«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора
от «26» марта 2012 г. № 1361-Пр/12

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **РАКОВОГО АНТИГЕНА СА 19-9** В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ОнкоИФА-СА 19-9»)**

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов «ОнкоИФА-СА 19-9» предназначен для количественного определения ракового антигена СА 19-9 в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Раковый антиген СА 19-9 относится к группе муциноподобных гликопротеинов, т.н. Sialyl Lewis Antigens (SLA). Повышенная концентрация СА 19-9 часто наблюдается у пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта, в частности, карциномами поджелудочной железы, прямой кишки, желудка и печени. Повышение концентрации СА 19-9, наряду с повышением концентрации РЭА, позволяет предположить патологию желчного пузыря. Обнаружение этого опухолеспецифичного антигена может также быть связано с некоторыми другими новообразованиями.

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

Определение концентрации СА 19-9 в сыворотке крови может быть использовано при мониторинге пациентов, у которых диагностированы вышеперечисленные опухоли.

С клинической точки зрения значение концентрации СА 19-9 само по себе не имеет диагностической ценности при тестировании на наличие злокачественных новообразований. Этот результат следует использовать только в сочетании с иными клиническими проявлениями, результатами наблюдений и диагностическими параметрами.

Повышенную концентрацию СА 19-9 в сыворотке крови отмечают у 1% нормальных здоровых женщин, у 3% женщин с незлокачественными патологиями яичников и у 6% пациентов с различными незлокачественными состояниями (в том числе во время первого триместра беременности, менструации, при эндометриозе, фиброзе матки, остром сальпингите, заболеваниях печени, воспалительных процессах брюшины и перикарда).

**1.3.** Набор «ОнкоИФА-СА 19-9» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных, 6 калибровочных проб, одной пробы контрольной сыворотки и одной пробы для определения оптической плотности раствора ТМБ при использовании всех стрипов одновременно (всего 96 определений).

***Примечание:*** *в случае дробного применения набор может быть использован только в течение 1,5 месяцев после вскрытия компонентов набора.*



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

# 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

## 2.1. Принцип действия

В наборе «ОнкоИФА-СА 19-9» использован двухстадийный «сэндвич»-вариант твердофазного иммуноферментного анализа (Рисунок 1). На первой стадии анализа в лунки, покрытые стрептавидином, вносятся калибровочные пробы с известным содержанием СА 19-9, контрольная сыворотка и анализируемые образцы. Затем добавляется конъюгат моноклональных антител к СА 19-9 с биотином (на Рисунке 1: МАТ1-биотин). В результате реакции между моноклональными антителами и молекулой СА 19-9 образуется комплекс, который связывается со стрептавидином, иммобилизованным на внутренней поверхности лунок. При удалении содержимого из лунок и промывке происходит разделение свободных и связанных антителами белков сыворотки крови.

На второй стадии в лунки добавляются конъюгированные с пероксидазой антитела, специфичные к другому эпитопу молекулы СА 19-9 (на Рисунке 1: МАТ2-пероксидаза). Меченное ферментом антитело связывается с молекулами СА 19-9, которые были иммобилизованы во время первой инкубации. Несвязавшийся конъюгат удаляется промывкой.

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации СА 19-9 в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация СА 19-9 в исследуемых образцах.



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

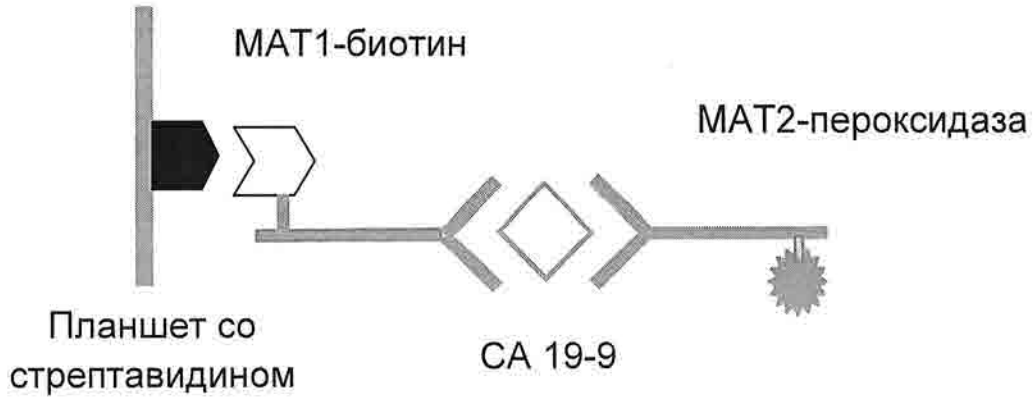



**Рисунок 1. Схема анализа**

## 2.2. Состав набора

• комплект из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованным на внутренней поверхности лунок стрептавидином, маркирован «Стрипы с иммобилизованным стрептавидином» - 1 упаковка;

