

# IDK<sup>®</sup> MPO ELISA

*Zur in-vitro-Bestimmung von Myeloperoxidase (MPO)  
in Stuhl und Urin*

*For the in vitro determination of myeloperoxidase (MPO)  
in stool and urine*

Gültig ab / Valid from 2022-01-26

**REF** K 6630



**IVD**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

# Inhalt

<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>2</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>2</b>
<b>3. INHALT DER TESTPACKUNG</b>	<b>3</b>
<b>4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL</b>	<b>4</b>
<b>5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>4</b>
<b>6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG</b>	<b>5</b>
<i>Lagerung der Urinproben</i>	5
<i>Verdünnung der Urinproben</i>	5
<i>Lagerung der Stuhlproben</i>	5
<i>Stuhlprobenextraktion</i>	5
<i>Verdünnung der Stuhlproben</i>	7
<b>7. TESTDURCHFÜHRUNG</b>	<b>7</b>
<i>Testprinzip</i>	7
<i>Pipettierschema</i>	7
<b>8. ERGEBNISSE</b>	<b>9</b>
<b>9. EINSCHRÄNKUNGEN</b>	<b>10</b>
<b>10. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>10</b>
<i>Referenzwerte</i>	10
<b>11. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>11</b>
<i>Genauigkeit – Präzision</i>	11
<i>Linearität</i>	11
<i>Analytische Sensitivität</i>	12
<i>Analytische Spezifität</i>	12
<b>12. VORSICHTSMASSNAHMEN</b>	<b>13</b>
<b>13. TECHNISCHE MERKMALE</b>	<b>13</b>
<b>14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>14</b>
<b>15. LITERATUR</b>	<b>14</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von Myeloperoxidase (MPO) aus Urin und Stuhl geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

## 2. EINLEITUNG

MPO ist Teil des Abwehrmechanismus der polymorphnuklearen Leukozyten gegen körperfremde Stoffe. Wenn es zu einer bakteriellen Infektion kommt, wandern diese Leukozyten, stimuliert durch chemotaktisch wirksame Substanzen (Leukotriene, Komplementfaktoren, Bakterientoxine u. a.), zum Infektionsort. Dort lagern sie sich an die Fremdkörper an und umschließen diese. Wenn sich der Fremdkörper in einer Vakuole befindet, werden verschiedene Stoffe zur intravesikulären Verdauung eingesetzt. Dazu zählen MPO, kationische Proteine, Lysozyme, Lactoferrin und einige saure Hydrolasen. Es findet ein starker Schub des oxidativen Stoffwechsels statt, wobei in erhöhtem Maß Sauerstoffradikale entstehen. Durch diese Moleküle wird der Fremdstoff zerstört.

Bei diesem Vorgang gelangen einige dieser Abwehrstoffe in den extrazellulären Raum. Dies geschieht in erhöhtem Maß, wenn die Leukozyten den Fremdkörper aufgrund der Größe nicht umschließen können oder wenn sie selbst zerstört werden (durch Bakterientoxine, kristalline Substanzen u. a.).

MPO bildet mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  und einem Halogen ein sehr starkes antimikrobielles System, das eine Vielzahl von Mikroorganismen wirksam bekämpfen kann.

MPO ist in den neutrophilen Leukozyten in hoher Konzentration vorhanden, während Wasserstoffperoxid erst durch den Stoffwechschel Schub in stärkerem Maß gebildet wird oder durch die angegriffenen Mikroorganismen freigesetzt wird. Als benötigtes Halogen dient Chlorid, das in den Leukozyten in ausreichender Menge vorhanden ist. Jod ist etwa 100fach effektiver, aber nur in geringen Konzentrationen im Serum. Es kann durch jodierte Hormone, Thyroxin und Triiodthyronin, ersetzt werden. Sie werden während der Phagozytose durch die Leukozyten dejodiert.

