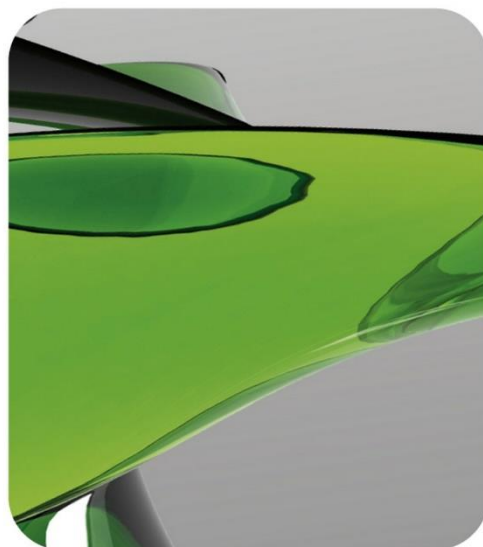




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® MPO

Ref 3303



Instrukcja obsługi

Spis treści

1	Przeznaczenie	1
2	Zastosowanie kliniczne i zasada działania oznaczenia	1
3	Zawartość zestawu	2
4	Przechowywanie i okres trwałości	2
5	Środki ostrożności dotyczące stosowania	3
6	Pobieranie próbek, postępowanie z nimi i ich przechowywanie.....	4
7	Procedura oznaczenia	4
8	Interpretacja ilościowa i jakościowa	7
9	Dane techniczne	8
10	Dane dotyczące skuteczności	8
11	Literatura	12
12	Symbole regulacyjne.....	13



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Przeznaczenie

AESKULISA® MPO to enzymatyczne oznaczenie immunochemiczne fazy stałej, w którym wykorzystano wysoce oczyszczoną natywną mieloperoksydazę (MPO) z komórek polimorfojądrowych ludzkiej krwi obwodowej do ilościowego i jakościowego wykrywania przeciwciał przeciwko MPO w surowicy ludzkiej. Przeciwciała przeciwko MPO rozpoznają swoiste konformacyjne epitopy dostępne tylko na natywnej MPO.

Oznaczenie jest narzędziem stosowanym w diagnostyce różnicowej autoimmunologicznego układowego zapalenia naczyń.

2 Zastosowanie kliniczne i zasada działania oznaczenia

Przeciwciała przeciwko mieloperoksydazie (MPO) należą do grupy przeciwciał przeciwko cytoplazmie neutrofilów (ANCA), które są skierowane przeciwko cytoplazmatycznym składnikom monocytów i granulocytów obojętnochłonnych. Uznana metodą wykrywania ANCA jest test metodą immunofluorescencji pośredniej neutrofilów utrwalonych etanolem. Okazało się, że niektóre ANCA (zwane C-ANCA) dają cytoplazmatyczny wzorec fluorescencyjny, podczas gdy inne dają wzorec okołojądrowy (P-ANCA). Ponieważ oba wzorce mogą występować dla wielu antygenów, immunofluorescencja nie jest odpowiednia do satysfakcjonującej diagnostyki różnicowej zapalenia naczyń; dlatego każdy test immunofluorescencyjny (ang. immunofluorescence test, IFT) należy weryfikować swoistymi testami ELISA.

Podczas gdy proteinaza 3 jest głównym antygenem swoistym C-ANCA, główny antygen P-ANCA został zidentyfikowany jako MPO, ale inne składniki komórkowe (np. laktoferyna, katepsyna G, elastaza) mogą powodować barwienie okołojądrowe.

MPO jest enzymem z ziarnistości pierwotnych neutrofilów o masie molekularnej około 140 kDa. Jej bardzo ujemny ładunek może być istotny dla lokalizacji w dodatnio naładowanych strukturach, takich jak błona jądrowa i DNA, a tym samym odpowiedzialny za wzorec barwienia okołojądrowego przeciwciał przeciwko MPO w surowicy pacjentów w testach IFT neutrofilów utrwalonych etanolem.

