



IL-6-EASIA-CE

KAP1261

Read entire protocol before use.

IL-6-EASIA

I. INTENDED USE

Immunoenzymetric assay for the in vitro quantitative measurement of human interleukin-6 (IL-6) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource IL-6-EASIA Kit
- B. Catalogue number :** KAP1261 : 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activities

Human Interleukin 6 (IL-6) is a 184 A.A. polypeptide with potential O and N-glycosylation sites, and a significant homology with G-CSF. It is produced by various cells, including T- and B-cells, monocytes, fibroblasts, keratinocytes, endothelial cells, mesangial cells, astrocytes, bone marrow stroma cells and several tumor cells. It regulates the growth and differentiation of various cell types with major activities on the immune system, hematopoiesis, and inflammation. These multiple actions are integrated within a complex cytokine network, where several cytokines induce (IL-1, TNF, PDGF, IFNs,...) or are induced by IL-6 and the final effects result from either synergistic or antagonistic activities between IL-6 and the other cytokines (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IFN γ , IL-3, GM-CSF, M-CSF, CSF,...). IL-6 induces final maturation of B-cells into antibody producing cells and is a potent growth factor for myeloma/plasmacytoma cells. It (co-) stimulates T-cell growth and cytotoxic T-cell differentiation. It promotes megakaryocyte development and synergizes with other cytokines to stimulate multipotent hematopoietic progenitors. It can also induce differentiation and growth inhibition of some leukemia -or non hematopoietic tumoral cell lines. IL-6 is also a major inducer of the acute phase reactions in response to inflammation or tissue injury. Along with IL-1 and TNF, it induces the synthesis of acute phase proteins (APP) by hepatocytes, each cytokine or combination of cytokines showing a preferential pattern of APP production. IL-6 also interacts with the neuroendocrine system, e.g. by inducing ACTH production. Thus, IL-6 is a pleiotropic cytokine with multiple endocrine, paracrine and possibly autocrine activities in various tissues.

B. Clinical application

Although most normal controls have undetectable levels of IL-6 in their serum, huge quantities of IL-6 are detected in severe inflammatory situations such as septicemia. The elevation of serum IL-6 precedes that of acute phase proteins, e.g. in a postoperative phenomenon, and may thus be a sensitive early parameter to investigate inflammatory conditions.

Serum IL-6 has already been described in association with surgical or traumatic tissue injuries, infectious diseases, auto-immune diseases including arthritis, graft rejection, alcoholic liver cirrhosis, malignancies, etc.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource IL-6-EASIA is a solid phase Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay performed on microtiterplate. The assay uses monoclonal antibodies (MAbs) directed against distinct epitopes of IL-6. Calibrators and samples react with the capture monoclonal antibody (MAB 1) coated on microtiter well and with a monoclonal antibody (MAB 2) labelled with horseradish peroxidase (HRP). After an incubation period allowing the formation of a sandwich: coated MAB 1 – human IL-6 – MAB 2 – HRP, the microtiterplate is washed to remove unbound enzyme labelled antibody. Bound enzyme-labelled antibody is measured through a chromogenic reaction. Chromogenic solution (TMB) is added and incubated. The reaction is stopped with the addition of Stop Solution and the microtiterplate is then read at the appropriate wavelength. The amount of substrate turnover is determined colourimetrically by measuring the absorbance, which is proportional to the IL-6 concentration. A calibration curve is plotted and IL-6 concentration in samples is determined by interpolation from the calibration curve. The use of the EASIA reader (linearity up to 3 OD units) and a sophisticated data reduction method (polychromatic data reduction) result in a high sensitivity in the low range and in an extended calibration range.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	Color Code	Reconstitution			
 Microtiterplate with 96 anti IL-6 (monoclonal antibodies) coated wells	96 wells	blue	Ready for use			
<table><tr><td>Ab</td><td>HRP</td></tr></table> Conjugate: HRP labelled anti-IL-6 (monoclonal antibodies) in Borate buffer with bovine serum albumin and thymol	Ab	HRP	1 vial 11 ml	red	Ready for use	
Ab	HRP					
<table><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrator N = 0 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum with bovine serum albumin, benzamidin and thymol	CAL	N	6 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water	
CAL	N					
<table><tr><td>DIL</td><td>SPE</td></tr></table> Specimen Diluent: human serum with bovine serum albumin, benzamidin and thymol	DIL	SPE	3 vials lyophil.	black	Add distilled water (see on the label for the exact volume)	
DIL	SPE					
<table><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Incubation buffer: Borate buffer with bovine serum albumin, benzamidin and thymol	INC	BUF	1 vial 11 ml	black	Ready for use	
INC	BUF					
<table><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash Solution (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	brown	Dilute 200 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC				
<table><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	CONTROL	N	2 vials lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water	
CONTROL	N					
<table><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td></tr></table> Chromogenic TMB Solution	CHROM	TMB	1 vial 25 ml	white	Ready for use	
CHROM	TMB					
<table><tr><td>STOP</td><td>SOLN</td></tr></table> Stop Solution: HCl 2N	STOP	SOLN	1 vial 25 ml	white	Ready for use	
STOP	SOLN					

Note: 1. Use Specimen Diluent for sample dilutions.
2. 1 pg of the calibrator preparation is equivalent to 100 mIU of the NIBSC 1st IS 89/548.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

- High quality distilled water
- Pipettes for delivery of: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 1 ml and 10 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Horizontal microtiterplate shaker capable of 700 rpm ± 100 rpm
- Washer for Microtiterplates
- Microtiterplate reader capable of reading at 450 nm, 490 nm and 650 nm (in case of polychromatic reading) or capable of reading at 450 nm and 650 nm (bichromatic reading)
- Optional equipment: The ELISA-AID™ necessary to read the plate according to polychromatic reading (see paragraph XI.A.) can be purchased from Robert Maciels Associates, Inc. Mass. 0.2174 USA.

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators:** Reconstitute the calibrators with 1 ml distilled water.
- Controls:** Reconstitute the controls with 1 ml distilled water.
- Specimen Diluent:** Reconstitute Specimen Diluent to the volume specified on the vial label with distilled water
- Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 199 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (200x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- § Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.
- § Unused strips must be stored, at 2-8°C, in a sealed bag containing a desiccant until expiration date.
- § After reconstitution, calibrators, controls and specimen Diluent are stable for 4 days at 2 to 8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 2 months. Avoid successive freeze thaw cycles.
- § The concentrated Wash Solution is stable at room temperature until expiration date.
- § Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- § After its first use, the conjugate is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- § Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum must be removed as soon as possible from the clot of red cells after clotting and centrifugation, and kept at 4°C. If the samples are not used immediately, they must be kept at -20°C for maximum 2 months, and at -70°C for longer storage (maximum one year).
- § Avoid subsequent freeze thaw cycles.
- § Prior to use, all samples should be at room temperature. It is recommended to vortex the samples before use.
- § Sampling conditions can affect values, therefore, strict precautions have to be taken during sampling to avoid impurities contained in sampling materials that would stimulate IL-6 production by blood cells and thus falsely increase plasma IL-6 values.
- § Collection tubes must be pyrogen-free.