Das MPO-System wird durch Katalase, überschüssiges  $\text{H}_2\text{O}_2$  und einige andere Reduktionsmittel (z.B. Ascorbinsäure, Glutathion) inhibiert. Fehlen diese Stoffe, so kann das MPO-System im extrazellulären Raum auch andere Zellen angreifen. Dazu gehören Spermatozyten, Erythrozyten, Leukozyten und Tumorzellen. Die Wirkungsweise des Systems beruht auf der Halogenierung von Proteinen und der Erzeugung von hochreaktivem Singulett-Sauerstoff. MPO wird von den neutrophilen Granulozyten eingesetzt, um Chloridionen mittels  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu oxidieren. Die resultierende hypochlorige Säure ist ebenfalls ein starkes antibakterielles Agens.

Untersuchungen an Patienten mit entzündlicher Darmerkrankung zeigen eine Erhöhung des MPO-Gehalts im Stuhl in Abhängigkeit vom Entzündungsstadium.

## Indikationen

- Marker für Entzündungsaktivitäten im gastrointestinalen Bereich (Stuhl)
- Nierentransplantatabstoßung (Urin)
- Oxidativer Stress (Serum)
- Zur Differenzierung von allergischem und infektbedingtem Asthma (Bronchi-  
allavage, Atemluftkondensat, Sputum)

## 3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 6630	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	2 x 100 ml
K 6630	CONJ	Konjugatkonzentrat (peroxidasemarkiertes Streptavidin)	1 x 200 µl
K 6630	AB	Detektionsantikörperkonzentrat (monoklonaler Maus anti-MPO, biotinyliert)	1 x 200 µl
K 6630	STDBUF	Standardverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 35 ml
K 6630	STD	Standards, lyophilisiert (Konzentrationen der Spezifikation entnehmen)	4 x 5 vials
K 6630	CTRL 1	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifikation entnehmen)	4 x 1 vial
K 6630	CTRL 2	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifikation entnehmen)	4 x 1 vial
K 6630	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 50 ml
K 0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

#### 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser\*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

#### 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **WASHBUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Die lyophilisierten Standards (STD) und Kontrollen (CTRL)** sind bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Rekonstitutionsvorgaben für STD und CTRL sind dem Spezifikationsdatenblatt zu entnehmen. **Standards und Kontrollen** (rekonstituierte STD und CTRL) **sind nicht stabil und können nicht gelagert werden**.
- **Vorbereitung des Detektionsantikörpers:** Das **Detektionsantikörperkonzentrat (AB)** wird vor Gebrauch **1:101** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl AB

+ 10 ml Waschpuffer). Das AB ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Der **Detektionsantikörper** (1:101 verdünntes AB) **ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.**

- **Vorbereitung des Konjugats:** Das **Konjugatkonzentrat (CONJ)** wird vor Gebrauch **1:101** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Das CONJ ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Konjugat** (1:101 verdünntes CONJ) **ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.**
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

## 6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

### *Lagerung der Urinproben*

Urin sollte bis zur Messung bei -20 °C gelagert werden. MPO ist im Urin für 4 Wochen bei -20 °C stabil.

### *Verdünnung der Urinproben*

Vor dem Einsatz im Test wird Urin **1:10** verdünnt,

z. B. **100 µl** Urin + **900 µl** Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF), gut mischen.

Pro Vertiefung werden **100 µl** der Verdünnung im Test eingesetzt.

### *Lagerung der Stuhlproben*

MPO ist im Rohstuhl für 10 Wochen bei -20 °C stabil.

MPO im Stuhlextrakt ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.