ANCA są ważnymi markerami w diagnostyce różnicowej autoimmunologicznego zapalenia naczyń. Przeciwciała przeciwko MPO są skorelowane z idiopatycznym zapaleniem naczyń lub związanym z zapaleniem naczyń kłębuszkowym zapaleniem z półksiężycami / kłębuszkowym zapaleniem z ogniskową martwicą i występują często u 70% pacjentów z mikroskopowym zapaleniem naczyń i u 5–50% pacjentów z zespołem Churga-Strauss.

Zasada działania testu

Próbki surowicy rozcieńczone w stosunku 1:101 inkubuje się na mikropłytkach pokrytych swoistym antygenem. Przeciwciała pacjenta, jeśli są obecne w próbce, wiążą się z antygenem. Frakcja niezwiązana jest wymywana w następnym kroku. Następnie przeciwciała przeciwko ludzkim immunoglobulinom sprzężone z peroksydazą chrzanową (koniugaty) są inkubowane i reagują na mikropłytkach z kompleksem antygen-przeciwciało powstałym z próbek. Niezwiązany koniugat jest wymywany w następnym kroku. Dodanie substratu TMB powoduje enzymatyczną reakcję kolorymetryczną (powstaje kolor niebieski), która jest zatrzymywana przez rozcieńczony kwas (kolor zmienia się na żółty). Intensywność zabarwienia chromogenu jest funkcją ilości koniugatu związanego z kompleksem antygen-przeciwciało, która jest proporcjonalna do początkowego stężenia odpowiednich przeciwciał w próbce pacjenta.

3 Zawartość zestawu

DO REKONSTYTUCJI				
Pozycja	Ilość	Kolor korka	Kolor roztworu	Opis / Zawartość
Bufor próbki (5x)	1 x 20 ml	Biały	Żółty	Koncentrat 5x Tris, chlorek sodu (NaCl), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Bufor do płukania (50x)	1 x 20 ml	Biały	Zielony	Koncentrat 50x Tris, NaCl, Tween 20, azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
GOTOWE DO UŻYCIA				
Pozycja	Ilość	Kolor korka	Kolor roztworu	Opis / Zawartość
Kontrola ujemna	1 x 1,5 ml	Zielony	Bezbarwny	Surowica ludzka (rozcieńczona), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kontrola dodatnia	1 x 1,5 ml	Czerwony	Żółty	Surowica ludzka (rozcieńczona), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kalibrator punktu odcięcia	1 x 1,5 ml	Niebieski	Żółty	Surowica ludzka (rozcieńczona), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Kalibratory	6 x 1,5 ml	Biały	Żółty *	Stężenie każdego kalibratora: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Surowica ludzka (rozcieńczona), albumina surowicy bydlęcej (BSA), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)
Koniugat, IgG	1 x 15 ml	Niebieski	Niebieski	Zawiera: przeciwciała przeciwko ludzkim immunoglobulinom sprzężone z peroksydazą chrzanową, albuminę surowicy bydlęcej (BSA)
Substrat TMB	1 x 15 ml	Czarny	Bezbarwny	Stabilizowana tetrametylobenzydyna i nadtlenek wodoru (TMB/H ₂ O ₂)
Roztwór zatrzymujący	1 x 15 ml	Biały	Bezbarwny	1M kwas solny
Płytki mikrotitracyjna	Paski ze studzienkami 12 x 8	NIE DOTYCZY	NIE DOTYCZY	Z odrywanymi mikrostudzienkami. Informacje dotyczące powłoki podano w punkcie 1.
* Intensywność koloru wzrasta ze stężeniem				
MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOŁĄCZONE				
Czytnik płytek mikrotitracyjnych z filtrem odczytu 450 nm i zalecany filtr referencyjny 620 nm (600–690 nm). Szkło laboratoryjne (cylinder 100–1000 ml), probówki do rozcieńczeń. Mieszalnik wirowy, pipety precyzyjne (10, 100, 200, 500, 1000 µl) lub multipipeta regulowana (100–1000 µl). Urządzenie do mycia mikropłatek (pipeta wielokrotna lub wielokanałowa 300 µl lub system automatyczny), bibuła absorpcyjna. Nasze testy są przeznaczone do stosowania z wodą oczyszczoną zgodnie z definicją Farmakopei Stanów Zjednoczonych (USP 26 – NF 21) i Farmakopei Europejskiej (Eur.Ph. wyd. 4).				

