anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Glicoproteína Asociada a la Mielina

Para uso diagnóstico *in vitro*

EK-MAG 96 tests

Fecha de liberación: 2023-05-31
Versión A2

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

ESPAÑOL

USO PREVISTO

El ensayo anti-MAG Antibodies ELISA es un ensayo de diagnóstico *in vitro* para la determinación semicuantitativa de los anticuerpos IgM anti-MAG en muestras de suero humano. El ensayo está previsto como una ayuda para el diagnóstico de la neuropatía anti-MAG en conjunción con otros resultados clínicos y de laboratorio.

Solo para uso en laboratorio.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo anti-MAG Antibodies ELISA permite medir los anticuerpos IgM contra la glicoproteína asociada a la mielina (MAG) en suero mediante ELISA en sándwich. La placa de microtitulación está recubierta con MAG purificado de cerebro humano. Los sueros de los pacientes, los controles y los calibradores se añaden a los pocillos de la placa de microtitulación. Tras 2 horas de incubación a 2-8 °C y pasos de lavado, un anticuerpo de detección conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) detecta los anticuerpos anti-MAG unidos al MAG humano en la placa. Tras otras 2 horas de incubación y nuevos pasos de lavados, se añade el sustrato cromogénico de la HRP, la tetrametilbencidina (TMB) (el color se torna azul); a continuación, se realiza una reacción de parada (el color se torna amarillo). Se mide la absorción a 450 nm.

La concentración de anticuerpos anti-MAG se determina mediante la curva de calibración generada a partir de los valores calibradores medidos y se expresa en unidades de titulación BÜHLMANN (BTU).

REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN

Reactivos	Cantidad	Código	Reconstitución
Placa de microtitulación 96 pocillos prerrecubiertos con MAG humano	Tiras de 12 × 8 pocillos con marco	B-MAG-MP	Listo para usar
Película de sellado	3 unidades	-	Listo para usar
Concentrado de tampón de lavado (10x)	1 frasco × 100 mL	B-MAG-WB	Diluir con 900 mL de agua desionizada
Tampón de incubación con conservantes	1 frasco × 100 mL	B-MAG-IB	Listo para usar
Calibradores de A a D[1] liofilizado con conservantes	4 viales	B-MAG-CASET	Añadir 1 mL de tampón de incubación
Controles bajo y alto[2] liofilizado con conservantes	2 viales	B-MAG-CONSET	Añadir 1 mL de tampón de incubación
Marcador enzimático IgM anticuerpo anti-IgM humana conjugado con HRP en una matriz tampón con conservantes	1 vial × 11 mL	B-MAG-ELM	Listo para usar Solución azul
Sustrato de TMB TMB en tampón de citrato	1 vial × 11 mL	B-TMB	Listo para usar
Solución de parada ácido sulfúrico 0,25 M	1 vial × 11 mL	B-STS	Listo para usar **Agente corrosivo**

Tabla 1

[1] Tras la reconstitución, los calibradores A, B, C y D contienen 70 000, 15 000, 3000 y 1000 unidades de titulación BÜHLMANN (BTU) de anticuerpos anti-MAG, respectivamente.

[2] La cantidades de anticuerpos anti-MAG es específica de cada lote. Consultar los valores reales en la ficha de datos de control de calidad adicional.

CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ DE LOS REACTIVOS

Reactivos sellados/ sin abrir	
Conservar a 2-8 °C. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.	
Reactivos abiertos/ reconstituidos	
Placa de microtitulación	Volver a colocar inmediatamente las tiras no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene los paquetes de secante y cerrar completamente. Conservar a 2-8 °C hasta un máximo de 5 meses.
Tampón de lavado diluido	Conservar a 2-8 °C hasta un máximo de 5 meses.
Tampón de incubación	
Marcador enzimático IgM	
Sustrato de TMB	
Controles	Tras la reconstitución, separar en partes alícuotas y conservar a ≤–20 °C. Conservar a ≤–20 °C hasta un máximo de 5 meses.[1]
Calibradores	
Solución de parada	Conservar a 18-28 °C hasta un máximo de 5 meses.

Tabla 2

[1] Los calibradores y controles reconstituidos pueden someterse a tres ciclos de congelación-descongelación a lo largo de los 5 meses.

