



anti-MAG Antibodies ELISA

MAG = Myelinassosiert glykoprotein

Til *In Vitro*-diagnostisk bruk

EK-MAG 96 tester

Utgivelsesdato: 2024-07-22
Versjon A3

TILTENKT BRUK

Anti-MAG Antibodies ELISA er en *in vitro*-diagnostisk analyse for semikvantitativ påvisning av anti-MAG IgM-antistoffer i humane serumprøver. Analysen er ment som en hjelp til å diagnostisere anti-MAG-nevropati i kombinasjon med andre kliniske funn og laboratoriefunn. Kun til laboratoriebruk.

ANALYSENS PRINSIPP

Med anti-MAG Antibodies ELISA kan IgM-antistoffer måles mot kombinasjonsterapi glykoprotein (MAG) i serum, med sandwich-ELISA. Mikrotiterplaten er belagt med rensed MAG fra human hjerne. Pasientserumer, kontroller og kalibratorer tilsettes i brønnene på mikrotiterplaten. Etter 2 timers validering ved 2–8 °C og vasketrinn påviser et antistoff konjugert til peroksidase fra pepperrot (HRP) anti-MAG-antistoffene som er bundet til humant MAG på platen. Etter ytterligere 2 timers validering og flere vasketrinn tilsettes det kromogene RP-substratet, tetrametykbenzidin (TMB) (blå farge dannes), etterfulgt av en stoppreaksjon (skifte til gul farge). Absorpsjonen måles ved 450 nm.

Nivået av anti-MAG-antistoffer fastsettes ved bruk av kalibreringskurven generert fra de målte kalibratorverdiene og uttrykkes som BÜHLMANN titerenhet (BTU).

MEDFØLGENDE REAGENSER OG KLARGJØRING

Reagenser	Mengde	Kode	Rekonstituering
Mikrotiterplate 96 brønner forhåndsbelagt med humant MAG	12 x 8 brønnstrimler med ramme	B-MAG-MP	Klar til bruk
Plateforsegler	3 stk.	-	Klar til bruk
Vaskebuffer-konsentrat (10x)	1 flaske x 100 mL	B-MAG-WB	Fortynn med 900 mL avionisert vann
Inkuberingsbuffer med konserveringsmidler	1 flaske x 100 mL	B-MAG-IB	Klar til bruk
Kalibrator A til D¹ lyofilisert med konserveringsmidler	4 hetteglass	B-MAG-CASET	Tilsett 1 mL inkuberingsbuffer
Kontroll Lav og Høy² lyofilisert med konserveringsmidler	2 hetteglass	B-MAG-CONSET	Tilsett 1 mL inkuberingsbuffer

Reagenser	Mengde	Kode	Rekonstituering
Enzymetikett IgM anti-humant IgM-antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	1 hetteglass x 11 mL	B-MAG-ELM	Klar til bruk Blå oppløsning
TMB-substrat TMB i sitratbuffer	1 hetteglass x 11 mL	B-TMB	Klar til bruk
Stoppløsning 0,25 M svovelsyre	1 hetteglass x 11 mL	B-ST5	Klar til bruk Korroderende middel

Tabell 1

¹ Etter rekonstituering inneholder kalibrator A, B, C og D henholdsvis 70000, 15000, 3000 og 1000 BÜHLMANN titerenheter (BTU) med anti-MAG-antistoffer.

² Kontrollene inneholder lotspesifikke mengder anti-MAG-antistoffer. Se det ekstra kvalitetskontroll-dataskjemaet for faktiske nivåer.

REAGENSENS HOLDBARHET OG OPPBEVARING

Forseglede/uåpnede reagenser	
Oppbevares ved 2–8 °C. Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.	
Åpnede/rekonstituerte reagenser	
Mikrotiterplate	Legg ubrukte strimler umiddelbart tilbake i folieposen med tørkemiddelpakker, og forsegl posen langs hele zip-forseglingsskanten. Oppbevares i opptil 1 måned ved 2–8 °C.
Fortynnet vaskebuffer	Oppbevares i opptil 1 måned ved 2–8 °C.
Inkuberingsbuffer	
Enzymetikett IgM	
TMB-substrat	
Kontroller	Alikvoter etter rekonstituering og oppbevar ved ≤-20 °C. Oppbevares i opptil 1 måned ved ≤-20 °C. ¹
Kalibratører	
Stoppløsning	Oppbevares i opptil 1 måned ved 18–28 °C.