• калибровочные пробы (КП), содержащие известные количества СА 19-9. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций СА 19-9 в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов, ориентировочные – 0; 10; 50; 100; 250; 500 Ед/мл – 6 флаконов (лиофилизованные препараты или жидкости по 1,0 мл);

• конъюгат, содержащий моноклональные антитела к СА 19-9 с биотином, маркирован «Конъюгат Е №1» – 1 флакон (13 мл);

• конъюгат, содержащий моноклональные антитела к СА 19-9 с пероксидазой хрена, маркирован «Конъюгат Е №2» – 1 флакон (13 мл);



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

- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер М» – 1 флакон (20 мл);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» – 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент (1 Н соляная кислота), маркирован «Стоп-реагент» – 1 флакон (14 мл);
- контрольная сыворотка с известным содержанием СА 19-9, маркирована «Контрольная сыворотка» — 1 флакон (лиофилизованный препарат или жидкость 0,5 мл);
- водно-солевой раствор для разведения образцов сыворотки крови, маркирован «Буфер Д» — 1 флакон (20 мл). **Поставляется отдельно.**



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

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1.** Специфичность. Перекрестная реакция антител к СА 19-9 с другими аналитами и интерференция приведены в Таблице 1.

Таблица 1

| Вещество | Исследованная концентрация | Перекрестная реакция |
|---|---|---|
| СА 19-9 | - | 100% |
| СА 125 | 10 000 Ед/мл | 0,1% |
| СА 15-3 | 1 000 Ед/мл | Не определяется |
| ПСА | 5 000 нг/мл | Не определяется |
| АФП | 10 000 нг/мл | Не определяется |
| РЭА | 10 000 нг/мл | Не определяется |
| ХГч | 10 000 мМЕ/мл | Не определяется |
| Ревматоидный фактор | 1000 кМЕ/мл | Не определяется |

**3.2.** Коэффициент вариации результатов определения СА 19-9 в одном и том же образце сыворотки крови человека с использованием набора «ОнкоИФА-СА 19-9» не превышает 8%.

**3.3.** Линейность. Зависимость концентрации СА 19-9 в образцах сыворотки крови при разведении их буфером Д (поставляется по запросу клиента) имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2 - №6 и составляет 90-110%.

**3.4.** Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» СА 19-9 — проверка соответствия значения определяемой концентрации СА 19-9 расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №3. Процент



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

открытия составляет 90–110%.

**3.5.** Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация СА 19-9 в сыворотке крови человека не превышает 1,0 Ед/мл.

**3.6.** Хук-эффект высоких концентраций. В наборах реагентов, основанных на «сэндвич»-принципе анализа, при высоких концентрациях аналита зависимость величины оптической плотности от концентрации становится обратно пропорциональной (так называемый хук-эффект высоких концентраций). При использовании набора «ОнкоИФА-СА 19-9» хук-эффект не наблюдается.

**3.7.** Диапазон ожидаемых значений. У большинства здоровых людей концентрация СА 19-9 ≤ 40 Ед/мл.

Диапазон ожидаемых значений зависит от многих факторов: специфичности метода, особенностей исследуемой популяции, точности метода в конкретной лаборатории. По этой причине каждой лаборатории рекомендуется использовать предоставленные изготовителем значения только до тех пор, пока специалистами лаборатории не будут определены диапазоны ожидаемых значений, характерных для конкретной популяции в месте расположения лаборатории.



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

# 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**4.1.** Потенциальный риск применения набора – класс 1.

**4.2.** Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

**4.3.** При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

**4.4.** Стоп-реагент представляет собой 1 Н раствор соляной кислоты. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

**4.5.** При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. производные крови, входящие в состав набора, и исследуемые образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных вирусных инфекций.

**4.6.** Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

**4.7.** Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.



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

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длинах волн 450 нм, 405 нм и 620 нм (референтная длина волны). Применение длины волны 620 нм не является обязательным, но позволяет обнаружить интерференцию пластика;
- пипетки 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;
- пипетка полуавтоматическая восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл;
- цилиндр мерный, позволяющий отмерять 50-500 мл;
- стакан стеклянный подходящего объема;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- 1% раствор гипохлорита натрия или 6% раствор перекиси водорода;
- контейнер для дезинфекции;
- ванночки для внесения реагентов восьмиканальной пипеткой.