MATERIALES NECESARIOS PERONO PROVISTO

- Pipetas de precisión con puntas desechables: pipetas de 10 µL, 20 µL, 100 µL y 1000 µL
- Tubos desechables de poliestireno o polipropileno para la preparación de las diluciones de las muestras.
- Probeta de 1000 mL para la dilución del tampón de lavado
- Lavador de placas de microtitulación
- Papel secante
- Agitador de placas de microtitulación
- Lector de placas de microtitulación para la medición de la absorbancia a 450 nm

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones de seguridad

- Los calibradores, los controles y la placa de microtitulación de este kit contienen componentes de origen humano. Aunque las pruebas de VHB, VHC y VIH 1/2 hayan dado resultado negativo, los controles deben manipularse como si pudiesen transmitir infecciones y de acuerdo con las prácticas correctas de laboratorio (PCL), adoptando las precauciones adecuadas.
- Este kit contiene componentes clasificados de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:
  - La solución de parada contiene ácido sulfúrico (conc. 2,5-5%), por lo que los reactivos pueden causar irritación cutánea (H315) o irritación ocular grave (H319) y pueden ser corrosivos para los metales (H290).
  - Los calibradores y controles contienen sulfato de gentamicina (polvo), por lo que los reactivos pueden causar una reacción alérgica cutánea (H317) y síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias si se inhalan (H334). Además, contienen tiomersal (en polvo), por lo que el reactivo es mortal por ingestión, contacto con la piel o inhalación (H300+H310+H330).
  - El tampón de incubación y el tampón de lavado contienen Triton™ X-100 (éter *tert*-octilfenílico de polietilenglicol, conc. <1%), por lo que los reactivos causan irritación ocular grave (H319).
  - El marcador enzimático contiene Triton™ X-100 (éter *tert*-octilfenílico de polietilenglicol, conc. <1%), por lo que los reactivos causan irritación ocular grave (H319). Además, contiene sulfato de gentamicina (conc. <1%), por lo que los reactivos pueden provocar una reacción alérgica cutánea (H317).
- Evitar el contacto de los reactivos con la piel, los ojos o las mucosas. En caso de contacto, enjuagar inmediatamente con abundante agua; de lo contrario, pueden producirse irritaciones/ quemaduras.
- Los reactivos y los productos químicos deben tratarse como residuos peligrosos conforme a las normas nacionales de seguridad sobre riesgos biológicos.

Precauciones técnicas

- Leer atentamente las instrucciones antes de realizar la prueba. El resultado de la prueba se verá comprometido si los reactivos se diluyen, modifican o conservan incorrectamente en condiciones distintas a las detalladas en estas instrucciones de uso.

Procedimiento ELISA

Temperatura de los reactivos

- Preparar los reactivos antes de iniciar el procedimiento de ensayo. Pasos 3-9: Los reactivos utilizados en los pasos 3-9 deben estar fríos (2-8 °C) y mantenerse fríos durante el pipeteado y el lavado. Recomendación: Preparar el tampón de lavado el día antes de realizar el ensayo y dejarlo en la nevera hasta el día siguiente.
- Realizar todos los pasos de lavado con tampón de lavado frío (2-8 °C).
- Atemperar el sustrato TMB y la solución de parada a temperatura ambiente (18-28 °C) al inicio del procedimiento de ensayo.

Pasos de lavado

- Los pasos de lavado 3, 6 y 9 son cruciales para eliminar los residuos resultantes del proceso de producción y/o los anticuerpos potencialmente no unidos en los pocillos.
- Se recomienda encarecidamente un lavador automático que funcione en «modo placa», es decir, cada paso del proceso (dispensación/aspiración) se lleva a cabo en todas las tiras, secuencialmente, antes de que el instrumento continúe con el siguiente ciclo de lavado.
- Comprobar que todos los pocillos estén completamente vacíos después del último ciclo de lavado.

Incubación con el sustrato

- Paso 11: Agitar las placas de microtitulación durante la incubación con el sustrato. Según el modelo de agitador de placas, recomendamos 400-600 rpm. La solución debe moverse en los pocillos sin derramarse.