Tabell 1

¹ Rekonstituerte kalibratører og kontroller kan utsettes for tre fryse-tine-sykluser i løpet av 1 måned.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE FØLGER MED

- Presisjonspipetter med engangstupper: 10 µL, 20 µL, 100 µL og 1000 µL pipetter
- Polystyren- eller polypropylenrør for klargjøring av prøvefortynninger
- 1000 mL sylindere for fortynning av vaskebufferen
- Mikrotiterplatevasker
- Trekkpapir
- Mikrotiterplaterister
- Mikrotiterplate-avleser for måling av absorbans ved 450 nm.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Forholdsregler for sikkerhet

- Kalibratorene, kontrollene og mikrotiterplatene i dette settet inneholder komponenter av human opprinnelse. Selv om reagensene er testet og funnet negative for HBV, HCV og HIV1/2, skal de håndteres som om de kan overføre infeksjoner, og skal håndteres forsiktig i samsvar med God laboratoriepraksis (GLP), med egnede forholdsregler.
- Settet inneholder komponenter som er klassifisert i samsvar med forskrift (EF) nr. 1272/2008.
 - Stoppløsningen inneholder svovelsyre (kons. 2,5–5%). Derfor kan reagensene gi hudirritasjon (H315), alvorlig øyeirritasjon (H319), og kan være korroderende for metaller (H290).
 - Kalibratorene og kontrollene inneholder gentamicinsulfat (pulver). Derfor kan reagensene gi allergisk hudreaksjon (H317) og allergi eller astmasymptomer eller pustevansker hvis inhalert (H334). De inneholder også tiomersal (pulver). Derfor er reagensen dødelig ved svelging, ved kontakt med hud eller ved inhalering (H300+H310+H330).
 - Inkuberingsbufferen og enzymetiketten inneholder gentamicinsulfat (kons. <1%). Derfor kan reagensene gi alvorlig hudreaksjon (H317).
- Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Hvis det oppstår kontakt, skal du vaske umiddelbart med store mengder vann, hvis ikke kan det oppstå irritasjon/svie.
- Reagenser og kjemikalier må behandles som farlig avfall i samsvar med nasjonale retningslinjer eller forskrift for biologisk farlig avfall.

Tekniske forholdsregler

- Les instruksjonene nøye før testen utføres. Testens ytelse vil påvirkes vesentlig hvis reagensene er feil fortynnet, endret eller oppbevart under andre forhold enn dem som er beskrevet i bruksanvisningen.

ELISA-prosedyre

Reagensenes temperatur

- Klargjør reagensene før du starter analyseprosedyren. Trinn 3–9: Reagenser som brukes i trinn 3–9, må være kalde (2–8 °C) og holdes kalde under pipettering og vasking. Anbefaling: Klargjør vaskebufferen dagen før analysen skal utføres, og sett den i kjøleskap over natten.
- Utfør alle vasketrinn med kald (2–8 °C) vaskebuffer.
- Juster TMB-substrat og stoppløsning til romtemperatur (18–28 °C) i begynnelsen av analyseprosedyren.

Vasketrinn

- Vasketrinn 3, 6 og 9 er avgjørende for å fjerne rester etter produksjonsprosessen og/eller potensielt ubundede antistoffer i brønnene.
- En automatisk vaskemaskin som kjører i "platemodus", anbefales sterkt. Det vil si at hvert prosesstrinn (dispensering/aspirering) utføres på alle strimlene sekvensielt, før instrumentet fortsetter til neste vaskesyklus.

- Påse at alle brønnene er helt tomme etter den siste vaskesyklusen.

Inkubering av substrat

- Trinn 11: Rist mikrotiterplatene under validering med substrat. Avhengig av plateristermodellen anbefaler vi 400–600 opm. Løsningen skal bevege seg i brønnene, men ikke renne over.

