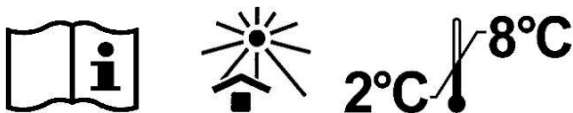


Інструкція із застосування

ІФА U1-RNP-Ab

Імуноферментний аналіз для якісного та кількісного визначення антитіл IgG до U1-RNP у сироватці або плазмі людини (EDTA, цитрат, гепарин).

REF RE75211



EU: **IVD** **C** **€**



IBL International GmbH
Flughafenstrasse 52a
22335 Гамбург, Німеччина

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

Always there for you



1. Вступ та передумови

Малі ядерні РНК (U-snRNA), багаті на урацил (U-snRNA), фізіологічно утворюють комплекси з білками до частинок рибонуклеопroteїну (U-snRNP), які беруть участь у процесі сплайсингу пре-мРНК. Різні комплекси (U1-U6) можна розрізнити відповідно до участі РНК; їх білкові компоненти частково загальні, частково різні. Наприклад, U1-snRNA утворюється в комплексі з так званими Sm-білками, які також присутні в інших U-snRNP, а також з U1-специфічними білками А, С і 68 кДа.

Аутоантитіла, спрямовані проти цих трьох U1-специфічних білків, вважаються діагностичним маркером змішаного захворювання сполучної тканини (MCTD; синонім: синдром Шарпа) (1, 2, 3). MCTD — це чітко визначений перекриваючий синдром, який характеризується типовими клінічними проявами, виразними аутоантитілами та специфічною констеляцією HLA, тобто DR2 і DR4 (4). Специфічні антитіла U1-RNP також пов'язані з системним червоним вовчаком (СЧВ), але зустрічаються з явно меншою поширеністю (близько 35%) і переважно в поєднанні з іншими антинуклеарними аутоантитілами (ANA) (4). В даний час білки А, С і 68 кДа вважаються справжнім антигеном RNP, а не повним U1-RNP.

Даний твердофазний імуоферментний аналіз (ІФА) призначений для кількісного або якісного визначення антитіл IgG проти U1-RNP у сироватці або плазмі крові людини (див. розділ 7). Препарат антигену являє собою збалансовану суміш людських білків А, С і 68 кДа (що дозволяє уникнути заважаючого впливу антигенів Sm); всі вони рекомбінантні та високоочищені препарати. Тест швидкий (час інкубації 30 - 30 - 30 хвилин) і гнучкий (роздільна тверда фаза, готові до використання реагенти). Шість калібраторів дозволяють проводити кількісні вимірювання; негативний і позитивний контроль перевіряють ефективність аналізу.

2. Попередження та запобіжні заходи

Тестовий набір призначений лише для діагностики *in vitro*; не для внутрішнього чи зовнішнього застосування людям або тваринам. Він повинен виконуватися навченим персоналом.

Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.

Настійно рекомендується дотримуватися протоколу.

Розріджувач зразків, калібратори та контролі містять азид натрію як антимікробний агент. Промивний буфер містить бромнітродіоксан і кон'югат метилізотіазолон/бромнітродіоксан як консервант. Субстрат містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) і перекис водню (H₂O₂). Стоп розчин 0,2 М сірчаної кислоти (H₂ТОМУ₄), є кислотним і корозійним.

Вищезазначені реагенти можуть бути токсичними при попаданні всередину. Дотримуйтеся звичайних запобіжних заходів при роботі з небезпечними хімікатами. Уникайте контакту з тілом, надягайте рукавички та засоби захисту очей. Якщо один із реагентів потрапив на шкіру або слизову оболонку, ретельно промийте його водою. Ніколи не піпетуйте ротом. Утилізуйте відповідно до місцевих/національних правил.

Азид натрію може реагувати зі свинцевими та мідними трубами з утворенням вибухових азидів металів. Після утилізації промийте великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду.

Калібратори та контролі містять компоненти людського походження. Вони були протестовані на вірус імунодефіциту людини (ВІЛ)-Ag, поверхневий гепатит В (НВs)-Ag та антитіла проти ВІЛ 1/2 і вірус гепатиту С (HCV) і показали негативні результати; відповідно до європейської директиви 98/79/ЕС.