Dilución adicional de la muestra

- Las muestras que superen los 70 000 BTU pueden diluirse para llevarlas al intervalo de medición analítica (>1000 BTU, <70 000 BTU). Para la dilución de las muestras de suero, utilizar tampón de incubación.

Componentes del kit

- No usar los componentes después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Deben extremarse las precauciones para evitar la contaminación cruzada entre reactivos y muestras o entre pocillos.
- Los micropocillos no pueden ser reutilizados.

RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

El procedimiento requiere <0,1 mL de sangre o <50 µL de suero, respectivamente.

Recoger la sangre en tubos de venopunción simples sin aditivos y evitar la hemólisis. Preparar el suero conforme a las instrucciones del fabricante. Decantar el suero.

Las muestras de suero pueden conservarse a 2-8 °C hasta 16 días o a –20 °C hasta 12 meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse bien mediante agitación suave o inversión antes de su uso. Recomendamos preparar alícuotas de las muestras de suero antes de congelarlas para evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Nota: Atemperar la solución de sustrato TMB a temperatura ambiente (18-28 °C).

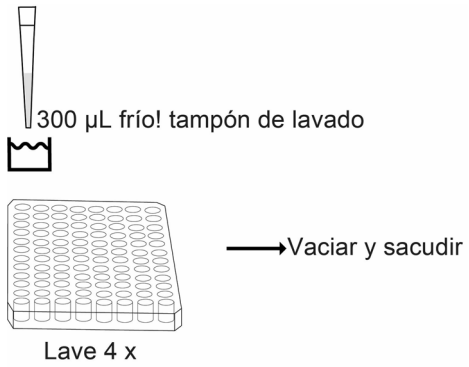
1. Diluir las muestras 1:1000 con tampón de incubación. Por ejemplo, usar 2 µL de suero + 2000 µL de tampón de incubación ¡frío! (2-8 °C). Mezclar bien por vórtex y

dejar las muestras diluidas, los calibradores y los controles reconstituidos a 2-8 °C durante 30 minutos antes de pipetear (véanse los pasos 4a-c).

2. Preparar un marco de placas con un número de tiras suficiente para analizar los calibradores, controles y muestras necesarios. Retirar las tiras sobrantes del marco y volver a cerrarlas inmediatamente en la bolsa de aluminio junto con los paquetes de desecante. Conservar en refrigeración.

Nota: En los pasos de 3 a 9 utilizar reactivos fríos.

3. Lave los pocillos cuatro veces utilizando al menos 300 µl de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por cada pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante para eliminar completamente el líquido restante.



Nota: Pase inmediatamente a los pasos siguientes.

4a. Pipetear 100 µL de tampón de incubación (blanco) por duplicado y

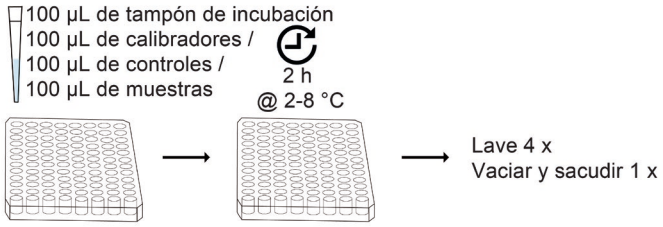
Pipetear 100 µL de calibrador A-D por duplicado en los pocillos respectivos.

4b. Pipetear 100 µL de los controles bajo y alto por duplicado en los pocillos respectivos.

4c. Pipetear 100 µL de cada muestra diluida en los pocillos siguientes.

5. Cubrir la placa con una película de sellado e incubar durante 2 horas (±5 min) a 2-8 °C (no agitar la placa).

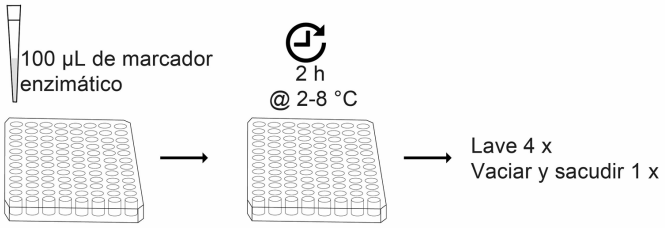
6. Retirar la película de sellado. Vaciar los pocillos y lavarlos cuatro veces utilizando al menos 300 µL de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por cada pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante para eliminar completamente el tampón de sellado restante.



