

AESKULISA[®]

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA MPO

Ref 3303





Product Ref.	3303
Product Desc.	MPO
Manual Rev. No.	003 : 2013-10-10

Manual de Instruções

Conteúdo

1	Utilização	1
2	Aplicações clínicas e princípio do ensaio	1
3	Componentes do Kit	2
4	Armazenamento e validade	2
5	Avisos e medidas de precaução	3
6	Recolha da amostra, manipulação e armazenamento	4
7	Procedimento do teste	4
8	Interpretação quantitativa e qualitativa	7
9	Dados Técnicos	8
10	Dados do teste / Características do teste	8
11	Bibliografia	11



1 Utilização

AESKULISA MPO é um teste imunoenzimático em fase sólida com mieloperoxidase (MPO) nativa altamente purificada de granulócitos neutrófilos humanos. Ele permite a determinação quantitativa e qualitativa no soro humano de anticorpos contra MPO. Anticorpos anti-MPO detectam epítomos conformacionais específicos, que existem ou são acessíveis apenas em MPO nativo. A determinação destes anticorpos é importante para o diagnóstico diferencial de vasculites auto-imunes.

2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio

Anticorpos contra mieloperoxidase (MPO) pertencem ao grupo de anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos (ANCA) que são especificamente dirigidos contra componentes do citoplasma de granulócitos e monócitos neutrófilos. Originalmente a prova era realizada mediante um teste de imunofluorescência (IFT) indirecto em neutrófilos fixados por etanol. Devido aos diferentes padrões de fluorescência observados, procedeu-se a uma divisão dos ANCA em cANCA com padrão de fluorescência citoplasmático e pANCA com padrão de fluorescência perinuclear. Dado que ambos os padrões de fluorescência representam reacções contra vários antígenos diferentes, o IFT apresenta-se como pouco adequado para o diagnóstico diferencial de vasculites; por isso deve-se verificar o resultado de um IFT mediante uma determinação específica dos anticorpos no ELISA.

cANCA são sobretudo dirigidos contra proteinase 3. Como antígeno principal dos pANCA foi identificada a mieloperoxidase. Contudo foi possível observar que a fluorescência perinuclear dos pANCA não se baseia somente numa reacção contra MPO, mas também contra outros antígenos diferentes, como p.ex. elastase, catepsina G, lactoferrina e lisozima. MPO é uma enzima (de coloração verde) com um peso molecular de aproximadamente 140 kDa, localizada nos grânulos neutrófilos primários. Devido à sua forte carga catiónica, a MPO desloca-se em granulócitos fixados por etanol para as estruturas nucleares de carga negativa (membrana nuclear, DNA) e produz um padrão de fluorescência perinuclear.

ANCA foram descritos como sendo marcadores importantes no diagnóstico diferencial de vasculites auto-imunes. Auto-anticorpos contra MPO surgem na glomerulonefrite idiopática e na glomerulonefrite rapidamente progressiva associada à vasculite. Eles são detectados em 70% na poliangiite microscópica e entre 5-50% na Síndrome de Churg-Strauss.

Princípio do teste

As provas de soro, diluídas a 1:101, são incubadas nos poços que estão revestidas com o antígeno específico. Neste passo os anticorpos específicos do soro do doente, se presentes, unem-se ao antígeno na placa; partes de soro não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. Depois são adicionadas imunoglobulinas anti-humanas, que se encontram marcadas com peroxidase de rábano (conjugado). Durante uma incubação elas unem-se ao complexo antígeno-anticorpo previamente formado, e as imunoglobulinas não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. A prova de anticorpos ligados efectua-se através de uma reacção colorimétrica (azul) enzimática do substrato, que é parada com ácido diluído (mudança da cor para amarelo). A intensidade de cor do cromogénio depende da quantidade de conjugado ligado ao complexo antígeno-anticorpo, sendo dessa forma directamente proporcional à concentração inicial dos respectivos anticorpos na amostra do paciente.