Проте жоден тест не може гарантувати, що матеріал людського походження насправді не є заразним. Тому препарати слід розглядати як потенційно інфекційні та утилізувати відповідно, як і зразки (та їх залишки); відповідно до CDC (Центр контролю захворювань, Атланта, США) або інших місцевих/національних інструкцій щодо лабораторної безпеки та дезактивації.

3. Принцип тесту

Лунки твердої фази покриті антигенами U1-RNP, як описано вище. На цій поверхні відбуваються наступні імунологічні реакції:

1-ша реакція: U1-RNP-специфічні антитіла, присутні в зразку, зв'язуються з іммобілізованим антигеном, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Потім незв'язані компоненти зразка вимиваються з твердої фази.

2-га реакція: додається друге антитіло, спрямоване проти людських антитіл IgG і кон'юговане з пероксидазою хрому (HRP). Цей кон'югат зв'язується з комплексом. Потім надлишок кон'югату вимивається з твердої фази.

3-я реакція: мічений ферментом комплекс перетворює безбарвний субстрат на синій продукт. Ступінь розвитку забарвлення відображає концентрацію U1-RNP IgG у зразку.

4. Вміст набору

- MTP** мікропланшет, покритий U1-RNP-специфічними антигенами та герметично упакований у пакет із ламінованою фольгою разом із пакетом із осушувачем. Планшет складається з 12 стріпів, кожен з яких можна розділити на 8 окремих лунок.
- ENZCONJ IgG** Ферментний кон'югат IgG, 14 мл, готовий до використання, червоного кольору. Буферний розчин, що містить стабілізуючий білок, метилізотіазолон і бромнітродіоксан.
- CAL A-F6** калібраторів по 2,0 мл кожен, 0 - 0,60 - 2,0 - 6,0 - 20 і 60 ОД U1-RNP IgG / мл, готові до використання, поступово забарвлені в синій колір. Містить TBS, BSA, Tween і Na-azide.
- CONTROL -** & **CONTROL +** Негативний і Позитивний контроль, по 2,0 мл кожен, готові до використання, зеленого і червоного кольорів відповідно. Містить TBS, BSA, Tween і Na-azide.
- SAMPLEDIL** Розріджувач зразків, 100 мл, готовий до використання, оранжевого кольору. Містить трис-буферний фізіологічний розчин (TBS), бичачий сироватковий альбумін (BSA), твін і на-азид.
- TMB SUBS** ТМБ Субстратний розчин, 14 мл, готовий до використання, безбарвний. Містить буферний розчин ТМБ і H_2O_2 . Міститься у світлонепроникному флаконі.
- WASHBUF CONC** Промивний буфер, 100 мл, 10-кратний концентрат, синього кольору. Містить TBS, Tween і bromonitrodioxane.
- STOPP** Розчин ТМБ Стоп ($0,2 M H_2TOMU_4$), 14 мл, безбарвний, готовий до використання. Увага: сірчана кислота є корозійною.
- Інструкція по застосуванню
- Сертифікат аналізу для конкретної партії

5. Необхідні матеріали, але не надаються

- Дейонізована або дистильована вода
- Мірний циліндр, 1000 мл
- Пробірки для розведення зразків (рекомендуються пробірки для перенесення у форматі мікропланшетів)
- Піпетки на 10, 100 і 1000 мкл (рекомендуються 1- та 8-канальні піпетки)
- Промивач для мікропланшетів (необов'язково)
- Мікропланшетний фотометр з фільтром 450 нм
- Програма оцінки ІФА (рекомендовано)

6. Зберігання набору

Зберігати набір при температурі 2-8°C. Він стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці коробки. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності.

7. Підготовка реагентів і зразків/вимоги до зразків

Не обмінюйте та не об'єднуйте відповідні компоненти з різних комплектів через можливі різні умови транспортування чи зберігання. Якщо набір планується використовувати для кількох тестів, слід вилучити лише необхідну кількість реагентів. Надзвичайно важливо, щоб не відбулося перехресного забруднення між реагентами. Використовуйте лише чисті піпетки та не зливайте залишки в оригінальні колби.

