



IL-10-EASIA

KAP1321

Read entire protocol before use.

IL-10-EASIA

I. INTENDED USE

Immunoenzymetric assay for the in vitro quantitative measurement of human interleukin-10 (IL-10) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource IL-10-EASIA Kit
- B. Catalogue number :** KAP1321 : 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-10 (IL-10) is a 19 kDA lymphokine produced by T helper lymphocytes, by monocytes, macrophages and B-lymphocytes. IL-10 was first characterized as a cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF) able to inhibit cytokine synthesis by TH1 clones activated in the presence of antigen presenting cells. However, in the absence of monocytes, IL-10 directly inhibits the growth of T-cells triggered by immobilized anti-CD3 MoAb. This proliferation inhibition was found to be a result of specific inhibition of IL-2 production by the responding T-cells. In vitro, IL-10 is a very powerful inhibitor of monokines (including TNF- α , IL-1, IL-6 and IL-8) produced by LPS-activated monocytes and macrophages. The addition of IL-10 to B lymphocytes results in limited cell proliferation but most importantly in very high immunoglobulin production, a result of the transformation of B-cells into plasma cells. Finally, natural killer (NK) cells appear to be another target for the anti-inflammatory properties of IL-10. Indeed, recent data have shown that IL-10 can inhibit antigen induced IFN- γ production by NK-cells by inhibiting not only production but also the stimulatory effects of IL-12 and TNF on IFN- γ production.

B. Clinical application

So far, circulating levels of IL-10 have been found in serum of patients suffering of Non-Hodgkin's lymphoma, multiple myeloma, cerebral malaria or septic shock.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIIAsource IL-10-EASIA is a solid phase Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay performed on microtiterplate. The assay uses monoclonal antibodies (MAbs) directed against distinct epitopes of IL-10. 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-10 – 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-10 concentration. A calibration curve is plotted and IL-10 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-10 (monoclonal antibodies) coated wells	96 wells	blue	Ready for use
Ab HRP Conjugate: HRP labelled anti-IL-10 (monoclonal antibodies) in TRIS-Maleate buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial 6 ml	red	Ready for use
CAL N Calibrator N = 0 to 5 (see exact values on vial labels) in human plasma with benzamidin and thymol	6 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water
DIL SPE Specimen Diluent: human plasma with benzamidin and thymol	3 vials lyophil.	black	Add distilled water (see on the label for the exact volume)
INC BUF Incubation Buffer: Phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial 11 ml	black	Ready for use
WASH SOLN CONC Wash Solution (Tris-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 200 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls - N = 1 or 2 in human plasma with thymol	2 vials lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water
CHROM TMB CONC Chromogen TMB (Tetramethylbenzidine) in Dimethylformamide	1 vial 1 ml	green	Dilute 0.2 ml into 1 vial of substrate buffer
SUB BUF Substrate buffer: H₂O₂ in acetate / citrate buffer	3 vials 21 ml	white	Ready for use
STOP SOLN Stop Solution: H₂SO₄ 1.8N	1 vial 6 ml	black	Ready for use

Note: 1. Use Specimen Diluent for sample dilutions.
2. 1 pg of the calibrator preparation is equivalent to 5 mIU of the NIBSC 1st RR 93/722.

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 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.
- Revelation Solution:** pipette 0.2 ml of the chromogen TMB into one of the vials of substrate buffer (H₂O₂ in acetate/citrate buffer). Extemporaneous preparation is recommended.

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.
- § The freshly prepared revelation solution is stable, before use, for maximum 15 minutes at room temperature and must be discarded afterwards.
- § 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-10 production by blood cells and thus falsely increase serum IL-10 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 Revelation 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.

The Revelation Solution should be colourless. If a blue colour develops within a few minutes after preparation, this indicates that the reagent is unusable, and must be discarded.