4 Przechowywanie i okres trwałości

Przechowywać wszystkie odczynniki i mikropłytkę w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F, w oryginalnych pojemnikach. Po przygotowaniu rekonstruowane roztwory zachowują stabilność w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F przez co najmniej 1 miesiąc. Odczynniki i mikropłytkę należy zużyć w terminie ważności wskazanym na każdym elemencie. Unikać ekspozycji roztworu TMB na intensywne działanie światła. Przechowywać mikropłytki w przeznaczonej do tego folii, łącznie ze środkiem osuszającym, szczelnie zamknięte.

5 Środki ostrożności dotyczące stosowania

5.1 Dane dotyczące zagrożeń dla zdrowia

PRODUKT JEST PRZEZNACZONY WYŁĄCZNIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO. W związku z tym test przy użyciu tego zestawu może wykonać tylko wykwalifikowany personel specjalnie przeszkolony w zakresie metod diagnostyki in vitro. Chociaż ten produkt nie jest uważany za szczególnie toksyczny ani niebezpieczny w warunkach użytkowania zgodnie z przeznaczeniem, w celu zapewnienia maksymalnego bezpieczeństwa należy zapoznać się z poniższymi informacjami:

Zalecenia i środki ostrożności

Ten zestaw zawiera potencjalnie niebezpieczne elementy. Chociaż odczynniki zestawu nie są sklasyfikowane jako drażniące dla oczu i skóry, zalecamy unikanie kontaktu z oczami i skórą oraz noszenie jednorazowych rękawiczek.

OSTRZEŻENIE! Kalibratory, kontrole i bufony zawierają azydek sodu (NaN_3) jako środek konserwujący. NaN_3 może być toksyczny w przypadku spożycia lub wchłonięcia przez skórę lub oczy. NaN_3 może reagować z ołowiem i miedzią w rurach, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po wyrzuceniu spłukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku. Należy zapoznać się z procedurami dekontaminacji określonymi przez CDC lub innymi wytycznymi lokalnymi/krajowymi.

Podczas manipulowania zestawem nie wolno palić tytoniu, jeść ani pić. Nie pipetować ustami.

Cały ludzki materiał źródłowy (kontrole, standardy itp.) użyty w niektórych odczynnikach tego zestawu został przetestowany zatwierdzonymi metodami i okazał się ujemny pod kątem HbsAg, wirusowego zapalenia wątroby typu C i HIV 1. Żaden test nie może jednak zagwarantować całkowitej nieobecności czynników wirusowych w takim materiale. W związku z tym należy obchodzić się z kontrolami zestawu, standardami i próbkami pacjentów tak, jakby były zakażne, zgodnie z wymogami krajowymi.

Zestaw zawiera materiał pochodzenia zwierzęcego, jak określono w spisie zawartości, postępować zgodnie z wymogami krajowymi.

5.2 Ogólne wskazówki dotyczące użytkowania

Jeśli informacje o produkcie, w tym etykieta, są wadliwe lub nieprawidłowe, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

Nie mieszać ani nie zastępować kontroli, kalibratorów, koniugatów ani mikroplatek o różnych numerach partii. Może to prowadzić do różnic w wynikach.

Odczekać przed użyciem, aż wszystkie elementy osiągną temperaturę pokojową (20–32 °C/68–89,6 °F), dobrze wymieszać i postępować zgodnie z zalecanym schematem inkubacji w celu optymalnego przeprowadzenia testu.

Inkubacja: W systemach zautomatyzowanych zalecamy wykonanie testu w temperaturze 30 °C/86 °F.

Nigdy nie wystawiać elementów na działanie temperatury wyższej niż 37 °C/98,6 °F.

Roztwór substratu pipetować tylko fabrycznie nowymi końcówkami. Chronić odczynnik przed światłem. Nigdy nie pipetować koniugatu końcówkami używanymi wcześniej z innymi odczynnikami.