- Тверда фаза повинна досягти кімнатної температури перед відкриттям пакета. Вийміть надлишкові мікролунки з рами та негайно помістіть їх назад у пакет разом із пакетом із осушувачем. Герметично закрийте пакет і зберігайте його в холодильнику для подальшого використання.
- Розведіть промивний буфер 10x-концентрат (100 мл, синій) 900 мл дейонізованої води. Ретельно перемішати. Розведений буфер стабільний протягом кількох тижнів, якщо зберігати його в холодильнику (2–8°C).
- Підготовка зразків: поведіться зі зразками пацієнтів як з потенційно інфекційними агентами. Окрім сироватки, підходящим матеріалом для зразка є плазма, оброблена EDTA, цитратом або гепарином.

Вимоги до зразків: сильно ліпемічні, гемолізовані або мікробно забруднені зразки можуть викликати помилкові результати, тому їх слід уникати. Підготуйте зразки, використовуючи звичайні лабораторні методи. Каламутні зразки спочатку необхідно освітлити (центрифугувати). Освітлені або прозорі зразки змішують, а потім розводять 1/100, наприклад, 10 мкл сироватки або плазми + 990 мкл буфера для зразків. Також змішайте розчин. Для швидкого дозування під час процедури аналізу рекомендується підготувати калібратори, контролі та зразки в пробірках для перенесення мікролунок. Це дозволяє працювати з 8-канальною піпеткою під час процедури аналізу.

Якщо зразки не аналізуються негайно, їх слід зберігати при температурі 2–8°C і аналізувати протягом 3 днів. Для тривалого зберігання рекомендована температура -20°C або нижче. Слід уникати повторного заморожування та розморожування зразків. Розморожені зразки необхідно змішати перед розведенням.

8. Процедура аналізу

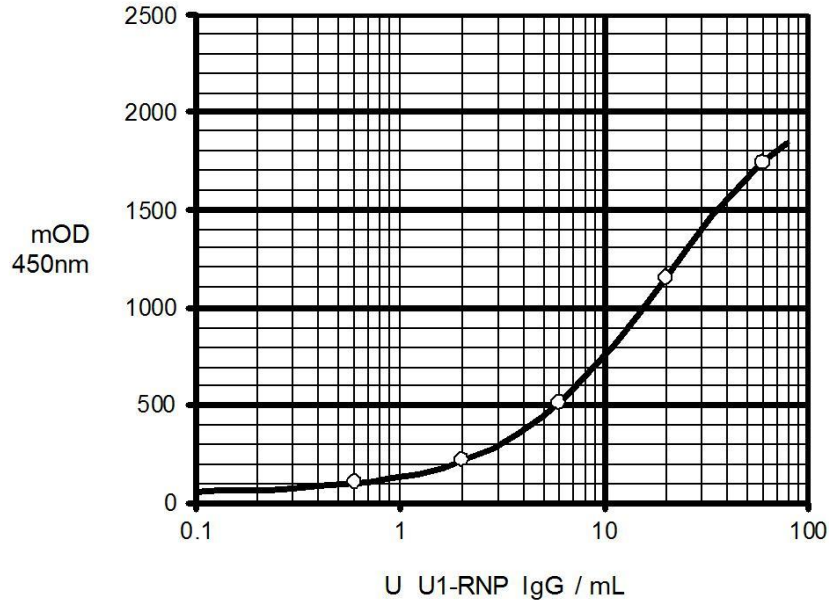
Перед початком аналізу всі компоненти набору повинні досягти кімнатної температури (23 ± 3°C). Для досягнення найкращих результатів, тобто максимального співвідношення між специфічним і фоновим сигналом, необхідне ретельне промивання (кроки а, с і е). Дуже важливо повністю видалити промивний розчин. Для цього міцно постукайте планшетом об кілька шарів гігроскопічної тканини. Автоматичні мийки повинні бути перевірені відповідно до результатів, отриманих при ручному промиванні.