### *Stuhlprobenextraktion*

Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) wird als **Probenextraktionspuffer** verwendet. Wir empfehlen folgende Probenvorbereitung:

### **Stuhlprobenaufbereitungssystem (SAS) (Artikel-Nr. K 6998SAS)**

#### ***Stuhlprobenröhrchen - Anwendung***

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der Stuhlsuspension von der aufgenommenen Stuhlmenge und dem Puffervolumen abhängig ist:

**SAS mit 0,75 ml Probenextraktionspuffer:**

Aufgenommene Stuhlmenge:	15 mg
Puffervolumen:	0,75 ml
Verdünnungsfaktor:	1:50

Die Aufbereitung von Stuhlproben mit Hilfe des SAS wird wie folgt durchgeführt:

- a) Die Rohprobe muss aufgetaut sein, bei auffallend inhomogenen Proben empfiehlt sich eine mechanische Homogenisierung durch Spatel, Impföse o. Ä.
- b) Das **unbefüllte Stuhlprobenröhrchen** vor der Verwendung mit **0,75 ml Probenextraktionspuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) **befüllen. Wichtig:** Probenextraktionspuffer vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen!
- c) Röhrchen aufschrauben (gelbes Gewinde), der untere Teil des Stäbchens weist Einkerbungen auf, welche durch Einstechen in die Stuhlprobe vollkommen mit Probe bedeckt werden müssen. Anschließend das Stäbchen durch den Abstreifring zurück ins Röhrchen stecken (leichter Widerstand) und fest verschrauben.
- d) Das Röhrchen so lange vortexen bis keine Stuhlreste mehr in den Einkerbungen auszumachen sind. Für die Erhebung valider Messwerte ist darauf zu achten, dass die Stuhlsuspension nach dem Mischungsprozess eine möglichst homogene Konsistenz aufweist. Bei besonders festen Stühlen kann die Homogenität der Suspension durch längeres Einweichen (ca. 10 min) des Stuhls im Probenextraktionspuffer bedeutend gesteigert werden.
- e) Nach erfolgter Suspendierung der Probe wird das Röhrchen ca. 10 Minuten stehen gelassen. Aufschwimmende Schalen von Körnern u. Ä. können hierbei vernachlässigt werden.
- f) Anschließend wird der gesamte Kopf des Stuhlprobenröhrchens (blauer Ring) zusammen mit dem Stäbchen vorsichtig abgeschraubt und verworfen. Beim Abschrauben des Kopfes ist darauf zu achten, dass das abgesetzte Sediment nicht erneut aufgewirbelt wird.

**Verdünnung I****1:50**

### *Verdünnung der Stuhlproben*

Die Suspension aus der Probenvorbereitung (Verdünnung I) wird **1:10 mit Waschpuffer** weiterverdünnt. Zum Beispiel:

**100 µl** Überstand (Verdünnung I) + **900 µl** Waschpuffer, mischen = **1:10 (Verdünnung II)**.

Diese entspricht nun einer Gesamtverdünnung von **1:500**.

**100 µl** der **Verdünnung II** werden im Test pro Vertiefung eingesetzt.

## **7. TESTDURCHFÜHRUNG**

### *Testprinzip*

Dieser ELISA dient zur quantitativen Bestimmung von Myeloperoxidase (MPO) aus Stuhl und Urin.

In diesem ELISA wird die MPO aus den Proben an Antikörper gebunden, welche an die Mikrotiterplatte fixiert sind. Die Quantifizierung des gebundenen MPO erfolgt nach einem Waschvorgang durch ein Antikörper-Peroxidase/TMB-System. Nach Zugabe einer Stopplösung wechselt die Farbe von blau nach gelb. Die Farbentwicklung ist dabei zur nachgewiesenen Analytmenge (Probe bzw. Standard) proportional.

Anhand einer mitgeführten Standardkurve – optische Dichte (Absorption bei 450nm) versus Standardkonzentration – lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln.

### *Pipettierschema*

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30°C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Standards/Kontrollen/Proben im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen müssen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.