3 Componentes do Kit

DILUIR ANTES DE USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Tampão de amostra (5x)	1 x 20ml	Branco	Amarelo	concentrado 5x Tris, cloreto de sódio (NaCl), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Tampão de lavagem (50x)	1 X 20ml	Branco	Verde	concentrado 50x Tris, NaCl, Tween 20, azido de sódio < 0.1% (conservante)
PRONTO A USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Controlo negativo	1 x 1,5ml	Verde	Incolor	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Controlo positivo	1 x 1,5ml	Vermelho	Amarelo	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibrador Cut-off	1 x 1,5ml	Azul	Amarelo	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibradores	6 x 1,5ml	Branco	Amarelo *	Concentração de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Conjugado, IgG	1 x 15ml	Azul	Azul	Contém: Imunoglobulinas anti-humanas marcadas com peroxidase de rábano, albumina de soro bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15ml	Preto	Incolor	Tetrametil benzidina estabilizada e peróxido de hidrogénio (TMB/H ₂ O ₂)
Solução de paragem	1 x 15ml	Branco	Incolor	Ácido clorídrico 1M
Microplaca	12x8 poços	N/A	N/A	Fracionáveis. Revestimento ver ponto 1.
* Intensidade da cor aumenta com a concentração				
MATERIAIS NECESSÁRIOS				
Fotómetro para microplacas com filtro óptico para 450 nm, opcionalmente com filtro de referência opcional de 620 nm (600-690 nm). Material de vidro (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensaio para as diluições. Agitador de tubos tipo Vortex, micropipetas (10,100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipeta ajustável (100-1000µl). Aparelho de lavagem para microplacas (repetição 300 µl, pipeta multicanal ou sistema automatizado), papel de filtro. Os nossos testes foram concebidos para serem utilizados com água purificada segundo a definição da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP 26 – NF 21) e da Farmacopeia Europeia (Eur.Ph. 4. ^a ed.).				

4 Armazenamento e validade

Todos os reagentes e a microplaca devem ser guardados nas suas embalagens originais a 2-8°C/35-46°F. Soluções diluídas são estáveis durante 1 mês a 2-8°C/35-46°F. Devem ser cumpridas as datas de validade indicadas na embalagem e nos rótulos dos diferentes componentes.

Não usar componentes do kit que estejam fora do prazo de validade Evite a exposição da solução de substrato TMB a luz intensa. Guarde as microplacas sempre fechadas dentro da sua película de embalagem, junto com o dessecante.



5 Avisos e medidas de precaução

5.1 Risco para a saúde

ESTE PRODUTO DEVE SER USADO EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. A aplicação tem de ser realizada por pessoal que tenha sido especialmente instruído e formado no uso de métodos de diagnóstico in vitro. Apesar de este produto não ser considerado como particularmente tóxico ou perigoso em condições de utilização, ver o que se segue para máxima segurança:

Recomendações e medidas de precaução

Dado que alguns componentes do kit contêm reagentes potencialmente perigosos, estes podem causar uma irritação dos olhos e da pele.

ATENÇÃO: Calibradores, controlos e tampões contêm azida de sódio (NaN_3) como conservante. NaN_3 pode ter efeito tóxico, se for ingerido ou absorvido através da pele ou dos olhos. NaN_3 pode formar azidas metálicas altamente explosivas em contacto com canos de chumbo ou cobre. Para evitar concentrações de azida ao remover estas soluções deve-se passar com água em grande quantidade. É favor observar as prescrições locais/nacionais para descontaminação.

Ao trabalhar com o kit não comer, beber ou fumar. Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis.

Os reagentes contidos neste produto, de origem humana (controlos e calibradores), demonstraram ser negativos após análise de antígeno de superfície da hepatite B (HbsAg), hepatite C e HIV 1 e 2. Contudo, em produtos de origem humana nunca se pode excluir com certeza definitiva a existência dos agentes patogénicos mencionados, outros ou de agentes eventualmente desconhecidos ou ainda não diagnosticados. Por isso os controlos, calibradores e soros dos doentes devem ser considerados transmissores potenciais de infecções e manuseados segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

O kit contém material de origem animal conforme indicado no índice, manuseie segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

5.2 Avisos gerais

Caso as informações sobre o produto, incluindo a rotulagem, tiverem erros ou estiverem incorrectas, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Não misturar ou substituir controlos, calibradores, conjugados ou microplacas de diferentes números de lote. Isto pode levar a variações nos resultados.

Todos os componentes do kit devem atingir a temperatura ambiente ($20\text{-}32^\circ\text{C}/68\text{-}89,6^\circ\text{F}$) e ser bem agitados antes do teste.

É impreterível seguir o protocolo prescrito para a realização do teste.

Incubação: Para a realização automática de testes recomendamos uma temperatura de $30^\circ\text{C}/86^\circ\text{F}$.