7. Añadir 100 µL de marcador enzimático IgM a todos los pocillos.

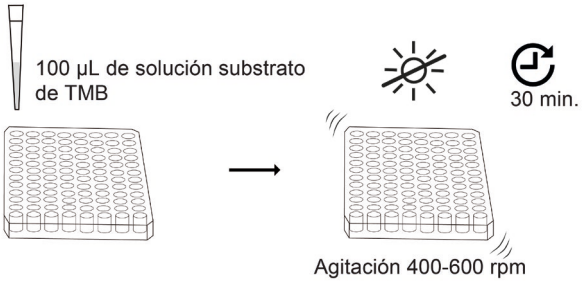
8. Cubrir la placa con una película de sellado e incubar durante 2 horas (±5 min) a 2-8 °C (no agitar la placa).

9. Retirar la película de sellado. Vaciar los pocillos y lavarlos cuatro veces utilizando al menos 300 µL de tampón de lavado ¡frío! (2-8 °C) por cada pocillo. Vaciar los pocillos y golpear firmemente la placa sobre papel secante.



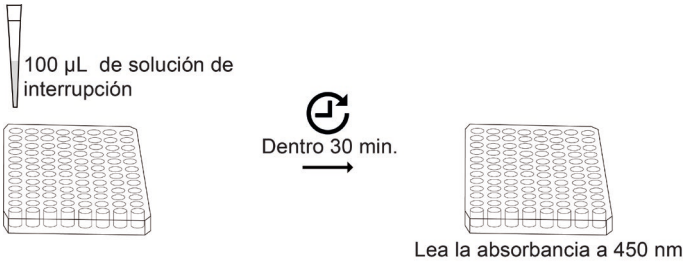
10. Añadir 100 µL de solución de sustrato TMB (atemperada a temperatura ambiente) a cada pocillo.

11. Cubrir la placa con una película de sellado, proteger la placa de la luz e incubar a 18-28 °C en un agitador de placas a 400-600 rpm durante 30 ± 2 minutos.



12. Añadir 100 µl de solución de parada a todos los pocillos. Eliminar las burbujas de aire con la punta de una pipeta. Proceder al paso 13 antes de que transcurran 30 minutos.

13. Leer la absorbancia a 450 nm en un lector de placas de microtitulación.



CONTROL DE CALIDAD

Para usar correctamente el producto, es necesario entender a fondo estas instrucciones de uso. Solo se obtendrán resultados fiables aplicando técnicas precisas de laboratorio y siguiendo exactamente estas instrucciones de uso.

El kit anti-MAG Antibodies ELISA viene con dos controles: bajo y alto. Los controles tienen intervalos de valores establecidos, que se indican en la ficha de datos de control de calidad suministrada con cada kit. Las mediciones de los controles deben estar dentro de los intervalos de valor indicados para obtener resultados válidos.

Además de los controles del kit, recomendamos usar muestras combinadas de suero para un control de calidad interno.

La reproducibilidad de los parámetros de la curva de calibración y de los valores de control debe estar dentro de los límites de aceptabilidad establecidos del laboratorio. Si el resultado del ensayo está fuera de los límites establecidos y mediante la repetición se han excluido errores de ejecución, comprobar los siguientes aspectos: i) control de la temperatura (los reactivos

utilizados en el paso 3-9 se deben mantener a 2-8 °C) ii) precisión de los termómetros, dispositivos de pipeteo y cronometraje; iii) ajustes del lector ELISA; iv) fechas de caducidad de los reactivos; v) condiciones de conservación e incubación; vi) color de la solución de sustrato TMB (debe ser incolora); vii) pureza del agua; viii) métodos de aspiración y lavado.