1.	Die Vertiefungen <b>vor Gebrauch 5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
2.	Je <b>100 µl Standards/Kontrollen/vorbereitete Proben</b> in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
3.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
4.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
5.	<b>100 µl Detektionsantikörper</b> (verdünntes AB) in jede Vertiefung pipettieren.
6.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
7.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
8.	<b>100 µl Konjugat</b> (verdünntes CONJ) in jede Vertiefung pipettieren.
9.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
10.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
11.	<b>100 µl Substrat</b> (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.
12.	<b>10–20 min**</b> bei Raumtemperatur (15–30 °C) <b>im Dunkeln</b> inkubieren.
13.	<b>100 µl Stopplösung</b> (STOP) in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen
14.	<b>Extinktion sofort</b> im Mikrotiterplattenphotometer bei <b>450 nm</b> gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei <b>405 nm</b> gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

\* Wir empfehlen die Streifen bei 550 rpm (Umdrehungen pro Minute) mit einem Orbit von 2 mm zu schütteln.

\*\* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen, den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

## 8. ERGEBNISSE

Die unten beschriebenen mathematischen Modelle können alternativ zur Auswertung benutzt werden. Wir empfehlen die 4-Parameter-Funktion:

### 1. 4-Parameter-Funktion

Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z. B. 0,001).

### 2. Punkt-zu-Punkt-Auswertung

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

### 3. Gewichtete Spline-Funktion

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

## Urinproben

Die ermittelten Ergebnisse werden mit dem Verdünnungsfaktor **10** multipliziert, um die tatsächlichen Konzentrationen zu erhalten.

## Stuhlproben

Die ermittelte MPO-Konzentration der Stuhlprobe wird wie im folgendem Beispiel berechnet:

Einwaage: 15 mg (1 ml Stuhl = 1 g) = 0,015 ml

Verdünnung I: 0,75 ml / 0,015 ml = 50

Verdünnung II: 10

Verdünnungsfaktor: 50 x 10 = 500

Die ermittelten Ergebnisse werden mit dem Verdünnungsfaktor **500** multipliziert, um die tatsächlichen Konzentrationen zu erhalten.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

## 9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) müssen stärker verdünnt und erneut gemessen werden. Bitte beachten Sie diese stärkere Verdünnung bei der Ergebnisberechnung.

Proben mit Konzentrationen unterhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können nicht klar quantifiziert werden.

Die Obergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*höchste Konzentration der Standardkurve* × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

Die Untergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*Analytische Sensitivität* × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

Analytische Sensitivität siehe Kapitel „Testcharakteristika“.

## 10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

### *Referenzwerte*

Stuhl: < 2000 ng/ml

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

## 11. TESTCHARAKTERISTIKA

### Genauigkeit – Präzision

#### Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 12

Die Wiederholbarkeit wurde mit 3 Stuhlproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, Messgerät, Tag, Kitcharge identisch) bestimmt.

Probe	Mittelwert [ng/ml]	VK [%]
1	15,54	5,2
2	33,98	3,2
3	5,82	3,2

#### Reproduzierbarkeit (Inter-Assay); n = 34

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 2 Kontrollen unter **variablen** Bedingungen (Bediener, Messgeräte, Tage, Kitchargen unterschiedlich) bestimmt.

Probe	Mittelwert [ng/ml]	VK [%]
1	5,01	12,8
2	21,21	9,1

### Linearität

Die Linearität zeigt die Fähigkeit einer Methode, ein Ergebnis proportional zur Analytkonzentration in einer Probe zu liefern. Sie wurde mittels einer seriellen Verdünnung von 3 Stuhlproben nachgewiesen.

Für MPO in Stuhl wurde Bezug auf die Standardkurve ohne Berücksichtigung der verwendeten Probenverdünnung ein lineares Verhalten im Bereich von 2,76 bis 121,00 ng/ml nachgewiesen. Die Nicht-Linearität lag bei weniger als  $\pm 20\%$ .