Nunca exponha os componentes do kit a temperaturas superiores a $37^\circ\text{C}/98,6^\circ\text{F}$.

Pipete a solução de substrato sempre com pontas de pipeta novas para evitar contaminações. Proteja a solução de substrato de luz intensa. Nunca pipete o a solução do conjugado com pontas de pipeta que estejam contaminadas com outros reagentes.

Um diagnóstico clínico definitivo não se deve basear somente nos resultados do teste realizado, mas deve ser elaborado pelo médico, tendo em conta todos os resultados clínicos e de laboratório. O diagnóstico deve ser impreterivelmente confirmado com diferentes métodos diagnósticos.



6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento

Recomenda-se a utilização de amostras de soro colhidas na altura. A extracção de sangue deve seguir os requerimentos de protocolo do seu país. Não utilize amostras de soro ictéricas, lipémicas, hemolizadas ou contaminadas por bactérias.

Em caso de amostras turvas, as partículas devem ser centrifugadas a baixa velocidade (<1000 x g). As amostras de sangue devem ser tomadas em tubos limpos, secos e vazios. Após a separação, as amostras de soro devem ser utilizadas nas primeiras 8 horas, guardadas num local bem fechado até 48 horas a 2-8°C/35-46°F, se for necessário um armazenamento mais prolongado, devem ser congeladas a -20°C/-4°F.

7 Procedimento do teste

7.1 Preparação

Diluição de reagentes concentrados:

Dilua o tampão de amostra concentrado 1:5 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 80 ml)

Dilua o tampão de lavagem concentrado 1:50 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 980 ml).

Para evitar erros, sugerimos a marcação das tampas dos vários calibradores.

Diluição das amostras dos doentes:

Dilua e misture as amostras de soro 1:101 com tampão de amostra (1x),

p.ex. 1000 µl tampão de amostra + 10 µl de soro.

Lavagem:

São necessários 20 ml de tampão de lavagem diluído (1x) para 8 poços ou 200 ml para 96 poços p.ex. 4 ml de concentrado mais 196 ml de água destilada.

Lavagem automatizada:

Para a colocação em serviço do instrumento e o volume morto deve, ser consideradas quantidades adicionais de tampão de lavagem.

Lavagem manual:

Remova cuidadosamente o líquido ao bater a placa sobre papel filtrante. Pipete 300 µl de tampão de lavagem diluído em cada poço, espere 20 segundos. Repita o procedimento mais duas vezes.

Microplacas:

Retire os poços não usados, armazenando-os a 2-8°C/35-46°F de forma bem fechada dentro da película da embalagem, junto com o dessecante.

7.2 Schéma de pipetage

Sugerimos a pipetagem de calibradores, controlos e amostras da seguinte forma:

para interpretação quantitativa					para interpretação qualitativa				
	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: calibrator A

CalD: calibrator D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrator B

CalE: calibrator E

NC: negative control

P2: patient 2


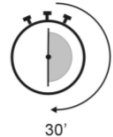
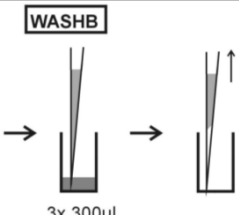
CalC: calibrator C

CalF: calibrator F

CC: cut-off calibrator

P3: patient 3

7.3 Passos de teste

Pas so	Descrição
1.	Verifique se as preparações do passo 7.1 acima foram realizadas antes da pipetagem.
2.	Utilize os passos que se seguem de acordo com os resultados de interpretação quantitativa/qualitativa pretendidos:
CONTROLOS E AMOSTRAS	
3.	 <p>Pipete para os poços conforme descrito no ponto 7.2 acima, 100 µl de um dos seguintes:</p> <ol style="list-style-type: none"> Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interpretação QUANTITATIVA ou Calibrado Cut-off (CC) para interpretação QUALITATIVA <p>e 100 µl de cada um dos seguintes:</p> <ul style="list-style-type: none"> Controlo negativo (NC) e Controlo positivo (PC) e Soro diluído dos pacientes (P1, P2...)
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.</p>
5.	 <p>Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.</p>



CONJUGAR

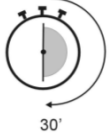
6.

CONJ



Pipete 100 µl de conjugado em cada poço.

7.



Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.

8.

WASHB



Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.

SUBSTRATO

9.

SUB



Pipete 100 µl de substrato TMB em cada poço.

10.