X. PROCEDURE

- A. Handling notes**
Do not use the kit or components beyond expiry date.
Do not mix materials from different kit lots.
Bring all the reagents to room temperature prior to use.
Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
Perform calibrators, controls and samples in duplicate. Vertical alignment is recommended.
Use a clean plastic container to prepare the Wash Solution.
In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample.
For the dispensing of the Chromogenic Solution and the Stop Solution avoid pipettes with metal parts.
High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
Respect the incubation times.
To avoid drift, the time between pipetting of the first calibrator and the last sample must be limited to the time mentioned in section XIII paragraph E (Time delay).

Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

Dispense the Chromogenic Solution within 15 minutes following the washing of the microtiterplate.

During incubation with Chromogenic Solution, avoid direct sunlight on the microtiterplate.

B. Procedure

- Select the required number of strips for the run. The unused strips should be resealed in the bag with a desiccant and stored at 2-8°C.
- Secure the strips into the holding frame.
- Pipette 50 µl of Incubation Buffer into all the wells
- Pipette 100 µl of each Calibrator, Control and Sample into the appropriate wells.
- Incubate for 1 hour at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm ± 100 rpm.
- Aspirate the liquid from each well.
- Wash the plate 3 times by:
 - § Dispensing 0.4 ml of Wash Solution into each well
 - § Aspirating the content of each well
- Pipette 100 µl of anti-IL-6-HRP conjugate and 50 µl specimen diluent into all the wells.
- Incubate for 1 hour at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm ± 100 rpm.
- Aspirate the liquid from each well.
- Wash the plate 3 times by:
 - § Dispensing 0.4 ml of Wash Solution into each well
 - § Aspirating the content of each well
- Pipette 200 µl of the Chromogenic Solution into each well within 15 minutes following the washing step.
- Incubate the microtiterplate for 15 minutes at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm ± 100 rpm, avoid direct sunlight.
- Pipette 100 µl of Stop Solution into each well.
- Read the absorbencies at 450 nm and 490 nm (reference filter 630 nm or 650 nm) within 3 hours and calculate the results as described in section XI.

XI. CALCULATION OF RESULTS

A. Polychromatic Reading:

- In this case, the ELISA-AID™ software will do the data processing.
- The plate is first read at 450 nm against a reference filter set at 650 nm (or 630 nm).
- A second reading is performed at 490 nm against the same reference filter.
- The ELISA-AID™ Software will drive the reader automatically and will integrate both readings into a polychromatic model. This technique can generate OD's up to 10.
- The principle of polychromatic data processing is as follows:
 - § $X_i = OD$ at 450 nm
 - § $Y_i = OD$ at 490 nm
 - § Using a standard unweighted linear regression, the parameters A & B are calculated : $Y = A \cdot X + B$
 - § If $X_i < 3$ OD units, then X calculated = X_i
 - § If $X_i > 3$ OD units, then X calculated = $(Y_i - B)/A$
 - § A 4-parameter logistic curve fitting is used to build up the calibration curve.
 - § The IL-6 concentration in samples is determined by interpolation on the calibration curve.

B. Bichromatic Reading

- Read the plate at 450 nm against a reference filter set at 650 nm (or 630 nm).
- Calculate the mean of duplicate determinations.
- On semi-logarithmic or linear graph paper plot the OD values (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of IL-6 (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points by connecting the plotted points with straight lines.
- Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
- Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

IL-6-EASIA		OD units
		Polychromatic model
Calibrator	0 pg/ml	79
	23.3 pg/ml	125
	68 pg/ml	193
	201 pg/ml	408
	633 pg/ml	1036
	2560 pg/ml	3579

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average OD at zero binding, was 2 pg/ml.

B. Specificity

No significant cross-reaction was observed in presence of 50 ng of IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-α, IFN-γ, LIF, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, OSM, RANTES, TGF-β, TNF-α and TNF-β. A very tenuous cross-reaction (0.06%) is observed with G-CSF.

Interference with the soluble Receptors (sIL6R and sgp-130)

No significant cross-reaction was observed in presence of 100 ng of sIL6 Receptor and sgp-130.

IL6 conc (pg/ml)	IL6 measured with 100 ng/ml of sIL6R (pg/ml)	IL6 measured with 100 ng/ml of sgp-130 (pg/ml)
7.5	4.3	8.3
74.0	81.8	76.0
678.0	734.0	671.0

No interference was observed.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	20	147 ± 6,1	4.2	A	20	114 ± 5	4.4
B	20	623 ± 27	4.3	B	20	270 ± 15	5.4

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added IL-6 (pg/ml)	Recovered IL-6 (pg/ml)	Recovery (%)
Serum 1	1066	1035	97.1
	547	541	98.9
	228	234	102.6
Serum 2	1066	1110	104.1
	547	531	97.1
	228	250	109.6

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (pg/ml)	Measured Concent. (pg/ml)
Serum	1/1	-	966
	1/2	483	478
	1/4	241.5	247
	1/8	120.8	130
	1/16	60.4	54
	1/32	30	23

Samples were diluted with Specimen Diluent.

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrators have been added to the coated wells.

TIME DELAY

sample	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min
1	61	53	56	61	76
2	196	179	205	213	273
3	1584	1478	1433	1418	1533

XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- § If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- § If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots. Controls that contain azide will interfere with the enzymatic reaction and cannot be used.
- § Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practices
- § It is recommended that controls be routinely assayed as unknown samples to measure assay variability. The performance of the assay should be monitored with quality control charts of the controls.
- § It is good practise to check visually the curve fit selected by the computer.

XV. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

For guidance, the results of 34 serum samples from apparently healthy persons with low CRP levels, ranged between 0 and 50 pg/ml. 31 samples obtained values below 17 pg/ml.

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS**Safety**

For *in vitro* diagnostic use only.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with all reagents, Stop Solution contains HCl. In case of contact, wash thoroughly with water.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVII. BIBLIOGRAPHY

- HOUSIAU F.A. et al., (1988)
IL-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides.
Arth. Rheum., 31:784-788.
- MOSCOVITZ H. et al., (1994)
Plasma cytokine determination in emergency department patients as predictor of bacteremia and infectious disease severity.
Critical care Medicine, 22:1102-1107.
- SAKAMOTO K. et al., (1994)
Elevation of circulating interleukin 6 after surgery : factors influencing the serum level.
Cytokine, 6:181-186.
- KITA Y. et al., (1994)
Evaluation of sequential serum interleukin-6 levels in liver allograft recipients.
Transplantation, 57:1037-1041.
- LE MOINE O. et al., (1994)
Interleukin-6 : an early marker of bacterial infection in decompensated cirrhosis.
J. of Hepatology, 20:819-824.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	CALIBRATORS (µl)	SAMPLE(S) CONTROLS (µl)
Incubation buffer Calibrators (0-5) Samples, Controls	50 100 -	50 - 100
Incubate for 1 hour at room temperature with continuous shaking at 700 rpm. Aspirate the contents of each well. Wash 3 times with 400 µl of Wash Solution and aspirate.		
Anti-IL-6 -HRP conjugate Specimen Diluent	100 50	100 50
Incubate for 1 hour at room temperature with continuous shaking at 700 rpm. Aspirate the contents of each well. Wash 3 times with 400 µl of Wash Solution and aspirate.		
Chromogenic Solution	200	200
Incubate for 15 min at room temperature with continuous shaking at 700 rpm.		
Stop Solution	100	100
Read on a microtiterplate reader and record the absorbance of each well at 450 nm (and 490 nm) versus 630 (or 650 nm)		