Probe	Verdünnung	Erwartet [ng/ml]	Gemessen [ng/ml]	Wiederfindung [%]
1	1:1 000	121,00	121,00	100,00
	1:2 000	60,50	54,00	89,26
	1:4 000	30,25	33,50	110,74
	1:8 000	15,13	13,63	90,08
	1:16 000	7,56	7,13	94,21
	1:32 000	3,78	3,66	96,69

Probe	Verdünnung	Erwartet [ng/ml]	Gemessen [ng/ml]	Wiederfindung [%]
2	1:500	88,20	88,20	100,00
	1:1 000	44,10	44,00	99,77
	1:2 000	22,05	23,50	106,58
	1:4 000	11,03	13,13	119,05
	1:8 000	5,51	4,43	80,27
	1:16 000	2,76	3,35	121,54
3	1:4 000	55,75	55,75	100,00
	1:8 000	27,88	22,00	78,92
	1:16 000	13,94	12,06	86,55
	1:32 000	6,97	6,56	94,17
	1:64 000	3,48	3,88	111,21

### Analytische Sensitivität

Der im Folgenden aufgeführte Wert wurden in Bezug auf die Standardkurve ohne Berücksichtigung eventuell verwendeter Probenverdünnungsfaktoren ermittelt.

Leerwert (*limit of blank*, LoB)

0,137 ng/ml

### Analytische Spezifität

Die Spezifität wurde nachgewiesen durch Bestimmung der Kreuzreaktivität verwandter Substanzen. Es wurde keine Kreuzreaktivität nachgewiesen.

Getestete Substanz	Eingesetzte Konzentration	Gefundene Konzentration [OD]	Fazit
α1-Antitrypsin	90 µg/l	0,010	< LoB
Albumin	800 µg/l	0,009	< LoB
CRP	150 ng/ml	0,009	< LoB
Lysozym	30 ng/ml	0,008	< LoB
slgA	600 ng/ml	0,012	< LoB
PMN-Elastase	40 ng/ml	0,019	< LoB
Calprotectin	500 ng/ml	0,008	< LoB
Hämoglobin	100 ng/ml	0,013	< LoB

## 12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei der Immundiagnostik AG erhalten.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (WASHBUF) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können.

**Achtung:** Verursacht schwere Augenreizung. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ).  $H_2SO_4$  ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden.  $H_2SO_4$  verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

## 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.













## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- IDK® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettierolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

## 15. LITERATUR

Saiki, T., 1998. Myeloperoxidase concentrations in the stool as a new parameter of inflammatory bowel disease. *The Kurume medical journal*, **45**(1), pp.69–73.

**Verwendete Symbole:**

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Reizend



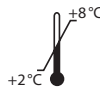


# IDK<sup>®</sup> MPO ELISA

*For the in vitro determination of myeloperoxidase (MPO)  
in stool and urine*

Valid from 2022-01-26

**REF** K 6630



**IVD** **CE**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

# Table of Contents

<b>1. INTENDED USE</b>	<b>19</b>
<b>2. INTRODUCTION</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>19</b>
<b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>20</b>
<b>5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS</b>	<b>20</b>
<b>6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES</b>	<b>21</b>
<i>Storage of urine samples</i>	21
<i>Dilution of urine samples</i>	21
<i>Storage of the stool samples</i>	21
<i>Extraction of the stool samples</i>	22
<i>Dilution of stool samples</i>	23
<b>7. ASSAY PROCEDURE</b>	<b>23</b>
<i>Principle of the test</i>	23
<i>Test procedure</i>	23
<b>8. RESULTS</b>	<b>25</b>
<b>9. LIMITATIONS</b>	<b>26</b>
<b>10. QUALITY CONTROL</b>	<b>26</b>
<i>Reference range</i>	26
<b>11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS</b>	<b>27</b>
<i>Accuracy – Precision</i>	27
<i>Linearity</i>	27
<i>Analytical sensitivity</i>	28
<i>Analytical specificity</i>	28
<b>12. PRECAUTIONS</b>	<b>29</b>
<b>13. TECHNICAL HINTS</b>	<b>29</b>
<b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE</b>	<b>30</b>
<b>15. REFERENCES</b>	<b>30</b>

## 1. INTENDED USE

This Immundiagnostik AG assay is an enzyme immunoassay intended for the quantitative determination of myeloperoxidase (MPO) in urine and stool. For *in vitro* diagnostic use only.

## 2. INTRODUCTION

The granules of neutrophils (approx. 70% of the white blood cells) contain a large number of different enzymes. Myeloperoxidase (MPO) catalyses the oxidation of substances through  $H_2O_2$ . The MPO  $H_2O_2$ -system has a toxic effect on many microorganisms such as bacteria, fungi, viruses and mycoplasma. The efficiency of the bacteria-destructive myeloperoxidase  $H_2O_2$ -system is increased by PMN-Elastase. MPO determination in the stool reflects the inflammatory activity of Crohn's disease or ulcerative colitis.

### Indications

- Marker for inflammatory activities in the gastrointestinal tract (stool)
- Renal transplant rejection (urine)
- Oxidative stress (serum)
- For the differentiation between allergic and infectious asthma (bronchial lavage, respiratory condensate, sputum)

## 3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 6630	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells
K 0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10 x	2 x 100 ml
K 6630	CONJ	Conjugate concentrate (peroxidase-labelled streptavidin)	1 x 200 µl
K 6630	AB	Detection antibody concentrate (mouse monoclonal anti-MPO antibody, biotinylated)	1 x 200 µl
K 6630	STDBUF	Standard dilution buffer, ready-to-use	1 x 35 ml
K 6630	STD	Standards, lyophilised (see specification for concentrations)	4 x 5 vials
K 6630	CTRL 1	Control, lyophilised (see specification for range)	4 x 1 vial

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 6630	CTRL 2	Control, lyophilised (see specification for range)	4 x 1 vial
K 6630	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer, ready-to-use	1 x 50 ml
K 0002.15	SUB	Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

#### 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water\*
- Calibrated precision pipettors and 10–1 000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

\* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

#### 5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultrapure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt con

- centration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37°C. The **WASHBUF** is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8°C for 1 month**.
- The **lyophilised standards (STD)** and **controls (CTRL)** are stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Reconstitution** details are given in the **specification data sheet**. **Standards and controls** (reconstituted STD and CTRL) **are not stable and cannot be stored**.
- **Preparation of the detection antibody:** Before use, the **detection antibody concentrate (AB)** has to be diluted **1:101** in wash buffer (100µl AB + 10ml wash buffer). The AB is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Detection antibody** (1:101 diluted AB) **is not stable and cannot be stored**.
- **Preparation of the conjugate:** Before use, the **conjugate concentrate (CONJ)** has to be diluted **1:101** in wash buffer (100µl CONJ + 10ml wash buffer). The CONJ is stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. **Conjugate** (1:101 diluted CONJ) **is not stable and cannot be stored**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8°C**.

## 6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

### *Storage of urine samples*

Urine should be stored at –20°C until the measurement. MPO in urine is stable for 4 weeks at –20°C.

### *Dilution of urine samples*

Urine samples must be diluted 1:10 before performing the assay,

e.g. **100 µl** sample + **900 µl** sample dilution buffer (SAMPLEBUF), mix well.

**100 µl** of the dilution are used in the test.

### *Storage of the stool samples*

MPO in raw stool is stable for 10 weeks at -20 °C.

MPO in stool extract is not stable and cannot be stored.

### *Extraction of the stool samples*

**Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) is used as a **sample extraction buffer**. We recommend the following sample preparation:

#### **Stool Sample Application System (SAS) (Cat. No.: K 6998SAS)**

##### ***Stool sample tube – Instructions for use***

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

##### ***SAS with 0.75 ml sample extraction buffer:***

Applied amount of stool:	15 mg
Buffer Volume:	0.75 ml
Dilution Factor:	1:50

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the SAS as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed. For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Fill the **empty stool sample tube** with **0.75 ml sample extraction buffer** (1:10 diluted WASHBUF) before using it with the sample. **Important:** Allow the sample extraction buffer to reach room temperature.
- c) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.
- d) Shake the tube well until no stool sample remains in the notches. Important: Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with sample extraction buffer for ~ 10 minutes improves the result.
- e) Allow sample to stand for ~10 minutes until sediment has settled. Floating material like shells of grains can be neglected.
- f) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

**Dilution I: 1:50**

### *Dilution of stool samples*

The supernatant of the sample preparation procedure (dilution I) is diluted **1:10 in wash buffer**. For example:

**100 µl** dilution I + **900 µl** wash buffer, mix well = **1:10 (dilution II)**. This results in a final dilution of **1:500**.

For analysis, pipet **100 µl** of **dilution II** per well.

## **7. ASSAY PROCEDURE**

### *Principle of the test*

This ELISA is designed for the quantitative determination of myeloperoxidase (MPO) in urine and stool.

In a first incubation step, the myeloperoxidase in the samples is bound to an available excess of antibodies against myeloperoxidase, which are immobilised to the surface of the microtiter plates. To remove all unbound substances, a washing step is carried out. In a second incubation step, a peroxidase-labelled antibody against MPO is added. After another washing step, to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate, tetramethylbenzidine (TMB). An acidic stop solution is then added to stop the reaction. The colour converts from blue to yellow. The intensity of the yellow colour is directly proportional to the concentration of MPO in the sample. A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD) vs. concentration is generated, using results obtained from the calibrators. MPO, present in the patient samples, is determined directly from this curve.

### *Test procedure*

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30 °C) and mix well.

Mark the positions of standards/controls/samples on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from the kit. Store unused strips together with the desiccant bag in the closed aluminium packaging at 2–8 °C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.



1.	<b>Before use</b> , wash the wells <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
2.	Add each <b>100 µl standards/controls/prepared samples</b> into the respective wells.
3.	Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30°C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
4.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
5.	Add <b>100 µl detection antibody</b> (diluted AB) into each well.
6.	Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30°C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
7.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
8.	Add <b>100 µl conjugate</b> (diluted CONJ) into each well.
9.	Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30°C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
10.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
11.	Add <b>100 µl substrate</b> (SUB) into each well.
12.	Incubate for <b>10–20 min**</b> at room temperature (15–30°C) <b>in the dark</b> .
13.	Add <b>100 µl stop solution</b> (STOP) into each well and mix well.
14.	Determine <b>absorption immediately</b> with an ELISA reader at <b>450 nm</b> against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at <b>405 nm</b> against 620 nm as a reference.

\* We recommend shaking the strips at 550 rpm with an orbit of 2 mm.

\*\* The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

## 8. RESULTS

The following algorithms can be used alternatively to calculate the results. We recommend using the 4 parameter algorithm.

### 1. 4 parameter algorithm

It is recommended to use a linear ordinate for the optical density and a logarithmic abscissa for the concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero standard must be specified with a value less than 1 (e.g. 0.001).

### 2. Point-to-point calculation

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

### 3. Spline algorithm

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

The plausibility of the duplicate values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the programme used, the duplicate values should be evaluated manually.

## Urine

The obtained results have to be multiplied by the **dilution factor of 10** to get the actual concentrations.

## Stool samples

For determining the concentration of MPO in stool samples, calculate as described in the following example:

Sample amount: 15 mg (1 ml stool = 1 g) = 0.015 ml

Dilution I: 0.75 ml / 0,015 ml = 50

Dilution II: 10

Dilution factor: 50 x 10 = 500

The obtained results have to be multiplied by the **dilution factor of 500** to get the actual concentrations.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

## 9. LIMITATIONS

Samples with concentrations above the measurement range (see definition below) can be further diluted and re-assayed. Please consider this higher dilution when calculating the results.

Samples with concentrations lower than the measurement range (see definition below) cannot be clearly quantified.