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

During incubation with Revelation 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 100 µl of Incubation Buffer into all the wells
- Pipette 100 µl of each Calibrator, Control and Sample into the appropriate wells.
- Incubate for 2 hours at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm $\pm$ 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 specimen diluent and then 50 µl of anti-IL-10-HRP conjugate into all the wells.
- Incubate for 2 hours at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm $\pm$ 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 freshly prepared revelation solution into each well within 15 minutes following the washing step.
- Incubate the microtiterplate for 30 minutes at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm $\pm$ 100 rpm, avoid direct sunlight.
- Pipette 50 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-10 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-10 (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-10-EASIA		OD units Polychromatic model
Calibrator	0 pg/ml	0.047
	20.5 pg/ml	0.119
	60.0 pg/ml	0.265
	204.0 pg/ml	0.726
	691.0 pg/ml	2.077
	1976.0 pg/ml	4.138

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 1.6 pg/ml.

B. Specificity

No significant cross-reaction was observed in presence of 50 ng of IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, TNF- α , TNF- β , IFN- α , IFN- β , IFN- γ , TGF- β , GM-CSF, OSM, MIP-1 α , MIP-1 β , LIF, MCP-1, G-CSF, RANTES, PF-4, β TG, GRO, IP-10 and SCF. This IL-10 assay is specific for human natural and recombinant IL-10.

A very low level (<0.2%) of cross-reaction was observed with BCRF1 (viral IL-10) at a concentration of 70000pg/ml. BCRF1 gave a signal corresponding to 134 pg/ml of IL-10.

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> $\pm$ SD (pg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> $\pm$ SD (pg/ml)	CV (%)
Serum 1	24	86 $\pm$ 2.4	2.8	Serum 1	12	90 $\pm$ 2.5	2.8
2	24	324 $\pm$ 12	3.7	2	14	335 $\pm$ 9	2.7

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added IL-10 (pg/ml)	Recovered IL-10 (pg/ml)	Recovery (%)
serum	0	0	-
	60	56	93
	215	215	100
	760	745	98

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (pg/ml)	Measured Concent. (pg/ml)
serum	1/1	910	910
	1/2	455	390
	1/4	228	213
	1/8	114	107
	1/16	57	57

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	15 min	30 min
1	91	90	88
2	341	330	341
3	202	194	208
4	47	50	51
5	1141	1196	1228
6	284	294	297
7	136	133	137
8	263	263	291

F. Hook effect

A sample with an IL-10 concentration of 870 ng/ml gives a higher OD than the last calibrator point.

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 Practises
- § 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 32 serum samples from apparently healthy persons with low CRP levels, ranged between 0 and 3.3 pg/ml with a lean value of 0.2 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 H₂SO₄, the chromogen contains TMB in Dimethylformamide, Substrate buffer contains H₂O₂. 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

1. MOORE K.W., O'GARRA A., DE WAAL-MALEFYT R., VIEIRA P., MOSMANN T.R. (1993).
Interleukin-10
Annu. Rev. Immunol., 11:165-190.
2. BLAY J.Y., BURDIN N., ROUSSET F., LENOIR G., BIRON P., PHILIP T., BANCHEREAU J., FAVROT M.C. (1993).
Serum Interleukin-10 in Non-Hodgkin's Lymphoma : a prognostic factor.
Blood, 82:2169-2174.
3. BOGDAN C., BODOVOTZ Y., NATHAN C., (1991).
Macrophage deactivation by Interleukin-10.
J. Exp. Med., 174:1549-1555.
4. MELVILLE P., ROUSSET F., BANCHEREAU J., KLEIN B., BATAILLE R., (1992).
Serum Interleukin-10 in early stage multiple myeloma.
Lancet, 340:1544-1545.
5. PEYRON F., BURDIN N., RINGWALD P., VUILLEZ J.P., ROUSSET F., BANCHEREAU J., (1994).
High levels of circulating IL-10 in human malaria.
Clin. Exp. Immunol., 95:300-303.
6. MARCHANT A., DEVIERE J., BYL B., DE GROOTE D., VINCENT J.L., GOLDMAN M., (1994).
Interleukin-10 production during septicaemia.
Lancet, 343:707-708.
7. DE GROOTE D., MARCHANT A., FAUCHET F., JADOUL M., DEHART I., GERARD C., GEVAERT Y. et al. (1994).
Characterisation of monoclonal antibodies against human interleukin-10 and their use in an ELISA for the measurement of this cytokine.
J. of Immunol. Methods, 177:225-234.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	CALIBRATORS (µl)	SAMPLE(S) CONTROLS (µl)
Incubation Buffer Calibrators (0-5) Samples, Controls	100 100 -	100 - 100
Incubate for 2 hours 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.		
Specimen Diluent Anti-IL-10 -HRP conjugate	100 50	100 50
Incubate for 2 hours 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.		
Revelation Solution	200	200
Incubate for 30 min at room temperature with continuous shaking at 700 rpm.		
Stop Solution	50	50
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 : KAP1321	P.I. Number : 1702102/en	Revision nr : 090505/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

