

Набор ИФА для определения ЭРИТРОПОЕТИНА

Кат. № : EIA-3646
Количество : 96
Производитель : DRG (Германия)

Методика от 06-06-2006

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

1. НАЗВАНИЕ и НАЗНАЧЕНИЕ

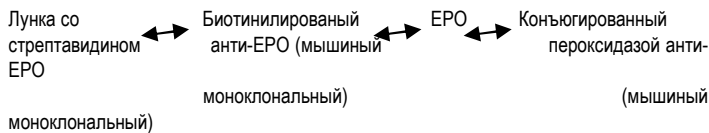
Набор предназначен для количественного измерения эритропоетина (ЕРО) в человеческой сыворотке. Данный анализ предназначен только для измерения *in vitro* в качестве дополнительного способа диагностики анемии и полицитемии.

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ и ОБЪЯСНЕНИЕ

(См. в оригинале инструкции на стр. 1).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный набор является двухстадийным ELISA для измерения биологической активности 165 цепи аминокислоты ЕРО. Он использует два разные мышиные моноклональные антитела к человеческому ЕРО, специфическому к молекуле ЕРО на ячейке. Одно мышиное моноклональное антитело к человеческому ЕРО является билгинальным, а другое мышиное моноклональное антитело к человеческому ЕРО есть меченное пероксидазой хрена для определения.



В этом анализе калибраторы, контроли или образцы пациентов одновременно инкубируются с энзимно-меченным антителом и биотин парным антителом в стрептавидин-привитой ячейке микропланшета. В конце инкубации микроячейки промываются для удаления несвязанного содержимого и привитый энзим к солидной фазе инкубируется с субстратом, ТМВ. Потом добавляется кислый стоп раствор для остановки реакции и обращает цвет на желтый. Интенсивность желтого цвета прямо пропорциональна количеству ЕРО в образце. Строится кривая единиц абсорбции против концентрации, используя результаты, полученные для калибраторов. Концентрация ЕРО в контроле и образцах пациента определяется на кривой.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

Материалы, поставляемые в данном наборе:

Комп-ты набора	Описание	Кол-во
Реагент 1	Биотинилированные антитела к ЕРО (мышинные моноклональные античеловеческие ЕРО). Содержит Проклин 300 в качестве консерванта	1x3.5 мл
Реагент 2	ЕРО антитела (мышинный моноклональный античеловеческий ЕРО), меченные пероксидазой (ферментом).	1x3.5 мл
Реагент А	Концентрат Промывочного буфера ИФА (солевой раствор с ПАВ и консервантом гидрохлоридом ципрофлоксацином).	1x30 мл
Реагент В	ТМВ-субстрат (тетраметилбензидин)	1x20 мл
Остановл. раствор	Стоп раствор ИФА 1N H ₂ SO ₄	1x20 мл
Микро-планшет	Один держатель с покрытыми стрептавидином полосками	12x8 полосок
Калибраторы	Лиофилизированный синтетический человеческий ЕРО. Лиофилизированный 0 калибратор представляет собой лиофилизированный буферный белковый раствор, и все остальные калибраторы состоят из синтетического человеческого ЕРО (1-165) в буферном белковом растворе. Эти стандарты были откалиброваны по отношению к 1-му	1x4 мл – для 0 калибратора 1x2 мл для остальных-

	международному стандарту ЕРО (рекомбинант, извлеченный из ДНК) ВОЗ (87/684). Каждый калибратор содержит консервант гидрохлорид ципрофлоксацина	ных калибраторов
Контроли 1 и 2	Лиофилизированные контроли 2 уровней. Синтетический человеческий ЕРО (1-165) в буферном белковом растворе. Каждый контроль содержит консервант гидрохлорид ципрофлоксацина	1x2 мл для каждого уровня

3.1 Необходимые, но не поставляемые материалы

- Микропланшетный считыватель, способный измерять абсорбцию при длине волны 450 нм и 405 нм.
- Микропланшетный промыватель (если промыватель не доступен, возможно ручное промывание).
- Дозаторы для внесения 25, 200, 100 и 150 мкл.
- (Необязательно): Многоканальный дозатор или многоразовый дозатор на 25, 100 и 150 мкл.
- Таймер с диапазоном ± 2 минуты.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Орбитальный ротатор или встряхиватель.

4. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

- Только для *in vitro* диагностики.
- Обращайтесь с реагентами и образцами как с потенциально инфицированными.
- Стоп раствор содержит 1N серную кислоту. Это сильная кислота. Даже разбавленная она должна использоваться осторожно. Она может вызывать ожог, поэтому при работе с ней используйте перчатки, защиту для глаз и защитную одежду. При выливании, промойте большим количеством воды. Не вдыхайте испарения.

- Реагент 1 ИФА

Биотинилированное ЕРО антитело содержит Проклин 300 в качестве консерванта. Избегайте контакта и используйте перчатки при работе с ним. При попадании на кожу промойте большим количеством воды и мягким мылом. При контакте с глазами, 15 минут промойте водой. Про проглатывании дайте большое количество воды и немедленно обратитесь к доктору.

- Реагент А ИФА, Промывочный концентрат и Калибраторы и Контроли ЕРО

Все содержат гидрохлорид ципрофлоксацина в качестве консерванта. Не допускайте к работе персонал, который показывает чувствительность к лекарствам на основе Хинолина. Беременные женщины не должны работать с ципрофлоксацином.

5. СБОР И ХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ

Определение ЕРО должно проводиться в сыворотке. Для анализа в дубле необходимо 400 мкл сыворотки. Рекомендуется собирать образцы между 7:30 и 12:00 поскольку многие издания свидетельствуют о суточных изменениях ЕРО. Соберите цельную кровь без антикоагулянтов и, при возможности, позвольте ей стуститься при температуре 2-8 °С. Исследования показывают, что образцы сыворотки, сгущенные при комнатной температуре (22-28 °С) приводит к уменьшению значения ЕРО по сравнению с сгущением на льду – 30%. Потом сыворотку нужно немедленно отделить желателью в охлажденной центрифуге и хранить при -15 °С или ниже. Сыворотку можно хранить до 24 часов при 2-8 °С. Замороженная при -15 °С сыворотка стабильна до 12 месяцев. НЕ хранить образцы в саморазмораживаемых холодильниках. Избегайте повторных циклов замораживания/ размораживания. Для более длительных терминов хранения образцов их нужно распределить на аликвоты и поместить в пробирки перед замораживанием. Перед использованием приведите образцы к комнатной температуре (22-28 °С) и тщательно смешайте. Избегайте использования сильно гемолизированных и сильно липемических образцов.

6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Храните все содержимое набора при 2-8 °С до начала анализа, кроме Промывочного концентрата.

- Все реагенты, кроме калибраторов, контролей и промывочного концентрата готовы к использованию. Храните все реагенты при 2-8 °С, кроме промывочного концентрата, который должен храниться при комнатной температуре до разбавления для предотвращения осадка.
- Для **Нулевого калибратора** (Калибратор А) разбавьте флакон с 4 мл дистиллированной или деионизируемой водой и смешайте. Для каждого **ненулевого калибратора** (калибраторы В-Ф) и **контролей** 1 и 2, разведите каждый флакон с 1,0 мл дистиллированной или деионизируемой водой и перемешайте. Выдержите флаконы 10 минут, а потом смешайте тщательно легкими вращениями до полного растворения. **Используйте**

калибраторы и контроли как можно быстрее после разбавления. Заморозьте (-15°C) оставшиеся калибраторы и контроли как можно быстрее после использования. Стандарты и контроли стабильны при -15°C 6 недель после разведения, возможно до 3 циклов замораживания/размораживания.

3. Реагент А ИФА (Промывочный концентрат)

Смешайте содержимое промывочного концентрата аккуратно. Если есть осадок через хранение при низкой температуре (4°C), растворите его в водной бане при 37°C или вращая его. Добавьте промывочный концентрат (30 мл) в 570 мл дистиллированной или деионизированной воды и смешайте. Разбавленный промывочный раствор стабилен 90 дней при хранении при комнатной температуре.

7. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- Поместите необходимое количество **полосок, покрытых стрептавидином** в держатель для анализа 6 калибраторов (точная концентрация указана на флаконе), сыворотки контроля качества и образцов пациента.
- Пипетируйте **200 мкл** калибраторов, контролей и образцов в указанные ячейки. **Заморозьте (-15°C) оставшиеся калибраторы и контроли как можно быстрее после использования.**
- Внесите **25 мкл** Реагента 1 (биотинилированное антитело) в каждую лунку, что уже содержит вышеуказанные образцы.
- Внесите **25 мкл** Реагента 2 (меченное ферментом антитело) в каждую из этих ячеек. Постучите по краю планшета, например, ручкой для полного смешивания образца с реагентами. Для полного смешивания повторите постукивание как минимум 5 раз каждую сторону планшета. Не пролейте реагенты. Накройте микропланшет фольгой или избегайте попадания света и поместите их на **орбитальный встряхиватель или ротор** при 170+10 об./мин. на **2 часа +/- 15 минут** при комнатной температуре (22-28°C).
- Сначала аспирируйте жидкость полностью, а потом промойте / аспирируйте каждую лунку 5 раз рабочим моющим раствором (приготовленным из реагента А), используя автоматический микропланшетный промыватель. Объем промывочного раствора должен быть установлен для внесения 0,35 мл в каждую лунку.
- Добавьте **150 мкл** Реагента В ИФА (ТМВ субстрат) в каждую лунку. Постучите по планшету как показано в Этапе 4.
- При необходимом накрытии для предотвращения попадания света, поместите микропланшет на орбитальный встряхиватель или ротор, установленный при 170+10 об./мин. на **30+/- 5 минут** при комнатной температуре (22-28°C).
- Добавьте **100 мкл** стоп раствора в каждую лунку. Постучите по планшету как показано в Этапе 4. Избегайте проливания.
- Считайте абсорбцию раствора в ячейках в течении 10 минут, используя микропланшетный считыватель при **450 нм** против 250 мкл дистиллированной или деионизированной воды. **Считайте** планшет **снова** при **405 нм** по отношению к дистиллированной или деионизированной воде.
Примечание: Второе считывание предназначено для установки аналитической оценки калибровочной кривой для величины, представленной наивысшим калибратором, который приблизительно 450 мЕ/мл (точная концентрация напечатанная на флаконе и мало изменится из одной партии к другой). Следовательно, образцы пациентов с уровнем EPO > предпоследнего (от 2-го к наивысшему) калибратора, например Калибратор Е может быть определен против калибровочной кривой, которая состоит из считываний вверх от уровня концентрации до наивысшего калибратора, используя 450 нм считывания, от длины волны максимальной абсорбции. Контрольные образцы и образцы пациента нужно считывать используя 450 нм для EPO концентраций до концентраций Калибратора Е.
Считывание EPO концентраций над уровнем Калибратора Е нужно интерполировать используя считывание при 405 нм.
- При использовании конечной абсорбции, полученной в предварительном этапе, постройте две калибровочные кривые используя считывания при 405 нм через кубический сплайн, 4 параметровую логистику, или интерполяцию от точки до точки для количественного определения EPO.

7.1 ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Образцы со значениями ниже определяемого уровня (1,2 мЕ/мл) нужно репортировать как < 1,2 мЕ/мл.
- Рекомендуется анализ калибраторов, контролей и образцов в дубли пока не получен достаточный опыт проведения анализа (когда коэффициент вариации дубликатов меньше 10%, а результаты получены в принятых границах).

- Образцы должны пипетироваться в ячейки при минимальном образовании пузырей.
- Образцы пациентов со значением выше наивысшего калибратора (калибратора F), что равна приблизительно 450 мЕ/мл (точная концентрация указана на этикетке флакона), могут быть разбавлены калибратором А (нулевым калибратором) и проанализированы повторно. Умножьте результаты на фактор разбавления. Или же результат можно интерпретировать как наивысшую концентрацию калибратора (калибратор F). Например, если значения этого калибратора 494 мЕ/мл, репортируйте результат как > 494 мЕ/мл.
- Не меняйте реагенты разных партий.
- Если можно, смешайте в равных объемах в достаточном количестве для анализа, реагент 1 (биотинилированное антитело) и реагент 2 (меченное ферментом антитело) в чистой янтарной бутылке. Скомбинированный реагент стабилен 7 дней при 4°C. Потом используйте 50 мкл смешанного антитела для каждой ячейки. Этот альтернативный метод заменяет этап 3 и 4, потом инкубируйте на орбитальном встряхивателе.
- При смешивании избегайте выливания. Это влияет на точность и достоверность анализа.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.2 Ручной метод

- Для 450 нм считывания, постройте кривую, используя первые пять калибраторов, например калибраторы А, В, С, D, и Е. Для 405 нм считывания, постройте вторую стандартную кривую, используя например калибраторы А, D, Е, и F.
- Пометьте концентрацию каждого калибратора, указанные на флаконе, в мЕ/мл. Отложите данные калибровочной кривой на линейной бумаге при концентрации на оси X и соответствующей абсорбции на оси Y.
- Нарисуйте прямую линию между двумя смежными точками. Этот математический алгоритм широко известен как вычисление от точки к точке. Получите концентрацию образца откладывая единицы абсорбции на оси Y и найдите соответствующие концентрации на оси X. Образцы пациентов и контроли должны считываться при 450 нм для концентрации EPO до концентрации наивысшего Калибратора Е. Концентрация EPO выше наивысшего калибратора должна интерполироваться при 405 нм.

7.3 Автоматический метод

Хорошие результаты дают компьютерные программы кубического сплина или 4 параметровой логистики или от точки к точке. Данные образцов при 450 нм постройте кривую ответной дозы (калибровочную кривую), используя 5 первых поставляемых калибраторов, т.е., калибраторов А, В, С, D и Е. Для считываний при 405 нм постройте вторую кривую ответной дозы, используя калибраторы А, D, Е и F. Данные образцов при 405 нм (неподготовленное считывание против дистиллированной или деионизированной воды).

Тип ячейки	1-е считывание	2-е считывание	Средн.	EPO, мЕ/мл	Представление результатов EPO, мЕ/мл
Кал. А	0,019	0,021	0,020		0
Кал. В	0,122	0,114	0,118		7,5
Кал. С	0,200	0,207	0,204		18,2
Кал. D	0,411	0,423	0,417		41
Кал. Е	1,308	1,263	1,286		120
Контроль1	0,176	0,178	0,177	15,7	15,7
Контроль2	1,395	1,493	1,444	>120	*
Образец 1	0,115	0,125	0,120	9,6	9,6
Образец 2	0,414	0,420	0,417	40,4	40,4
Образец 3	3,314	-----	3,314	>120	*

* Поскольку концентрация этих образцов > концентрации калибратора Е, например, 120 мЕ/мл, рекомендуется использовать данные, полученные при 405 нм, как показано в таблице данных образцов ниже для длины измерения при **405 нм**.

Таблица данных образцов. Данные, полученные при измерении при 405 нм против дистиллированной или деионизированной воды:

Тип ячейки	1-е считывание	2-е считывание	Средн.	EPO, мЕ/мл	Представление результатов EPO, мЕ/мл
Кал. А	0,001	0,007	0,005		0
Кал. D	0,122	0,127	0,125		41
Кал. Е	0,405	0,389	0,397		120
Кал. F	1,331	1,257	1,294		494
Контроль1	0,052	0,056	0,054	<120	

Контроль2	0,427	0,460	0,444	133	133
Образец 1	0,036	0,038	0,037	<120	
Образец 2	0,125	0,128	0,127	<120	
Образец 3	1,035	-----	1,035	300	300

Для образцов с концентрациями < концентрации калибратора Е, например, 120 мЕ/мл, рекомендуется использовать данные, полученные при 405 нм, как показано в таблице данных образцов выше для длины измерения при 405 нм. Эта практика должна предоставлять результаты при оптимальной чувствительности анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ: Эти данные приведены в качестве примера. Не использовать их вместо данных, полученных во время анализа.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контрольная сыворотка должна использоваться при каждом анализе. Результаты, полученные при анализе контролей, должны оцениваться при использовании подходящего статистического метода. При проведении анализа на ЕРО впервые результаты должны базироваться на том, чтобы Контрольные результаты находились в границах принятых норм. Если хотя бы один образец контроля качества выходит за границы принятых норм, анализ следует провести еще раз. Если лаборатория установила свои данные, параметры контроля качества должны базироваться на статистических данных лаборатории, используя или Контроли с набора или значения сыворотки, собранные лабораторией.