The upper limit of the measurement range can be calculated as:

*highest concentration of the standard curve × sample dilution factor to be used*

The lower limit of the measurement range can be calculated as:

*Analytical sensitivity × sample dilution factor to be used*

Analytical sensitivity see chapter "Performance Characteristics".

## 10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

### *Reference range*

Stool: < 2000 ng/g

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### *Accuracy – Precision*

#### **Repeatability (Intra-Assay); n = 12**

The repeatability was assessed with 3 stool samples under **constant** parameters (same operator, instrument, day and kit lot).

Sample	Mean value [ng/ml]	CV [%]
1	15.54	5.2
2	33.98	3.2
3	5.82	3.2

#### **Reproducibility (Inter-Assay); n = 34**

The reproducibility was assessed with 2 controls under **varying** parameters (different operators, instruments, days and kit lots).

Sample	Mean value [ng/ml]	CV [%]
1	5.01	12.8
2	21.21	9.1

### *Linearity*

The linearity states the ability of a method to provide results proportional to the concentration of analyte in the test sample within a given range. This was assessed according to CLSI guideline

EP06-A with a serial dilution of 3 different stool samples.

For MPO in stool, the method has been demonstrated to be linear from 2.76 to 121.00 ng/ml based on the standard curve without considering possibly used sample dilution factors, showing a non-linear behaviour of less than  $\pm 20\%$  in this interval.

Sample	Dilution	Expected [ng/ml]	Obtained [ng/ml]	Recovery [%]
1	1:1 000	121.00	121.00	100.00
	1:2 000	60.50	54.00	89.26
	1:4 000	30.25	33.50	110.74
	1:8 000	15.13	13.63	90.08
	1:16 000	7.56	7.13	94.21
	1:32 000	3.78	3.66	96.69

Sample	Dilution	Expected [ng/ml]	Obtained [ng/ml]	Recovery [%]
2	1:500	88.20	88.20	100.00
	1:1 000	44.10	44.00	99.77
	1:2 000	22.05	23.50	106.58
	1:4 000	11.03	13.13	119.05
	1:8 000	5.51	4.43	80.27
	1:16 000	2.76	3.35	121.54
3	1:4 000	55.75	55.75	100.00
	1:8 000	27.88	22.00	78.92
	1:16 000	13.94	12.06	86.55
	1:32 000	6.97	6.56	94.17
	1:64 000	3.48	3.88	111.21

### Analytical sensitivity

The following value has been estimated based on the concentrations of the standard without considering possibly used sample dilution factors.

Limit of blank, LoB

0.137 ng/ml

### Analytical specificity

The specificity of the antibody was tested by measuring the cross-reactivity against a range of compounds with structural similarity to MPO. There was no cross-reactivity observed.

Substance tested	Concentration added	Concentration obtained [OD]	Conclusion
α1-Antitrypsin	90 µg/l	0.010	< LoB
Albumin	800 µg/l	0.009	< LoB
CRP	150 ng/ml	0.009	< LoB
Lysozyme	30 ng/ml	0.008	< LoB
slgA	600 ng/ml	0.012	< LoB
PMN-Elastase	40 ng/ml	0.019	< LoB
Calprotectin	500 ng/ml	0.008	< LoB
Hemoglobin	100 ng/ml	0.013	< LoB

## 12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide or ProClin are hazardous to health and the environment. Substrates for enzymatic colour reactions may also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances must be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available from Immundiagnostik AG on request.
- The 10x Wash buffer concentrate (WASHBUF) contains surfactants which may cause severe eye irritation in case of eye contact.

**Warning:** Causes serious eye irritation. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: get medical Advice/attention.

- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

## 13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.

- The assay should always be performed according to the enclosed manual.













## 14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- IDK® is a trademark of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

## 15. REFERENCES

Saiki, T., 1998. Myeloperoxidase concentrations in the stool as a new parameter of inflammatory bowel disease. *The Kurume medical journal*, **45**(1), pp.69–73.

**Used symbols:**

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Irritant