and Qualification of Commutable Reference Materials for Laboratory Medicine (2010).
3. Kuijf, M. L. et al. Detekce anti-MAG protilátek u polyneuropatie spojené s monoklonální gamapatií IgM. *Neurology* **73**, 688-695 (2009).
4. Matà, S. et al. IgM monoklonální gamapie asociované s neuropatiemi s různou specifitou IgM. *Eur. J. Neurol.* **18**, 1067-1073 (2011).
5. Stork, A. C. J. et al. Aktivita klasické a lektinové komplementové dráhy u polyneuropatie spojené s monoklonální gamapatií IgM. *J. Neuroimmunol.* **290**, 76-79 (2016).
6. Stork, A. C. J. et al. Fcγ receptor IIIA genotyp je spojen s odpovědí na rituximab u neuropatie spojené s antimyelinovým glykoproteinem. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* **85**, 916-918 (2014).
7. Liberatore, G. et al. Citlivost a specifita komerčního testu ELISA na anti-MAG protilátky u pacientů s neuropatií. *J. Neuroimmunol.* **345**, (2020).
8. Taams, N. E. et al. Klinický význam sérových protilátek proti GD1b u imunitně zprostředkovaných neuropatií. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **23**, 227-234 (2018).
9. Campagnolo, M. et al. Polyneuropatie s anti-sulfatidovými a anti-MAG protilátkami: Klinické, neurofyziologické a patologické rysy a odpověď na léčbu. *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).

invalid

## ZMĚNY

Datum	Verze	Změna
2023-05-31	A2	Změna <i>Určené použití</i> a názvu výrobku Přeformulování <i>principu testu</i> Nová stabilita používaných činidel Aktualizace kapitoly <i>Upozornění a opatření</i> Revize kapitol <i>Odběr a skladování, Postup testu, Standardizace a metrologická návaznost</i> Přeformulování kapitol <i>Kontrola kvality a Výpočet výsledků testů</i> Aktualizace kapitoly <i>Omezení</i> Úvod kapitoly <i>Interpretace výsledků a Klinický výkon</i> Revize kapitol <i>Referenční intervaly a mezní hodnoty, Výkonnostní charakteristiky, Interferující látky, Reference a Symboly</i> Přidání čísla označeného subjektu k označení CE - postup posuzování shody podle IVDR 2017/746

## HLÁŠENÍ INCIDENTŮ V ČLENSKÝCH STÁTECH EU

Pokud se v souvislosti s tímto prostředkem vyskytne jakákoli závažná událost, neprodleně ji nahlaste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

## POŠKOZENÍ ZÁSILKY

Pokud jste tento výrobek obdrželi poškozený, oznamte to prosím svému distributorovi.

invalid

## SYMBOLY

BÜHLMANN používá symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1. Kromě toho se používají následující symboly a značky:

Symbol	Vysvětlení
MP	Mikrotitrační destička
BUF INC	Inkubační roztok
BUF WASH 10X	Koncentrát promývacího roztoku (10x)
CONTROL L	Kontrola nízká
CONTROL H	Kontrola vysoká
CAL A- CAL D	Kalibrátor A - D
EL IgM	Enzymová značka IgM
SUBS TMB	Substrát TMB
SOLN STOP	Zastavovací roztok

invalid

CE<sub>0123</sub>