Нужно использовать точки Леви-Дженина на контрольных результатах. Если результаты на контрольные образцы совпадают со средними + 2 стандартных отклонения, без определенного отклонения контроля качества, анализ можно считать правильным. Правило Вестгарда нужно применять для того чтобы соответствовать 88 регуляциям CLIA. Если контрольные результаты выходят за границы установленных параметров как описано, результаты анализа – неправильные.

8. ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

Результаты ЕРО нужно интерпретировать в соответствии с общей клинической картиной и другими сопутствующими диагностическими тестами.

Очищенные протеины IgG тех самых видов что и меченые антитела, были выведены, кроме уже присутствующего в продаже гетерофильного блокера антител, и использованы в реагентах для минимизации гетерофильных антител. (14) Тем не менее, гетерофильная интерференция не может быть полностью исключена. По этому, рекомендуется проводить как минимум три разведения для какого либо оцененного или/и подозрительно позитивного результата для анализа на определение не-паралелизма по сравнению с относительными стандартами. (15)

Поскольку результаты, полученные при использовании присутствующего в продаже ЕРО теста, могут существенно отличаться от результатов, полученных при использовании других тестов, рекомендуется проводить серийное тестирование одного и того ж пациента одним и тем же ЕРО тестом. Этот тест может быть не существенно отличать абnormally низкие значения ЕРО от нормальных уровней ЕРО.

Более низкий, чем ожидаемый уровень ЕРО наблюдался при анемии в сочетании со следующими условиями: ревматоидный артрит, приобретенный синдром иммунодефицита, рак, язвенный колит, серповидно-клеточная болезнь, в недоношенных новорожденных.

После аллогенной пересадки костного мозга уменьшенное количество эритропоетина может задерживать его восстановление.

Пациенты с гипергаммаглобулинемией ассоциированной миеломой или заболеванием Вольдестрома имеют сниженное выработка ЕРО в сравнении с концентрацией гемоглобина. Это связано с увеличенной вязкостью плазмы.

Не было получено данных относительно влияния лекарств на результаты анализа.

ЕРО уровни в людей, живущих высоко над уровнем моря, могут неожиданно стать нормальными при смене места жительства. (19)

9. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

С помощью данного набора уровень ЕРО был вычислен в 120 явно здоровых людей в США. Среди них было 61 мужчины и 59 женщин в возрасте от 18 до 96 лет. Не наблюдалось существенной разницы в референтных диапазонах, полученных при обследовании женщин и мужчин. Этот же результат совпадает с результатом других исследований. Более того, значения ЕРО не зависят от возраста за исключением того, что большие значения были получены в образцах на ранних стадиях совершеннолетия, например, приблизительно в возрасте 22-42 года.

При использовании не параметрического метода **референтные нормы (2,5-97,5 процентиля) составили – 4,3-32,9 мЕ/мл** для ЕРО в сыворотке. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения нормы.

В пациентов с эритроцитозом через невозмещенную гипоксию, иммунореактивный ЕРО повышается в сыворотке;

В пациентов с возмещенной гипоксией уровень иммунореактивного ЕРО в сыворотке всегда находится в границах нормальных значений, а в пациентов с болезнью Ослера значения иммунореактивного ЕРО в сыворотке или нормальные или ниже. Таким образом, в то время как повышенное значение ЕРО в сыворотке свидетельствует о том, что эритроцитоз – это побочный феномен, низкий уровень ЕРО свидетельствует о возможности самостоятельного эритроцитоза. Нормальное значение ЕРО в сыворотке исключает гипоксию и самостоятельное выработка ЕРО как причину эритроцитоза.

10. ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность

85 образцов пациентов со значениями ЕРО в диапазоне от 3,8 – 304 мЕ/мл были проанализированы DRG ELISA процедурой и ELISA ЕРО набором. Линейная регрессия дала следующую статистику:

DRG ELISA = 0.94 ELISA набор – 0,41 мЕ/мл $r=0.989$ $N=85$

10.2 Чувствительность

Чувствительность или минимально определяемый лимит этого анализа определяется как наименьшее одно значение, которое может быть установлено из нуля при 95% доверительном лимите. DRG ЕРО ELISA имеет чувствительность 1,2 мЕ/мл.