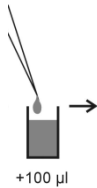


Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F, protegida de luz intensa.

PARAGEM

11.

STOP



Pipete 100 µl da solução de paragem dentro de cada poço, na meMPOa sequência da pipetagem do substrato.

12.

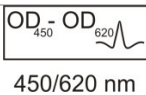


Incube durante 5 minutos, no mínimo.

13.

Agite cuidadosamente a placa durante 5 segundos.

14.



Leia a densidade óptica a 450 nm dentro de 30 minutos (recomendável a 450/620 nm).



8 Interpretação quantitativa e qualitativa

A **interpretação quantitativa** realiza-se com base numa curva padrão, em que a densidade óptica dos calibradores (eixo y) é traçada contra a concentração em U/ml (eixo x). É recomendada uma escala log/lin e um ajuste de 4 parâmetros para a interpretação. Com base na curva é determinada a concentração de anticorpos em U/ml a partir da densidade óptica da amostra.

Gama Normal	Duvidosos	Resultados positivos
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Exemplo de interpretação

Este exemplo **NÃO** pode ser usado para interpretar os resultados dos pacientes

Calibradores IgG	DO 450/620 nm	CV % (Variância)
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

Exemplo de cálculo

Paciente	Replicado (OD)	Valor médio (OD)	Resultado (U/ml)
P 01	0,794/0,792	0,793	32,1
P 02	1,345/1,321	1,333	84,5

As amostras acima da gama do calibrador mais elevado devem ser referidas como >Max. Devem ser diluídas conforme necessário voltar a realizar o ensaio. As amostras abaixo da gama do calibrador devem ser referidas como < Min.

Consulte o certificado de controlo junto para dados específicos do lote. Laboratórios médicos devem realizar um controlo de qualidade interno, utilizando controlos próprios e/ou um „pool“ de soros interno segundo os regulamentos da UE.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais, com base nas suas próprias técnicas, controlos, equipamento e população de doentes.

No caso dos valores dos controlos não cumprirem os critérios, o teste é inválido e deverá ser repetido.

Devem verificar-se as seguintes questões técnicas: Prazo de validade dos reagentes (preparados), condições de armazenamento, pipetas, aparelhos, fotómetro, condições de incubação e métodos de lavagem.

Se os itens testados mostrarem valores aberrantes ou qualquer tipo de desvio ou se os critérios de avaliação não forem cumpridos sem causa plausível, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Na **interpretação qualitativa** efectua-se a comparação da densidade óptica (DO) da amostra dos doentes com a densidade óptica do calibrador cut-off. Se a densidade óptica da amostra do doente se situar na gama de +/-20% do calibrador cut-off, então deve ser considerada como valor limite. Em caso de uma DO mais elevada, a amostra do doente é considerada positiva, amostras com DOs mais baixas são consideradas negativas.

Negativo:		DO doente	<	0,8 x DO cut-off
Dudosos:	0,8 x	DO cut-off	≤	DO doente ≤ 1,2 x DO cut-off
Positivo:		DO doente	>	1,2 x DO cut-off

9 Dados Técnicos

Amostra:	soro
Volume de amostra:	10 µl de amostra diluída a 1:101 com tampão de amostra 1x
Tempo total de incubação:	90 minutos à temperatura 20-32°C/68-89,6°F
Intervalo de calibração:	0-300 U/ml
Sensibilidade analítica:	1,47 U/ml
Armazenamento:	a 2-8°C/35-46°F utilize apenas os frascos originais
Número de determinações:	96 testes

10 Dados do teste / Características do teste

10.1 Sensibilidade analítica

Testar o buffer de amostra 60 vezes no AESKULISA MPO e 8 amostras negativas baixas para 8 vezes dão um limite de detecção de 1,47 U/ml.

10.2 Especificidade e sensibilidade

As microplacas estão revestidas com Mieloperoxidase humana nativa. Os anticorpos contra MPO estão correlacionados com idiopatias ou vasculite associadas a glomerulonefrite crescente necrosante e encontram-se frequentemente em cerca de 60% dos pacientes com poliangiite microscópica, em 10-20% dos pacientes com granulomatose de Wegener e 30-50% dos pacientes com síndrome Churg-Strauss.^{3,10}

Foram testados 151 soros de pacientes que sofrem de granulomatose de Wegener, poliangiite microscópica e de outras doenças auto-imunes no AESKULISA MPO e um dispositivo predicado. Desses, 79 soros estão dentro do intervalo do ensaio e foram utilizados para um estudo de comparação em relação a um dispositivo predicado.