ESTANDARIZACIÓN Y TRAZABILIDAD METROLÓGICA

No existen materiales de referencia ni procedimientos de medición de referencia reconocidos a nivel nacional o internacional para los anticuerpos anti-MAG en muestras de suero. El ensayo anti-MAG Antibodies ELISA está calibrado frente a un material de referencia establecido internamente. Los valores del calibrador y del control se asignan de acuerdo con un protocolo de transferencia de valores (ref. 1,2) para garantizar la trazabilidad metrológica y se indican en unidades de titulación BÜHLMANN arbitrarias. El intervalo de confianza del 95% de la incertidumbre combinada de los calibradores y controles del producto es inferior al 35%.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS DEL ENSAYO

Curva de calibración

Utilizar un programa informático capaz de realizar los siguientes cálculos:

— restar el valor de DO del blanco de cada pocillo del calibrador para calcular el valor del calibrador;

— determinar una curva de calibración mediante un ajuste logístico de 4 parámetros.

Controles y muestras

Utilizar un programa informático capaz de realizar los siguientes cálculos:

— restar el valor de DO del blanco de cada pocillo de control o muestra. Calcular la concentración de anticuerpos anti-MAG del control o muestra en cada pocillo, en BTU, utilizando la curva de calibración establecida.

Nota: Los resultados presentados en la tabla 6 y la figura 1 se muestran solo a efectos de ejemplificación. Se debe generar una curva de calibración para cada conjunto de muestras a analizar.

LIMITACIONES

- Actualmente no existe ningún método de referencia aceptado internacionalmente para la detección de anticuerpos IgM anti-MAG. Véase el apartado «Calibración y trazabilidad metrológica». Los resultados deben interpretarse utilizando los puntos de corte indicados en estas instrucciones de uso.
- Esta prueba no ha sido validada para LCR y plasmaféresis.
- Las inmunoglobulinas intravenosas (IgIV) y las crioglobulinas pueden afectar a los resultados de las pruebas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado	Interpretación
<punto de corte	Resultado negativo
≥punto de corte	Resultado positivo (indicación de la presencia de anticuerpos anti-MAG)

Tabla 3

Los resultados de las pruebas deben interpretarse en el contexto de la información disponible de la evaluación clínica del paciente y otros procedimientos diagnósticos.

INTERVALOS DE REFERENCIA Y PUNTOS DE CORTE

El intervalo de referencia del ensayo anti-MAG Antibodies ELISA se estableció según CLSI EP28-A3 con 141 muestras de suero de individuos aparentemente sanos de edades comprendidas entre 18 y 70 años. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Intervalo de referencia [BTU]	
Percentil 2,5 (CI del 90%)	**Percentil 97,5 (CI del 90%)**
0 (0-0)	0 (0-988)

Tabla 4

Mil (1000) BTU es un punto de corte establecido y utilizado en estudios publicados (ref. 5, 6, 9).

En la literatura científica también se han utilizado puntos de corte distintos (ref. 3, 4, 7, 8, tabla 13) y se han propuesto categorías de títulos para los resultados positivos de las pruebas (ref. 10).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Las características de rendimiento se basan en los resultados medios de 2 pocillos.

Repetibilidad: 3,2-11,8% CV
Precisión intralaboratorio: 5,5-15,9% CV

La repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio se determinaron de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio normalizado de 20 días × 2 series × 2 repeticiones. Se analizaron 4 muestras de suero humano que abarcan el intervalo de medida del ensayo.
Una quinta muestra negativa a 213 BTU arrojó 79/80 resultados (98,8%) dentro de la categoría (<1000 BTU). Los resultados se muestran en las tablas 7 y 8.

Reproducibilidad: 10,0-21,6% CV

La reproducibilidad se estableció de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI realizando mediciones con un diseño de estudio de 3 operadores × 3 instrumentos/lotes × 5 días × 5 repeticiones. Se analizaron 4 muestras de suero humano que abarcan el intervalo de medida del ensayo. Una quinta muestra negativa a 55 BTU arrojó 75/75 resultados (100,0%) dentro de la categoría (<1000 BTU). Los resultados se muestran en las tablas 9 y 10.

Límite de detección (LoD): 113 BTU

El LoD se determinó de acuerdo con la norma EP17-A2 del CLSI y con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y de falsos negativos (β) inferiores al 5% sobre la base de 120 determinaciones, con 60 blancos y 60 réplicas de baja concentración; y un **LoB de 17 BTU**.