- Безпосередньо перед використанням промийте тверду фазу один раз: заповніть лунки 350 мкл промивного буфера кожну, залиште в лунки приблизно на 10 секунд і видаліть.
- Швидко розподіліть калібратори (по 2,0 мл кожен, готові до використання, поступово сині), контролі (по 2,0 мл, готові до використання, зелений і червоний) і розведені зразки в мікролунки; 100 мкл на лунку. Рекомендується повторювати вимірювання.
Інкубуйте планшет протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (23 ± 3°C).
- Промийте лунки 4 рази, як у кроці а.
- Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) дозуйте кон'югат (14 мл, готовий до використання, червоний); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як у кроці b.
- Повторіть крок промивання с.
- Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) розподіліть розчин субстрату (14 мл, готовий до використання, безбарвний, чорний флакон); 100 мкл на лунку. Інкубуйте планшет, як у кроці b. Оскільки субстрат світлочутливий, уникайте інтенсивного впливу світла (наприклад, прямого сонячного світла) під час інкубації.
- Швидко (бажано за допомогою 8-канальної піпетки) розподіліть стоп-розчин (14 мл, готовий до використання, безбарвний. Увага: корозійний!); 100 мкл на лунку. Використовуйте ту ж послідовність, що і для субстрату. Колір змінюється від синього до жовтого. Перемішайте планшет, бажано на орбітальному шейкері, приблизно 10 секунд.
- Негайно прочитайте оптичну густину на фотометрі планшета мікролунки при 450 нм.

Охолодіть решту реагентів (2–8°C), якщо їх потрібно використовувати знову.

9. Оцінка та контроль якості

Кількісна оцінка: отримані дані кількісно оцінюють за стандартною кривою, як показано нижче. Однак зображена крива може служити лише зразком. Він не може замінити вимірювання калібраторів разом з контролем і фактичними зразками. Криву було побудовано за допомогою звичайної програми оцінки ІФА з використанням функції 4 параметрів. Сплайнове наближення також підходить.



Якщо оцінка за допомогою комп'ютера неможлива, стандартну криву можна накреслити вручну. Це дозволяє трансформувати значення абсорбції зразка в його концентрацію, тобто в U U1-RNP IgG на мл зразка.

Якісна оцінка: тест також може бути оцінений якісним способом. Це вимагає вимірювання лише позитивного контролю. Тим не менш, рекомендується вимірювання та дослідження негативного контролю (див. нижче: контроль якості).

При оцінці якісного тесту поглинання зразків порівнюється з граничним поглинанням (= порогове значення). Визначається за такою формулою:

$$\text{межа поглинання} = \text{поглинання позитивного контролю} \times \text{коефіцієнт}$$

Коефіцієнт залежить від партії набору та вказується в сертифікаті аналізу для конкретної партії, який додається до кожного тестового набору. приклад:

$$\text{Поглинання позитивного контролю} = 1250 \text{ вОГ}$$

$$\text{коефіцієнт} = 0,35$$

$$\text{межа поглинання} = 1250 \text{ вОГ} \times 0,35 = 438 \text{ вОГ}$$

Щоб отримати уявлення про те, наскільки конкретний зразок позитивний на U1-RNP IgG, можна розрахувати співвідношення за формулою:

$$\text{співвідношення} = \text{поглинання зразку} / \text{межа поглинання}$$

приклад:

$$\text{межа поглинання} = 438 \text{ вОГ}$$

$$\text{абсорбційний зразок} = 1480 \text{ вОГ}$$

$$\text{співвідношення} = 1480 \text{ вОГ} / 438 \text{ вОГ} = 3,4$$

Контроль якості: позитивний і негативний контроль перевіряють ефективність аналізу. Їх дозволени значення та прийнятні діапазони, відповідно, вказані в сертифікаті аналізу для конкретної партії. Значення контролів повинні знаходитися в межах вказаних діапазонів; інакше результати аналізу є недійсними.

10. Інтерпретація результатів / обмеження процедури

На основі вимірювання крові донора та позитивної групи сироваток (див. нижче) ми пропонуємо для оцінки сироваток пацієнтів:

	кількісна оцінка U U1-RNP IgG / мл зразка	якісна оцінка співвідношення
нормальний (негативний) діапазон	< 3,2	< 0,84
відрізати	4,0	1,00
двозначний діапазон	3,2 - 5,0	0,84 - 1,20
Позитивний діапазон	> 5,0	> 1,20

Ці специфікації наведено лише для ознайомлення; щоб перевірити їх точність, кожен аналіз повинен включати паралельні зразки нормальної сироватки.

Негативний результат тесту свідчить про відсутність у пацієнта підвищеного рівня антитіл IgG до U1-RNP. Отже, MCTD малоімовірний. Через відносно низьку чутливість параметра щодо СЧВ, негативний результат анти-U1-RNP не може виключити це захворювання. Слід зазначити, що у пацієнтів із СЧВ титр аутоантитіл IgG може знижуватися у відповідь на терапію, що виснажує В-клітини (5).