DIAsource Catalogue Nr : KAP1261	P.I. Number : 1700492/en	Revision nr : 090505/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2009-05-05

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

IL-6-EASIA

I. USO DEL KIT

Kit immunoenzimatico per la determinazione quantitativa in vitro dell'interleuchina -6 (IL-6) in siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIAsource IL-6-EASIA Kit
- B. Numero di catalogo:** KAP1261 : 96 tests
- C. Prodotto da:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:

Tel: +32 (0) 67 88.99.99

Fax: +32 (0) 67 88.99.96

III. INFORMAZIONI CLINICHE

A. Attività biologiche

L'interleuchina 6 (IL-6) umana è un polipeptide di 184 aa che presenta siti di potenziale O- e N- glicosilazione e significativa omologia con il G-CSF. Viene prodotta da vari tipi di cellule tra cui linfociti T e B, monociti, fibroblasti, cheratinociti, cellule endoteliali, cellule mesangiali, astrociti, cellule stromali del midollo osseo e varie cellule tumorali. Regola la crescita e la differenziazione di vari tipi di cellule che rivestono un ruolo chiave nel sistema immunitario ed emopoietico e nella risposta infiammatoria. Tali molteplici effetti sono integrati in un complesso network citochinico nell'ambito del quale diverse citochine inducono la IL-6 (IL-1, TNF, PDGF, IFNs,...) o vengono indotte dalla IL-6, con effetti finali derivanti da attività sinergiche o antagonistiche tra IL6 e altre citochine (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IFN γ , IL-3, GM-CSF, M-CSF, CSF,...). La IL-6 induce la maturazione finale dei linfociti B in cellule produttrici di anticorpi ed è un potente fattore di crescita e di differenziazione delle cellule del mieloma/plasmocitoma. Essa (co-)stimola la crescita dei linfociti T e la differenziazione in linfociti T citotossici. Promuove lo sviluppo dei megacariociti e, per effetto sinergico con altre citochine, stimola la proliferazione dei precursori multipotenti ematopoietici. Può inoltre indurre la differenziazione e l'inibizione della crescita di alcune linee cellulari tumorali leucemiche o non ematopoietiche. La IL-6 è altresì un importante induttore delle reazioni della fase acuta in risposta all'infiammazione o a un danno tissutale. Unitamente all'IL-1 e al TFN, induce la sintesi delle proteine della fase acuta (APP) da parte degli epatociti, con ciascuna citochina o combinazione di citochine caratterizzate da un preferenziale pattern produttivo di APP. La IL-6 interagisce con il sistema neuroendocrino, inducendo ad esempio la produzione di ACTH. Pertanto, la IL-6 è una citochina pleiotropica capace di svolgere molteplici attività endocrine, paracrine e probabilmente\ autocrine in diversi tessuti.

B. Applicazione clinica

Mentre nella maggior parte dei soggetti normali di controllo i livelli sierici di IL-6 sono indeterminabili, nei soggetti che presentano gravi condizioni infiammatorie quali una setticemia sono rilevabili ingenti quantità di IL-6. L'incremento dei livelli sierici di IL-6 precede quello delle proteine della fase acuta, es. nella fase post-operatoria, e può essere pertanto considerato un parametro sensibile e precoce, utile alla valutazione di uno stato infiammatorio. La presenza di IL-6 nel siero è stata già descritta in associazione a danno tissutale chirurgico o traumatico, malattie infettive o autoimmuni come l'artrite, rigetto di trapianto, cirrosi epatica alcolica, neoplasie maligne ecc.

IV. PRINCIPIO DEL METODO

DIAsource IL-6-EASIA è un immunosaggio a sensibilità amplificata a fase solida eseguito su piastre di microtitolazione. Il dosaggio utilizza anticorpi monoclonali (Mabs) diretti contro epitopi distinti dell'IL-6. I calibratori e i campioni reagiscono con la cattura dell'anticorpo monoclonale (MAb 1) che riveste il pozzetto di microtitolazione e con un anticorpo monoclonale (MAb 2) marcato con horseradish perossidasi (HRP). Dopo un periodo di incubazione che consenta la formazione di un sandwich: MAb 1 di rivestimento –IL-6 umana – MAb 2 – HRP, la piastra di microtitolazione viene lavata per rimuovere l'anticorpo marcato con enzima non legato. L'anticorpo marcato con enzima non legato viene misurato attraverso una reazione cromogenica. Si procede quindi con l'aggiunta della soluzione cromogena (TMB) e successiva incubazione. La reazione viene interrotta con l'aggiunta di Soluzione di arresto; quindi la piastra di microtitolazione viene letta alla lunghezza d'onda adeguata. La quantità di turnover del substrato viene determinata colorimetricamente misurando l'assorbanza che è proporzionale alla concentrazione di IL-6. Viene tracciata una curva di calibrazione e la concentrazione IL-6 nei campioni viene determinata per interpolazione dalla curva di calibrazione. L'utilizzo del lettore EASIA (linearità fino a 3 unità OD) associato all'impiego di un sofisticato metodo di riduzione dati (riduzione dati policromatica) garantisce un'elevata sensibilità nel range basso dei valori e un esteso range di calibrazione.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione
 Piastra di microtitolazione con 96 pozzetti , rivestiti anti IL-6 (anticorpi monoclonali)	96 pozzetti	Blu	Pronte per l'uso
Ab HRP Coniugato: anti-IL-6 (anticorpi monoclonali) marcato con HRP in tampone borato con albumina di siero bovino e timolo	1 flacone 11 ml	Rosso	Pronte per l'uso
CAL N Calibratore N= 0-5 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero umano con albumina di siero bovino, benzamidina e timolo	6 flaconi liofiliz.	Giallo	Aggiungere 1 ml di acqua distillata
DIL SPE Diluyente del Campione: siero umano con albumina di siero bovino, benzamidina e timolo.	3 flaconi liofiliz.	nero	Aggiungere acqua distillata (vedi etichetta per volumi esatti)
INC BUF Tampone di Incubazione: Tampone borato con albumina di siero bovino, benzamidina e timolo.	1 flacone 11 ml	nero	Pronte per l'uso
WASH SOLN CONC Tampone di lavaggio (TRIS HCl)	1 flacone 10 ml	Bruno	Diluire 200 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico)..
CONTROL N Controlli: N = 1 o 2, in siero umano con timolo	2 flaconi liofiliz.	Argento	Aggiungere 1 ml di acqua distillata
CHROM TMB Soluzione Cromogena TMB	1 flacone 25 ml	Bianco	Pronto per l'uso
STOP SOLN Soluzione di arresto: HCl 2N	1 flacone 25 ml	Bianco	Pronto per l'uso

Note: 1. Usare Diluyente del Campione per diluire i campioni.
2. 1 pg della preparazione standard è equivalente a 100 mIU dell'NIBSC 1st IS 89/548.

VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

1. Acqua distillata di qualità elevata
2. Pipette per dispensare 50 µl, 100 µl 200 µl, 1 ml e 10 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
3. Agitatore tipo vortex.
4. Agitatore magnetico.
5. Agitatore orizzontale per micropiastre da 700 ± 100 rpm.
6. lavatrice per piastra di microtitolazione
7. Lettore di micropiastre per letture a 450, 490 e 650 nm (in caso di lettura policromatica) o per letture a 450 e 650 nm (in caso di lettura bicromatica).
8. Strumentazione aggiuntiva: l' ELISA-AID™ necessario per la lettura policromatica delle piastre (vedi paragrafo XI.A) è acquistabile presso Robert Maciels Associates, Inc. Mass. 0.2174 USA.

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. Calibratore:** Ricostituire i calibratori con 1 ml di acqua distillata.
- B. Controlli:** Ricostituire i controlli con 1 ml di acqua distillata.
- C. Diluente del Campione:** Ricostituire il Diluyente del Campione aggiungendo acqua distillata fino al volume riportato sull'etichetta del flacone.
- D. Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 199 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (200x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- § I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- § Le strisce reattive inutilizzate devono essere conservate a 2-8°C, in un contenitore sigillato che contenga un essiccante fino alla data di scadenza.
- § Dopo la ricostituzione, i calibratori, i controlli e il Diluyente del Campione sono stabili 4 giorni a 2-8°C. Per periodi di conservazione molto lunghi, preparare e mantenere le aliquote a -20°C per un massimo di 2 mesi.. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.
- § La soluzione di lavaggio concentrata è stabile a temperatura ambiente fino alla data di scadenza.
- § La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- § Dopo apertura del flacone, il coniugato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- § Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- § A coagulazione e centrifugazione avvenute, il siero dovrà essere rimosso al più presto dal coagulo di eritrociti e conservato a 4°C. In caso di utilizzo non immediato, i campioni dovranno essere conservati a -70°C per un anno al massimo.
- § Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.
- § Prima dell'impiego, tutti i campioni devono essere a temperatura ambiente. Si raccomanda di vortexare i campioni prima di utilizzarli.
- § Le condizioni di raccolta possono influenzare i valori. Adottare pertanto le massime precauzioni durante la raccolta per evitare che eventuali impurità contenute nei campioni possano stimolare la produzione di IL-6 da parte delle cellule ematiche con conseguente aumento falsato dei livelli sierici di IL-6.
- § Le provette di raccolta devono essere apirogene.

X. METODO DEL DOSAGGIO

- A. Avvertenze generali**
Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza.
Non mescolare reattivi di lotti diversi.
Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.
Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione.
Eseguire calibratori, controlli e campioni in doppio. Si raccomanda l'allineamento verticale.
Utilizzare un contenitore di plastica pulito per preparare la soluzione di lavaggio.
Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.
Per la distribuzione della soluzione cromogena e la Soluzione di arresto evitare pipette con parti metalliche.
L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio.
Rispettare i tempi di incubazione.

Per evitare derive, l'intervallo tra il pipettaggio del primo calibratore e l'ultimo campione deve essere limitato ai tempi riportati nella sezione XIII, paragrafo E (Tempo Trascorso).
Allestire una curva di calibrazione per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di calibrazione di sedute analitiche precedenti.
Distribuzione della soluzione cromogena entro 15 minuti dopo il lavaggio della piastra di microtitolazione.
Durante l'incubazione con la soluzione cromogena evitare la luce diretta del sole sulla piastra di microtitolazione.

B. Metodo del dosaggio

1. Selezionare il numero di strisce reagenti necessario per il test. Le strisce reagenti inutilizzate devono essere risigillate nel contenitore con un essiccante e conservate a 2-8°C.
2. Assicurare le strisce reagenti nel telaio di supporto.
3. Pipettare 50 µl di Tampone di Incubazione in ogni pozzetto.
4. Pipettare 100 µl di ogni calibratore, controllo e campione nei pozzetti adeguati.
5. Incubare per 1 ora a temperatura ambiente su un agitatore orizzontale a 700 ± 100 rpm.
6. Aspirare il liquido da ogni pozzetto.
7. Lavare la piastra 3 volte :
§ versando 0,4 ml di soluzione di lavaggio in ogni pozzetto
§ aspirando il contenuto di ogni pozzetto
8. Pipettare 100 µl di coniugato anti-IL-6-HRP e 50 µl di diluente del campione in tutti i pozzetti.
9. Incubare per 1 ora a temperatura ambiente su un agitatore orizzontale a 700 ± 100 rpm.
10. Aspirare il liquido da ogni pozzetto.
11. Lavare la piastra 3 volte :
§ versando 0,4 ml di soluzione di lavaggio in ogni pozzetto
§ aspirando il contenuto di ogni pozzetto
12. Pipettare in ogni pozzetto 200 µl di Soluzione Cromogena entro 15 minuti dal termine della fase di lavaggio.
13. Incubare la piastra di microtitolazione per 15 minuti a temperatura ambiente su un agitatore orizzontale a 700 ± 100 rpm ; evitare la luce diretta del sole.
14. Pipettare 100 µl di soluzione di arresto in ogni pozzetto.
15. Leggere le assorbanze a 450 nm a 490 nm (filtro di riferimento a 630 nm o 650 nm) entro 3 ore e calcolare i risultati come descritto nella sezione XI.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

A. Lettura policromatica:

1. In questo caso, l'elaborazione dati verrà effettuata dal software ELISA-AID™.
2. La piastra viene letta a 450 nm rispetto a un filtro di riferimento regolato a 650 nm (o 630 nm).
3. Verrà quindi effettuata una seconda lettura a 490 nm rispetto allo stesso filtro di riferimento.
4. Il Software ELISA-AID™ guiderà automaticamente il lettore e integrerà le due letture utilizzando un modello policromatico. Tale tecnica può generare valori fino a 10 OD.
5. Il principio dell'elaborazione policromatica dei dati è la seguente:
 - * $X_i = OD \text{ a } 450 \text{ nm}$
 - * $Y_i = OD \text{ a } 490 \text{ nm}$
 - * Utilizzando una regressione lineare standard non pesata, i parametri A & B sono calcolati: $Y = A \cdot X + B$
 - * Se $X_i < 3$ unità OD, X calcolato = X_i
 - * Se $X_i > 3$ unità OD, X calcolato = $(Y_i - B) / A$
 - * Per tracciare la curva di calibrazione viene utilizzato un modello di adattamento della curva logistica a 4 parametri.
 - * La concentrazione di IL-6 nel campione viene determinata per interpolazione sulla curva di calibrazione.

B. Lettura bicromatica

1. Leggere la piastra a 450 nm rispetto a un filtro di riferimento regolato a 650 nm (o 630 nm).
2. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
3. Costruire la curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica o lineare ponendo in ordinata le medie dei colpi per minuto (cpm) dei replicati degli standard e in ascissa le rispettive concentrazioni di IL-6, collegando i punti tracciati con linee rette.
4. Determinare le concentrazioni e controlli per interpolazione sulla curva di taratura.
5. E' possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I dati qui di seguito riportati sono esclusivamente indicativi e non dovranno assolutamente essere utilizzati in sostituzione della curva di calibrazione tracciata in tempo reale.