Efecto gancho a dosis altas

Se pueden medir muestras con concentraciones de anticuerpos anti-MAG de hasta $2,8 \times 10^5$ BTU sin limitar el intervalo de medición del ensayo.

Reactividad cruzada/otras etiologías

La reactividad cruzada del ensayo anti-MAG Antibodies ELISA se analizó en muestras asignadas con una enfermedad autoinmune. En la tabla 11 se muestran diferentes tipos de enfermedades autoinmunes y la presencia asociada de anticuerpos.

Otras muestras con diferentes etiologías también se analizaron con el ensayo anti-MAG Antibodies ELISA y se presentan en la tabla 12.

Todas las muestras, excepto una de las cinco muestras positivas para GD1b, estuvieron por debajo del punto de corte técnico (1000 BTU).

RENDIMIENTO CLÍNICO

El rendimiento clínico se evaluó mediante metanálisis de revisión de literatura científica. Siete estudios fueron dirigidos al rendimiento clínico del ensayo anti-MAG Antibodies ELISA para el diagnóstico de neuropatías asociadas a gammapatías IgM monoclonal (ref. 3-9). Los resultados del análisis y los detalles del estudio se presentan en la tabla 5 y tabla 13, respectivamente.

N neuropatía	344
N controles	447
Sensibilidad (IC 95%)	58,9% (47,2-69,6%)
Especificidad (IC 95%)	98,2% (89,7-99,7%)
AUC ROC	0,75

Tabla 5

IC: intervalo de confianza.
AUC ROC: área bajo la curva de rendimiento diagnostico.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

La susceptibilidad del ensayo Anti-MAG Antibodies ELISA a productos farmacéuticos orales e inyectables, así como a sustancias endógenas, se evaluó de acuerdo con la directriz EP07-A3 del CLSI. Sesgos mayores del 20% en los resultados se consideraron interferencia.

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias hasta las concentraciones indicadas: inmunoglobulina intravenosa (20 mg/mL), cladribina (273 ng/mL), interferón α-2a (49,5 ng/mL), ibuprofeno (0,22 mg/mL), factor reumatoide (680 IU/mL), hemoglobina (10 mg/mL), hemolizado (10 mg/mL), triglicéridos (20 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,4 mg/mL), bilirrubina no conjugada 0,4 mg/mL).

TABLAS Y FIGURAS

Ejemplo de resultados

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

Tabla 6

Ejemplo de curva de calibración (OD_{450})

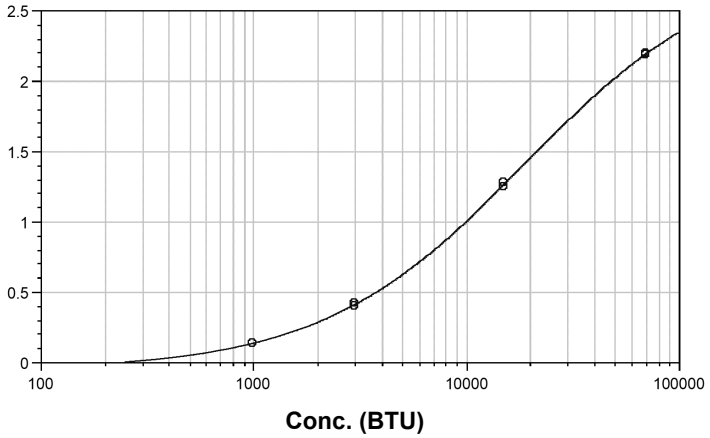


Figura 1

Precisión intralaboratorio:

ID	Conc. media, BTU	*n*	Intraserial		Entre series		Entre días		Dentro de un mismo laboratorio	
			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

Tabla 7

ID	Descripción	n	Conc. media, BTU	% Dentro de la categoría
S1	< 1000 BTU (negativo)	80	213	98,8

Tabla 8

Reproducibilidad

ID	Conc. media, BTU	n	Intraserial		Entre series		Entre días		Dentro de un mismo laboratorio	
			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

Tabla 9

ID	Descripción	n	Conc. media, BTU	% Dentro de la categoría
S1	< 1000 BTU (negativo)	75	55	100,0