Ytterligere prøvefortynning

- Prøver over 70 000 BTU kan fortynnes i det analytiske måleområdet (>1000 BTU, <70 000 BTU). Bruk inkuberingsbuffer til fortynning av serumprøver.

Settets komponenter

- Komponentene må ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.
- Ikke bland ulike reagensloter.
- Alle anstrengelser skal gjøres for å sikre at det ikke oppstår krysskontaminering mellom reagenser, prøver eller mellom brønner.
- Mikrobrønner kan ikke gjenbrukes.

PRØVEINNSAMLING OG -OPPBEVARING

Prosedyren krever henholdsvis < 0,1 mL blod eller < 50 µL serum.

Samle inn blod i vanlige venepunksjonsrør uten tilsetninger, og unngå hemolyse. Klargjør serumet i henhold til produsentens anvisninger. Dekanter serumet.

Serumprøver kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 16 dager, eller ved -20 °C i opptil 12 måneder. Frosne prøver skal tines og blandes grundig ved lett virvling eller inversjon før bruk.

Vi anbefaler å klargjøre alikvoter av serumprøver før frysing, for å unngå gjentatte fryse-/tinesykluser.

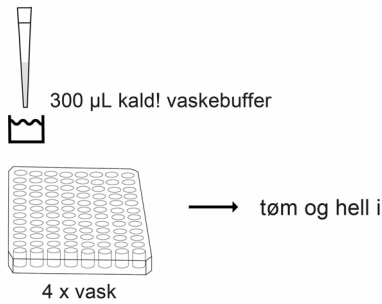
ANALYSEPROSEDYRE

Merk: Juster TMB-substratløsningen til romtemperatur (18–28 °C).

1. Fortynn prøver 1:1000 med inkuberingsbuffer. Bruk f.eks. 2 µL serum + 2000 µL kald! (2–8 °C) inkuberings-buffer. Bland grundig ved å vortexe, og la fortynnete prøver samt rekonstituerte kalibratorer og kontroller stå ved 2–8 °C i 30 minutter før pipettering (se trinn 4a–c).
2. Klargjør en plateramme med nok strimler til det nødvendige antallet kalibratorer, kontroller og prøver. Fjern overflødig strimler fra rammen og forsegl den i folieposen sammen med tørkemiddelpakken umiddelbart. Oppbevares i kjøleskap.

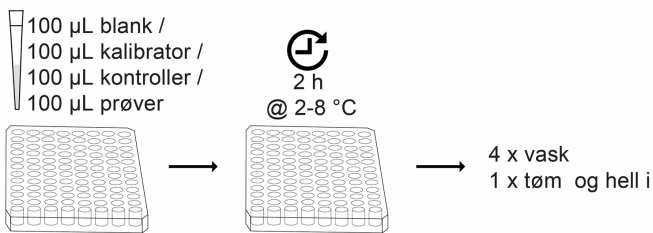
Merk: Bruk kalde reagenser i trinn 3 til 9.

3. Vask brønnene fire ganger med minst 300 µL kald! (2–8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne gjenværende væske fullstendig.