IL-6-EASIA		Unità OD
		Modello policromatico
Calibratore	0 pg/ml	79
	23,3 pg/ml	125
	68 pg/ml	193
	201 pg/ml	408
	633 pg/ml	1036
	2560 pg/ml	3579

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

Venti replicati dello standard zero sono stati dosati insieme agli altri standard. La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con OD pari alla media più 2 deviazioni standard di 20 replicati dello standard zero, è risultata essere 2 pg/ml.

B. Specificità

Nessuna reazione crociata significativa è stata osservata in presenza di 50 ng di IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-α, IFN-γ, LIF, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, OSM, RANTES, TGF-β, TNF-α and TNF-β. Una reattività crociata molto lieve (0,06%) è stata osservata con il G-CSF.

Interferenza con i Recettori solubili (sIL6R e sgp-130)

Nessuna reazione crociata significativa è stata osservata in presenza di 100 ng di Recettore sIL6 e sgp-130.

conc. di IL-6 (pg/ml)	IL-6 misurata con 100 ng/ml di sIL6R (pg/ml)	IL-6 misurata con 100 ng/ml di sgp-130 (pg/ml)
7,5	4,3	8,3
74,0	81,8	76,0
678,0	734,0	671,0

Non è stata osservata alcuna interferenza.

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (pg/ml)	CV (%)
A	20	147 ± 6,1	4,2	A	20	114 ± 5	4,4
B	20	623 ± 27	4,3	B	20	270 ± 15	5,4

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

D. Accuratezza

TEST DI RECUPERO

Campione	IL-6 aggiunta (pg/ml)	IL-6 recuperata (pg/ml)	Recupero (%)
Siero 1	1066	1035	97,1
	547	541	98,9
	228	234	102,6
Siero 2	1066	1110	104,1
	547	531	97,1
	228	250	109,6

TEST DI DILUIZIONE

Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (pg/ml)	Concentrazione misurata (pg/ml)
Siero	1/1	-	966
	1/2	483	478
	1/4	241,5	247
	1/8	120,8	130
	1/16	60,4	54
	1/32	30	23

I campioni sono stati diluiti con Diluente del Campione.

E. Tempo trascorso tra l'aggiunta dell'ultimo calibratore e il campione
Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 30 minuti dopo l'aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO					
campione	0 min	10 min	20 min	30 min	40 min
1	61	53	56	61	76
2	196	179	205	213	273
3	1584	1478	1433	1418	1533

XIV. CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

- § Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- § Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote. I controlli che contengono aze interferiscono con la reazione enzimatica e quindi non possono essere utilizzati.
- § I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.
- § Si raccomanda di saggiare i controlli con regolarità come campioni sconosciuti per misurare la variabilità del saggio. La resa del saggio deve essere monitorata con tabelle di controllo qualità dei controlli.
- § È buona pratica verificare visivamente il modello di curva selezionato dal computer.

XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori vengono dati solo come guida; ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli normali di valori.

Come riferimento, i risultati di 34 campioni di siero appartenenti a soggetti apparentemente sani con bassi livelli di PCR, hanno mostrato valori interni al range 0 – 50 pg/ml. In 31 campioni, si sono ottenuti valori inferiori a 17 pg/ml.

XVI. PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza
Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.
I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.
Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.
Evitare qualsiasi contatto della cute con tutti i reagenti, la soluzione di Arresto contiene HCl. In caso di contatto, lavare abbondantemente con acqua.
Non fumare, bere, mangiare o applicare cosmetici nell'area di lavoro. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca. Utilizzare indumenti protettivi e guanti monouso.

XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. HOUSSIAU F.A. et al., (1988)
IL-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides.
Arth. Rheum., 31:784-788.
2. MOSCOVITZ H. et al., (1994)
Plasma cytokine determination in emergency department patients as predictor of bacteremia and infectious disease severity.
Critical care Medicine, 22:1102-1107.
3. SAKAMOTO K. et al., (1994)
Elevation of circulating interleukin 6 after surgery : factors influencing the serum level.
Cytokine, 6:181-186.
4. KITA Y. et al., (1994)
Evaluation of sequential serum interleukin-6 levels in liver allograft recipients.
Transplantation, 57:1037-1041.
5. LE MOINE O. et al., (1994)
Interleukin-6 : an early marker of bacterial infection in decompensated cirrhosis.
J. of Hepatology, 20:819-824.

XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	CALIBRATORE (µl)	CAMPIONI CONTROLLI (µl)
Tampone di Incubazione Calibratore (0 - 5) Campioni, controlli	50 100 -	50 - 100
Incubare per 1 ora a temperatura ambiente in agitazione continua a 700 rpm. Aspirare il contenuto di ogni pozzetto. Lavare 3 volte con 400 µl di soluzione di lavaggio e aspirare.		
Coniugato anti-IL-6-HRP Diluyente del Campione	100 50	100 50
Incubare per 1 ora a temperatura ambiente in agitazione continua a 700 rpm. Aspirare il contenuto di ogni pozzetto. Lavare 3 volte con 400 µl di soluzione di lavaggio e aspirare.		
Soluzione cromogena	200	200
Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente in agitazione continua a 700 rpm.		
Soluzione di arresto	100	100
Leggere su un lettore per piastra da microtitolazione e registrare l'assorbanza di ogni pozzetto a 450 nm (e 490 nm) rispetto a 630 (o 650 nm)		

Numero di catalogo di DIAsource: KAP1261	P.I. numero: 1700582/it	Revisione numero: 090505/1
--	----------------------------	-------------------------------

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

IL-6-EASIA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ανοσοενζυμομετρικός προσδιορισμός για την in vitro ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης ιντερλευκίνης-6 (IL-6) σε ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. Εμπορική ονομασία: Kit IL-6-EASIA της DIAsource
- B. Αριθμός καταλόγου: KAP1261: 96 προσδιορισμοί
- Γ. Κατασκευάζεται από την: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Φαξ: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

