



ANTI – MPO PROTILÁTKY



Kód 44790	96 testov	ANTI – MPO protilátky
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie na 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 H₂O₂ 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 premývaví 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 potencionálne infekčným materiálom.

SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 8°C.

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

Príznamky zhoršenia kvality :

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

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

Premývaví pufer : Zriedte koncentrovaný premývaví pufer (A) destilovanou vodou v pomere 1/20. Riadne premiešajte. Pre 1 strip sa spotrebuje približne 50 ml premývacieho roztoku. 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 puferom (B). Na testovanie použite vždy čerstvú vzorku.

POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá na izbovú teplotu. (Poznámka1)
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 premývavím puferom 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.

VÝPOČET

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

• **Kvalitatívne stanovenie :** absorbanciu cut-off vypočítajte nasledovne :



ANTI – MPO PROTILÁTKY



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

A_{450nm} Cut-off = A_{450nm} S3 x 0,5

Vypočítajte absorbančný pomer :

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

Ak sú hodnoty absorbancií vyššie ako horný limit merania readeru , nariadte vzorky reagensiou (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 pufrom (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 Špecifická 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 špecifická 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 plastickom sáčku s exsikatorom.
3. Neпоškodte vnútorný povrch mikrotitračných doštičiek.
4. Premývaci 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. AACCPress, 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.
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 výroby 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.



ANTI – MPO PROTILÁTKY



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

Slovenský návod je k dispozícii na www.jktrading.cz.

Výhradný distribútor:

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

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava
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