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

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

**6.1.** Забор крови из вены осуществляют с соблюдением правил асептики. После формирования сгустка сыворотку отделяют путем центрифугирования. После центрифугирования сыворотку переносят в отдельную пробирку.

**6.2.** Для проведения анализа не следует использовать плазму крови, гемолизированную или мутную сыворотку, а также образцы сыворотки, содержащие азид натрия.

**6.3.** Образцы сыворотки крови разрешается хранить при температуре +2...8°С не более 5-ти суток; при необходимости более длительного хранения (до 3-х месяцев) рекомендуется аликвотировать образец и хранить в замороженном виде при температуре –20°С и ниже. Не допускается повторное замораживание образца.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 7.1. Подготовка реагентов

**7.1.1.** Стрипы. Перед вскрытием пакет со стрипами необходимо выдержать при комнатной температуре (+18...25°С) не менее 30 минут. Вскрыть пакет и переставить на свободную рамку необходимое количество стрипов.

**7.1.2.** Жидкие калибровочные пробы и контрольная сыворотка готовы к использованию.

Для восстановления лиофилизованных калибровочных проб и контрольной сыворотки перед вскрытием флаконов легким постукиванием стряхнуть частицы, прилипшие к стенкам флаконов или к крышкам. Открыть флаконы и положить крышки перевернутыми на сухую поверхность. В каждый флакон с калибровочной пробой внести по 1,0 мл дистиллированной воды, во флакон с контрольной



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

сывороткой – 0,5 мл дистиллированной воды и закрыть крышками. Выдержать флаконы в течение 10 минут при комнатной температуре (+18...25°С) без перемешивания. Затем, аккуратно наклоняя и вращая флаконы, перемешать их содержимое до полного растворения, избегая пенообразования. В течение следующих 10 минут выдержать флаконы при комнатной температуре, периодически перемешивая.

**7.1.3.** Конъюгат Е №1, конъюгат Е №2 готовы к использованию. Расход конъюгатов на один стрип составляет по 1,08 мл.

**7.1.4.** Промывочный раствор. Необходимое количество буфера М развести дистиллированной водой в 50 раз. Например:

5 мл буфера М + 245 мл дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

**7.1.5.** Раствор ТМБ готов к использованию. Расход ТМБ на один стрип составляет 1,15 мл.

**7.1.6.** Стоп-реагент готов к использованию. Расход стоп-реагента на один стрип составляет 0,75 мл.

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

**7.1.8.** Разведение исследуемых образцов сывороток крови. Если по предварительным данным или по результатам анализа (см. **п.9.3.**) значения концентрации СА 19-9 в исследуемых образцах выше КП №6, образцы следует развести буфером Д (поставляется по запросу клиента) в 10 и более раз. При разведении необходимо тщательное перемешивание.

На странице 19 приведена схема проведения анализа.



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

## 7.2. Постановка анализа

**7.2.1.** Составить протокол маркировки лунок. Лунки промаркировать следующим образом:

A1, A2 – № 1 – для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;

B1, B2 – № 2 – для измерения величины оптической плотности КП №1;

C1, C2 – № 3 – для измерения величины оптической плотности КП №2;

D1, D2 – № 4 – для измерения величины оптической плотности КП №3;

E1, E2 – № 5 – для измерения величины оптической плотности КП №4;

F1, F2 – № 6 – для измерения величины оптической плотности КП №5;

G1, G2 – № 7 – для измерения величины оптической плотности КП №6;

H1, H2 – № 8 – для измерения величины оптической плотности контрольной сыворотки.

**7.2.2.** Внести в соответствующие лунки по 25 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки – по 25 мкл исследуемых образцов в дубликатах.

***Примечание:*** *общее время внесения калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых сывороток крови не должно превышать 15 минут, иначе время инкубации разных образцов будет значительно различаться, что приведет к неправильным результатам.*

**7.2.3.** Внести во все лунки, кроме A1 и A2, по 100 мкл конъюгата E №1.

***Примечание:*** *Чрезвычайно важно вносить все реагенты как можно ближе ко дну покрытой стрептавидином лунки.*



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

**7.2.4.** Перемешать реагенты в лунках аккуратным постукиванием рамки со стрипами в течение 20-30 секунд.

**7.2.5.** Инкубировать стрипы в темноте в течение 60 минут при комнатной температуре (+18…25°С) без шейкирования.

**7.2.6.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором (1% раствором гипохлорита натрия или 6% раствором перекиси водорода) и промыть лунки пять раз. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по **п.7.1.4.**, встряхнуть рамку на шейкере в течение 5–10 секунд с последующим декантированием. После последнего декантирования тщательно удалить остатки жидкости из лунок постукиванием рамки со стрипами в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.