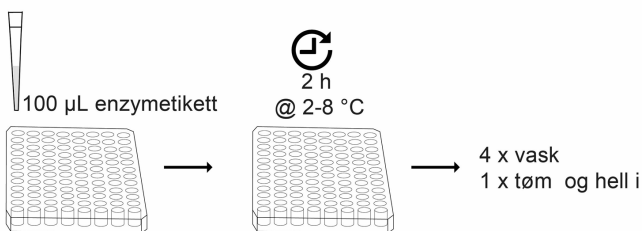


Merk: *Gå straks videre til de neste trinnene.*

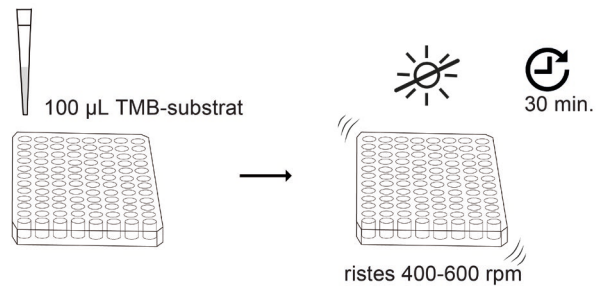
- 4a. Pipetter 100 µL inkuberingsbuffer (blank) i duplikat og pipetter 100 µL kalibrator A–D i duplikat i de respektive brønnene.
- 4b. Pipetter 100 µL av kontroll høy og lav i duplikat i de respektive brønnene.
- 4c. Pipetter 100 µL av hver fortennet prøve i de etterfølgende brønnene.
5. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2–8 °C (ikke rist platen).
6. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene vask dem fire ganger med minst 300 µL kald! (2–8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne vaskebufferen fullstendig.



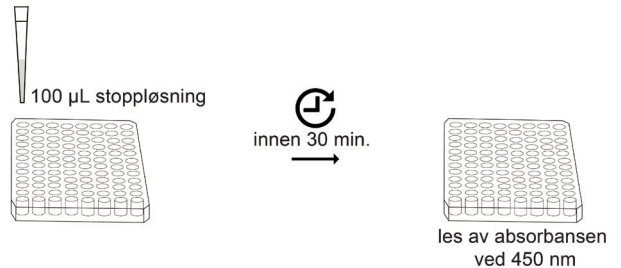
7. Tilsett 100 µL enzymetikett IgM i alle brønnene.
8. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2–8 °C (ikke rist platen).
9. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene og vask dem fire ganger med minst 300 µL kald! (2–8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir.



10. Tilsett 100 µL TMB substratløsning (utjevnet til romtemperatur) i hver brønn.
11. Dekk platen med en plateforsegler, beskytt platen mot lys og inkuber på en platerister innstilt på 400–600 rpm, ved 18–28 °C i 30 \pm 2 minutter.



12. Tilsett 100 µL stoppløsning i alle brønnene. Fjern luftbobler med en pipettespiss. Gå videre til trinn 13 innen 30 minutter.
13. Les av absorbansen ved 450 nm i en mikrotiterplateavleser.



KVALITETSKONTROLL

En grundig forståelse av denne bruksanvisningen er nødvendig for vellykket bruk av produktet. Pålitelige resultater oppnås bare ved bruk av presise laborieteknikker og nøye overholdelse av denne bruksanvisningen.

anti-MAG Antibodies ELISA-settet leveres med to kontroller: kontroll lav og høy. Kontrollene har tilordnede verdiområder som er angitt på kvalitetskontroll-dataskjemaet som følger med hvert sett. Kontrollmålingene må være innenfor de angitte verdiområdene for at resultatene skal være gyldige.

I tillegg til settkontrollene anbefaler vi å bruke serumpooler for intern kvalitetskontroll.

Reproduserbarheten til standardkurveparametrene og kontrollverdiene skal være innenfor etablerte grenser for akseptabilitet i laboratoriet. Hvis analysens ytelse ikke oppfyller de etablerte grensene og repetisjon har utelukket feil i teknikk, skal følgende kontrolleres: i) temperaturkontroll (reagenser brukt i trinn 3–9 holdt ved 2–8 °C); ii) nøyaktigheten til termometere, pipetterings- og tidtakerenheter; iii) ELISA-avleserens innstillinger; iv) reagensenes utløpsdato; v) oppbevarings- og inkuberingsbetingelser; vi) farge på TMB-substratløsning (skal være fargeløs); vii) vannets renhet; viii) aspirerings- og vaskemetoder.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHET

Det er ingen internasjonalt eller nasjonalt anerkjente referansematerialer eller prosedyrer for referansemålinger for anti-MAG-antistoffer i serumprøver. anti-MAG Antibodies ELISA er standardisert mot et internt fastsatt referansemateriale. Kalibrator- og kontrollverdier er tilordnet i henhold til en verdioverføringsprotokoll (ref. 1, 2) for å garantere metrologisk sporbarhet, og er angitt i arbitrær BÜHLMANN titerenheter. 95% konfidensintervallet til den kombinerte usikkerheten for produktkalibratorer og kontroller er lavere enn 35%.