Позитивний результат слід інтерпретувати насамперед як ознаку MCTD. Однак тест повинен бути позитивним принаймні двічі з інтервалом у кілька тижнів. Підозра на СЧВ підтверджується, але її слід підтвердити шляхом вимірювання, наприклад, дсДНК і аутоантитіл Sm.

Зразки, що демонструють результати в межах граничного діапазону, наведеного вище, слід розглядати як сумнівні та повідомляти як такі. Рекомендується зібрати другий зразок через два тижні та провести паралельно з першим зразком, щоб задокументувати можливу зміну титру антитіл.

Як і будь-який серологічний тест, результати слід інтерпретувати в світлі симптомів пацієнта та інших діагностичних критеріїв.

11. Характеристики виконання

11.1. Стандартизація

Тест стандартизований препаратом очищеної сироватки, що містить антитіла IgG, спрямовані спеціально на U1-RNP. Цей препарат відкалібрований за набором поступово позитивних сироваток, призначених виключно для цієї мети. Ступінь реактивності зразка вимірюється в довільних одиницях (Од/мл), оскільки міжнародний стандарт відсутній.

11.2. Аналітична специфічність

Тест дозволяє специфічно визначити людські антитіла IgG, спрямовані проти U1-RNP. Він був перевірений (серед інших параметрів) за допомогою комерційно доступних еталонних сироваток людини "Центру контролю захворювань" (CDC, Атланта, США). Типовими є такі результати:

сироватка	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CDC- результат	ds- ДНК	CC-Б /La	--	U1- RNP	см	--	CC-A /Po	--	Scl- 70	Дж о- 1
іmunний- флуоресценці я	гомо- ння / обід	пляма- світл	пляма- світл	--	--	нук- леол яр	--	о- мера	--	--
IFA (од/мл)	2,6	0,6	>60	40	57	3,2	0,9	0,6	0,8	0,6

11.3. Межа виявлення (аналітична чутливість)

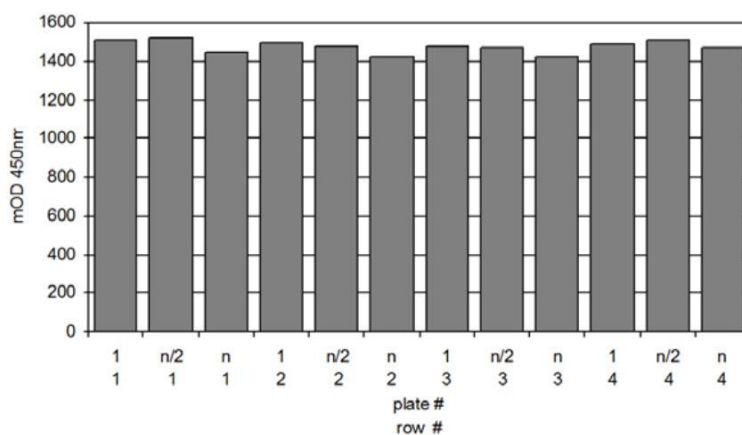
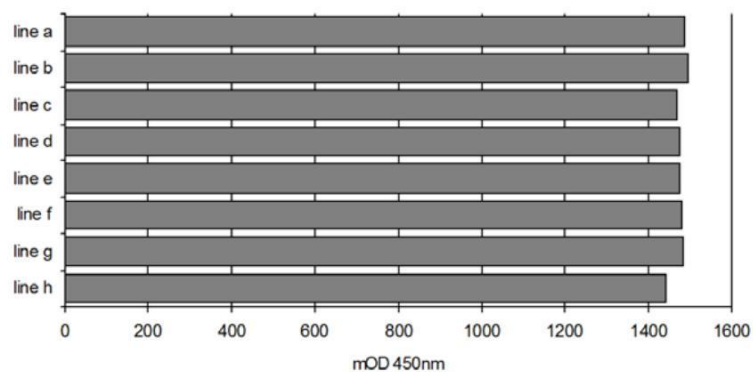
Межа виявлення визначається як концентрація аналіту, яка відповідає середньому поглинанню розчинника зразка плюс 3-кратне стандартне відхилення (s). Її визначали як < 0,5 U1-RNP IgG на мл зразка (n = 24).