Таким образом, пациенты со значением ниже 1,2 мЕ/мл нужно считать как «меньше чем 1,2 мЕ/мл».

10.3 Точность и восстановление

Точность данного анализа была вычислена из 22 повторных определений для каждого из трех образцов.

Внутри тестовая точность

Образец	Среднее значение (пг/мл)	n	КВ, %
A	14,4	22	8,4
B	189	22	4,8

Общая точность данного анализа была вычислена исходя из данных двух образцов, полученных в 22 разных анализах.

Между тестовая точность

Образец	Среднее значение (пг/мл)	n	КВ, %
A	20,4	22	8,8
B	183	22	5,1

10.4 Специфичность и перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность в ЕРО была исследована путем добавления различных веществ к Нулевому калибратору (Калибратору А).

Вещество	Концентрация
Человеческий трансферин	400 мкг/мл
Человеческий билирубин (неконъюгированный)	200 мкг/мл
Человеческий гемоглобин	5 мг/мл
Человеческий альфа-глобулин	60 мг/мл
Человеческий альфа-2-макроглобулин	500 мкг/мл
Человеческий альфа 1 кислый гликопротеин	800 мкг/мл
Человеческий альфа 1 антитрипсин	500 мкг/мл
Тринглицериды	30 мг/мл
Человеческий альбумин	60 мг/мл
Человеческий гамма глобулин	60 мг/мл
АКТГ (интактная молекула: аминокислотная последовательность 1-39)	5000 пг/мл
ТТГ	100 мкМЕ/мл

Ни один из перекрестных реактантов не влияет на DRG ЕРО ELISA. Самые малые изменения в ЕРО при некоторых перекрестно реагирующих реактантах находились в статистических пределах вариативности внутри анализа.

10.5 Восстановление

Разное количество ЕРО было добавлено к четырем разным сывороткам пациента для определения восстановления.

Образец	Эндоген. (мЕ/мл)	Добавка (мЕ/мл)	Ожидаемое (мЕ/мл)	Измеренное (мЕ/мл)	Извлечение (%)
A	7.9	--	--	--	--
	7.1	50.0	57.1	52.8	92.5
	5.5	150.0	155.5	150.0	96.5

B	6.0	--	--	--	--
	5.4	50.0	55.4	57.2	103.2
	4.2	150.0	154.2	168.0	108.9
C	53.6	--	--	--	--
	48.2	50.0	98.2	105.0	106.9
	37.5	150.0	187.5	202.0	107.7
D	0	--	--	--	--
	0	50.0	50.0	50.2	100
	0	150.0	150.0	145.0	96.7

10.6 Линейность разбавления образцов пациента: параллелизм

Три образца пациентов были разбавлены калибратором А (нулевым калибратором). Результаты в мЕ/мл указаны ниже:

Образец	Разбавление	Ожидаемая конц.	Наблюдаемая конц.	% от ожидаемого
A	---	---	247.0	---
	1 : 2	123.5	119.0	96
	1 : 4	61.8	58.5	95
	1 : 8	30.9	28.8	93
B	---	---	139.0	---
	1 : 2	69.5	74.0	106
	1 : 4	34.8	39.9	114
	1 : 8	17.4	19.8	114
C	---	---	>500.0	---
	1 : 2	---	253.0	---
	1 : 4	126.5	116.0	92
	1 : 8	63.3	57.0	90

10.7 «Хук-эффект» высокой дозы

Хук-эффект был оценён разбавлением стандарта с добавленной концентрацией 200 000 мЕ/мл ЕРО. Дополнительно 3 образца с известным высоким значением ЕРО (1920, 1520 и 966 мЕ/мл) были проанализированы с разбавлением и их результаты были выше наивысшего стандарта. Концентрации эритропоэтина до 200 000 мЕ/мл не вызывают хук-эффект при использовании данного набора. Однако все образцы с концентрацией выше наивысшего калибратора следует разбавить и анализировать повторно для получения точных значений концентрации.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).