Jednoznaczna diagnoza kliniczna nie powinna opierać się wyłącznie na wynikach wykonanego testu, ale powinna być postawiona przez lekarza po ocenie wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych. Diagnoza musi być zweryfikowana przy użyciu różnych metod diagnostycznych.



6 Pobieranie próbek, postępowanie z nimi i ich przechowywanie

Najlepiej używać świeżo pobranych próbek surowicy. Krew należy pobrać zgodnie z wymogami krajowymi. Nie używać próbek zażółconych, lipemicznych, zanieczyszczonych bakteriami ani takich, które uległy hemolizie. Surowice zawierające cząstki należy oczyścić przez wirowanie z niską prędkością (<1000 x g). Próbkę krwi należy pobierać do czystych, suchych i pustych probówek.

Po oddzieleniu próbki surowicy należy zużyć w ciągu pierwszych 8 godzin lub przechowywać szczelnie zamknięte w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F do 48 godzin bądź zamrożone w temperaturze -20 °C/-4 °F przez dłuższy czas.

7 Procedura oznaczenia

7.1 Przygotowania przed rozpoczęciem

Rozcieńczyć stężone odczynniki:

Rozcieńczyć stężony bufor próbki w stosunku 1:5 wodą destylowaną (np. 20 ml plus 80 ml).

Rozcieńczyć stężony bufor do płukania w stosunku 1:50 wodą destylowaną (np. 20 ml plus 980 ml).

Aby uniknąć pomyłek, zalecamy oznaczenie korków różnych kalibratorów.

Próbki:

Rozcieńczyć próbki surowicy w stosunku 1:101 buforem próbki (1x),

np. 1000 µl buforu próbki (1x) + 10 µl surowicy. Dobrze wymieszać!

Płukanie:

Przygotować 20 ml rozcieńczonego buforu do płukania (1x) na 8 studzienek lub 200 ml na 96 studzienek,

np. 4 ml koncentratu plus 196 ml wody destylowanej.

Automatyczne płukanie:

Należy wziąć pod uwagę nadmiarowe objętości wymagane do ustawienia urządzenia i objętość martwą pipety automatycznej.

Mycie ręczne:

Usunąć płyn ze studzienek, odwracając płytkę. Energicznie popukać w ramkę mikrostudzienek skierowaną studzienkami w dół nad czystą bibułą absorpcyjną. Odmierzyć pipetą 300 µl rozcieńczonego buforu do płukania do każdej studzienki, odczekać 20 sekund. Powtórzyć całą procedurę jeszcze dwa razy.

Mikropłytki:

Obliczyć liczbę studzienek wymaganych do testu. Usunąć nieużywane studzienki z ramki, umieścić je w dołączonej plastikowej torbie wraz ze środkiem osuszającym i przechowywać szczelnie zamknięte (2–8 °C/35,6–46,4 °F).

7.2 Schemat pipetowania

Zalecamy pipetowanie kalibratorów, kontroli i próbek w następujący sposób:

Do interpretacji <i>ILOŚCIOWEJ</i>					Do interpretacji <i>JAKOŚCIOWEJ</i>				
	1	2	3	4...		1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1		A	NC	P2		
B	Cal A	Cal E	P1		B	NC	P2		
C	Cal B	Cal F	P2		C	CC	P3		
D	Cal B	Cal F	P2		D	CC	P3		
E	Cal C	PC	P3		E	PC	...		
F	Cal C	PC	P3		F	PC	...		
G	Cal D	NC	...		G	P1	...		
H	Cal D	NC	...		H	P1	...		

CalA: kalibrator A

CalB: kalibrator B

CalC: kalibrator C

CalD: kalibrator D

CalE: kalibrator E

CalF: kalibrator F

PC: kontrola dodatnia

NC: kontrola ujemna

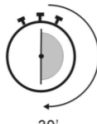
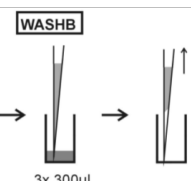
CC: kalibrator punktu odcięcia