Рекомендований діапазон вимірювання: 0,5 - 60 U1-RNP IgG на мл зразка

11.4. Однорідність твердої фази

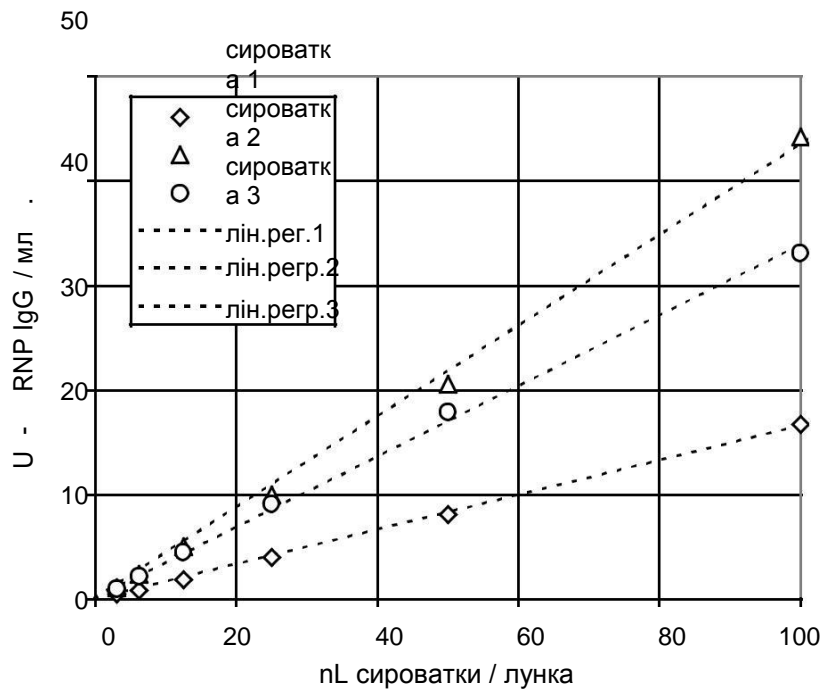
Вимірювання однорідності твердої фази є регулярною частиною контролю якості кожної виробничої партії. Це визначається шляхом 288-кратного вимірювання позитивного, але ненасиченого зразка на 3 вибраних планшетах. Критерій прийнятності: вОГ-коефіцієнт варіації (cv) для пластин < 8%. На малюнку нижче показано типовий уривок (тверда фаза партії № 1701P) такого аналізу.

планш	1	n/2	п	1	n/2	п	1	n/2	п	1	n/2	п	означ ає	CV %
рядок	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4		
лінія a	1501	1521	1457	1503	1482	1449	1472	1487	1424	1495	1526	1520	1486	2,1
лінія b	1555	1555	1450	1528	1503	1425	1468	1496	1425	1523	1521	1497	1496	3,0
лінія c	1483	1514	1437	1502	1483	1412	1460	1463	1398	1507	1505	1441	1467	2,6
лінія d	1509	1504	1443	1505	1482	1425	1479	1484	1431	1475	1519	1474	1478	2,1
лінія e	1513	1520	1419	1446	1487	1427	1502	1474	1441	1484	1521	1485	1477	2,4
лінія f	1546	1508	1444	1514	1476	1417	1488	1485	1408	1489	1537	1464	1481	2,9
лінія g	1531	1530	1475	1485	1482	1438	1485	1471	1426	1491	1511	1477	1484	2,1
лінія h	1481	1473	1455	1453	1443	1395	1444	1416	1402	1434	1464	1438	1442	1,9
середнє	1515	1516	1448	1492	1480	1424	1475	1472	1419	1487	1513	1475	1476	
%	1,8	1,5	1,1	1,9	1,1	1,1	1,2	1,7	1,1	1,7	1,5	1,9		2,6



11.5. Лінійність

Щоб оцінити взаємозв'язок доза-реакція тесту, позитивні сироватки вимірювали в серійному 2-кратному розведенні. Критерій прийнятності: лінійна регресія 4 послідовних розведень повинна давати коефіцієнт кореляції $> 0,98$. Типовий результат зображено нижче.



11.6. Точність

Для оцінки точності тесту була визначена мінливість результатів за таких умов: а. в межах 1 аналізу та між 3 аналізами, б. між 3 операторами та с. між 2 наборами.

