НАУЧНО–ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

REF RH-351 Σ 96

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Прогестерон» Тест-система иммуноферментная для количественного определения прогестерона

1. Назначение

1.1. Набор реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Прогестерон» предназначен для количественного определения содержания прогестерона в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

1.2. Прогестерон или гормон желтого тела синтезируется в яичниках и в плаценте при беременности. Он помогает сохранению беременности, подготавливает внутреннюю слизистую оболочку матки для имплантации в нее оплодотворенной яйцеклетки, подавляет действие эстрогенов и сокращение матки, способствует развитию железистой ткани молочных желез. Разрушается прогестерон в печени и выводится с мочой. Количественное определение уровня прогестерона в крови имеет диагностическое значение при оценке функционального состояния желтого тела, наблюдении за протеканием беременности и может проводиться в исследовательских целях.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 проб, одна проба контрольной сыворотки, шесть стандартных калибровочных проб и одна проба для определения оптической плотности ТМБ-Субстратного раствора при одновременном использовании всех стрипов планшета (всего 96 определений).

В случае дробного применения набора необходимо обязательное использование всех калибровочных проб при каждой постановке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия.

Метод определения основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца и конъюгата прогестерон-пероксидаза, во время инкубации происходит конкурентное связывание сывороточного прогестерона и прогестерона, конъюгированного с пероксидазой, с моноклональными антителами к прогестерону, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета.

При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного антителами прогестерона и конъюгата прогестерон-пероксидаза, причем количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально концентрации прогестерона в анализируемом образце сыворотки крови.

Во время инкубации с ТМБ-Субстратным раствором происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связанного антителами конъюгата прогестерон-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация прогестерона в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Прогестерон»

Таблица 1

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Иммуносорбент – 96-луночный разборный полистироловый планшет (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к прогестерону.	1 шт.
Конъюгат – прогестерон, меченный пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,004% гентамицина сульфат.	1 флакон 12,0 мл
Калибратор 0, Калибратор 1, Калибратор 2, Калибратор 3, Калибратор 4, Калибратор 5 – калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества прогестерона. Прозрачные или слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости. Значения концентраций прогестерона в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов. В качестве консервантов содержат: 0,1% проклин 300, 0,1% фенол.	6 флаконов по 0,5 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контрольная сыворотка – на основе сыворотки крови человека с известным содержанием прогестерона. Прозрачная или слегка опалесцирующая светло-желтого цвета жидкость. В качестве консервантов содержит: 0,1% проклин 300, 0,1% фенол.	1 флакон 0,5 мл
ПР (концентрат х 25) – промывочный раствор, концентрат. Прозрачная или слегка опалесцирующая, бесцветная или светло-желтого цвета жидкость.	1 флакон 50,0 мл
ТМБ-Субстратный раствор – прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 14,0 мл
Стоп-реагент/0,2М – серная кислота в концентрации 0,2 моль/л. Прозрачная бесцветная жидкость.	1 флакон 25,0 мл
Бланк для построения калибровочной кривой.	1 шт.
Инструкция по применению.	1 шт.

Дополнительно в комплект поставки могут быть включены:

- крышка к полистироловым 96-луночным разборным планшетам или защитная пленка для ИФА планшетов;
- одноразовые наконечники к полуавтоматическим пипеткам;
- пластиковая ванночка для реагентов;
- пластиковая скрепка для закрывания пакета с иммуносорбентом или полиэтиленовый пакет с замком.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

3.1. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация прогестерона в сыворотке крови человека не превышает 0,5 нмоль/л.

3.2. Специфичность. Величины перекрестных реакций с родственными соединениями приведены в таблице 2.

Таблица 2

Кросс-реагент	**Кросс-реактивность, %**
прогестерон	100
тестостерон	0,01
эстрадиол	0,004
кортизон	0,041
кортизол	0,005
кортикостерон	0,1
дегидротестостерон	0,041
андростендион	0,1
17-ОН-прогестерон	2,9
прегнандион	10

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3.3. Коэффициент вариации результатов определения прогестерона в одном и том же образце сыворотки крови с использованием набора не превышает 8%.