P1: próbka pacjenta 1

P2: próbka pacjenta 2

P3: próbka pacjenta 3

7.3 Kroki testu

Krok	Opis
1.	Przed rozpoczęciem pipetowania upewnić się, że przeprowadzono przygotowania, o których mowa w punkcie 7.1 powyżej.
2.	Wykonać następujące kroki w zależności od pożądanego wyniku interpretacji ilościowej/jakościowej:
KONTROLE I PRÓBKİ	
3.	Do wyznaczonych studzienek, jak opisano w punkcie 7.2 powyżej, odmierzyć pipetą 100 µl: - kalibratorów (od CAL.A do CAL.F) dla interpretacji <i>ILOŚCIOWEJ</i> albo - kalibratora punktu odcięcia (CC) dla interpretacji <i>JAKOŚCIOWEJ</i> i 100 µl każdego z poniższych: - kontroli ujemnej (NC) i kontroli dodatniej (PC) oraz - rozcieńczonej surowicy pobranej od pacjenta (P1, P2...)
4.	 Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F.
5.	 Płukać 3x, używając 300 µl buforu do płukania (rozcieńczonego w stosunku 1:50).



KONIUGAT

6.

CONJ



+100 µl

Odmierzyć pipetą 100 µl koniugatu do każdej studzienki.

7.

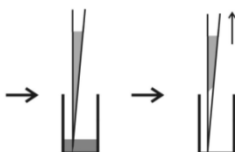


30'

Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F.

8.

WASHB



3x 300µl

Płukać 3x, używając 300 µl buforu do płukania (rozcieńczonego w stosunku 1:50).

SUBSTRAT

9.

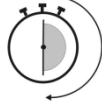
SUB



+100 µl

Odmierzyć pipetą 100 µl substratu TMB do każdej studzienki.

10.



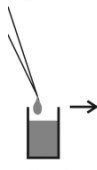
30'

Inkubować przez 30 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F, chroniąc przed intensywnym światłem.

STOP

11.

STOP



+100 µl

Odmierzyć pipetą 100 µl roztworu zatrzymującego do każdej studzienki, zachowując tę samą kolejność, w jakiej pipetowany był substrat.

12.



5'

Inkubować przez minimum 5 minut.

13.

Ostrożnie wstrząsać płytkę przez 5 sekund.

14.



450/620 nm

Odczytać absorbancję przy 450 nm (zalecane 450/620 nm) w ciągu 30 minut.

8 Interpretacja ilościowa i jakościowa

Dla **interpretacji ilościowej** ustalić krzywą standardową, wykreślając zależność **gęstości optycznej (ang. optical density, OD) każdego kalibratora (oś y)** od odpowiednich wartości stężeń w U/ml (oś x). Aby uzyskać najlepsze wyniki, zalecamy współrzędne log/lin i dopasowanie 4-parametrowe. Z OD każdej próbki odczytać odpowiednie stężenia przeciwciał wyrażone w U/ml.

Zakres standardowy	Zakres niejednoznaczny	Wyniki dodatnie
<12 U/ml	12–18 U/ml	>18 U/ml

Przykład krzywej standardowej

NIE używać tego przykładu do interpretacji wyniku pacjenta

Kalibratory IgG	OD 450/620 nm	% CV (zmienność)
0 U/ml	0,055	0,1
3 U/ml	0,195	0,7
10 U/ml	0,400	2,4
30 U/ml	0,785	0,5
100 U/ml	1,440	1,7
300 U/ml	2,300	0,9

Przykład obliczenia

Pacjent	Replikat (OD)	Średnia (OD)	Wynik (U/ml)
P 01	0,794/0,792	0,793	32,1
P 02	1,345/1,321	1,333	84,5

Próbki, dla których wynik przekracza górną granicę zakresu kalibratora, powinny być zgłaszane jako >Max. Należy je odpowiednio rozcieńczyć i poddać ponownej analizie. Próbki, dla których wynik jest niższy od dolnej granicy zakresu kalibratora, powinny być zgłaszane jako <Min.

Dane dotyczące poszczególnych partii znajdują się w załączonej ulotce dotyczącej kontroli jakości. Laboratoria medyczne mogą przeprowadzać wewnętrzną kontrolę jakości, korzystając z własnych kontroli lub własnych surowic zbiorczych, zgodnie z przepisami krajowymi.

Każde laboratorium powinno ustalić swój własny zakres standardowy w oparciu o własne techniki, kontrole, sprzęt i populację pacjentów, zgodnie z własnymi ustalonymi procedurami. Jeśli wartości dla kontroli nie spełniają kryteriów, wynik jest nieważny i test należy powtórzyć. Należy sprawdzić następujące kwestie techniczne: daty ważności (przygotowanych) odczynników, warunki przechowywania, pipety, urządzenia, fotometr, warunki inkubacji i metody płukania.

Jeśli dla testowanych elementów wykazano nieprawidłowe wartości lub odchylenia lub jeśli kryteria walidacji nie są spełnione z niewyjaśnionych powodów, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

Do celów **interpretacji jakościowej** odczytać gęstość optyczną kalibratora punktu odcięcia i próbek pacjenta. Porównać OD próbek pacjenta z OD kalibratora punktu odcięcia. Do interpretacji jakościowej zalecamy przyjęcie, że wyniki dla surowic w zakresie 20% wokół wartości punktu odcięcia są niejednoznaczne. Wszystkie próbki o wyższych OD są uważane za dodatnie, próbki o niższych OD są uważane za ujemne.

Ujemna:	OD próbki pacjenta	< 0,8 x OD punktu odcięcia	
Niejednoznaczna:	0,8 x OD punktu odcięcia	≤ OD próbki pacjenta	≤ 1,2 x OD punktu odcięcia
Dodatnia:	OD próbki pacjenta	> 1,2 x OD punktu odcięcia	

9 Dane techniczne

Materiał próbki:	surowica
Objętość próbki:	10 µl próbki rozcieńczonej w stosunku 1:101 z 1x buforem próbki
Całkowity czas inkubacji:	90 minut w temperaturze 20–32 °C/68–89,6 °F
Zakres kalibracji:	0–300 U/ml
Czułość analityczna:	1,47 U/ml
Przechowywanie:	w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F; używać wyłącznie oryginalnych fiolek.
Liczba oznaczeń:	96 testów

10 Dane dotyczące skuteczności

10.1 Czułość analityczna

Przy testowaniu bufora próbki 60 razy przy użyciu oznaczenia **AESKULISA® MPO** i 8 próbek o niskiej ujemności 8 razy uzyskano granicę wykrywalności 1,47 U/ml.

10.2 Swoistość i czułość

Mikroplátky są pokryte natywną ludzką mieloperoksydazą. Przeciwciała przeciwko MPO są skorelowane z idiopatycznym zapaleniem naczyń lub związanym z zapaleniem naczyń kłębuszkowym zapaleniem z pólksiężycami / kłębuszkowym zapaleniem z ogniskową martwicą i występują często u około 60% pacjentów z mikroskopowym zapaleniem naczyń, u 10–20% pacjentów z ziarniniakowatością Wegenera i u 30–50% pacjentów z zespołem Churga-Strauss^{3,10}.

151 surowic pacjentów cierpiących na ziarniniakowatość Wegenera, mikroskopowe zapalenie naczyń i inne choroby autoimmunologiczne przetestowano przy użyciu **AESKULISA® MPO** i zestawu porównawczego, z których 79 surowic znajdowało się w zakresie oznaczenia i wykorzystano je do badania porównawczego względem zestawu porównawczego.

	Zestaw porównawczy				
AESKULISA® MPO		Dodat.	Równow.	Ujemn.	Łącznie
	Dodat.	39	4	0	43
	Ujemn.	0	7	29	36
	Łącznie	39	11	29	79

		95% CI
Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem*	94,9%	od 87,7% do 98,0%
Procentowa zgodność wyników dodatnich	100%	od 91,0% do 100%
Procentowa zgodność wyników ujemnych*	90,0%	od 77,0% do 96,0%

* Dla tego obliczenia niejednoznaczny wynik zestawu porównawczego został uznany za ujemny.