AESKULISA MPO	Dispositivo predicado				Total
	POS	equiv	NEG		
POS	39	4	0		43
Neg	0	7	29		36
Total	39	11	29		79

		95% C.I.
Acordo de percentagem geral*	94,9%	87,7% para 98,0%
Acordo de percentagem positivo	100%	91,0% para 100%
Acordo de percentagem negativo*	90,0%	77,0% para 96,0%

* Um resultado equívoco do dispositivo predicado foi considerado como negativo para este cálculo.

Para um estudo de comparação clínica, apenas as amostras que devem mostrar claramente os anticorpos MPO (nefrite de glomérulo, poliangiite microscópica) foram considerados como positivos para o cálculo de sensibilidade/especificidade de diagnóstico. Todos os outros diagnósticos, apesar de poderem ter presentes anticorpos MPO, foram considerados como "sendo negativos" (dados completos sob pedido).

AESKULISA MPO	diagnóstico			Total
		POS	NEG	
	POS	32	6	38
	Neg	2	99	101
	Total	34	105	139

		95% C.I.	
Acordo de percentagem geral*	94,2%	89,1% 97,1%	para
Acordo de percentagem positivo*	94,1%	80,9% 98,4%	para
Acordo de percentagem negativo*	94,3%	88,1% 97,4%	para

* Apenas as amostras com doenças com presença clara de anticorpos MPO foram consideradas.

Número de amostras com	AESKULISA MPO		
	POS	NEG	Total
Diagnóstico			
Perda auditiva grave	1	0	1
Doença renal crónica	0	1	1
Churg-Strauss	0	2	2
COPD	3	0	3
Doença de Crohn	0	6	6
Endocardite	0	1	1
Síndrome de Goodpasture	0	1	1
saudável	1	0	1
HIV	0	1	1
paralisia	0	1	1
Polimialgia reumática (vasculite)	0	1	1
Artrite reactiva	0	21	21
Artrite reumatóide	0	1	1
SLE	1	0	1
Colite ulcerativa	0	6	6
Colite ulcerativa (infecção fúngica séptica)	0	1	1
Granulomatose de Wegener	0	56	56
<i>Nefrite de glomérulo (c-ANCA positivo)*</i>	0	1	1
<i>Nefrite de glomérulo (GN)*</i>	2	0	2
<i>mPAN*</i>	30	0	30
<i>Granulomatose de Wegener / GN*</i>	0	1	1
Total	38	101	139

10.3 Linearidade

Foram analisados com este kit soros seleccionados e determinou-se que deviam diluir-se linearmente. No entanto, devido à natureza heterogénea dos auto-anticorpos humanos, podem existir amostras que não sigam esta regra.

Amostra No.	Factor de Diluição	Concentração medida (U/ml)	Concentração esperada (U/ml)	Recuperação (%) 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 Precisão

Para determinar a precisão do ensaio, avaliou-se a variabilidade (intra e inter-ensaio) através da análise da sua reproducibilidade em oito amostras de soro. Estas amostras foram seleccionadas para representar um intervalo acima da curva padrão.

Intra-ensaio			Inter-ensaio			Variabilidade lote-para-lote		
N.º de amostra	Valor médio (U/ml)	CV (%)	N.º de amostra	Valor médio (U/ml)	CV (%)	N.º de amostra	Valor médio (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 Calibração

O sistema de medição quantitativo é calibrado em unidades provisórias, dado não existir um padrão de referência internacional. Os resultados são indicados em U/ml.



11 Bibliografia

- 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.
- Baslund B and Wiik A (1994).** *Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) and vasculitis.* Clin Rev Allergy; 12: 297-304.
- Bosch X, Guilabert A, and Font J (2006).** *Antineutrophil cytoplasmic antibodies.* Lancet; 368: 404-418.
- Savage 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.
- Talor 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.
- Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L et al. (1995).** *A diversidade dos antígenos para anticorpos citoplasmáticos antineutrófilos perinucleares (pANCA).* Clin Exp Immunol; 101: Suppl 1, 15-17.
- Sutton BJ, Little C, Olsen RL and Willassen NP (1988).** *Preliminary crystallographic analysis of human myeloperoxidase.* J Mol Biol; 199: 395-396.
- Zeng J and Fenna RE (1992).** *X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 Å resolution.* J Mol Biol; 226: 185-207.
- Radice A and Sinico RA (2005).** *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Autoimmunity; 38: 93-103.
- Kallenberg CGM (2007).** *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase.* in *Autoantibodies* (ed. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL) (2007) 2nd Edition 95-103

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 ηθό κέζ ο
REF	° Numero d'ordine ° Référence Catalogue ° Bestellnummer ° Número de catálogo	° Catalogue number ° Numéro de catálogo ° Αριθμός παραγγελίας
LOT	° Descrizione lotto ° Lot ° Chargen Bezeichnung ° Lote	° Lot ° Lote ° Χαραθερικό κός παρηδας
CE	° Conformità europea ° Déclaration CE de Conformité ° Europäische Konformität ° Declaração CE de Conformidade	° EC Declaration of Conformity ° Declaración CE de Conformidad ° Εορπη αθρή ζακθφλια
	° 96 determinazioni ° 96 tests ° 96 Bestimmungen ° 96 Testes	° 96 tests ° 96 pruebas ° 96 προζ δπρηζ κoi
	° Rispettare le istruzioni per l'uso ° Voir les instructions d'utilisation ° Gebrauchsanweisung beachten ° Ver as instruções de uso	° See instructions for use ° Ver las instrucciones de uso ° Λάβετε σπόυ ε ηησ οδεγίες τρήζ ες
	° Da utilizzarsi entro ° Utilise avant le ° Verwendbar bis ° Utilizar antes de	° Use by ° Utilizar antes de ° Χρήζε κέτηη
	° Conservare a 2-8°C ° Conserver à 2-8°C ° Lagerung bei 2-8°C ° Conservar entre 2-8°C	° Store at 2-8°C (35-46°F) ° Conservar a 2-8°C ° Φοιάζ ζεηηής ηρος 2-8°C
	° Prodotto da ° Fabriqué par ° Hergestellt von ° Fabricado por	° Manufactured by ° Fabricado por ° Καηαζ θεοόδερηαπό
CO-CAL	° Calibratore cut-off ° Etalon Seuil ° Grenzwert Kalibrator ° Calibrador de cut-off	° Cut off Calibrator ° Calibrador de cut-off ° Ορηθός ορός Αληθραζ ηήρηη βαζ κολόκε ζε ες
CON+	° Controllo positivo ° Contrôle Positif ° Positiv Kontrolle ° Controllo positivo	° Positive Control ° Control Positivo ° Θεηηός ορός εί ε ηη σσ
CON-	° Controllo negativo ° Contrôle Négatif ° Negativ Kontrolle ° Controllo negativo	° Negative Control ° Control Negativo ° Αρηε ηθός ορός εί ε ηη σσ
CAL	° Calibratore ° Etalon ° Kalibrator ° Calibrador	° Calibrator ° Calibrador ° Αληθραζ ηήρηη βαζ κολόκε ζε ες
RC	° Recupero ° Corrélation ° Wiederfindung ° Recuperação	° Recovery ° Recuperado ° Αλάθηε ζε
CONJ	° Coniugato ° Conjugé ° Konjugat ° Conjugado	° Conjugate ° Conjugado ° Σύδωγκα
MP	° Micropiastra rivestita ° Microplaque sensibilisée ° Beschichtete Mikrotiterplatte ° Microplaca revestida	° Coated microtiter plate ° Microplaca sensibilizada ° Επηθαιο κκέλε κίθηροπιάθα
WASHB 50x	° Tampone di lavaggio ° Tampon de Lavage ° Waschpuffer ° Solução de lavagem	° Wash buffer ° Solución de lavado ° Ροζ κίε ηθό δπηη σκα πηύ ζε ες
SUB	° Tampone substrato ° Substrat ° Substratpuffer ° Substrato	° Substrate buffer ° Tampón sustrato ° Ροζ κίε ηθό δπηη σκα σποζ ηρωκαηος
STOP	° Reagente bloccante ° Solution d'Arrêt ° Stopreagenz ° Solução de paragem	° Stop solution ° Solución de parada ° Αληθραζ ηήρηη δπθηοηής αληδραζ ες
SB 5x	° Tampone campione ° Tampon Echantillons ° Probenpuffer ° Diluente de amostra	° Sample buffer ° Tampón Muestras ° Ροζ κίε ηθό δπηη σκα δεηηκ άηηηη