**НАЗВА І ПРИЗНАЧЕННЯ**

Тест АNA Hep Screen – це якісний імуноферментний аналіз (EIA), призначений для скринінгу присутності антиядерних антитіл (ANAs) у сироватці або плазмі людини, у якості допоміжного засобу у діагностиці певних систематичних ревматичних хвороб. Цей тест в одній лунці разом виявляє ANAs проти двоспіральних ДНК (dsDNA, nDNA), гістонів, SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, SmRNP, Scl-70, PM-Sci-100, Jo-1 і центромірних антигенів.

**СТИСЛИЙ ОПИС І ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ**

Запальні з’єднувальнотканинні хвороби характеризуються ідіоматичним генезом разом з порушеннями клітинного і гуморального імунітету, системним розладом органів і хронічним перебігом хвороби. Додатково з’єднувальнотканинні хвороби показують пересічні симптоматичні особливості, що ускладнює встановлення точного діагнозу [1].

Беручи до уваги різноманітність змішаних з’єднувальнотканинних хвороб, такі розлади мають спільну серологічну характеристику; наявність антиядерних антитіл [2]. Ці антитіла спрямовані проти частин ядра і цитоплазми клітини, і велика кількість ревматоїдних хвороб характеризується наявністю одного або більше цих ANAs [3].

Антитіла до двоспіральної ДНК (dsDNA), односпіральної ДНК (ssDNA), гістонів, ядерного рібонуклеопротеїна (RNP) і СКВ антигена (Sm) пов’язані з системним червоним вовчаком [4], тоді як антитіла до Синдрому Шегрена А (SSA/Ro) і Синдрому Шегрена В (SSB/La) можуть з’являтися в обох випадках, при системному червоному вовчаку і при Синдромі Шегрена [5, 6]. Антитіла до Jo-1 можуть спостерігатися при поліміозиті і дерматоміозиті [6], тоді як антитіла до антигену, пов’язаному зі склеродермією (Scl-70), і до центроміру можуть з’являтися у пацієнтів з прогресивним системним склерозом (PSS). Антигістонні антитіла пов’язані з системним червоним вовчаком і медикаментозним вовчаком [7], тоді як анти-RNP-антитіла пов’язані зі змішаними з’єднувальнотканинними хворобами (MCTD) і з системним червоним вовчаком (SLE) [2]. Антитіла, спрямовані проти центроміру, пов’язані з синдромом CREST.

Хоча технологія ІФА разом з НЕр2 клітинами традиційно застосовувалась для виявлення аутоантитіл, сьогодні широко визнано, що технологія ELISA пропонує чудову альтернативу. Технологія ІФА схильна до помилок у інтерпретації і може бути трудомісткою при роботі з великою кількістю невідомих зразків [8].

Тест АNA Hep Screen ELISA дозволяє груповий і одночасний скринінг найважливіших аутоантитіл і одній мікролунці, і ефективно усуває необхідність індивідуальної інтерпретації, яка присутня в технології ІФА.

**ПРИНЦИП ТЕСТУ**

Очищені антигени (dsDNA, гістони, SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, SmRNP, Scl-70, Jo-1, центроміри й інші антигени) знаходяться у мікролунках. Антитіла до цих антигенів, при наявності в розбавленій сироватці, зв’язуються в мікролунках. Промивка лунок мікропланшету видаляє не зв’язані антитіла сироватки. Кон’юговані не людські антитіла класу IgG пероксідази хріну (ПХ) зв’язується імунно зі зв’язаними антитілами пацієнта, утворюючи комплекс кон’югатів/антитіл/антигенів. Промивка мікролунок видаляє не зв’язаний кон’югат. Ферментний субстрат за наявності зв’язаного кон’югату гідролізує, утворюючи синій колір. Додавання кислоти припиняє реакцію, утворюючи жовтий кінцевий продукт. Інтенсивність цього жовтого кольору вимірюється фотометрично при 450нм.

Тест калібрований на контрольній сироватці з Центру з контролю і профілактики захворювань (CDC), Атланта, США, що отримала міжнародне визнання, і також на контрольному препараті ВООЗ для людського анти-dsDNA Wo/80.

**ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ**

1. Усі реагенти в цьому комплекті призначені тільки для in vitro діагностики.
2. Не замінюйте компоненти комплекту компонентами з різних комплектів.
3. Компоненти, що містять людську сироватку, були протестовані за методиками, ухваленими Управлінням з контролю якості продуктів і ліків США, і показали негативний результат на поверхневий антиген гепатиту В і ВІЛ. Жоден тест не може гарантувати відсутність поверхневих антигенів гепатиту В і ВІЛ, тому з усіма реагентами на основі сироватки людини треба поводитися так, ніби вони містять інфекцію.
4. Уникайте контакту з ТМБ (3,3’,5,5’-Тетраметил-бензідін). У разі попадання ТМБ на шкіру, ретельно змийте водою з милом.
5. Уникайте контакту з розчином інгібітору, який містить соляну кислоту (1 М). У разі попадання на шкіру, ретельно змийте водою і зверніться по медичну допомогу.
6. Деякі компоненти комплекту (Регулятори, Буфер зразків і Буферний розчин для промивки) містять азид натрію у якості запобіжного засобу. Азид натрію (NaN3) дуже токсичний і хімічно активний у чистій формі. У тій концентрації, у якій він міститься в продукції, не шкідливий. Не дивлячись на те, що він класифікується, як не шкідливий, ми настійно рекомендуємо дотримуватись чітких передбачливих інструкцій з поведінки у лабораторії (див. 8., 9., 10).
7. Деякі компоненти комплекту містять Проклін 300 у якості запобіжного засобу. Коли викидаєте реагенти, що містять Проклін 300, промийте дренажні системи великою кількістю води для того, щоб при розбавленні компонентів їх концентрація впала нижче рівня активності.
8. Одягайте одноразові рукавички для роботи зі зразками і реагентами комплекту, і ретельно мийте руки після цього.
9. Забороняється набирати рідину в піпетку ротом.
10. Забороняється Їсти, Пити, Курити або Наносити Макіяж поряд зі зразками чи реагентами комплекту.
11. Уникайте контакту між буферним Розчином Перекису і матеріалами, що легко окислюються; екстремальна температура може спричинити самозаймання.

Дотримуйтесь інструкцій з проведення контролю якості в медичних лабораторіях при аналізі регуляторів і/чи змішаної сироватки. При роботі з усіма реагентами комплекту, регуляторами і зразками сироватки дотримуйтесь існуючих правових норм.

**ЗМІСТ КОМПЛЕКТУ**

Розмір упаковки 96 тестів

Кількість 1 Подільні ANA смужки з мікротитрами: 96 лунок, вкритих антигенами, запечатані у мішечок з фольги з поглиначем вологи. Готові до використання.

3 пробірки по 1.5мл Анти-ANA регулятори у матриксі сироватки/буферного розчину (Фосфатно-сольовий буферний розчин, NaN3<0,1% (у ваговому відношенні)). Негативний Регулятор (NC, A), Регулятор Відсічення (CC, B), Позитивний Регулятор (PC, C). Готові до використання.

1 пробірка, 20мл Буферний розчин для зразка (Трис, NaN3<0,1% (у ваговому відношенні)), жовтий концентрат (5х)

1 пробірка, 15мл Розчин ферментного кон’югата ((Фосфатно-сольовий буферний розчин, ПРОКЛІН 300 <0,5% (у об’ємному відношенні)), (блідо-червоний), що містить поліклональний заячий не людський IgG; маркірований пероксідазою хріну. Готовий до використання.

1 пробірка, 15мл Розчин субстрату ТМБ. Готовий до використання.

1 пробірка, 15мл Інгібітор (1 М соляної кислоти). Готовий до використання.

1 пробірка, 20мл Розчин для промивки (Фосфатно-сольовий буферний розчин, NaN3<0,1% (у ваговому відношенні)), концентрат (50х).

**ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ**

1. Зберігайте комплект при 2-8˚С
2. Тримайте лунки мікропланшета в герметичному сухому пакеті з поглиначами вологи
3. Реагенти стабільні впродовж терміну придатності комплекту
4. Не піддавайте тестові реагенти нагріванню, сонячним променям або яркому світлу впродовж зберігання і використання
5. Розбавлений буферний розчин для зразка і буферний розчин для промивки стабільні впродовж принаймні 30 днів, якщо зберігаються при 2-8˚С

**НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ**

Устаткування

* Спектрофометр для мікропланшетів, здатний робити заміри кінцевої точки при 450нм
* Багатоканальний диспансер або повторювана піпетка на 100мкл
* Вихрова мішалка
* Піпетки на 10мкл, 100мкл, і 1000мкл
* Лабораторний таймер
* програмне забезпечення для обробки інформації

Підготовка реагентів

* дистильована або деіонізована вода
* мірний циліндр на 100 і 1000мл
* пластиковий контейнер для зберігання розчину для промивки

**ЗБІР ЗРАЗКІВ, ЗБЕРІГАННЯ І ОБРОБКА**

1. Зберіть зразки цільної крові використовуючи прийнятні медичні методи, щоб уникнути гемолізу.
2. Дайте крові згорнутися і відокремте сироватку за допомогою центрифуги.
3. Тест-сироватка повинна бути чистою и не гемолізованою. Контамінація гемолізом або ліпемією не бажана, але не заважає аналізу.
4. Зразки можуть зберігатися при 2-8˚С впродовж п’яти днів і при -20˚С впродовж шести місяців.
5. Уникайте повторного заморожування і розморожування зразків сироватки. Це може призвести до перемінної втрати активності аутоантитіл.
6. Не рекомендується тестування термоінактивованої сироватки.

**ЗАУВАЖЕННЯ ДО ПРОЦЕДУРИ**

1. Не використовуйте компоненти комплекту після закінчення терміну придатності.
2. Не замінюйте компоненти комплекту компонентами з різних комплектів.
3. Усі матеріали повинні бути кімнатної температури (20-28˚С).
4. Підготовте усі реагенти і зразки до початку аналізу. Якщо тест розпочато, він повинен проводитись без перерв для отримання максимально надійних і несуперечливих результатів.
5. Виконуйте усі етапи тесту тільки в зазначеній послідовності.
6. Завжди використовуйте свіжі розчини зразків.
7. Налийте усі реагенти і зразки на дно лунок за допомогою піпетки.
8. Для уникнення забруднення при перенесенні змінюйте наконечник для зразків і різних регуляторів комплекту.
9. Для отримання найкращих результатів ретельно промивайте мікролунки і видаляйте останні краплі буферного розчину для промивки.
10. Усі інкубаційні етапи повинні бути чітко хронометровані.
11. Контрольні зразки сироватки або пули повинні перевірятися як незнайомі субстанції для перевірки ефективності реагентів і самого тесту.
12. Не використовуйте повторно лунки мікропланшету.

Для всіх регуляторів відповідні концентрації зазначені на етикетках кожної пробірки. Використовуючи ці концентрації можна вирахувати калібрувальну криву для напівкількісного зчитування результатів пацієнта.

**ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ**

**Підготовка буфера зразка**

Перед використанням розбавте вміст кожної пробірки буферного концентрату для зразка (5х) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об’єму в 100мл. Зберігайте у холодильнику: стабільний при 2-8˚С впродовж принаймні 30 днів з моменту приготування або до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

**Підготовка розчину для промивки**

Перед використанням розбавте вміст кожної пробірки концентрату розчину для промивки (50х) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об’єму в 1000мл. Зберігайте у холодильнику: стабільний при 2-8˚С впродовж принаймні 30 днів з моменту приготування або до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

**Підготовка зразка**

Перед тестом розбавте усі зразки пацієнта буферним розчином для зразка у пропорції 1:100. Отже змішайте 10мкл зразка з 990мкл буферним розчином зразка в полістироловій трубці. Добре перемішайте. Регулятори готові до використання і їх не потрібно розбавляти.

**ПРОЦЕДУРА ВИПРОБУВАННЯ**

1. Підготовте достатню кількість модулів мікропланшетів для розміщення регуляторів і попередньо розведених зразків пацієнта.
2. Налийте за допомогою піпетки 100мкл регуляторів і попередньо розведених зразків пацієнта в лунки у двох примірниках.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| A | CC | P2 |  |  |  |  |
| B | CC | P2 |  |  |  |  |
| C | NC |  |  |  |  |  |
| D | NC |  |  |  |  |  |
| E | PC |  |  |  |  |  |
| F | PC |  |  |  |  |  |
| G | P1 |  |  |  |  |  |
| H | P1 |  |  |  |  |  |

P1, P2 зразки пацієнта 1, 2…

CC: регулятор відсічення

NC: негативний регулятор PC: позитивний регулятор

1. Інкубуйте впродовж 30 хвилин при кімнатній температурі (20-28˚С)
2. Вилийте вміст мікролунок і промийте 3 рази 300мкл розчину для промивки.
3. Налийте 100мкл ферментного кон’югату в кожну лунку
4. Інкубуйте впродовж 15 хвилин при кімнатній температурі
5. Вилийте вміст мікролунок і промийте 3 рази 300мкл розчину для промивки
6. Налийте 100мкл розчину субстрату ТМБ в кожну лунку
7. Інкубуйте впродовж 15 хвилин при кімнатній температурі
8. Додайте 100мкл інгібітору у кожну лунку модулів і інкубуйте впродовж 5 хвилин при кімнатній температурі
9. Зніміть показання оптичної щільності при 450нм і підрахуйте результати. Рекомендується біхроматичне вимірювання при 600-690нм.

**Утворений колір стабільний впродовж принаймні 30 хвилин. Зніміть показання оптичної щільності в цей період.**

**Автоматизація**

Тест АNA Hep Screen ELISA придатний для використання в відкритих автоматичних процесорах ELISA. Процедура випробування, яка описана вище, підходить для використання як з автоматизацією, так і без неї.

**ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

**Контроль якості**

Тест дійсний тільки якщо оптична щільність при 450нм для Негативного Регулятора (NC, A), Регулятора Відсічення (CC, B) і Позитивного Регулятора (PC, C) відповідає відповідному діапазону, зазначеному в Сертифікаті Контролю Якості, який додається до кожного тестового комплекту! Якщо будь-який з цих критеріїв не відповідає, результат не дійсний і тест необхідно повторити.

Тести калібровані на контрольній сироватці з Центру з контролю і профілактики захворювань (CDC), Атланта, США, що отримала міжнародне визнання, і також на контрольному препараті ВООЗ для людського анти-dsDNA Wo/80.

**Обчислення результатів**

Для детальних напівкількісних результатів, кожне значення оптичної щільності (ОЩ) може бути виражене як «Задане Значення». Задане Значення обчислюється шляхом ділення ОЩ зразка на ОЩ Відсічення.



Обчислення Заданих Значень не залежить від варіацій ОЩ зразка і/або ОЩ Відсічення. Задані Значення рекомендовані для довгострокових перевірок (тобто внутрішніх зразків контролю якості).

**Інтерпретація результатів**

1. Визначення результатів тесту АNA Hep Screen ELISA здійснюється шляхом прямого порівняння оптичної щільності кожного зразка пацієнта з оптичною щільністю Регулятора Відсічення (В). Зразки пацієнта, які показують оптичні щільності вище, ніж оптична щільність Регулятора Відсічення, вважаються позитивними.

Негативний: ОЩ Пацієнта < ОЩ Відсічення

Позитивний: ОЩ Пацієнта > ОЩ Відсічення

1. Задані Значення інтерпретуються наступним чином:

АNA Hep Screen ELISA

(Задане Значення)

Негативний: <1.0

Граничний: 1.0-1.2

Позитивний: >1.2

Приклад:

У таблиці наведені типові результати для тесту АNA Hep Screen ELISA. Ці дані призначені виключно для пояснення і не повинні бути використані для обчислення результатів лабораторного тесту.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № Зразка | ОЩ Зразка | ОЩ Відсічення | Задане Значення | Інтерпретація |
| 1 | 0.107 | 0.435 | 0.25 | негативний |
| 2 | 0.435 | 0.435 | 1.00 | граничний |
| 3 | 1.294 | 0.435 | 2.97 | позитивний |
| 4 | 2.496 | 0.435 | 5.74 | позитивний |

Завдяки додатковим ефектам кожного нанесеного антигена, сироватка з позитивними результатами АNA Hep Screen ELISA тесту може бути визначена як негативна після підтверджувального тестування.

Усі позитивні результати тесту повинні бути підтверджені за допомогою таких тестів, як комбінований тест ANA або індивідуальний кількісний тест ANA.