Η ανθρώπινη ιντερλευκίνη 6 (IL-6) είναι ένα πολυπεπτίδιο 184 αμινοξέων με δυνητικές O και N θέσεις γλυκοζυλίωσης και σημαντική ομολογία με τον παράγοντα G-CSF. Παράγεται από διάφορα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των T- και B-κυττάρων, μονοκυττάρων, ινοβλαστών, κερατινοκυττάρων, ενδοθηλιακών κυττάρων, μεσαγγειακών κυττάρων, αστροκυττάρων, στρωματικών κυττάρων του μυελού των οστών και αρκετών νεοπλασματικών κυττάρων. Ρυθμίζει την ανάπτυξη και την διαφοροποίηση διαφόρων κυτταρικών τύπων με κύριες δράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα, την αιμοποίηση και τη φλεγμονή. Οι πολλαπλές αυτές δράσεις αποτελούν μέρος ενός πολύπλοκου δικτύου κυτταροκινών, όπου αρκετές κυτταροκίνες (IL-1, TNF, PDGF, IFN,...) επάγουν ή επάγονται από την IL-6 και οι τελικές επιδράσεις είναι αποτέλεσμα είτε συνεργικών είτε ανταγωνιστικών δράσεων μεταξύ της IL-6 και των υπόλοιπων κυτταροκινών (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IFN γ , IL-3, GM-CSF, M-CSF, CSF,...). Η IL-6 επάγει την τελική ωρίμανση των B-κυττάρων σε κύτταρα παραγωγής αντισωμάτων και αποτελεί ισχυρό αυξητικό παράγοντα για κύτταρα μυελώματος/πλασματοκυττώματος. Διεγείρει (και σε συνδυασμό) την ανάπτυξη των T-κυττάρων και τη διαφοροποίησή τους σε κυτταροτοξικά T-κύτταρα. Προάγει την ανάπτυξη των μεγακαρυοκυττάρων και δρα συνεργικά με άλλες κυτταροκίνες για τη διέγερση πολυδύναμων αιμοποιητικών προδρόμων. Μπορεί επίσης να επάγει αναστολή της διαφοροποίησης και της ανάπτυξης ορισμένων λευχαιμικών -ή μη αιμοποιητικών νεοπλασματικών κυτταρικών σειρών. Η IL-6 είναι επίσης κύριος επαγωγέας των αντιδράσεων οξείας φάσης ως απάντησης σε φλεγμονή ή τραυματισμό ιστών. Μαζί με τα IL-1 και TNF, επάγει τη σύνθεση πρωτεϊνών οξείας φάσης (APP) από ηπατοκύτταρα, με μοτίβα προτίμησης των παραγόμενων APP, ανάλογα με την κυτταροκίνη ή το συνδυασμό τους. Η IL-6 αλληλεπιδρά επίσης με το νευροενδοκρινικό σύστημα, π.χ. επάγοντας την παραγωγή ACTH. Έτσι, Η IL-6 αποτελεί μία πλειοτροπική κυτταροκίνη με πολλαπλές ενδοκρινείς, παρακρινείς και πιθανώς αυτοκρινείς δράσεις σε διαφορετικούς τύπους ιστών.

B. Κλινικές εφαρμογές

Αν και οι περισσότεροι φυσιολογικοί οροί ελέγχου παρουσιάζουν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα IL-6, τεράστιες ποσότητες IL-6 ανιχνεύονται σε βαριές φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η σηψαιμία. Η αύξηση της IL-6 στον ορό προηγείται εκείνης των πρωτεϊνών οξείας φάσης π.χ. ως μετεγχειρητικό φαινόμενο, και ενδέχεται για το λόγο αυτό να αποτελεί μία ευαίσθητη πρόωμη παράμετρο για τη διερεύνηση φλεγμονωδών καταστάσεων.

Η IL-6 ορού έχει ήδη περιγραφεί σε συνάρτηση με χειρουργικούς ή μη τραυματισμούς ιστών, λοιμώδεις και αυτοάνοσες νόσους, συμπεριλαμβανομένης της αρθρίτιδας, της απόρριψης μοσχεύματος, της αλκοολικής κίρρωσης ήπατος, κακοηθών νεοπλασιών κτλ.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο προσδιορισμός IL-6-EASIA της DIAsource είναι ένας ενζυμικός ανοσοπροσδιορισμός ενισχυμένης ευαισθησίας, στερεής φάσης, ο οποίος εκτελείται σε πλάκες μικροτιτλοδότησης. Ο προσδιορισμός χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα (MAbs) που κατευθύνονται εναντίον διακριτών επιτόπων της IL-6. Οι βαθμονομητές και τα δείγματα αντιδρούν με το μονοκλωνικό αντίσωμα σύλληψης (MAb 1) που είναι επιστρωμένο στην υποδοχή της πλάκας μικροτιτλοδότησης και με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (MAb 2) σημασμένο με ραφανιδική υπεροξειδάση (HRP). Μετά από μια περίοδο επώασης που επιτρέπει το σχηματισμό ενός σάντουιτς: επιστρωμένο MAb 1 – ανθρώπινη IL-6 – MAb 2 – HRP, η πλάκα μικροτιτλοδότησης υποβάλλεται σε πλύση για να απομακρυνθεί το σημασμένο με ένζυμο αδέσμευτο αντίσωμα. Το σημασμένο με ένζυμο δεσμευμένο αντίσωμα μετράται μέσω μιας χρωμογόνου αντίδρασης. Προστίθεται και επωάζεται χρωμογόνο διάλυμα (TMB έτοιμο για χρήση). Η αντίδραση σταματά με την προσθήκη ανασχετικού διαλύματος και στη συνέχεια γίνεται ανάγνωση της πλάκας μικροτιτλοδότησης στο κατάλληλο μήκος κύματος. Η ποσότητα μετατροπής του υποστρώματος καθορίζεται χρωματομετρικά μετρώντας την απορρόφηση, η οποία είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση της IL-6. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζεται η συγκέντρωση της IL-6 στα δείγματα με αναγωγή από την καμπύλη βαθμονόμησης. Η χρήση του συστήματος ανάγνωσης EASIA (γραμμικότητα έως 3 μονάδες OD) και μιας πολύπλοκης μεθόδου αναγωγής δεδομένων (αναγωγή πολυχρωματικών δεδομένων) έχουν ως αποτέλεσμα υψηλή ευαισθησία στο χαμηλό πεδίο τιμών και στο εκτεταμένο πεδίο τιμών βαθμονόμησης.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προσδιορισμών	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση
 Πλάκα μικροτιτλοδότησης με 96 υποδοχές επιστρωμένες με αντι IL-6 (μονοκλωνικά αντισώματα)	96 υποδοχές	μπλε	Έτοιμο για χρήση
Ab HRP Σύζευγμα: Αντι-IL-6 (μονοκλωνικά αντισώματα) σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη	1 φιαλίδιο 11 ml	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
CAL N Βαθμονομητής N = 0 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό με βόεια ορολευκωματίνη, βενζαμιδίνη και θυμόλη	6 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
DIL SPE Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων: ανθρώπινος ορός με βόεια ορολευκωματίνη, βενζαμιδίνη και θυμόλη	3 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο	μαύρο	Προσθέστε απεσταγμένου νερού (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)
INC BUF Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης: Ρυθμιστικό διάλυμα βορικών με βόεια ορολευκωματίνη, βενζαμιδίνη και θυμόλη	1 φιαλίδιο 11 ml	μαύρο	Έτοιμο για χρήση
WASH SOLN CONC Διάλυμα πλύσης (Tris-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 200 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
CONTROL N Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο	πράσινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
CHROM TMB Διάλυμα χρωμογόνου TMB	1 φιαλίδιο 25 ml	λευκό	Έτοιμο για χρήση
STOP SOLN Ανασχετικό διάλυμα: HCl 2N	1 φιαλίδιο 25 ml	λευκό	Έτοιμο για χρήση

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιήστε διάλυμα αραίωσης δειγμάτων για αραίωση των δειγμάτων.
2. 1 pg του παρασκευάσματος του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 100 mIU του NIBSC 1^o IS 89/548.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό υψηλής ποιότητας
- Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 100 μl, 200 μl, 1 ml και 10 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
- Αναμεικτής στροβιλισμού
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Οριζόντια συσκευή ανάδευσης πλακών μικροτιτλοδότησης με δυνατότητα 700 rpm ± 100 rpm
- Συσκευή πλύσης για πλάκες μικροτιτλοδότησης
- Συσκευή ανάγνωσης πλακών μικροτιτλοδότησης με δυνατότητα ανάγνωσης στα 450 nm, 490 nm και 650 nm (σε περίπτωση πολυχρωματικής ανάγνωσης) ή με δυνατότητα ανάγνωσης στα 450 nm και 650 nm (διχρωματική ανάγνωση)
- Προαιρετικός εξοπλισμός: Ο εξοπλισμός ELISA-AID™ που είναι απαραίτητος για την πολυχρωματική ανάγνωση (δείτε την παράγραφο XI.A.) μπορεί να αγοραστεί από την Robert Maciels Associates, Inc. Mass. 0.2174 USA.