а. В аналізі та між-аналізами варіабельність (n = 24 і 72 відповідно)

зразок	Середнє Од/мл	варіабельність (cv, %) В аналізі	Між аналізами
--------	------------------	-------------------------------------	---------------

1	6,0	2,3	2,5
2	13	3,9	4,7
3	30	3,2	3,4

б. Варіабельність між операторами (n = 12)

зразок	середнє Од/мл	варіабельність (CV, %)
--------	------------------	---------------------------

1	5,9	1,5
2	13	3,7
3	29	3,0

с. Варіабельність між 2 партіями набору (n = 6)

зразок	середнє Од/мл	варіабельність (CV, %)
--------	------------------	---------------------------

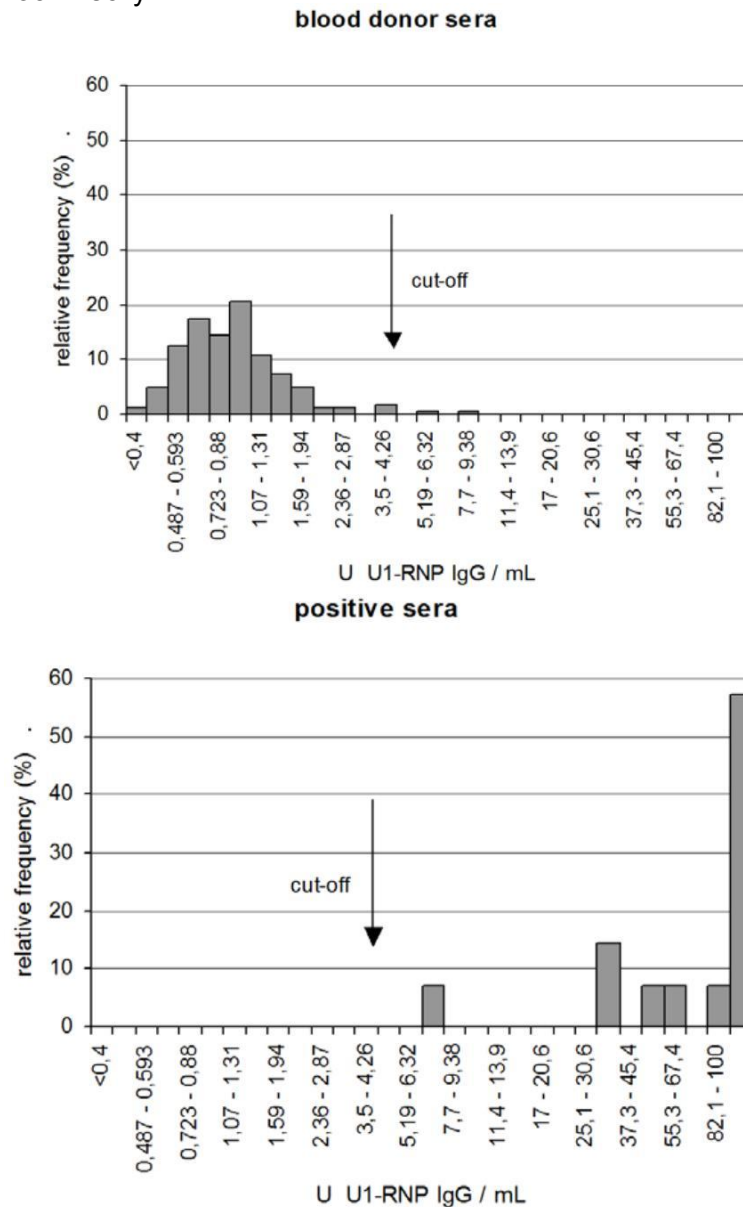
1	6,3	1,9
2	13	7,5
3	25	3,0

11.7. Частотний розподіл U1-RNP IgG

Це було проаналізовано в групі сироваток крові донорів, рівномірно розподілених за статтю та віком, і група сироваток виявила позитивний результат на аутоантитіла U1-RNP згідно з СЕ-сумісним еталонним ІФА або які були клінічно визначені. Спостерігався наступний розподіл аналізу:

сироватки донорської крові	позитивні сироватки
n: 160	n: 14
середнє: 1,1 Од/мл	середнє: 240 л Од/мл
середнє + s: 1,9 Од/мл	засоби: < 0 л Од/мл
середнє + 2s: 2,8 Од/мл	середнє - 2с: < 0 л Од/мл
медіана: 0,9 Од/мл	медіана: 170 л
95 ^{тис} проценти	5 ^{тис} проценти
ль: 2,1 Од/мл	ль: 25 л

ROC-аналіз цих даних використовувався для визначення порогового значення 4,0 Од/мл (6). Наведені тут дані свідчать про діагностичну специфічність і чутливість ІФА приблизно 99 і 100 % відповідно. Ці значення застосовуються лише для виміряних сироваток; інші колективи можуть дати інші результати. Зважаючи на низьку кількість позитивних сироваток, потрібна особлива обережність при інтерпретації чутливості тесту.