IL-10-EASIA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ανοσοενζυμομετρικός προσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης ιντερλευκίνης-10 (IL-10) σε ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ IL-10-EASIA της DIAsource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KAP1321: 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 10 (IL-10) είναι μία λεμφοκίνη μεγέθους 19 kDA, η οποία παράγεται από βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα και B-λεμφοκύτταρα. Η IL-10 είχε καταρχήν χαρακτηριστεί ως ένας ανασταλτικός παράγοντας σύνθεσης κυτταροκινών (CSIF), ικανός να αναστείλει την παραγωγή κυτταροκινών από κλώνους TH1 κυττάρων, ενεργοποιημένων από την παρουσία αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Αν απουσιάζουν μονοκύτταρα, ωστόσο, η IL-10 αναστέλλει απευθείας την αύξηση των T-κυττάρων, ενεργοποιημένη από ακινητοποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα (MoAb) αντι-CD3. Φάνηκε πως η αναστολή πολλαπλασιασμού ήταν αποτέλεσμα ειδικής αναστολής της παραγωγής IL-2 από τα αποκρινόμενα T-κύτταρα. *In vitro*, η IL-10 είναι ένας πολύ ισχυρός αναστολέας μονοκινών (συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, IL-1, IL-6 και IL-8) που παράγεται από ενεργοποιημένα από LPS μονοκύτταρα και μακροφάγα. Η προσθήκη IL-10 σε B-λεμφοκύτταρα επιφέρει περιορισμό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και, αυτό είναι σημαντικότερο, πολύ υψηλή παραγωγή ανοσοσφαιρινών, ως αποτέλεσμα της μεταμόρφωσης B-κυττάρων σε πλασματοκύτταρα. Τέλος, φαίνεται πως τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) αποτελούν έναν ακόμη στόχο των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της IL-10. Πράγματι, πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει πως η IL-10 μπορεί να αναστείλει επαγόμενη από αντιγόνο παραγωγή IFN-γ από κύτταρα NK, αναστέλλοντας όχι μόνο την παραγωγή αλλά και τα διεγερτικά αποτελέσματα των IL-12 και TNF στην παραγωγή της IFN-γ.

B. Κλινικές εφαρμογές

Έως σήμερα, έχουν ανευρεθεί κυκλοφορούντα επίπεδα IL-10 στον ορό πασχόντων από Non-Hodgkin λέμφωμα, πολλαπλούν μυέλωμα, εγκεφαλική ελονοσία και σηπτικό σοκ.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο προσδιορισμός IL-10-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-10. 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) σηματοδοτούμενο με ραφανιδική υπεροξειδάση (HRP). Μετά από μια περίοδο επώασης που επιτρέπει το σχηματισμό ενός σάντουιτς: επιστρωμένο MAb 1 – ανθρώπινη IL-10 – MAb 2 – HRP, η πλάκα μικροτιτλοδότησης υποβάλλεται σε πλύση για να απομακρυνθεί το σηματοδοτούμενο με ένζυμο αδέσμευτο αντίσωμα. Το σηματοδοτούμενο με ένζυμο δεσμευμένο αντίσωμα μετράται μέσω μιας χρωμογόνου αντίδρασης. Προστίθεται και επώάζεται 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-10. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζεται η συγκέντρωση της IL-10 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-10 (μονοκλωνικά αντισώματα)	96 υποδοχές	μπλε	Έτοιμο για χρήση
Ab HRP Σύζευγμα: Αντι-IL-10 (μονοκλωνικά αντισώματα) σηματοδοτούμενα με HRP σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-μυϊκών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη	1 φιαλίδιο 6 ml	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
CAL N Βαθμονομητής N = 0 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο πλάσμα με βενζαμιδίνη και θυμόλη	6 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο.	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
DIL SPE Διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων: σε ανθρώπινο πλάσμα με βενζαμιδίνη και θυμόλη	3 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο	μαύρο	Προσθέστε απεσταγμένο νερό (βλ. ετικέτα στο φιαλίδιο για τον ακριβή όγκο)
INC BUF Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης: Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη 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 πλάσμα με θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλοποιημένο.	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού
CHROM TMB CONC Χρωμογόνο TMB (Τετραμεθυλβενζυδίνη) σε διμεθυλφορμαμίδη	1 φιαλίδιο 1 ml	πράσινο	Αραιώστε 0,2 ml ie 1 φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος υποστρώματος
SUB BUF Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος: H₂O₂ σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού/κιτρικού οξέος	3 φιαλίδια 21 ml	πράσινο	Έτοιμο για χρήση
STOP SOLN Ανασχετικό διάλυμα: H₂SO₄ 1,8N	1 φιαλίδιο 6 ml	μαύρο	Έτοιμο για χρήση

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιήστε διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων για αραιώση των δειγμάτων.
2.1 pg του παρασκευάσματος του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 5 mIU του NIBSC 1° RR 93/722.

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 (δichρωματική 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.
- C. **Διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων:** Ανασυστήστε το διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων στον όγκο που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου με απεσταγμένο νερό.
- D. **Διάλυμα πλύσεως εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσεως εργασίας με προσθήκη 199 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσεως (200x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσεως εργασίας στο τέλος της ημέρας.
- E. **Αποκαλυπτικό Διάλυμα:** Διανείμετε με πιπέτα 0,2 ml του χρωμογόνου TMB σε ένα από τα φιαλίδια ρυθμιστικού διαλύματος υποστρώματος (H₂O₂ σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού/κιτρικού οξέος). Συνιστάται αυτοσχέδια προετοιμασία.

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 αραιώσεως 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 πλύσεως είναι σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- § Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσεως 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.
- § Το μόλις προετοιμασμένο αποκαλυπτικό διάλυμα είναι σταθερό ριν από τη χρήση του, για έως και 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν θα πρέπει να απορρίπτεται.
- § 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 αφαιρεθεί όσο το δυνατόν νωρίτερα από το πήγμα των ερυθροκυττάρων μετά την πήξη και τη φυγοκέντρωση και να διατηρηθεί στους 4°C. Εάν τα δείγματα δεν χρησιμοποιηθούν αμέσως, θα πρέπει να φυλαχθούν στους -20°C για έως και 2 μήνες ή στους -70°C για μεγαλύτερης διάρκειας φύλαξη (έως ένα έτος).
- § Αποφεύγετε 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 διέγερουν την παραγωγή IL-10 από αιμοκύτταρα και θα αύξαναν εσφαλμένα τις τιμές της IL-10 στον ορό.
- § Τα σωληνάρια συλλογής θα πρέπει να είναι ελεύθερα πυρογενών.

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

A. 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. Αναμείξτε 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 αντιδραστήριου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Αποφύγετε πιπέτες με μεταλλικά μέρη για τη διανομή του Αποκαλυπτικού Διαλύματος και του Ανασχετικού Διαλύματος. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπέτων 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. Το Αποκαλυπτικό Διάλυμα θα πρέπει να είναι άχρωμο. Η δημιουργία μπλε χρωματισμού σε διάστημα λίγων λεπτών από την προετοιμασία υποδεικνύει πως το αντιδραστήριο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί και θα πρέπει να απορριφθεί. Διανείμετε το Αποκαλυπτικό Διάλυμα εντός 15 λεπτών, μετά την πλύση της πλάκας μικροτιτλοδότησης. Κατά τη διάρκεια επώασης με το Αποκαλυπτικό Διάλυμα, αποφύγετε την έκθεση της πλάκας μικροτιτλοδότησης στο άμεσο ηλιακό φως.

B. 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 100 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 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου επάνω σε οριζόντιο αναδευτήρα, ρυθμισμένο στις 700 rpm ± 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 100 μl διαλύματος αραίωσης δείγματος και κατόπιν 50 μl συζεύγματος αντι-IL-10-HRP σε όλες τις υποδοχές.
- Επωάστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου επάνω σε οριζόντιο αναδευτήρα, ρυθμισμένο στις 700 rpm ± 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 του μόλις προετοιμασμένου αποκαλυπτικού διαλύματος σε κάθε υποδοχή, εντός 15 λεπτών από το βήμα πλύσης.
- Επωάστε την πλάκα μικροτιτλοδότησης επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα στις 700 rpm ± 100 rpm, αποφύγετε την άμεση έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.
- Διανείμετε με πιπέτα 50 μl ανασχετικού διαλύματος σε κάθε υποδοχή.
- Κάντε ανάγνωση των απορροφήσεων στα 450 nm και 490 nm (φίλτρο αναφοράς 630 nm ή 650 nm) εντός 3 ωρών και υπολογίστε τα αποτελέσματα όπως περιγράφεται στην ενότητα XI.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

A. 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 A & B: $Y = A \cdot X + B$
 - § 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-10 στα δείγματα καθορίζεται μέσω αναγωγής στην καμπύλη βαθμονόμησης.

B. 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 ημιλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις τιμές OD (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της IL-10 (τετμημένη) 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-10-EASIA		Μονάδες OD Πολυχρωματικό μοντέλο
Βαθμονομητής	0 pg/ml	0,047
	20,5 pg/ml	0,119
	60,0 pg/ml	0,265
	204,0 pg/ml	0,726
	691,0 pg/ml	2,077
	1976,0 pg/ml	4,138

XIII. ΑΠΟΛΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. 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 1,6 pg/ml.

B. Ειδικότητα

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση παρουσία 50 ng IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, TNF-α, TNF-β, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, TGF-β, GM-CSF, OSM, MIP-1α, MIP-1β, LIF, MCP-1, G-CSF, RANTES, PF-4, βTG, GRO, IP-10 και SCF. Ο παρών προσδιορισμός IL-10 είναι ειδικός για την ανθρώπινη, φυσική και ανασυνδυασμένη IL-10. Ένα πολύ χαμηλό επίπεδο (<0,2%) διασταυρούμενης αντίδρασης έχει παρατηρηθεί με την BCRF1 (ικη IL-10) σε συγκέντρωση 70000pg/ml. Η BCRF1 παρείχε σήμα που αντιστοιχεί σε 134 pg/ml της IL-10.

C. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (pg/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (pg/ml)	Σ.Δ. (%)
Ορός 1	24	86 ± 2,4	2,8	Ορός 2	12	90 ± 2,5	2,8
	24	324 ± 12	3,7		14	335 ± 9	2,7

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

D. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προσθεθείσα IL-10 (pg/ml)	Ανακτηθείσα IL-10 (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
Ορός	0	0	-
	60	56	93
	215	215	100
	760	745	98

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)
Ορός	1/1	910	910
	1/2	455	390
	1/4	228	213
	1/8	114	107
	1/16	57	57

Τα δείγματα αραιώθηκαν με 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.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΣΗ			
Δείγμα	0 λεπτά	15 λεπτά	30 λεπτά
1	91	90	88
2	341	330	341
3	202	194	208
4	47	50	51
5	1141	1196	1228
6	284	294	297
7	136	133	137
8	263	263	291

Φ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)
Δείγμα που εμβολιάστηκε με IL-10 έως 870 ng/ml δίνει υψηλότερες μετρήσεις οπτικής πυκνότητας (OD) από το σημείο του τελευταίου βαθμονομητή.

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 καθιερώνει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Τα παρακάτω αποτελέσματα παρέχονται μόνο ως οδηγός: τα αποτελέσματα 32 δειγμάτων ορού εμφανώς υγιών ατόμων με χαμηλά επίπεδα CRP, κυμάνθηκαν μεταξύ 0 και 3,3 pg/ml με μέση τιμή 0,2 pg/ml.

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφαλείας
Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit 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 ασφαλείας.
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 κάθε επαφή με το δέρμα με όλα τα αντιδραστήρια. Το Ανασχετικό Διάλυμα περιέχει H₂SO₄, το χρωμογόνο περιέχει TMB σε Διμεθυλφορμαμίδη, το

ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος περιέχει H₂O₂. 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. MOORE K.W., O'GARRA A., DE WAAL-MALEFYT R., VIEIRA P., MOSMANN T.R. (1993). **Interleukin-10** Annu. Rev. Immunol., 11:165-190.
2. BLAY J.Y., BURDIN N., ROUSSET F., LENOIR G., BIRON P., PHILIP T., BANCHEREAU J., FAVROT M.C. (1993). **Serum Interleukin-10 in Non-Hodgkin's Lymphoma : a prognostic factor.** Blood, 82:2169-2174.
3. BOGDAN C., BODOVOTZ Y., NATHAN C., (1991). **Macrophage deactivation by Interleukin-10.** J. Exp. Med., 174:1549-1555.
4. MELVILLE P., ROUSSET F., BANCHEREAU J., KLEIN B., BATAILLE R., (1992). **Serum Interleukin-10 in early stage multiple myeloma.** Lancet, 340:1544-1545.
5. PEYRON F., BURDIN N., RINGWALD P., VUILLEZ J.P., ROUSSET F., BANCHEREAU J., (1994). **High levels of circulating IL-10 in human malaria.** Clin. Exp. Immunol., 95:300-303.
6. MARCHANT A., DEVIERE J., BYL B., DE GROOTE D., VINCENT J.L., GOLDMAN M., (1994). **Interleukin-10 production during septicemia.** Lancet, 343:707-708.
7. DE GROOTE D., MARCHANT A., FAUCHET F., JADOUL M., DEHART I., GERARD C., GEVAERT Y. et al. (1994). **Characterisation of monoclonal antibodies against human interleukin-10 and their use in an ELISA for the measurement of this cytokine.** J. of Immunol. Methods, 177:225-234.

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ (μl)	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (μl)
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	100	100
Βαθμονομητές (0-5)	100	-
Δείγματα, οροί ελέγχου	-	100
Επώαστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm. Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε υποδοχής. Πλύνετε 3 φορές με 400 μl διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε.		
Διάλυμα Αραίωσης Δειγμάτων	100	100
Σύζευγμα αντι-IL-10-HRP	50	50
Επώαστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm. Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε υποδοχής. Πλύνετε 3 φορές με 400 μl διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε.		
Αποκαλυπτικό Διάλυμα	200	200
Επώαστε επί 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm		
Ανασχετικό διάλυμα	50	50
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: KAP1321	Αριθμός P.I: 1702102/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
	Σωληνάρια	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	Extraktív 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 (czterometylobenzydyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)	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		
	Партиден код		
	Каталожен номер		
	Контрол		
	Ин витро диагностично медицинско изделие		
	Производител		
	Съдържание достатъчно за <n> теста		
	Концентриран измиващ разтвор		
	Нулев калибратор		
	Калибратор #		
	Контрол #		
	Трейсър		
	Трейсър		
	Концентриран маркер		
	Концентриран маркер		
	Епруветки		
	Инкубационен буфер		
	Ацетонитрил		
	Серум		
	Разредител за пробите		
	Буфер за разреждане		
	Антисерум		
	Имуноабсорбент		
	Разредител за калибратора		
	Пресъздаващ разтвор		
	Полиетилен гликол		
	Екстрактов разтвор		
	Разтвор за елюиране		
	Силикагелни пълнители		
	Пред-лечебен разтвор		
	Неутрализиращ разтвор		
	Маркерен буфер		
	Микротитърна пластина		
	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза		
	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза		
	HRP конюгиран концентрат		
	HRP конюгиран концентрат		
	Буфер за конюгата		
	Хромогенен TMB концентрат		
	Хромогенен TMB разтвор		
	Субстратен буфер		
	Стоп разтвор		
	Инкубационен серум		
	Буфер		
	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза		
	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат		
	Биотин конюгиран концентрат		
	Авидин HRP концентрат		
	Буфер за пробите		
	Биотин конюгат		
	специфично анти тяло		
	стрептавидин HRP концентрат		
	не специфично свързване		
	второ анти тяло		
	киселинизиращ буфер		