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. **Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε τους βαθμονομητές με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- B. **Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. **Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων:** Ανασυστήστε το διάλυμα αραίωσης δειγμάτων στον όγκο που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου με απεσταγμένο νερό.
- Δ. **Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 199 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (200x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- § Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- § Οι μη χρησιμοποιημένες ταινίες πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8° C, σε σφραγισμένη σακούλα που περιέχει αποξηραντικό παράγοντα, μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- § Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές, οι οροί ελέγχου και το διάλυμα αραίωσης δειγμάτων παραμένουν σταθερά επί 4 ημέρες στους 2-8° C. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, θα πρέπει να δημιουργηθούν κλάσματα/δόσεις μίας χρήσης και να διατηρηθούν σε θερμοκρασία -20°C επί 2 μήνες το μέγιστο. Αποφύγετε τους επανειλημμένους κύκλους απόψυξης-κατάψυξης.
- § Το συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης είναι σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- § Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- § Μετά την πρώτη χρήση του, το σύζευγμα παραμένει σταθερό έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- § Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- § Ο ορός θα πρέπει να απομακρυνθεί όσο το δυνατόν νωρίτερα από το πήγμα των ερυθροκυττάρων μετά την πήξη και τη φυγοκέντριση και να διατηρηθεί στους 4°C. Αν τα δείγματα δεν χρησιμοποιηθούν αμέσως, θα πρέπει να διατηρηθούν στους -20°C επί 2 μήνες το μέγιστο και στους -70°C για μεγαλύτερης διάρκειας φύλαξη (έως ένα έτος).
- § Αποφύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- § Φέρετε όλα τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Συνιστάται η ανάμειξη των δειγμάτων σε συσκευή στροβιλισμού πριν από τη χρήση.
- § Οι συνθήκες δειγματοληψίας μπορούν να επηρεάσουν τις τιμές. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να λαμβάνονται αυστηρά μέτρα προφύλαξης κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας για την αποφυγή προσμίξεων στα δείγματα λήψης, τα οποία θα διέγειραν την παραγωγή IL-6 από αιμοκύτταρα και θα αύξαναν εσφαλμένα τις τιμές της IL-6 στον ορό.
- § Τα σωληνάρια συλλογής θα πρέπει να είναι ελεύθερα πυρογενών.

Χ. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
Α. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό
Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης.
Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ.
Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
Αναμειξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση.
Εκτελέστε εις διπλούν ανάληψη των βαθμονομητών, των ορών ελέγχου και των δειγμάτων. Συνιστάται κάθετη ευθυγράμμιση.
Χρησιμοποιήστε ένα καθαρό, πλαστικό δοχείο για να ετοιμάσετε το διάλυμα πλύσης.
Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση.
Για τη διανομή του χρωμογόνου διαλύματος και του ανασχετικού διαλύματος αποφύγετε πιπέτες με μεταλλικά μέρη.
Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες.
Τηρείτε τους χρόνους επώασης.
Για να αποφύγετε τη μετατόπιση, ο χρόνος μεταξύ της διανομής με πιπέτα του πρώτου βαθμονομητή και του τελευταίου δείγματος πρέπει να περιορίζεται στο χρονικό διάστημα που αναφέρεται στην ενότητα XIII, παράγραφος Ε (Μεσοδιάστημα).
Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.
Διανείμετε το χρωμογόνο διάλυμα εντός 15 λεπτών από την πλύση της πλάκας μικροτιτλοδότησης.
Κατά τη διάρκεια της επώασης με το χρωμογόνο διάλυμα, αποφύγετε την άμεση έκθεση της πλάκας μικροτιτλοδότησης στο ηλιακό φως.

- Β. Διαδικασία**
- Επιλέξτε τον απαιτούμενο αριθμό ταινιών για την ανάλυση. Οι μη χρησιμοποιημένες ταινίες πρέπει να ξανασφραγιστούν μέσα στη σακούλα με τον αποξηραντικό παράγοντα και να φυλαχτούν σε θερμοκρασία 2-8° C.
 - Ασφαλίστε τις ταινίες μέσα στο πλαίσιο στήριξης
 - Διανείμετε με πιπέτα 50 μl ρυθμιστικού διαλύματος επώασης σε όλες τις υποδοχές.
 - Διανείμετε με πιπέτα 100 μl από κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα στις κατάλληλες υποδοχές.
 - Επωάστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα στις 700 rpm $\pm$ 100 rpm.
 - Αναρροφήστε το υγρό από κάθε υποδοχή.
 - Πλύνετε την πλάκα 3 φορές:
§ διανέμοντας 0,4 ml διαλύματος πλύσης σε κάθε υποδοχή.
§ αναρροφώντας το περιεχόμενο κάθε υποδοχής
 - Διανείμετε με πιπέτα 100 μl συζεύγματος Αντι-IL-6-HRP και 50 μl διαλύματος αραίωσης δειγμάτων σε όλες τις υποδοχές.
 - Επωάστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα στις 700 rpm $\pm$ 100 rpm.
 - Αναρροφήστε το υγρό από κάθε υποδοχή.
 - Πλύνετε την πλάκα 3 φορές:
§ διανέμοντας 0,4 ml διαλύματος πλύσης σε κάθε υποδοχή
§ αναρροφώντας το περιεχόμενο κάθε υποδοχής
 - Διανείμετε με πιπέτα 200 μl χρωμογόνου διαλύματος σε κάθε υποδοχή εντός 15 λεπτών από το βήμα πλύσης.
 - Επωάστε την πλάκα μικροτιτλοδότησης επί 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα στις 700 rpm $\pm$ 100 rpm, αποφύγετε την άμεση έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.
 - Διανείμετε με πιπέτα 100 μl ανασχετικού αντιδραστηρίου σε κάθε υποδοχή
 - Κάντε ανάγνωση των απορροφήσεων στα 450 nm και 490 nm (φίλτρο αναφοράς 630 nm ή 650 nm) εντός 1 ώρας και υπολογίστε τα αποτελέσματα όπως περιγράφεται στην ενότητα XI.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Α. Πολυχρωματική ανάγνωση:**
- Στην περίπτωση αυτή, την επεξεργασία των δεδομένων θα κάνει το λογισμικό του ELISA-AID™.
 - Η ανάγνωση της πλάκας γίνεται πρώτα στα 450 nm έναντι ενός φίλτρου αναφοράς που ρυθμίζεται στα 650 nm (ή τα 630 nm).
 - Εκτελείται δεύτερη ανάγνωση στα 490 nm έναντι του ίδιου φίλτρου αναφοράς.
 - Το λογισμικό του ELISA-AID™ θα ενεργοποιήσει αυτόματα τη συσκευή ανάγνωσης και θα ενσωματώσει και τις δύο μετρήσεις σε ένα πολυχρωματικό μοντέλο. Αυτή η τεχνική μπορεί να δημιουργήσει οπτικές πυκνότητες (OD) έως και 10.
 - Βασική αρχή της επεξεργασίας των πολυχρωματικών δεδομένων έχει ως εξής:
§ $X_i = OD$ στα 450 nm
§ $Y_i = OD$ στα 490 nm
§ Χρησιμοποιώντας τυπική μη σταθμισμένη γραμμική παλινδρόμηση, υπολογίζονται οι παράμετροι Α & Β: $Y = A \cdot X + B$
§ Αν $X_i < 3$ μονάδες OD, τότε υπολογισθέν $X = X_i$
§ Αν $X_i > 3$ μονάδες OD, τότε υπολογισθέν $X = (Y_i - B)/A$

- § Χρησιμοποιείται προσαρμογή λογιστικής καμπύλης 4 παραμέτρων για τη δημιουργία της καμπύλης βαθμονόμησης.
§ Η συγκέντρωση IL-6 στα δείγματα καθορίζεται μέσω αναγωγής στην καμπύλη βαθμονόμησης.