BEREGNING AV TESTRESULTATER

Standardkurve

Bruk en programvare som kan foreta følgende beregninger:

- Subtrahere den blanke OD-verdien fra hver kalibratorbrønn for å beregne kalibratorverdien.
- Fastsette en standardkurve ved bruk av en 4-parameter logistikk (4 PL).

Kontroller og prøver

Bruk en programvare som kan foreta følgende beregninger:

- Subtrahere den blanke OD-verdien fra hver kontroll-/prøvebrønn. Beregne anti-MAG-antistoffnivåer for kontrollene/prøvene i hver brønn, i BTU, ved bruk av den fastsatte standardkurven.

Merk: Resultatene som er presentert i tabell 6 og figur 1, er eksempler og vises kun for demonstrasjonsformål. En kalibreringskurve må genereres for hvert sett av prøver som skal testes.

BEGRENSNINGER

- Det er per i dag ingen internasjonalt akseptert referansem metode for påvisning av anti-MAG IgM-antistoffer. Se avsnittet "Standardisering og metrologisk sporbarhet". Resultatene som vises, skal tolkes ved bruk av cut-offs som er angitt i denne bruksanvisningen.
- Denne testen er ikke validert for CSF og plasmaferese.
- Intravenøse immunglobuliner (IVIg) og kryoglobuliner kan påvirke testresultatene.

TOLKNING AV RESULTATER

Resultat	Tolkning
< cut-off	Negativt resultat
≥ cut-off	Positivt resultat (påvisning av anti-MAG-antistoff)

Tabell 3

Testresultatene skal tolkes i sammenheng med informasjon som er tilgjengelig fra den kliniske vurderingen av pasienten, og andre diagnostiske prosedyrer.

REFERANSEINTERVALLER OG CUT-OFF

Referanseintervallet for anti-MAG Antibodies ELISA-testen ble etablert i samsvar med CLSI EP28-A3 med 141 serumprøver fra tilsynelatende friske personer i alderen 18 til 70 år. Resultatene finnes i tabell 4.

Referanseintervall [BTU]	
2,5. percentil (90% KI)	97,5. percentil (90% KI)
0 (0-0)	0 (0-988)

Tabell 4

Tusen (1000) BTU er en etablert cut-off som brukes i publiserte studier (ref. 5, 6, 9).

Avvikende cut-off-verdier har også vært brukt i vitenskapelig litteratur (ref. 3, 4, 7, 8, tabell 13), og titerkategorier for positive testresultater har vært foreslått (ref. 10).

YTELSESEGENSKAPER

Ytelsesegenskaper er basert på gjennomsnittlige resultater fra to brønner.

Repeterbarhet: 3,2–11,8% CV

Presisjon innenfor laboratorium: 5,5–15,9% CV

Repeterbarhet og presisjon innenfor laboratorium ble fastsatt i samsvar med CLSI-retningslinje EP05-A3 ved bruk av den standardiserte studiedesignen med 20 dager x 2 kjøring x 2 replikater. Fire (4) poolede humane serumprøver, som dekket analysens måleområde, ble testet.

En femte negativ prøve med 213 BTU ga 79/80 resultater (98,8 %) innenfor kategori (<1000 BTU). Resultatene er oppsummert i tabell 7 og 8.

Reproduserbarhet: 10,0–21,6% CV

Reproduserbarhet ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved å utføre målinger ved bruk av en studiedesign med 3 operatører x 3 instrumenter/loter x 5 dager x 5 replikater. Fire (4) poolede humane serumprøver, som dekket analysens måleområde, ble testet. En femte negativ prøve med 55 BTU ga 75/75 resultater (100,0%) innenfor kategori (<1000 BTU). Resultatene er oppsummert i tabell 9 og 10.

Deteksjonsgrense (LoD): 305 BTU

LoD ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 ved hjelp av en ikke-parametrisk analyse og med andeler falske positive (α) mindre enn 5% og falske negative (β) mindre enn 5% basert på 120 fastsettelse, med 60 blanke replikater og 60 replikater med lavt nivå, og en **LoB på 138 BTU**.