W porównawczym badaniu klinicznym tylko próbki, które powinny wyraźnie zawierać przeciwciała przeciwko MPO (zapalenie kłębuszków nerkowych, mikroskopowe zapalenie naczyń) zostały uznane za dodatnie dla obliczenia czułości/swoistości diagnostycznej, wszystkie inne diagnozy, jakkolwiek mogłyby w nich być obecne przeciwciała przeciwko MPO, zostały uznane za „ujemne” (pełne dane dostępne na życzenie).

AESKULISA® MPO	rozpoznanie			
		Dodat.	Ujemn.	Łącznie
	Dodat.	32	6	38
	Ujemn.	2	99	101
	Łącznie	34	105	139

		95% CI
Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem*	94,2%	od 89,1% do 97,1%
Procentowa zgodność wyników dodatnich*	94,1%	od 80,9% do 98,4%
Procentowa zgodność wyników ujemnych*	94,3%	od 88,1% do 97,4%

* Uwzględniono tylko próbki z chorobami z wyraźną obecnością przeciwciał MPO.



Liczba próbek z rozpoznanymi poniższymi schorzeniami	AESKULISA® MPO		
	Dodat.	Ujemn.	Łącznie
Rozpoznanie			
Znaczna utrata słuchu	1	0	1
Przewlekła choroba nerek	0	1	1
Zespół Churga-Strauss	0	2	2
POChP	3	0	3
Choroba Leśniowskiego-Crohna	0	6	6
Zapalenia wsierdza	0	1	1
Zespół Goodpasture'a	0	1	1
Pacjent zdrowy	1	0	1
HIV	0	1	1
Porażenie	0	1	1
Polimialgia reumatyczna (zapalenie naczyń)	0	1	1
Reaktywne zapalenie stawów	0	21	21
Reumatoidalne zapalenie stawów	0	1	1
TRU	1	0	1
Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	0	6	6
Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (septyczne zakażenie grzybicze)	0	1	1
Ziarniniakowatość Wegenera	0	56	56
Kłębuszkowe zapalenie nerek (dodatnie C-ANCA)*	0	1	1
Kłębuszkowe zapalenie nerek (GN)*	2	0	2
mPAN*	30	0	30
Ziarniniakowatość Wegenera / GN*	0	1	1
Łącznie	38	101	139

10.3 Liniowość

Wybrane surowice zostały przetestowane przy użyciu tego zestawu i stwierdzono, że rozcieńczanie przebiega liniowo. Jednak ze względu na niejednorodny charakter ludzkich autoprzeciwciał mogą istnieć próbki, które nie spełniają tej zasady.

Nr próbki	Współczynnik rozcieńczenia	Wartość zmierzona (U/ml)	Wartość oczekiwana (U/ml)	Odzysk (%) 90–110%
1	1 / 100	76,5	78,0	98,1
	1 / 200	37,3	39,0	95,6
	1 / 400	19,2	19,5	98,5
	1 / 800	9,4	9,8	95,9
2	1 / 100	32,8	33,0	99,4
	1 / 200	17,4	16,5	105,5
	1 / 400	9,0	8,3	108,4
	1 / 800	4,2	4,1	102,4
3	1 / 100	342,15	325	105,3
	1 / 200	177,5	162,5	109,2
	1 / 400	85,8	81,25	105,6
	1 / 800	42	40,625	103,4
4	1 / 100	235,5	252	93,5
	1 / 200	121,15	126	96,2
	1 / 400	60,3	63	95,7
	1 / 800	33,65	31,5	106,8

10.4 Precyzja

Aby określić precyzję oznaczenia, zmienność (w obrębie oznaczenia i między oznaczeniami) oceniono poprzez zbadanie odtwarzalności przy użyciu ośmiu próbek surowicy wybranych tak, aby reprezentowały zakres krzywej standardowej.

W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Wariancja pomiędzy partiami		
Nr próbki	Średnia (U/ml)	CV (%)	Nr próbki	Średnia (U/ml)	CV (%)	Nr próbki	Średnia (U/ml)	CV (%)
1	6,2	14,3	1	6,2	14,4	1	6,2	12,7
2	7,1	10,6	2	7,1	10,8	2	7,0	10,8
3	10,1	9,0	3	10,1	8,8	3	10,1	8,8
4	14,6	9,4	4	14,6	9,3	4	14,3	9,2
5	25,9	8,0	5	28,9	7,7	5	25,6	6,5
6	38,6	1,6	6	38,6	1,7	6	32,7	3,7
7	78,5	2,5	7	78,5	3,0	8	162,3	7,4
8	173,9	5,7	8	173,9	5,8	9	53,5	8,2

10.5 Kalibracja

Ze względu na brak międzynarodowego odniesienia kalibracyjnego oznaczenie to jest kalibrowane w jednostkach arbitralnych (U/ml).

11 Literatura

1. Falk, RJ Jennette JC (1988). *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis*. N Engl J Med 318: 1651-1657.
2. Baslund B and Wiik A (1994). *Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) and vasculitis*. Clin Rev Allergy; 12: 297-304.
3. Bosch X, Guilabert A, and Font J (2006). *Antineutrophil cytoplasmic antibodies*. Lancet; 368: 404-418.
4. Savige J, Gillis D, Benson et al. (1999). *International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)*. Am J Clin Pathol; 111: 507–13.
5. Talar MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR and Burek CL (2007). *Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)*. Clin Exp Immunol; 150: 42-48.
6. Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L et al. (1995). *The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens*. Clin Exp Immunol; 101: Suppl 1, 15-17.
7. Sutton BJ, Little C, Olsen RL and Willassen NP (1988). *Preliminary crystallographic analysis of human myeloperoxidase*. J Mol Biol; 199: 395-396.
8. Zeng J and Fenna RE (1992). *X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 Å resolution*. J Mol Biol; 226: 185-207.
9. Radice A and Sinico RA (2005). *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)*. Autoimmunity; 38: 93-103.
10. Kallenberg CGM (2007). *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase*. in Autoantibodies (ed. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL) (2007) 2nd Edition 95-103.

12 Symbole regulacyjne

IVD	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο - Do stosowania w diagnostyce in vitro.
REF	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας - Numer katalogowy
LOT	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας - Partia
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único do dispositivo	- Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής - Unikalny identyfikator urządzenia
CE	- Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de Conformidade	- EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία - Deklaracja zgodności WE
	- 96 determinazioni - 96 tests - 96 Bestimmungen - 96 Testes	- 96 tests - 96 pruebas - 96 προσδιορισμοί - 96 testów
	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso - Voir les instructions d'utilisation électronique - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten - Seguir as instruções electrónicas de utilização	- See electronic instructions for use - Siga las instrucciones electrónicas de uso - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης - Patrz elektroniczne instrukcje użytkowania
	- Da utilizzarsi entro - Utiliser avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de	- Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι - Termin ważności
	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conserver a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F) - Przechowywać w temperaturze 2-8 °C (35,6-46,4 °F)
	- Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por	- Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από - Producent
CO-CAL	- Calibratore cut-off - Etalon Seuil - Grenzwert Kalibrator - Calibrador de cut-off	- Cut off Calibrator - Calibrador de cut-off - Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης - Kalibrator punktu odcięcia
CON +	- Controllo positivo - Contrôle Positif - Positiv Kontrolle - Controllo positivo	- Positive Control - Control Positivo - Θετικός ορός ελέγχου - Kontrola dodatnia
CON -	- Controllo negativo - Contrôle Négatif - Negativ Kontrolle - Controllo negativo	- Negative Control - Control Negativo - Αρνητικός ορός ελέγχου - Kontrola ujemna
CAL	- Calibratore - Etalon - Kalibrator - Calibrador	- Calibrator - Calibrador - Αντιδραστήριο βαθμονόμησης - Kalibrator
CONJ	- Coniugato - Conjugé - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα - Konjugat
MP	- Microplastr rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida	- Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροπλάκα - Powlekana płytka mikrotitracyjna
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio - Tampon de lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης - Bufor do plukania
SUB	- Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato	- Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος - Bufor substratu
STOP	- Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem	- Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης - Roztwór zatrzymujący
SB 5x	- Tampone campione - Tampon Echantillons - Probenpuffer - Diluente de amostra	- Sample buffer - Tampón Muestras - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων - Bufor próbki