- Β. Διχρωματική ανάγνωση**
- Κάντε ανάγνωση της πλάκας στα 450 nm έναντι ενός φίλτρου αναφοράς που ρυθμίζεται στα 650 nm (ή τα 630 nm).
 - Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
 - Σε ημίλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις τιμές OD (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της IL-6 (τετημένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, συνδέοντας με ευθείες γραμμές τα αποτυπωμένα σημεία.
 - Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε ορό ελέγχου και δείγμα με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
 - Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

IL-6-EASIA		Μονάδες OD Πολυχρωματικό μοντέλο
Βαθμονομητής	0 pg/ml	79
	23,3 pg/ml	125
	68 pg/ml	193
	201 pg/ml	408
	633 pg/ml	1036
	2560 pg/ml	3579

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Α. Όριο ανίχνευσης
Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις OD σε μηδενική δέσμευση, ήταν 2 pg/ml.

Β. Ειδικότητα
Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση παρουσία 50 ng of IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-α, IFN-γ, LIF, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, OSM, RANTES, TGF-β, TNF-α and TNF-β. Ελάχιστη διασταυρούμενη αντίδραση (0.06%) παρατηρείται με τον παράγοντα G-CSF.

Επίδραση των διαλυτών υποδοχέων (sIL6R και sgp-130)

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση παρουσία 100 ng του υποδοχέα sIL6 και του υποδοχέα sgp-130.

IL6 συγκ. (pg/ml)	IL6 μετρηθείσα με 100 ng/ml του sIL6R (pg/ml)	IL6 μετρηθείσα με 100 ng/ml του sgp-130 (pg/ml)
7,5	4,3	8,3
74,0	81,8	76,0
678,0	734,0	671,0

Δεν ανιχνεύθηκαν επιδράσεις

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> $\pm$ T.A. (pg/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> $\pm$ T.A. (pg/ml)	Σ.Δ. (%)
A	20	147 $\pm$ 6,1	4,2	A	20	114 $\pm$ 5	4,4
B	20	623 $\pm$ 27	4,3	B	20	270 $\pm$ 15	5,4

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Α. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ			
Δείγμα	Προσθεθείσα IL-6 (pg/ml)	Ανακτηθείσα IL-6 (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
Ορός 1	1066	1035	97.1
	547	541	98.9
	228	234	102.6
Ορός 2	1066	1110	104.1
	547	531	97.1
	228	250	109.6

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)
Ορός	1/1	-	966
	1/2	483	478
	1/4	241,5	247
	1/8	120,8	130
	1/16	60,4	54
	1/32	30	23

Τα δείγματα αραιώθηκαν με το διάλυμα αραιώσης δειγμάτων.

Ε. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος
Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 30 λεπτά μετά την προσθήκη των βαθμονομητών στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ					
Δείγμα	0 λεπτά	10 λεπτά	20 λεπτά	30 λεπτά	40 λεπτά
1	61	53	56	61	76
2	196	179	205	213	273
3	1584	1478	1433	1418	1533

XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- § Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- § Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης. Οροί ελέγχου που περιέχουν αζίδιο θα επιδράσουν στην ενζυμική αντίδραση και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν.
- § Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
- § Συνιστάται οι οροί ελέγχου να υποβάλλονται σε προσδιορισμό τακτικά ως άγνωστα δείγματα για να μετράται η μεταβλητότητα του προσδιορισμού. Η απόδοση του προσδιορισμού πρέπει να παρακολουθείται με διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου των ορών ελέγχου.
- § Είναι καλό το να ελέγχετε οπτικά την προσαρμογή της καμπύλης που επιλέχθηκε από τον υπολογιστή.

XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Τα παρακάτω αποτελέσματα παρέχονται μόνο ως οδηγός: τα αποτελέσματα 34 δειγμάτων ορού εμφανώς υγιών ατόμων με χαμηλά επίπεδα CRP, κυμάνθηκαν μεταξύ 0 και 50 pg/ml. 31 δείγματα έλαβαν τιμές κάτω από 17 pg/ml.

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλειας

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά. Αποφύγετε την άμεση επαφή του δέρματος με όλα τα αντιδραστήρια· το ανασχετικό διάλυμα περιέχει HCl. Σε περίπτωση επαφής, πλύνετε σχολαστικά με νερό. Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. HOUSSIAU F.A. et al., (1988)
IL-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides.
Arth. Rheum., 31:784-788.
2. MOSCOVITZ H. et al., (1994)
Plasma cytokine determination in emergency department patients as predictor of bacteremia and infectious disease severity.
Critical care Medicine, 22:1102-1107.
3. SAKAMOTO K. et al., (1994)
Elevation of circulating interleukin 6 after surgery : factors influencing the serum level.
Cytokine, 6:181-186.
4. KITA Y. et al., (1994)
Evaluation of sequential serum interleukin-6 levels in liver allograft recipients.
Transplantation, 57:1037-1041.
5. LE MOINE O. et al., (1994)
Interleukin-6 : an early marker of bacterial infection in decompensated cirrhosis.
J. of Hepatology, 20:819-824

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ (μl)	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (μl)
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης Βαθμονομητές (0-5) Δείγματα, οροί ελέγχου	50 100 -	50 - 100
Επωάστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm). Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε υποδοχής. Πλύνετε 3 φορές με 400 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε.		
Σύζευγμα αντι-IL-6-HRP Διάλυμα αραιώσης δειγμάτων	100 50	100 50
Επωάστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm). Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε υποδοχής. Πλύνετε 3 φορές με 400 μl διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε.		
Χρωμογόνο διάλυμα	200	200
Επωάστε επί 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm).		
Ανασχετικό διάλυμα	100	100
Διαβάστε σε συσκευή ανάγνωσης πλακών μικροτιτλοδότησης και καταγράψτε την απορρόφηση κάθε υποδοχής στα 450 nm (και 490 nm) έναντι 630 (ή 650 nm)		

Αρ. καταλόγου DIAsource: KAP1261	Αριθμός P.I.: 1700492/el	Αρ. αναθεώρησης: 090505/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

Ημερομηνία αναθεώρησης: 2009-05-05

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extracção	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stopplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σωληνάριο	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично анти тяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ анти тяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер