REF **RH-353** Σ **96**

# И Н С Т Р У К Ц И Я
# по применению набора реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Тестостерон»
# Тест-система иммуноферментная для количественного определения тестостерона

## 1. Назначение

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

1.2. Тестостерон – стероидный гормон с молекулярной массой 288,4 Да, является одним из наиболее важных гормонов мужчин. Тестостерон ответственен за развитие мужских половых органов и вторичных половых признаков. Основным местом образования тестостерона является интерстициальная ткань семенников. У женщин тестостерон синтезируется в надпочечниках и яичниках. Секреция тестостерона подчиняется суточному ритму – максимальная концентрация тестостерона в 6 ч утра, минимальная – в 20 ч. У женщин продукция тестостерона зависит от фазы менструального цикла: максимальное количество наблюдается в лютеиновой фазе и в период овуляции. Количественное определение уровня тестостерона в крови имеет диагностическое значение при оценке функционального состояния семенников, диагностике гирсутизма у женщин и некоторых опухолевых заболеваний надпочечников, яичников и семенников.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных 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 тестостерон-пероксидаза, во время инкубации происходит конкурентное связывание сывороточного тестостерона и тестостерона, конъюгированного с пероксидазой, с моноклональными антителами к тестостерону, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета.

При удалении содержимого из лунок происходит разделение свободного и связанного антителами тестостерона и конъюгата тестостерон-пероксидаза, причем количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально концентрации тестостерона 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 тестостерон-пероксидаза. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация тестостерона в исследуемых образцах.

### 2.2. Состав набора реагентов «ДС-ИФА-Стероид-Тестостерон»

Таблица 1

| Характеристики реагентов | Форма выпуска |
|---|---|
| Иммуносорбент - планшет полистироловый разборный (12 стрипов по 8 лунок каждый, разборность до 1 лунки) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к тестостерону. | 1 шт. |
| Конъюгат - тестостерон, меченный пероксидазой хрена. Прозрачная или опалесцирующая розового цвета жидкость.<br>В качестве консерванта содержит 0,1% проклин 300. | 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 тестостерона. Прозрачные или слегка опалесцирующие светло-желтого цвета жидкости. Концентрации тестостерона в калибровочных пробах указаны на этикетке флакона и в паспорте на набор.<br>В качестве консервантов содержат: 0,1% проклин 300, 0,1% фенол. | 6 флаконов по 0,5 мл |
| Контрольная сыворотка - на основе сыворотки крови человека с известным содержанием тестостерона. Прозрачная или слегка опалесцирующая светло-желтого цвета жидкость.<br>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-жёлтого цвета жидкость. | 1 флакон 50,0 мл |

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

| | |
|---|---|
| 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 тестостерона в сыворотке крови человека не превышает 0,2 нмоль/л.

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

Таблица 2

| **Кросс-реагент** | **Кросс-реактивность, %** |
|---|---|
| тестостерон | 100 |
| прогестерон | 0,056 |
| кортизол | 0,004 |
| эстрадиол | 0,005 |
| дигидротестостерон | 4,8 |
| андростендион | 3,6 |
| андростерон | 0,048 |
| кортизон | 0,004 |
| эстриол | 0,002 |
| эстрон | 0,007 |

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

3.4. Линейность. Зависимость концентрации тестостерона 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» тестостерона - соответствие измеренной концентрации тестостерона предписанной в пробе, полученной смешением равных объемов контрольной сыворотки и «Калибратора 2». Процент открытия составляет 90 - 110%.

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

3.6. Клиническая проверка. Концентрацию тестостерона измеряли в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 ч у 150 здоровых людей в возрасте от 21 до 45 лет. Средняя концентрация тестостерона в сыворотке крови 95 здоровых мужчин составила 19,0 нмоль/л (от 6,4 до 31,6 нмоль/л), 55 здоровых женщин составила 2,3 нмоль/л (от 0,2 до 4,4 нмоль/л).

Правила пересчета результатов:

нмоль/л х 0,288 = нг/мл; нг/мл х 3,47 = нмоль/л.

3.7. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентраций тестостерона, 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 комнатной температурой от 18 до 24 °С.

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

– 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.

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

## 5. Инструкция 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), р24 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.

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 Б.

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 кГс/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 кГс/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.

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

## 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 ± 0,5) °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;

– 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 2 - 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 2 - 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.

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

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 дистиллированной воды). Полученный раствор тщательно перемешать.

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

## 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 внести по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови в двух повторах.

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

9.4. 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 ёмкость для сбора инфицированного материала. После последнего промывания тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

9.5. Немедленно внести во все лунки планшета по 100 мкл ТМБ-Субстратного раствора и инкубировать планшет в темноте при комнатной температуре в течение 20-30 минут в зависимости от степени развития окраски.

9.6. 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 и встряхнуть планшет на шейкере в течение 5-10 секунд.

Схема проведения ИФА приведена в Приложении 2.

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

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

## 10. Регистрация результатов

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

Если по техническим причинам невозможно измерить ОП растворов в лунках планшета непосредственно после выполнения п. 9.6., следует иметь в виду, что окраска раствора в лунках планшета стабильна не более 20 минут при комнатной температуре.

## 11. Учет результатов

Для обсчета результатов также возможно использовать построенный в системе координат “Logit-Log” график зависимости Logit (B/B0) от логарифма (LN) концентрации тестостерона 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 тестостерона 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 определения тестостерона в сыворотке крови человека. Набор не предназначен для определения тестостерона 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. Например, наличие гетерофильных антител у пациентов, соприкасающихся с животными, может оказывать влияние на результаты иммунологических тестов. В диагностических целях результаты должны обязательно использоваться в сочетании с другими данными: симптомами, общей клинической картиной, результатами исследования другими тестами.

## 13. Условия хранения и эксплуатации набора

13.1. Набор реагентов должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2 - 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.

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

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 2 - 8 °С на протяжении срока годности набора;

– ПР, 25-кратный концентрат и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить в плотно закрытом виде при температуре 2 - 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 2 - 8 °С не более 2 месяцев.

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

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Яблоневая, д. 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.ru, www.npods.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 | Каталожный номер |
| Σ | Количество определений |
| LOT | Номер партии (серии) |
| +2°C +8°C | Температурные пределы хранения |
| EXP. | Срок годности число/месяц/год |
| | Использовать инструкцию по применению |
| Xi | Содержит раздражающее вещество |

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

## 15. Список литературы

1. Marcus, G.J., et al., A Simple Linked Immunoassay for Testosterone. Steroids 46:975, 1985.

2. Joshi, U.M., et al., A Sensitive Specific Enzyme Immunoassay for Serum Testosterone. Steroids 34:35, 1979.

3. Ekins, R. Hirsutism: Free and Bound Testosterone. Ann. Clin. Biochem 27:91,1990.

4. Manni, A., et al., Bioavailability of Albumin-Bound Testosterone. J. Clin. Endo. Metab. 61:705, 1985.

5. Ekins, R. The Science of Free Testosterone Measurement. Proc.UK NEQAS Meeting. 3:35-39, 1998.

**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;

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

 – Не допускать воздействия солнечного света, символ 5.3.2;

 – Беречь от влаги, символ 5.3.4;

 – Внимание, символ 5.4.4;

 – Содержит раздражающее вещество (символ исключен).



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 |

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

# СХЕМА АНАЛИЗА

| | | |
|---|---|---|
| **1** | **Внести** | По 25 мкл калибраторов и контрольной сыворотки в двух повторах;<br>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** | 30 мин, шейкер, 37 °С |
| **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 0,288 = нг/мл** **нг/мл х 3,47 = нмоль/л**

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