"Hook"-effekt ved høy dose

Prøver med anti-MAG-antistoffnivåer på opptil $2,8 \times 10^5$ BTU kan måles uten å begrense analysens måleområde.

Kryssreaktivitet

Kryssreaktiviteten til anti-MAG Antibodies ELISA-analysen ble testet for prøver som var tilordnet en autoimmun sykdom eller assosiert tilstedeværelse av antistoffer. Antistoffene og antall testede prøver er vist i tabell 11.

Andre prøver med ulike perifere nevrologiske sykdomseksempler ble også testet med anti-MAG Antibodies ELISA og er presentert i tabell 12.

Én (1) av fire (4) testede prøver fra pasienter med Waldenstrøms sykdom var svakt seropositive for anti-MAG-antistoffer i området 1000-1500 BTU.

KLINISK YTELSE

Den kliniske ytelsen ble vurdert ved metaanalyse av fagfelleverdert vitenskapelig litteratur. Syv studier tok for seg den kliniske ytelsen til anti-MAG Antibodies ELISA i diagnostisering av IgM monoklonal gammopati-assosierte nevropatier (ref. 3–9). Resultatene av analysene og studiedetaljer finnes i henholdsvis tabell 5 og tabell 13.

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

Tabell 5

KI – konfidensintervall

ROC AUC – areal under ROC-kurven ("receiver operating characteristics")

INTERFERERENDE STOFFER

Anti-MAG Antibodies ELISA-analysens følsomhet for orale og injiserbare farmasøytika, samt for endogene stoffer, ble vurdert i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A3. En skjevhet på over 20% i resultatene ble ansett som interferens.

Ingen interferens ble påvist med følgende stoffer opp til de angitte konsentrasjonene: intravenøst immunglobulin (20 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), revmatoid faktor (680 IE/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglyserid (20 mg/mL), konjugert bilirubin (0,4 mg/mL), ukonjugert bilirubin (0,4 mg/mL).

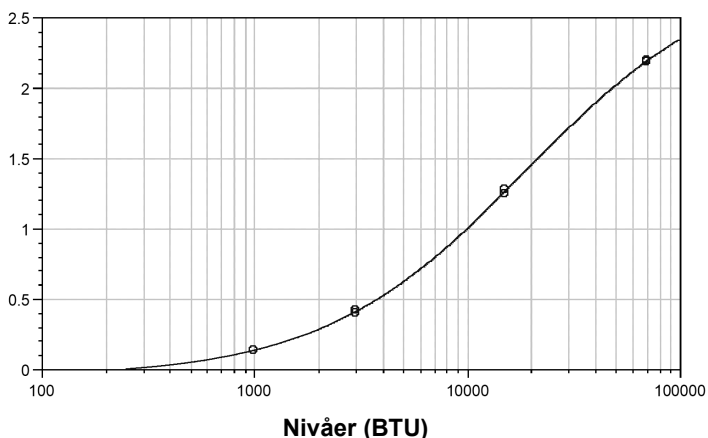
TABELLER OG FIGURER

Eksempel på resultater

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

Tabell 6

Eksempel på standardkurve (OD₄₅₀)



Figur 1

Presisjon innenfor laboratorium

ID	Gj.- snittlig nivå, BTU	n	Innenfor kjøring		Mellom kjøringer		Mellom dager		Innenfor laboratorium	
			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	Beskrivelse	n	Gjennomsnittlig nivå, BTU	% innenfor kategori
S1	< 1000 BTU (negativ)	80	213	98,8

Tabell 8

Reproduserbarhet

ID	Gj.- snittlig nivå, BTU	n	Innenfor kjøring		Mellom kjøringer		Mellom dager		Innenfor laboratorium	
			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	Beskrivelse	n	Gjennomsnittlig nivå, BTU	% innenfor kategori
S1	< 1000 BTU (negativ)	75	55	100,0

Tabell 10

Kryssreaktivitet

Antistoffer	#	
Anti-nøytrofitt cytoplasmatiske antistoffer (ANCA)	13	
Anti-nukleære antistoffer (ANA)	23	
Anti-tyroglobulin-antistoffer (anti-Tg)	5	
Anti-ribonukleoprotein-antistoffer	1	
Anti-gangliosid-antistoffer	anti-GD1b	4
	anti-GM1	3
	anti-GQ1b	5
Anti-acetyl-kolinreseptor-antistoffer og anti-muskelspesifikk tyrosinkinase-antistoffer	7	

Tabell 11

Perifer nevropati etterligner sykdom (differensialdiagnostisk relevans)	#
Alkoholiker/alkoholisme	1
Diabetes	5
Amyotrofisk lateral sklerose	14
Chagas sykdom	5
Idiopatisk perifer nevropati	1
Sarkoidose	4
Waldenstrøms sykdom	4
Wegener granulomatose	1

Tabell 12

TABELLER OG FIGURER

Klinisk ytelse

Studie	Positive kontroller	Negative kontroller	Cut-off	Sens.	Spes.
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

Tabell 13

DPN+IgM MG, demyelinerende polyneuropati med IgM monoklonal gammopati; MGUS PN, polyneuropati forbundet med monoklonal gammopati av ukjent signifikans; OPN, annen polyneuropati; HC, frisk kontroll; HDC, hematologisk sykdom-kontroll

Klargjøring av prøver / kontroller / kalibratorer

Fortynn serumprøver 1:1000 med (kald)! inkubasjonsbuffer, og bland grundig ved hjelp av vortex

Rekonstituer eller tine opp (aliquoterte) rekonstituerte kontroller og kalibratorer

la stå i 30 minutter ved 2-8 °C

anti-MAG Antibodies ELISA

Forhåndsbelagt mikrotiterplate

vask 4 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kald)! vaskebuffer

100 μL inkuberingsbuffer, kalibratorer, kontroller eller serumprøver (1:1000)

inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2-8 °C

vask 4 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kald)! vaskebuffer

tilsett 100 μL enzymetikett

inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2-8 °C

vask 4 x med $\geq 300 \mu\text{L}$ (kald)! vaskebuffer

tilsett 100 μL TMB-substrat

inkuber i 30 minutter (± 2 min) ved 18-28 °C på en platerister ~ 400 -600 opm

tilsett 100 μL stoppløsning

→ Les av absorbans ved 450 nm (innen 30 minutter)

TID TIL RESULTAT: 5 TIMER

REFERANSER

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. Kuijff, 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).

ENDRINGSLOGG

Dato	Versjon	Endring
2024-07-22	A3	IFU er endret på grunn av fjerning av Triton™ X-100 i noen av settets komponenter: - Oppdatering av stabiliteten til reagenser under bruk i kapittelet <i>Reagensenes holdbarhet og oppbevaring</i> - Fjerning av forsiktighetsmerknader vedrørende Triton™ X-100 i kapittelet <i>Advarsler og forholdsregler</i> - Revisjon av underkapitlene <i>Deteksjonsgrense</i> og <i>Kryssreaktivitet</i> i kapittelet <i>Ytelseegenskaper</i> Revisjon av <i>Kort protokoll</i> og kapittelet <i>Symboler</i>

RAPPORTERING AV HENDELSER I EU-MEDLEMSSTATER

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse i forbindelse med denne enheten, skal det rapporteres uten opphold til produsenten og kompetent myndighet i din medlemsstat.

SKADE UNDER FORSENDELSE

Varsle distributøren hvis dette produktet ble mottatt med skade.

SYMBOLER

BÜHLMANN bruker symboler og tegn som er listet opp og beskrevet i ISO 15223-1.

For definisjon av symboler, se symbolordlisten på: www.buhmannlabs.ch/support/downloads/

I tillegg brukes følgende symboler og tegn:

Symbol	Forklaring
MP	Mikrotiterplate
BUF INC	Inkuberingsbuffer
BUF WASH 10X	Vaskebufferkonsentrat (10x)
CONTROL L	Kontroll lav
CONTROL H	Kontroll høy
CAL A - CAL D	Kalibrator A–D
EL IgM	Enzymetikett IgM
SUBS TMB	TMB-substrat
SOLN STOP	Stoppløsning

