

## **Metoda: Stanovení protilátky anti-MCV**

Anna Černá, 2. roční Laboratorní diagnostiky ve zdravotnictví

Školitelé: Ing. T. Vlas

**Princip:** Mutovaný citrulinovaný vimentin (MCV) je navázán v jamce mikrotitrační destičky

Stanovení je založeno na nepřímé enzymatické reakci s následujícími kroky:

1. Specifické protilátky ve vzorku pacienta se vážou na antigen, který se nachází na povrchu reakčních jamek.
2. Po inkubaci, následuje promývací krok k odstranění nenačíslených a nespecificky vázaných složek séra nebo plazmy.
3. Následně přidáný enzymový konjugát, se váže na imobilizované komplexy protilátka-antigen.
4. Po další inkubaci následuje promývání, pro odstranění nenačísleného enzymového konjugátu.
5. Po přidání substrátu, navázaný enzymový konjugát hydrolyzuje substrát za vzniku modře zbarveného produktu.
6. Přidáním kyseliny se zastaví reakce a vytvoří se žlutě zbarvený konečný produkt.
7. Intenzita žluté barvy koreluje s koncentrací komplexu protilátka-antigen a lze ji měřit fotometricky při 450 nm.

**Uplatnění metody:** Serologický test pro stanovení revmatoidní artritidy, zejména v časném stádiu onemocnění, což nám umožňuje zahájení adekvátní léčby už v brzkém stádiu onemocnění. Metoda stanovení anti-MCV je ELISA test pro kvantitativní stanovení IgG protilátek proti mutovanému citrulinovanému vimentinu (MCV) v lidském séru nebo plazmě.

Anti-MCV autoprottilátky jsou indikátorem postupujícího poškození kloubů a agresivní progresse onemocnění. Na rozdíl od průkazu protilátek proti syntetickým cyklickým citrulinovaným peptidům odpovídají změny v koncentraci anti-MCV změnám v klinických parametrech. Tato metoda umožňuje nejen stanovit jednoznačnou diagnózu, ale umožňuje také sledovat průběh léčby.

### **Interpretace výsledků:**

- **Cut-off hodnota:** 20 U/ml
  - **Negativní:** < 20 U/ml
  - **Pozitivní:** ≥ 20 U/ml
- **Citlivost stanovení:** 1 U/ml

**Úskalí metody:** Anti-MCV detekuje onemocnění ve velmi časném stadiu, dokonce i u pacientů s negativním testem na revmatoidní faktor a do určité míry ještě před objevením specifických klinických příznaků. Autoprottilátky proti mutovanému citrulinovanému vimentinu jsou vysoce specifické a extrémně citlivé markery revmatoidní artritidy (97% specificita, >82% senzitivita).

Sady se nesmějí používat po uplynutí doby expirace a je potřeba použít chemikálie stejné šarže. Po začátku testu se musí toto stanovení provést bez přerušení, s přesným dodržáním inkubačních dob. Mohou vzniknout chyby při pipetování, které můžeme odhalit při dvojím stanovení.

**Přístrojové vybavení:** Čtečka mikrotitračních destiček schopná koncového měření při 450 nm a software pro vyhodnocení dat. Tento test ELISA je vhodný pro použití na otevřených automatizovaných procesorech ELISA. Každý test musí být validován na příslušného automatizovaného systému.

**Odběr a transport:** Odebírají se vzorky plné krve, tak abychom se vyhnuli hemolýze, jelikož **testovací sérum by mělo být čiré a nehemolyzované. Kontaminace hemolýzou nebo lipémií neinterferuje, ale přesto se tomu snažíme vyhnout.** Pro transport plné krve je naprosto nezbytné používat temperovaných termoboxů s fixovanou polohou odběrových zkumavek, resp. minimalizovat dobu transportu např. použitím potrubní pošty.

Plná krev může být skladována před doručením do laboratoře nejdéle 24 hodin. Měli bychom se ale vyhnout, opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků séra nebo plazmy, jelikož se může stát, že se ztratí protilátková aktivita.