Tabla 10

Reactividad cruzada/otras etiologías

Anticuerpo asignado	Diagnóstico	#
Anticuerpos anticitoplásmicos de neutrófilos (AACN)	Vasculitis	3
	Otros (muestras positivas por AACN)	10
Anticuerpos antinucleares (AcAN)	Lupus eritematoso sistémico	5
	Artritis reumatoide	9
	Síndrome de Sjögren	6
	Otros (muestras positivas por AcAN)	3
Anticuerpos antitiroglobulina (anti-Tg)	Tiroiditis autoinmune	5
Anticuerpos antirribonucleoproteína	Enfermedad mixta del tejido conjuntivo	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Neuropatías periféricas autoinmunes	1
Anticuerpos anti receptor de acetilcolina y anti tirosina-cinasa específica del músculo	Miastenia grave	7

Tabla 11

Etiología	Diagnóstico	#
Neuropatías periféricas	Alcohólico/Alcoholismo	1
	Diabetes	5
Otras enfermedades neurológicas y relevancia diagnóstica diferencial	Esclerosis lateral amiotrófica	15
	Enfermedad de Chagas	5
	Sarcoidosis	4
	Enfermedad de Waldenstrom	4

Tabla 12

TABLAS Y FIGURAS

Resultados clínicos

Estudio	Controles positivos	Controles negativos	Punto de corte	Sens.	Espec.
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

Tabla 13

DPN+IgM MG, polineuropatía desmielinizante con gammapatía monoclonal IgM; MGUS PN, polineuropatía asociada a gammapatía monoclonal de significado desconocido; OPN, otra polineuropatía; HC, control sano; HDC, controles con enfermedades hematológicas.

anti-MAG Antibodies ELISA

Placa de microtitulación prerrecubierta

↓ *lavar 4 veces con ≥300 µL de tampón de lavado*

100 µL de tampón de incubación, calibradores, controles o o muestras de suero (1:1000)

↓ *incubar 2 horas (±5 min) a 2-8 °C*

lavar 4 veces con ≥300 µL de tampón de lavado

añadir 100 µL de marcador enzimático

↓ *incubar 2 horas (±5 min) a 2-8 °C*

lavar 4 veces con ≥300 µL de tampón de lavado

añadir 100 µL de sustrato TMB

↓ *incubar 30 minutos (±2 min) a 18-28 °C en un agitador de placas a ~400-600 rpm*

añadir 100 µL de solución de parada

→ **Leer la absorbancia a 450 nm (en un máximo de 30 minutos)**

TIEMPO HASTA EL RESULTADO: 4,5 HORAS

REFERENCIAS

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).

REGISTRO DE LOS CAMBIOS

Fecha	Versión	Cambios
2023-05-31	A2	Modificación del *Uso previsto* y del nombre del producto Reformulación del *Principio del ensayo* Nuevas estabilidades durante el período de uso de los reactivos Actualización del apartado *Advertencias y precauciones* Revisión de los apartados *Recogida y conservación de las muestras, Procedimiento del ensayo, Estandarización y trazabilidad metrológica* Nueva redacción de los apartados *Control de calidad y Cálculo de los resultados de las pruebas* Actualización del apartado *Limitaciones* Introducción del apartado *Interpretación de los resultados y Resultados clínicos* Revisión de los apartados *Intervalos de referencia y puntos de corte, Características del rendimiento, Sustancias interferentes, Referencias* y *Símbolos* Inclusión del número de organismo notificado en el marcado CE - procedimiento de evaluación de la conformidad según el IVDR 2017/746

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Notificar al distribuidor si este producto se ha recibido dañado.

SIMBOLOS

BÜHLMANN utiliza los símbolos y signos enumerados y descritos en la norma ISO 15223-1. Además, se utilizan los siguientes símbolos y signos:

Símbolo	Explicación
MP	Microplaca
BUF INC	Tampón de incubación
BUF WASH 10X	Tampón de lavado concentrado (10x)
CONTROL L	Control bajo
CONTROL H	Control alto
CAL A - CAL D	Calibrador A - D
EL IgM	Marcador enzimático IgM
SUBS TMB	Substrato de TMB
SOLN STOP	Solución de parada

CE 0123