3.4. Линейность. Зависимость концентрации прогестерона имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб № 1 - № 5. Значение «линейности» должно находиться в пределах от 90 до 110%.

3.5. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» прогестерона – соответствие измеренной концентрации прогестерона предписанной в пробе, полученной смешением равных объемов контрольной сыворотки и «Калибратора 2». Процент открытия составляет 90-110%.

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию прогестерона измеряли в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч:

- у 100 здоровых людей в возрасте от 21 до 45 лет. Концентрация прогестерона в сыворотке крови 50 здоровых мужчин составила от 0,5 до 5,2 нмоль/л. Концентрация прогестерона в сыворотке крови женщин с нормальным менструальным циклом в фолликулярной фазе составляет от 0,5 до 6,5 нмоль/л, в лютеиновой фазе от 8 до 87 нмоль/л;
- у 1058 женщин с нормально протекающей беременностью. Концентрация прогестерона в сыворотке крови беременных на разных сроках составила:

Триместр (недели)	**Нмоль/л**
I (1-12)	10-182
II (13-24)	60-332
III (25-40)	185-960

Правила пересчета результатов:

нмоль/л х 0,314 = нг/мл; нг/мл х 3,18 = нмоль/л.

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций прогестерона, соответствующие нормальным значениям для обследуемого контингента лиц.

4. Меры предосторожности

Достоверность результатов зависит от правильного выполнения следующих правил лабораторной практики:

4.1. Постановку ИФА следует проводить в помещении с температурой от 18 до 24 °С.

4.2. Нельзя использовать реагенты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- неспецифических компонентов (ПР (концентрат х 25), ТМБ-Субстратный раствор, Стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах для исследования гормонов и онкомаркеров, производства ООО «НПО «Диагностические системы».

4.3. Нельзя использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.

4.4. Растворы готовить осторожно, исключая какое-либо загрязнение.

4.5. Нельзя проводить ферментную реакцию в присутствии реактивных паров (кислота, щелочь, альдегиды) или пыли, которые могут повлиять на активность конъюгата.

4.6. Лабораторная посуда должна быть тщательно промыта; предпочтительно применение материалов одноразового использования.

4.7. Ферментная реакция особо чувствительна к ионам металлов. Нельзя допускать контакта металлических предметов с растворами конъюгата или субстрата.

4.8. Необходимо использовать чистый наконечник для каждого образца или реагента.

4.9. Промывка лунок – важный этап проведения анализа: необходимо соблюдать рекомендованное количество циклов промывки и убедиться, что лунки полностью заполняются раствором. Не следует допускать остатка жидкости в лунках после промывки. Неправильно проведенный этап промывки может привести к неточным результатам.

4.10. Нельзя использовать одну и ту же ванночку для внесения конъюгата и ТМБ-Субстратного раствора.

4.11. Необходимо использовать только валидированные дозаторы и оборудование.

4.12. Нельзя изменять процедуру проведения анализа.

4.13. Нельзя подвергать реагенты воздействию высокой температуры или прямого солнечного света.

5. Инструкции по безопасности

5.1. Все реагенты набора предназначены для лабораторной диагностики.

5.2. Сыворотки крови человека, используемые при приготовлении калибраторов и контрольной сыворотки, не содержат антитела к вирусу гепатита С, антитела к ВИЧ-1,2, антиген вируса гепатита В (HBsAg), p24 ВИЧ-1 и антитела к возбудителю сифилиса.

5.3. В помещении с иммунодиагностическими материалами нельзя употреблять пищу, пить, курить, применять косметику.

5.4. Нельзя пипетировать ртом.

5.5. При работе с исследуемыми образцами необходимо обращаться как с потенциально опасными материалами, т.к. ни один известный метод тестирования не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5.6. При работе с любым оборудованием, которое контактирует с исследуемыми образцами и реагентами, необходимо обращаться как с инфекционными материалами.

5.7. При работе с набором реагентов и исследуемыми образцами необходимо использовать спецодежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

5.8. Необходимо избегать расплескивания образцов или растворов, содержащих образцы. При расплескивании немедленно дезинфицировать поверхность 3% раствором хлорамина.

