



# ANTI – MPO PROTILÁTKY



Kód 44790	96 testov	<b>ANTI – MPO protilátky</b>
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagenty pre stanovenie anti-MPO protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

**ELISA**  
**Mikrotitračné doštičky**

## PRINCÍP METÓDY

Protilátky proti myeloperoxidáze zo séra sa viažu na antigén naviazaný na povrchu mikrotitračných doštičiek. V priebehu druhej inkubácie sa viaže konjugát (polyklonálne králičie imunoglobulíny proti ľudskému IgG značené chrenovou peroxidázou) s protilátkami na povrchu jamky. Nakoniec sa pridá do každej jamky 3,3',5,5' – tetrametylbenzidín (TMB) s H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ako enzymový substrát. Dochádza k enzymatickej farebnej reakcii, ktorá je zastavená kyselinou. Absorbancia vzniknutého žltého komplexu sa meria pri 450nm, pričom hodnota absorbancie je úmerná koncentrácii protilátok vo vzorke.

## OBSAH A ZLOŽENIE

- A. Koncentrovaný premývací roztok.** 50 ml. Koncentrovaný fosfátový pufer, azid sodný 15mmol/l.
- B. Riediaci roztok.** 100ml. Tris pufer 0,1mo/l, azid sodný 15mmol/l
- C+. Pozitívna kontrola.** 1,5ml. Pripravené k priamemu použitiu.  
Sérum s anti- MPO protilátkami, azid sodný 15mmol/l.
- C-. Negatívna kontrola.** 1,5ml. Pripravené k priamemu použitiu. Ľudské sérum bez anti -MPO protilátok, azid sodný 15mmol/l.
- D. Konjugát.** 15ml. Polyklonálne králičie imunoglobulíny proti ľudskému IgG značené chrenovou peroxidázou.
- E. Substrát.** 15ml. 3,3',5,5' – tetrametylbenzidín (TMB)
- F. Zastavovací roztok.** 15ml. Kyselina fosforečná 4,5%.  
Výstraha :  
H314 – Spôsobuje ťažké poleptanie kože a poškodenie očí.  
Upozornenie :  
P280 – Používajte ochranné rukavice/ochranný odev/ ochranné okuliare/štit na tvár  
P303 + P361+ P353 - Pri styku s kožou (alebo vlasami) :  
Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte.  
Kožu opláchnite vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitračné doštičky.** 12 modulov po 8 odlamovateľných jamkách s naviazanou vysoko furifikovanou MPO.
- S1 – S6. Štandardy.** Každý po 1,5ml. Pripravené k priamemu použitiu. Sérum s anti- MPO protilátkami, azid sodný 15mmol/l. Koncentrácie protilátok sú 0, 5, 10, 20, 40 a 100 U/ml a sú uvedené na štítku fľaštičky.

Pre ďalšie výstrahy a upozornenia viď bezpečnostný list.

Ľudské séra použité pri príprave pozitívnej a negatívnej kontroly boli testované s negatívnym výsledkom na anti-HIV a anti-HCV a rovnako na HBs antigen. I napriek tomu zaobchádzajte s kontrolami ako s potenciónálne infekčným materiálom.

## SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 8°C.

Reagenty sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu ich používania.

## Príznyky zhoršenia kvality :

- Kvapalné reagenty : Prítomnosť zrazeniny, zákalu
- Mikrotitračné doštičky : natrhnutie sáčku, makroskopické defekty, ako je poškrabanie dna jamiek.

## PRÍPRAVA REAGENCIÍ

**Premývací pufer :** Zriedte koncentrovaný premývací pufer (A) destilovanou vodou v pomere 1/20. Riadne premiešajte. Pre 1 strip sa spotrebuje približne 50 ml premývacieho reagentu. Roztok je stabilný 30 dní pri 2 – 8°C.  
Ostatné činidlá sú pripravené k priamemu použitiu.

## PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- zvlhčovacia komôrka
- premývacie zariadenie pre mikrotitračné doštičky
- reader mikrotitračných doštičiek alebo fotometer s mikrokyvetou a filtrom 450 ±10nm.

## VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom. Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/100 riediacim pufrom (B). Na testovanie použite vždy čerstvú vzorku.

## POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá na izbovú teplotu. (Poznámka 1)
2. Otvorte balíček s mikrotitračnými doštičkami (M) a vyberte množstvo potrebné pre stanovenie. (Poznámka 2).
3. **Postup práce :**
  - **Kvantitatívne stanovenie :** Pipetujte po 100µl každého štandardu (S1-S6), pozitívnej kontroly (C+), negatívnej kontroly (C-) a zriedenej vzorky do jednotlivých (odlišných) jamiek.
  - **Kvalitatívne stanovenie :** Pipetujte po 100 µl štandardu S3, pozitívnej kontroly (C+), negatívnej kontroly (C-) a zriedenej vzorky do jednotlivých (odlišných) jamiek. Ako blank použite 100µl riediaceho roztoku (B).
4. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 30 minút pri izbovej teplote.
5. Odsajte obsahy jamiek a premyte ich premývacím pufrom 3 x po 300 µl . Doba premývania – minimálne 10 sekúnd. (Poznámka 3 a 4).
6. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl konjugátu (D).
7. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 15 minút pri izbovej teplote.
8. Jamky premyte podľa bodu 5.
9. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl substrátu (E).
10. Stripy umiestnite do zvlhčovacej komôrky a inkubujte ich 15 minút pri izbovej teplote.
11. Do všetkých jamiek pipetujte 100µl zastavovacieho roztoku (F) a inkubujte 5 minút pri izbovej teplote. (Poznámka5).
12. Odčítajte hodnotu absorbancie jednotlivých jamiek pri 450 nm pri použití štandardu S1 , alebo jamky s blankom pre vynulovanie prístroja. Farba je stabilná najmenej 30minút.



# ANTI – MPO PROTILÁTKY



Kód 44790	96 testov	<b>ANTI – MPO protilátky</b>  <b>ELISA</b> <b>Mikrotitračné doštičky</b>
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagenty pre stanovenie anti-MPO protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

## VÝPOČET

- **Kvantitatívne stanovenie** : Na kalibračnú krivku vyznačte hodnoty absorpcie každého štandardu oproti koncentrácii anti-MPO protilátok ( U/ml). Koncentrácia anti-MPO protilátok prítomných vo vzorke sa vypočíta interpoláciou absorpcie na kalibračnej krivke ( odporúča sa použiť 4-parametrickú, logistickú).
- **Kvalitatívne stanovenie** : absorpciu cut-off vypočítajte nasledovne :

$$A_{450nm} \text{ Cut-off} = A_{450nm} S3 \times 0,5$$

Vypočítajte absorbančný pomer :

$$\text{absorbančný pomer} = \frac{A_{\text{vzorky}} 450nm}{A_{\text{cut-off}} 450nm}$$

Ak sú hodnoty absorbančív vyššie ako horný limit merania readeru , nariedte vzorky reagentom (B) a stanovenie opakujte.

## REFERENČNÉ HODNOTY

Za pozitívne sú považované vzorky s koncentráciou vyššou ako 5 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer vyšší ako 1,0. Za negatívne sú považované vzorky s koncentráciou nižšou ako 5 U/ml, alebo ak je ich absorbančný pomer nižší ako 1,0. Uvedené hodnoty sú orientačné, preto by si malo každé laboratórium stanoviť svoje vlastné rozmedzia.

## KONTROLA KVALITY

Absorbancia štandardu S6 by mala byť vyššia ako 1,300. Koncentrácia pozitívnej kontroly (C+) by mala byť v rozmedzí medzi 25 až 45 U/ml. Koncentrácia negatívnej kontroly (C-) by mala byť nižšia ako 5 U/ml. Absorbančný pomer pre negatívnu kontrolu (C-) by mal byť nižší ako 1,0. Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre nápravu pre prípad, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

## METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- opakovateľnosť ( jednej vzorky) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
7,5 U/ml	6,4%	24
30,2U/ml	4,1%	24
59,9 U/ml	3,1 %	24

- reprodukovateľnosť ( run to run) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
7,5 U/ml	5,0%	30
30,2U/ml	4,9%	30
59,9 U/ml	6,3%	30

- detekčný limit : 0,5 U/ml
- Súprava anti-MPO je špecifická k autoprotilátkam MPO. Žiadne skrížené reakcie k ostatným protilátkam neboli pozorované.
- interferencie : hemoglobín do 1000mg/dl, bilirubín do 40mg/dl, triglyceridy do 3000mg/dl neinterferujú. Niektoré druhy liekov a ďalších látok môžu interferovať.2
- Rozsah merania : 0,5 – 100 U/ml. Ak získate výsledky s vyššou hodnotou, zriedte vzorku riediacim pufrum (B) a stanovenie opakujte.

## DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Vysoké hladiny anti -MPO protilátok sa vyskytujú u 65% pacientov s idiopatickou nekrotizujúcou glomerulonefritídou, u 60% pacientov s Churg – Strauss syndrómom, u 30-40% pacientov s Goodpastureovým syndrómom a u 10% pacientov s Wegenerovou granulomatózou. 3,4 Špecifita u systémovej vaskulitídy a u idiopatickej nekrotizujúcej glomerulonefritídy sa pohybuje okolo 95%. 5 Senzitivita súpravy BioSystems anti-MPO bola u rýchlo progredujúcej glomerulonefritídy 98,2% a špecifita 96,7%. Štúdia bola vykonaná s 205 klinickými vzorkami a detaily sú k dispozícii na vyžiadanie. Klinická diagnóza by nemala byť stanovená na základe výsledkov jediného testu, je potrebné posúdiť všetky klinické i laboratórne výsledky.

## POZNÁMKY

1. Nezamieňajte jednotlivé reagenty z rôznych súprav.
2. Nepoužité jamky skladujte v plastikovom sáčku s exsikátorom.
3. Nepoškodte vnútorný povrch mikrotitračných doštičiek.
4. Premývací roztok by mal byť z jamiek celkom odstránený.
5. Zastavovací roztok enzýmovej reakcie(F) musí byť pipetovaný do jamiek približne v rovnakom časovom odstupe ako substrát (E) v bode 9 Postupu práce.

## LITERATÚRA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Cid MA, Fauci AS, Hoffman GS. Vasculitis: clasificación, diagnóstico y patogenia. In: Kamashta MA, Font J, Hughes GRV, editores, Enfermedades Autoinmunes del Tejido Conectivo, Ediciones Doyma, 1992.
4. Kallenberg CGM. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase. In: Peter JB and Shoenfeld Y, editores, Autoantibodies, Elsevier Science, 1996.



## ANTI – MPO PROTILÁTKY



Kód 44790      96 testov	<b>ANTI – MPO protilátky</b>
Skladovanie pri 2 - 8°C	
Reagenty pre stanovenie anti-MPO protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku	
	<b>ELISA</b> Mikrotitračné doštičky

5. Kallenberg CGM. ANCA: their clinical relevance. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors, Autoantibody Manual C7.1, 1-12. Kluwer Academic Publishers 1996.

### UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 18.6.2018.

Vzhľadom k novej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápätí. Originálny návod nájdete v súprave a na internetovej adrese [www.biosystems.es](http://www.biosystems.es).

Slovenský návod je k dispozícii na [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz).

### Výhradný distribútor:

**ČR** : JK-Trading spol.s.r.o., Křivaticová 421/5, 150 21 Praha5,  
tel.: +420 257 220 760

**SK** : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava,  
tel.: + 421 264 774 591

V prípade mimoriadnych udalostí:

**ČR** : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika  
pracovního lékařství VFN a . LF UK,  
tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

**SK** : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05,  
Limbová 5, tel.: +421 254 774 166

### VÝROBCA

**BioSystems S.A.** Costa Brava 30, Barcelona (Spain)  
ISO 13485 - TÜV Rheinland - Reg.: SX 60010383 0001  
ISO 9001 - TÜV CERT - Reg.: 01 100 6696