Допускается промывка лунок при помощи автоматического промывочного устройства.

**7.2.7.** Внести во все лунки, кроме А1 и А2, по 100 мкл конъюгата Е №2.

**7.2.8.** Инкубировать стрипы в темноте при комнатной температуре в течение 60 минут без шейкирования.

**7.2.9.** По окончании второй инкубации удалить содержимое лунок путем декантирования или аспирации и промыть лунки согласно **п.7.2.6.**

**7.2.10.** Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в темноте при комнатной температуре в течение 15-30 минут в зависимости от степени развития окраски.

**7.2.11.** Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 50 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции и осторожно перемешать реагенты в лунках аккуратным постукиванием



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

рамки со стрипами в течение 15-20 секунд.

**7.2.12.** Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения **п.7.2.11.**, то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при комнатной температуре (+18...25°С).

***Примечание:*** *максимальная оптическая плотность не должна превышать пределов линейного измерения спектрофотометра. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора. Рекомендуемая максимальная оптическая плотность не более 2,5 ед. ОП.*

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм.

Если оптическая плотность калибровочной пробы №6 превышает предел линейного измерения фотометра, необходимо переизмерить оптическую плотность в лунках при длине волны 405 нм.

При регистрации результатов необходимо вычитать величину оптической плотности в лунках А1 и А2 из значений оптических плотностей всех остальных лунок.

***Примечание:*** *среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках А1 и А2 не должно превышать 0,09 ед.ОП при 450 нм.*

## 9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

**9.1.** Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей от концентрации СА 19-9 (Ед/мл) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.



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

***Примечание 1:*** *при применении референтной длины волны 620 нм оптические плотности каждой калибровочной пробы, контрольной сыворотки и исследуемых образцов, полученные при 620 нм, вычитают из оптических плотностей, полученных при основной длине волны, эти значения используют для построения калибровочного графика.*

***Примечание 2:*** *для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер».*

***Примечание 3:*** *для построения калибровочного графика на масштабной бумаге необходимо использовать данные оптических плотностей после вычитания из них средней величины оптической плотности лунок с ТМБ.*

*Если программа фотометра не позволяет вычитать величину оптической плотности лунок А1 и А2, то необходимо пользоваться формулой:*

$$B–B_T,$$

*где В – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы;*

$B_T$ *– среднее арифметическое значение оптической плотности лунок А1 и А2.*



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

**9.2.** Определить содержание СА 19-9 в пробах по калибровочному графику. В случае разведения образцов необходимо измеренную концентрацию СА 19-9 умножить на фактор разведения.

**9.3.** Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации СА 19-9, превышающих номинал КП №6, не допускается. Для точного определения концентрации СА 19-9 в таких образцах необходимо выполнить их разведение в соответствии с **п.7.1.8.**

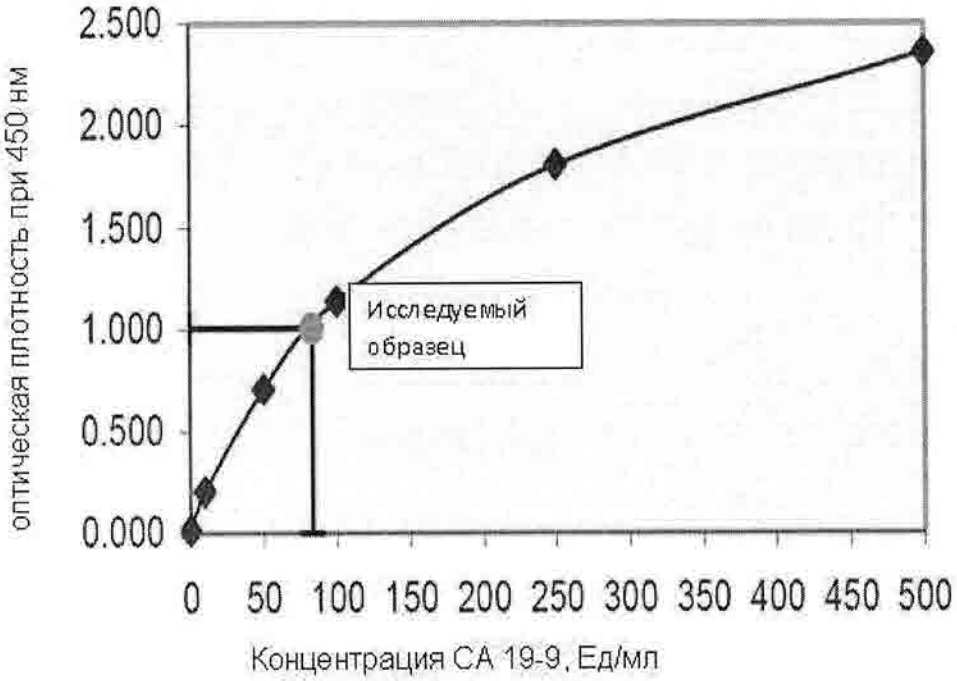



**Рисунок 2. Типичный калибровочный график**

*Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!*



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

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**10.1.** Набор «ОнкоИФА-СА 19-9» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2…8°С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 суток.

Срок годности набора – 12 месяцев.

**10.2.** Набор следует вынимать из холодильника не более чем за 1 час до начала анализа, но не позже, чем за 30 минут до проведения анализа.

**10.3.** В случае дробного использования компоненты набора возможно хранить в течение 1,5 месяцев следующим образом:

- стрипы поместить обратно в пакет из алюминиевой фольги, плотно закрыть и хранить при температуре +2…8°С;
- калибровочные пробы, контрольную сыворотку, конъюгат Е №1, конъюгат Е №2, раствор ТМБ, буфер М и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре +2…8°С;
- промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (+18…25°С).

**10.4.** При использовании набора для проведения нескольких независимых анализов необходимо иметь в виду следующее:

- для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации СА 19-9 в контрольной сыворотке;
- запрещается возвращать избыток конъюгатов, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;



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

• из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать в рекомендуемые условия хранения.

**10.5.** Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных партий, за исключением ТМБ и стоп-реагента, входящих в состав данного набора реагентов.

**10.6.** Запрещается использовать промывочный раствор, стоп-реагент и ТМБ из наборов реагентов других фирм-производителей.

**10.7.** Запрещается использовать промывочные растворы производства Алкор Био с буквенными обозначениями, отличными от указанного в инструкции к набору.

**10.8.** К работе с набором допускается только специально обученный персонал.

**10.9.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

***Примечания к схеме:*** *КП — калибровочная проба;*
*КС — контрольная сыворотка;*
*ОП — оптическая плотность;*
*КТ — комнатная температура (+18...25°С);*
*ПО – программное обеспечение.*



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

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



# СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

| № | Стадия (операция) | Реагенты | Температура | Время | Примечания |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Внесение реагентов | **25 мкл** *КП и КС* | **КТ** | Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15' | В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить |
| 2 | | **25 мкл** *исследуемых образцов* | | | |
| 3 | | **100 мкл** *коньюгата Е №1* | | | |
| 4 | **Инкубация №1** | — | **КТ** | 60' | Перед инкубацией перемешать 20-30 секунд. Инкубировать в темноте, без шейкирования |
| 5 | Промывка | **300 мкл** в лунку *1*промывочного раствора* (5 раз) | | | **1***промывочный раствор = = 20 мл буфера М + 980 мл $H_2O$ |
| 6 | Внесение реагента | **100 мкл** *коньюгата Е №2* | **КТ** | | В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить |
| 7 | **Инкубация №2** | — | **КТ** | 60' | В темноте, без шейкирования |
| 8 | Промывка | **300 мкл** в лунку *1*промывочного раствора* (5 раз) | | | **1***промывочный раствор = = 20 мл буфера М + 980 мл $H_2O$ |
| 9 | Внесение хромогена | **100 мкл** *ТМБ* | | | |
| 10 | **Инкубация с ТМБ** | — | **КТ** | 15 - 30' | В темноте |
| 11 | Остановка ферментной реакции | **50 мкл** *стоп-реагента* | | | |
| 12 | Перемешивание | | **КТ** | 15-20 секунд | |
| 13 | Регистрация результатов | — | | В течение 20' после остановки ферментной реакции | **Фотометр,** 450 нм, 405 нм (см. **п. 8.**), (620 нм) |
| 14 | Обработка результатов | | | | Калькулятор и масштабная бумага/соответствующее ПО |

**По вопросам качества набора «ОнкоИФА-СА 19-9» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный пр., д. 40, лит. А, тел/факс: (812) 677-87-79.**

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