12. Гарантія

IBL International GmbH гарантує, що поставлений продукт був ретельно протестований, щоб гарантувати відповідність його властивостям, зазначеним у цьому документі. Подальші гарантії не надаються.

Представлені тут дані продуктивності були отримані за допомогою зазначеної процедури. Будь-які зміни в процедурі можуть вплинути на результати, і в цьому випадку IBL відмовляється від усіх гарантій, виражених, непрямих або встановлених законом. Крім того, IBL не несе відповідальності за будь-які збитки, прямі, непрямі чи непрямі, які є результатом неналежного використання або зберігання продукту.









13. Список літератури

1. Лернер, М.Р., Стейц, Дж.А.: Пацієнти з системним червоним вовчаком виробляють антитіла до малих ядерних РНК у комплексі з білками. *Proc Natl Acad Sci USA* 76 (1979), 5495 - 5499
2. Francœur, AM: Анти-Sm і анти-U1-RNP вовчакових антитіл тонка специфічність. *J Clin Immunol* 9 (1989), 256-263
3. Комб, Б. та ін.: Клінічне значення аутоантитіл проти RNP і Sm, визначених за допомогою імуноблоттингу та імунопреципітації в сироватці крові пацієнтів із захворюваннями сполучної тканини. *Clin Exp Immunol* 75 (1989), 18 - 24
4. Messinger, M.: Autoantikörper bei systemischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen (колагенозен). У: L. Thomas (ed.): *Labor und Diagnose* (2005), TH-Books-Verlags-Gesellschaft, Frankfurt/Main, 1139 – 1161
5. Перссон, Б. та ін.: Зникнення та повторна поява ізотипів аутоантитіл IgG, IgA та IgM та імунних комплексів у пацієнтів із СЧВ, які отримували лікування ритуксимабом. *Annals of the Rheumatic Diseases* 72 (2013), A34
6. Зоммер, Р., і Ейтельбергер, Ф.: Wertigkeit der Gliadin-Antikörper im Serum zur Diagnose der Zöliakie. *Wien Klin Wochenschr* 104/4 (1992), 86 - 92

15. Зведена блок-схема

- a. Розведіть зразки 1/100 у розчиннику зразків (100 мл, готовий до використання, помаранчевий) і перемішайте.
- b. Розведіть промивний буфер 10х-концентрат (100 мл, синій) водою та перемішайте.
- c. Промийте лунки один раз 350 мкл промивного буфера кожно. Розподіліть 100 мкл калібраторів (2,0 мл кожен, готовий до використання, поступово синій) і контролів (2,0 мл кожен, готовий до використання, зелений і червоний) і розведених зразків у лунки тверда фаза. Рекомендується повторювати вимірювання. Інкубуйте 30 хвилин при кімнатній температурі ($23 \pm 3^\circ\text{C}$).
- d. Промийте лунки 4 рази 350 мкл промивного буфера кожно.
- e. Внесіть 100 мкл кон'югату (14 мл, готовий до використання, червоний) у лунки. Інкубуйте, як на кроці c.
- f. Повторіть крок прання d.
- g. Розподіліть 100 мкл розчину субстрату (14 мл, готовий до використання, чорний флакон) на лунку. Інкубуйте, як на кроці c. Потім додайте 100 мкл стоп-розчину (14 мл, готовий до використання, безбарвний) на кожно лунку та коротко перемішайте планшет.
- h. негайно виміряйте поглинання при 450 нм.
- i. Кількісна оцінка: визначте стандартну криву та, використовуючи цю криву, перетворите поглинання зразків у відповідну концентрацію антитіл (ОД/мл).
- j. Якісна оцінка: визначте граничне поглинання, помноживши поглинання позитивного контролю на коефіцієнт, вказаний у сертифікаті аналізу. Потім обчисліть співвідношення зразків, поділивши їх поглинання на граничне поглинання.


УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ (ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
		WEB:	http://www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

Always there for you