



Kód 44790	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení anti-MPO protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

ANTI-MPO PROTILÁTKY

ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY**PRINCIP METODY**

Protilátky proti Anti-myeloperoxidáze (MPO) ze séra se váží na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (imunoglobulin proti lidskému IgG značený křenuvou peroxidázou) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H₂O₂ do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zabarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci MPO protilátek ve vzorku¹.

Obsah a složení

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Koncentrovaný fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/l.
- B. Ředící roztok** 100 mL. Tris pufr, azid sodný 15 mmol/l.
- C+. Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti-MPO protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-MPO protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D Konjugát** 15 mL. Křenuvou peroxidázou značený králičí polyklonální imunoglobulin proti lidskému IgG.
- E. Substrát.** 15 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok. 15 mL. Kyselina fosforečná 4,5%.**
H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách s navázanou myeloperoxidázou.
- S1-S6. Anti-MPO standardy,** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Anti-MPO lidské sérum, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace anti-MPO protilátek jsou: 0, 5, 10, 20, 40 a 100 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrace proti internímu referenčnímu standardu.

*Pro další varování a opatření – viz bezpečnostní list výrobku.
 Lidská séra použita při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.*

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C.
 Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Mikrotitrační destičky: natržení sáčku, makroskopické defekty jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr: Zředte koncentrovaný promývací pufr (A) destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývací reagentie. Roztok je stabilní 30 dnů při 2-8°C.
 Ostatní činidla jsou připravena k přímému použití - ready to use.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky
- reader nebo fotometr s mikrokvetou a filtrem 450 ± 10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Pro testování použijte vždy čerstvě naředěný vzorek.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu. (Pozn.: 1)
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení. (Pozn.: 2)
3. **Postup práce:**
 - **Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL každého standardu (S1-S6), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
 - **Kvalitativní stanovení:** Pipetujte 100 µL Standardu S3, Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
4. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 minut.
5. Odsajte obsahy jamek a promyjte je 3-krát po 300 µL promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µL konjugátu (D).
7. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a jamky inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 µL substrátu (E) do všech jamek.
10. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µL zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte při pokojové teplotě 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm za použití S1 standardu nebo jamky blanku pro vynulování přístroje. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

VÝPOČET

Kvantitativní stanovení: Vyneste do grafu hodnoty absorbance pro každý standard proti koncentraci anti – MPO protilátek (U/mL). Koncentrace anti-MPO protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4-parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

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

Vypočtete absorbanční poměr:

$$\text{Absorbanční poměr} = \frac{A_{450 \text{ nm}} \text{ Vzorku}}{A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off}}$$

Když jsou hodnoty absorbance vyšší než je horní měřicí limit readeru, vzorky naředte reagentem (B) a stanovení opakujte.

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací větší než 5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní.



ANTI-MPO PROTILÁTKY



Kód 44790	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení anti-MPO protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

ANTI-MPO PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

Vzorky, s koncentrací nižší než 5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí referenčních hodnot.

KONTROLA KVALITY

Absorbance Standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300.
Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 25 do 45 U/mL a u Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 5 U/mL.
Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0.
Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Opakovatelnost (jednoho vzorku):

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

- Reprodukovatelnost (run to run):

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

- Detekční limit: 0,5 U/mL
- Souprava Anti-MPO specifická k protilátkám MPO. Žádné zkřížené reakce k ostatním protilátkám nebyly pozorovány.
- Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL bilirubin do 40 mg/dL a triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují.
Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².
- Rozsah měření: 1,5–100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředit vzorek ředícím puřem (B) a zopakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Vysoké hladiny anti-MPO protilátek se nacházejí u 65% pacientů s idiopatickou nekrotizující glomerulonefritidou, 60% pacientů se Straussovým syndromem, 30-40% pacientů s Goodpasture's syndromem a u 10% pacientů s Wegenerovou granulomatosidou^{3,4}. Specifita pro systémovou vaskulitidu a idiopatickou nekrotizující glomerulonefritidu je vyšší jak 95%⁵.

Senzitivita pro nekrotizující glomerulonefritidu u soupravy BioSystems Anti-MPO protilátek byla 98,2% a specifita 96,7% což bylo ověřeno ve studii u 205 klinických vzorků. Detaily studie jsou k dispozici na vyžádání.

Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nezaměňujte reagencie ze souprav různých šarží.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškoďte vnitřní povrch mikrotitračních destiček.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.
5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

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 and 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.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 13.6.2018.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí. Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems.es.

Český návod je k dispozici na: www.iktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 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 případě mimořádných událostí:

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