**Очікувані Значення**

Приблизний відсоток позитивного АNA складає 5% у загального нормального населення, 40% у нормального населення похилого віку і 25% у здорових родичів пацієнтів зі систематичним червоним вовчаком. Позитивність АNA складає:

SLE (системний червоний вовчак) >95%

SS (синдром Шегрена) 50-65%

PSS (прогресуючий системний склероз) 40-60%

RA (ревматоїдний артрит) 12-24%

підлітковий RA (підлітковий ревматоїдний артрит) 20%

**ЕКСПЛУАТАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**Паралелізм**

Три розчини трьох зразків пацієнтів були протестовані з використанням двох наборів з різних партій. Наступна таблиця показує середні показники і скориговане відновлення з поправкою на розведення.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Зразок** | **Розведення** | **Задане Значення** | **Відновлення з поправкою**  **на розведення [%]** |
| **1** | 1/100  1/200  1/400 | 4.8  2.2  1.3 | 100  92  108 |
| **2** | 1/100  1/200  1/400 | 2.8  1.5  0.8 | 100  107  114 |
| **3** | 1/100  1/200  1/400 | 3.5  1.7  0.8 | 100  97  91 |

**Точність вимірів (Відтворюванність)**

Статистика для Коефіцієнта варіацій (КВ) була розрахована для кожного з чотирьох зразків за результатами 32 визначень за один прохід для відтворюванності вимірювань в серії. Поточна точність вимірювань була розрахована за результатами 3 окремих проходів з 24 визначеннями для кожного зразка:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Відтворюванність результатів в серії | | |
| №  зразка | Показник  (імунізуючих одиниць/мл) | КВ  (%) |
| 1 | 1.8 | 6.9 |
| 2 | 2.4 | 9.1 |
| 3 | 2.8 | 10.4 |
| 4 | 3.1 | 7.4 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Відтворюванність результатів між серіями | | |
| №  зразка | Показник  (імунізуючих одиниць/мл) | КВ  (%) |
| 1 | 1.6 | 13.7 |
| 2 | 3.7 | 10.4 |
| 3 | 4.1 | 11.2 |

**Порівняння експлуатаційних якостей з затвердженим тестом**

Експлуатаційні якості тесту АNA Hep Screen були порівняні з тестом ELISA Screen, що випускається серійно, з використанням 94 аутоімунних зразків, що до цього були визнані позитивними, і 148 «умовно нормальними» з банку крові. Два з умовно нормальних, які показали граничні результати, були видалені з аналізу даних. Підсумовані результати порівняльного аналізу наступні:

**Затверджений**

**АNA Screen**

Поз Нег

|  |  |
| --- | --- |
| 88 | 6 |
| 7 | 139 |

**АNA Hep** Поз 94 Відносна 92.6%

**Screen** Чутливість

Нег 146 Відносна 95.8%

Специфічність

Відносна 94.5.%

95 145 240 Узгодженість

**Специфічність**

Специфічність може бути визначена як здатність тесту давати негативний результат для «нормальної» сироватки. Характеристика специфічності тесту АNA Hep Screen буда визначена за допомогою тестування 148 «нормальних» зразків сироватки, отриманої від центру переливання крові. Сто сорок п’ять зразків сироватки показали нормальний результат при тестуванні за допомогою АNA Hep Screen і три показали позитивний результат, таким чином встановивши специфічність у розмірі 97.9%.

**ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ**

1. АNA Hep Screen ELISA – це допоміжна діагностика і не є по суті основною діагностикою. Конкретний клінічний діагноз не повинен базуватися виключно на результатах тесту, а повинен бути зроблений лікарем після отримання усіх клінічних і лабораторних результатів.
2. Завдяки потенційному кумулятивному ефекту кожного з нанесених антигенів, сироватка з позитивними результатами АNA Hep Screen ELISA тесту може бути визначена як негативна після підтверджувального тестування.
3. Позитивний АNA може бути виявлений у явно здорових людей.
4. Пацієнти з системним червоним вовчаком, які проходять стероїдну терапію, можуть мати негативні результати тесту.
5. Деякі ліки можуть стимулювати АNA.

**ІНТЕРФЕРУЮЧІ РЕЧОВИНИ**

Інтерференції з гемолітичною (до 1000мг/дл) і ліпемічною (до 3г/дл тригліцеридів) сироваткою, або сироваткою, що містить білірубін (до 40мг/дл), не спостерігалося. Також не спостерігалося ніяких інтерферуючих ефектів з застосуванням антикоагулянтів. Проте з практичних причин рекомендується уникати надмірно гемолізованих і ліпемізованих зразків.

**БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК**

1. Hiepe F., Burmester G.R.. Klinik und Diagnostik des systematischen Lupus erythrematodes. Dtsch.med.Wschr.; Vol.121; 1129-1133; 1996.

2. Nakamura R.M., Tan E.M.. Update on autoantibodies to intracellular antigens in systemic rheumatic diseases. Clin.Lab.Med.; Vol.12; 1-23; 1992.

3. Barland P., Lipstein E.. Selection and use of laboratory test in the rheumatic diseases. Am.J.Med.; Vol.100 (suppl 2A); 16s-23s.

4. Isenberg D.A., Ravirajan C.T., Rahman A., Kalsi J.. The role of antibodies to DNA in systemic lupus erythematosus -A review and introduction to an international workshop on DNA antibodies held in London, May 1996. Lupus; 6; 290-304; 1997.

5. Alexander E, Buyon J.P., Provost T.T., Guarnieri T. Anti-Ro/SS-A antibodies in the pathophysiology of congenital heart block in neonatal lupus syndrome, an experimantal model. Arthritis and Rheumatism; Vol. 35 No.2; 176-189; 1992.

6. Hietarinta M., Lassila O.. Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic disease. Ann.Med.; Vol.28; 283-291; 1996.

7. Fritzler M.J.. Clinical relevance of autoantibodies in systemic rheumatic diseases. Mol.Biol.Rep.; Vol.23; 133-145; 1996.

8. Feltkamp T.E.W.. Antinuclear antibody determination in a routine laboratory. Ann.Rheum.Dis.; Vol.55; 723-727; 1996.

9. Amoura Z., Koutouzov S., Chabre H., Cacoub P., Amoura I., Musset L., Bach J.-F., Piette J.-C.. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases. Arthritis and Rheumatism; Vol. 43 (1); 76-84; 2000.

10. Lundberg U.N., Hedfors E., Pettersson I.. Recombinant 70-kD protein for determination of autoantigenic epitopes by anti-RNP sera. Clin.Exp.Immunol.; 81; 52-58; 1990.

11. Sanchez-Guerrero J., Lew R.A., Fossel A.H., Schur P.H.. Utility of anti-Sm, anti-RNP, antiRo/SS-A, and anti

La/SS-B (extractable nuclear antigens) detected by enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematodes. Arth.Rheum.; Vol.39; 1055-1061; 1996.

12. Shen G.Q., Shoenfeld Y., Peter J.B.. Anti-DNA, anti-histone and anti-nucleosome antibodies in systemic Lupus erythematosus and drug-induced Lupus. Clin. Reviews in

Allergy and Immunology; Vol.16; 321-334; 1998.

**ІНКУБАЦІЙНА СХЕМА**

1. Налийте за допомогою піпетки **100мкл** буж-вимірника, регулятора або зразка пацієнта

Інкубуйте впродовж **30 хвилин** при кімнатній температурі

Вилийте вміст мікролунок і промийте 3 рази **300мкл**  розчину для промивки

1. Налийте **100мкл** ферментного кон’югату

Інкубуйте впродовж **15 хвилин** при кімнатній температурі

Вилийте вміст мікролунок і промийте 3 рази **300мкл** розчину для промивки

1. Налийте **100мкл** розчину субстрату

Інкубуйте впродовж **15 хвилин** при кімнатній температурі

1. Додайте **100мкл** інгібітору

Залишіть на **5 хвилин**

Зніміть показання при **450нм**

**СИМВОЛИ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В ТЕСТАХ DEMEDITEC**

|  |  |
| --- | --- |
| **Символ** | **Тлумачення** |
|  | Звіртеся з інструкціями з використання |
|  | Відповідає стандартам ЄС |
|  | Для in vitro діагностики |
|  | Тільки для досліджень |
|  | Номер у каталозі |
|  | Номер партії / Код серії |
|  | Містить достатню кількість для <n> тестів |
|  | Температура зберігання |
|  | Термін придатності |
|  | Виробник |
| **Distributed by** | Дистриб’ютор |
| **Content** | Вміст |
| **Volume/No.** | Об’єм / Номер |