5.9. Необходимо избегать контакта ТМБ-Субстратного раствора, стоп-реагента с кожей и слизистыми.

5.10. После проведения ферментативной реакции необходимо нейтрализовать и/или автоклавировать растворы, отходы, или любые жидкости, содержащие биологические образцы до сброса в канализацию. Твердые отходы (использованные планшеты, наконечники к дозаторам, флаконы, лабораторная посуда, одноразовые перчатки и т.д.) должны быть обеззаражены автоклавированием в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа). Допустимо обеззараживание твердых отходов способом погружения в 3% раствор хлорамина Б (длительность дезинфекции не менее 1 часа) или другого разрешенного к промышленному выпуску и применению в РФ дезинфицирующего средства. Жидкие отходы (промывочные воды) следует обеззараживать добавлением сухого хлорамина Б из расчета 30 г/л (длительность дезинфекции – не менее 2 ч) или кипячением в течение 30 мин, или автоклавированием в течение 1 ч под давлением 1,5 кГ/см^2 (0,15 МПа) при температуре от 124 до 128 °С. Инструменты и оборудование до и после работы необходимо протирать 2 раза 70% этиловым спиртом.

5.11. Некоторые реагенты содержат 0,1% проклин 300. Проклин 300 0,1% – раздражающее вещество. Может вызвать сенсибилизацию при контакте с кожей. При контакте с кожей промыть область контакта большим количеством мыла и воды.

6. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

– спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм;

– термостатируемый шейкер, позволяющий производить встряхивание планшета при температуре (37,0 ± 0,5) °С со скоростью от 500 до 800 об/мин;

– устройство для промывания планшетов (вошер);

– дозаторы пипеточные полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5-50 мкл; на 40-200 мкл; на 200-1000 мкл; на 1000-5000 мкл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– дозатор пипеточный полуавтоматический восьмиканальный со сменными наконечниками, позволяющий отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
– цилиндры мерные вместимостью 200 мл и 500 мл;
– стакан стеклянный вместимостью 500 мл;
– вода дистиллированная;
– бумага фильтровальная лабораторная;
– перчатки резиновые или пластиковые.

7. Подготовка исследуемых образцов сывороток крови человека

Для исключения ложных результатов нельзя подвергать исследуемые образцы термоинактивированию, необходимо отбирать и хранить их в условиях, предотвращающих бактериальный рост. **Недопустимо использование образцов сыворотки крови с добавлением азида натрия в качестве консерванта!** Каждый образец исследуемой сыворотки следует отбирать новым наконечником! Отобранные образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 3 суток или при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 месяцев (образцы могут подвергаться замораживанию и оттаиванию не более 1 раза). Образцы с бактериальным ростом, выраженным гемолизом и гиперлипидемией анализировать нельзя! Образцы сыворотки крови, содержащие агрегаты или осадок, необходимо осветлять центрифугированием при 1000-2000 об/мин в течение 15 минут при температуре от 2 до 8 °С.

8. Подготовка реагентов для анализа

Перед использованием все реагенты набора и анализируемые образцы сыворотки крови выдержать 30 мин при комнатной температуре.

8.1. Иммуносорбент. **Внимание: Во избежание конденсации влаги внутри лунок необходимо выдержать иммуносорбент при комнатной температуре в закрытом пакете не менее 30 минут!**

Вскрыть фольгированный пакет, отступив 1,0 см от края пакета. Вынуть из пакета рамку и переставить на рамку необходимое количество стрипов.

Пакет с неиспользованными стрипами тщательно герметизировать с помощью скрепки для фольгированного пакета (не удаляя осушитель!). Для этого край пакета следует свернуть 2-3 раза и закрепить, надев сверху скрепку для фольгированного пакета. Или поместить вскрытый фольгированный пакет с иммуносорбентом в полиэтиленовый пакет с замком.

8.2. Приготовление рабочего промывочного раствора. Содержимое флакона с концентратом ПР тщательно перемешать. Для приготовления рабочего ПР необходимое количество концентрата промывочного раствора развести в 25 раз водой дистиллированной (например, к 10 мл концентрата ПР добавить 240 мл воды). Полученный раствор тщательно перемешать.

8.3. Конъюгат, калибровочные пробы, контрольная сыворотка, ТМБ-Субстратный раствор и стоп-реагент готовы к применению.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Проведение анализа

9.1. Все реагенты перед проведением анализа должны быть тщательно перемешаны и доведены до комнатной температуры.

9.2. Стандартные калибровочные пробы и контрольную сыворотку вносить по 25 мкл в двух повторах. Рекомендуется оставить 2 лунки для измерения ОП ТМБ-Субстратного раствора.

В остальные лунки в двух повторах внести по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови.

Внимание! Время внесения образцов не должно превышать 10 минут!

9.3. Во все лунки планшета, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора, внести по 100 мкл конъюгата, закрыть планшет крышкой или защитной пленкой.

9.4. Возможны две процедуры инкубации планшета:

Процедура 1 (термостатируемый шейкер, (37,0 ± 0,5) °С):

Планшет инкубировать в течение 30 минут на термостатируемом шейкере при встряхивании со скоростью от 500 до 800 об/мин и температуре (37,0 ± 0,5) °С.

Процедура 2 (комнатная температура):

После внесения в лунки планшета образцов и конъюгата содержимое перемешать аккуратным постукиванием по краям планшета в течение 30 секунд, стрипы закрыть крышкой или защитной пленкой и инкубировать в течение 90 минут при комнатной температуре (здесь 20-25 °С).

9.5. По окончании инкубации содержимое лунок удалить с помощью промывочного устройства в ёмкость для сбора инфицированного материала, планшет промыть 5 раз рабочим ПР (см.п.8.2.), добавляя во все лунки планшета не менее 300 мкл рабочего ПР и удаляя рабочий ПР с помощью промывочного устройства в емкость для сбора инфицированного материала. После последнего промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

9.6. Немедленно внести во все лунки планшета по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и выдержать при комнатной температуре в темноте:

Процедура 1: 20-30 мин.

Процедура 2: 20-30 мин.

9.7. Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и ТМБ-Субстратный раствор, по 150 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, встряхнуть планшет на шейкере в течение 5-10 секунд и провести учет результатов. Время между остановкой реакции и измерением ОП не должно превышать 20 мин.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.8. **Спектрофотометрический контроль внесения сывороток и реагентов при постановке тест-системы «ДС-ИФА-Стероид-Прогестерон» на автоматических ИФА-анализаторах.** Контроль внесения конъюгата рекомендуется проводить при длинах волн 540 (550) нм, критерий: ОП > 0,500.

10. Регистрация результатов

Измерить на фотометре вертикального сканирования ОП раствора в лунках планшета при длине волны 450 нм.

11. Учёт результатов

Для обсчета результатов также возможно использовать построенный в системе координат “Logit-Log” график зависимости Logit (B/B0) от логарифма (LN) концентрации прогестерона в калибровочных пробах, где B – среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы, B0 – среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочную пробу 0. Logit (B/B0) рассчитывается как LN((1-B/B0)/(B/B0)).

Определение концентрации прогестерона в контрольной сыворотке необходимо для проверки точности и достоверности полученных результатов. В том случае, когда полученное значение концентрации в контрольной сыворотке находится в пределах концентраций, указанных на этикетке флакона с контрольной сывороткой, полученные при анализе исследуемых проб результаты являются достоверными.

12. Ограничения теста

12.1. Все реагенты набора предназначены для количественного определения содержания прогестерона в сыворотке крови человека. Набор не предназначен для определения прогестерона в слюне, плазме и других образцах человеческого или животного происхождения.

12.2. При использовании двух и более планшетов, рекомендуется ставить калибровочные пробы при каждой постановке.

12.3. Нельзя касаться дна лунок.

12.4. Заключение о клиническом диагнозе не может быть основано только на результатах данного теста. В диагностических целях результаты должны обязательно использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей клинической картиной, результатами исследования другими тестами.

12.5. Гетерофильные антитела к белкам мыши или другим животным белкам могут повлиять на данный анализ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

13. Условия хранения и эксплуатации набора

13.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности указан на упаковке набора.

13.2. Транспортирование набора реагентов проводить при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 суток.

13.3. В случае дробного использования компоненты набора необходимо хранить следующим образом:

– Иммуносорбент – оставшиеся неиспользованными стрипы поместить в герметично закрытый пакет и хранить при температуре от 2 до 8 °С на протяжении срока годности набора;

– ПР, 25-кратный концентрат и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение срока годности набора;

– Рабочий ПР, подготовленный к использованию, хранить в чистой плотно закрытой емкости в течение 14 сут. при комнатной температуре или 28 сут. при температуре от 2 до 8 °С;

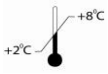
– Конъюгат, калибровочные пробы, контрольную сыворотку и ТМБ-субстратный раствор после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

13.4. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам качества набора следует обращаться в ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» по адресу: 603093, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12, 8-800-555-0300. E-mail: info@npods.ru, www.npods.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

14. Объяснение символов

CE	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
IVD	Только для лабораторного использования (in vitro diagnostic)
	Производитель
REF	Катожный номер
	Количество определений
LOT	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
 EXP.	Срок годности число/месяц/год
	Использовать инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Дополнительная информация в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013

- «Набор предназначен для профессионального использования в клинической лабораторной диагностике специально обученным персоналом. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности».
- «Реагенты набора не содержат вредных веществ в опасных концентрациях, за исключением реагентов, обозначенных символом «Внимание». При попадании на кожу или слизистые немедленно промыть большим количеством воды».
- Расшифровка символов по ГОСТ Р 15223-1-2014 «Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации.
  Часть 1. Общие требования».

 - Дата изготовления (YYYY-MM), символ 5.1.3;

 - Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

 - Беречь от влаги, символ 5.3.4;

 - «Внимание», символ 5.4.4;

 - Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD), символ 5.1.4 (взамен символа  EXP.)

 - Содержит раздражающее вещество (символ исключен).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

15. Список литературы

1. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16α-hydroxyprogesterone, 17α-hydroxyprogesterone, 20α-dihydroprogesterone, gamma-5-pregnolonone, gamma-5-pregnolonone-sulfate, gamma-5-pregnolone-sulfate and 17-hydroxy gamma-5-pregnolonone, J. Clin. Endocrinol. Metab. 48:133, 1979.

2. Check, J.H., et al, Falsely elevated steroidal assay levels related to heterophile antibodies against various animal species. Gynecol Obstet Invest 40:139-140, 1995.

3. Matthews C.P., et al.: Obstet. Gynecol., 68:390, 1986.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приложение 1

Методы математической обработки результатов

При учете результатов с помощью встроенного или внешнего программного обеспечения спектрофотометра рекомендуется использовать следующие методы математической обработки результатов:

Марка спектрофотометра	Рекомендуемые методы математической обработки
Statfax 2100, 3200	Linear regression в координатах Logit-Log
Tecan Sunrise	4 parameter Marquardt
Bio-Rad 680	4 PL-Cook-Wilkenson
Multiscan EX	Не рекомендуется автоматический расчет концентраций на ридере
Multiscan FC	4 parameters logistic

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА АНАЛИЗА

1	**Внести**	По 25 мкл калибраторов и контрольной сыворотки в двух повторах; По 25 мкл исследуемых сывороток в двух повторах	
2	**Внести**	По 100 мкл конъюгата во все лунки, кроме лунок с контролем ТМБ-Субстратного раствора	
3	**Инкубировать**	**Процедура 1** 30 мин, шейкер, 37 °С	**Процедура 2** 90 мин, комнатная температура
4	**Промыть планшет**	5 раз, не менее 300 мкл рабочего промывочного раствора	
5	**Внести**	По 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора во все лунки	
6	**Инкубировать**	20-30 мин, в темноте	
7	**Внести**	По 150 мкл стоп-реагента	
8	**Встряхнуть**	В течение 5-10 секунд	
9	**Учет результатов**	450 нм	

нмоль/л х 0,314 = нг/мл; нг/мл х 3,18 = нмоль

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru