«УТВЕРЖДЕНА»
Приказом Росздравнадзора
от «13» июля 2011 г. № 4119-Пр/11

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **СВОБОДНОГО ТРИЙОДТИРОНИНА** В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ТироидИФА-свободный $T_3$»)**

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

**1.1.** Набор реагентов «ТироидИФА-свободный $T_3$» предназначен для количественного определения свободного трийодтиронина ($T_3$) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**1.2.** Трийодтиронин (3,5,3'-трийодтиронин, $T_3$) – тироидный гормон с молекулярной массой 651 Да. Трийодтиронин является одним из гормонов, синтезируемых щитовидной железой. Основная часть молекул трийодтиронина находится в связанной с белками плазмы форме. Доля свободного $T_3$ составляет 0,2 – 0,5% от общего трийодтиронина. Именно свободный трийодтиронин обеспечивает весь спектр метаболической активности и осуществляет обратную связь с гипофи-

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

зом. Его концентрация наиболее точно характеризует тиреоидный статус организма, так как в значительно меньшей степени, по сравнению с общим трийодтиронином, зависит от физиологического или патологического состояний организма (беременность, оральная контрацепция, стероидная терапия). Таким образом, уровень свободного $T_3$ отражает истинный тиреоидный статус.

Измерение концентрации свободного $T_3$ наиболее информативно в случаях $T_3$-тиреотоксикоза, синдрома эутиреоидного больного, при генерализованной резистентности к тироидным гормонам, при классификации тиреотоксикозов по степени тяжести и мониторинге антитиреоидной терапии.

Уменьшение концентрации свободного $T_3$ может указывать на первичный, вторичный, третичный гипотиреоидизм. Однако в некоторых случаях снижение уровня свободного $T_3$ наблюдается также и при нетиреоидных заболеваниях – некомпенсированной первичной надпочечниковой недостаточности, тяжелых соматических и психических патологиях, в период выздоровления после тяжелых заболеваний, при низкокалорийной диете или диете с низким содержанием белка.

Повышенный уровень свободного $T_3$ наблюдается при тиреоидитах, синдроме резистентности к тиреоидным гормонам, ТТГ-независимом тиреотоксикозе, при тиреотропиноме и тиреотоксической аденоме, токсическом зобе, изолированном $T_3$-токсикозе. Кроме того, повышение уровня свободного $T_3$ возможно при послеродовой дисфункции щитовидной железы, нефротическом синдроме, хронических заболеваниях печени, после гемодиализа.

**1.3.** Набор «ТироидИФА-свободный $T_3$» рассчитан на проведение анализа в дубликатах 40 неизвестных,



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

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 месяца после вскрытия компонентов набора.*

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

### 2.1. Принцип действия

В наборе «ТироидИФА-свободный $T_3$» использован вариант конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. При добавлении в лунки исследуемого образца и конъюгата $T_3$-пероксидаза, во время инкубации устанавливается равновесие между конъюгатом и свободным $T_3$ сыворотки крови в процессе связывания с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок.

Несвязавшиеся компоненты удаляются промывкой. Количество связанного антителами конъюгата обратно пропорционально количеству свободного $T_3$ в исследуемом образце (Рисунок 1).

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски обратно пропорциональна концентрации свободного $T_3$ в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация свободного $T_3$ в исследуемых образцах.



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

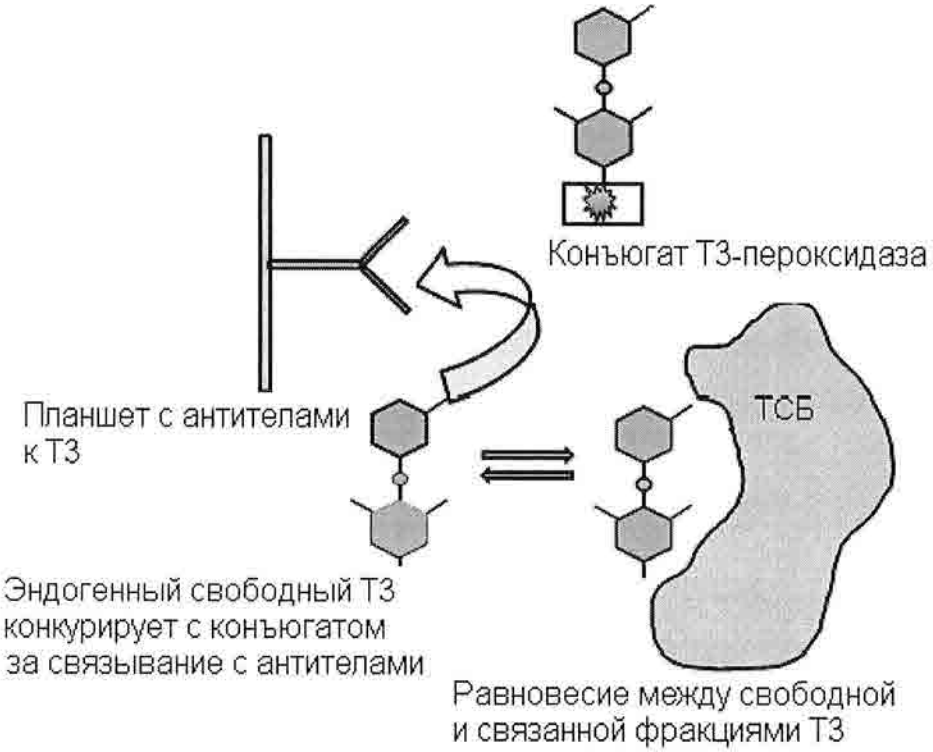



**Рисунок 1. Схема анализа**

## *2.2.* Состав набора

• комплект из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к трийодтиронину, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к трийодтиронину» — 1 упаковка;

• калибровочные пробы (КП), содержащие известные количества свободного $T_3$. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций свободного $T_3$ в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов, ориентировочные – 0; 1,5; 3; 10; 20; 60 пмоль/л – 6 флаконов (лиофилизованные препараты или жидкости по 0,5 мл);



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

• конъюгат $T_3$-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» – 1 флакон (14 мл);

• аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» – 1 флакон (12 мл);

• концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р» – 2 флакона (по 14 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 свободного $T_3$, маркирована «Контрольная сыворотка» – 1 флакон (лиофилизованный препарат или жидкость 0,5 мл);

• прозрачный пластиковый пакет с замком (при упаковке стрипов в пакет из 2-слойного полиэтилена).

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1.** Специфичность. Перекрестная реакция антител к трийодтиронину с другими тироидами приведена в Таблице 1.

Таблица 1

| Тироид | Перекрестная реакция, % |
|---|---|
| $T_3$ | 100 |
| L-Тироксин | < 0,1 |
| D-Тироксин | < 0,1 |
| r-$T_3$ | < 0,1 |
| Дийодотирозин | < 0,1 |

**3.2.** Коэффициент вариации результатов определения свободного $T_3$ в одном и том же образце сыворотки крови че-



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

ловека с использованием набора «ТироидИФА-свободный $T_3$» не превышает 8%.

**3.3.** Линейность. Зависимость концентрации свободного $T_3$ в образцах сыворотки крови при разведении их калибровочной пробой №1 имеет линейный характер в диапазоне концентраций калибровочных проб №2 - №6 и составляет 90-110%.

**3.4.** Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» свободного $T_3$ — проверка соответствия значения определяемой концентрации свободного $T_3$ расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №4. Процент открытия составляет 90–110%.

**3.5.** Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация свободного $T_3$ в анализируемом образце не превышает 0,5 пмоль/л.

**3.6.** Диапазон ожидаемых значений. Содержание свободного $T_3$ измеряли в сыворотке крови, взятой с 9 до 11 часов у 200 здоровых лиц в возрасте 18–45 лет. Диапазон измеренных концентраций составил 2,5 – 7,5 пмоль/л.

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.

***Примечание:*** *в наборе «ТироидИФА-свободный $T_3$» значения концентраций калибровочных проб выражены в пмоль/л. Для перевода концентрации из пмоль/л в пг/мл не-*



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

*обходимо значение концентрации, выраженное в пмоль/л, умножить на 0,651.*

## 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 и 405 нм;
- прибор для встряхивания рамки со стрипами (термостатируемый шейкер), позволяющий производить встряхивание со скоростью 400–800 об/мин при температуре +37°С;
- 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 разрешается 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 2-х суток; при необходимости более длительного хранения 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 и контрольной сывороткой



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

внести по 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 готов к использованию. Расход конъюгата на один стрип составляет 1,15 мл.

**7.1.4.** Буфер А готов к использованию. Расход буфера А на один стрип составляет 1,0 мл.

**7.1.5.** Промывочный раствор. Необходимое количество буфера Р развести дистиллированной водой в 20 раз.

Например:

5 мл буфера Р + 95 мл дистиллированной воды.

Тщательно перемешать, избегая пенообразования.

**7.1.6.** Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) готов к использованию. Расход ТМБ на один стрип составляет 1,15 мл.

**7.1.7.** Стоп-реагент готов к использованию. Расход стоп-реагента на один стрип составляет 1,15 мл.

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

На странице 18 приведена схема проведения анализа.

### 7.2. Постановка анализа

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

А1, А2 – № 1 – для измерения величины оптической плотности раствора ТМБ;



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

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.** Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по **80 мкл** буфера А.

**7.2.3.** Внести в соответствующие лунки по **20 мкл** калибровочных проб и контрольной сыворотки в дубликатах, в оставшиеся лунки – по **20 мкл** исследуемой сыворотки крови 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.*

**7.2.4.** Инкубировать стрипы при встряхивании в течение 45 минут **в термостатируемом шейкере при температуре +37°С со скоростью 500-800 об/мин.**

**7.2.5.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором (1% раствором



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

гипохлорита натрия или 6% раствором перекиси водорода) и промыть лунки четыре раза. При каждой промывке во все лунки добавлять по 300 мкл промывочного раствора, приготовленного по п. **7.1.5.**, 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.

**7.2.6.** Немедленно внести во все лунки, кроме лунок А1 и А2, по 100 мкл конъюгата.

**7.2.7.** Инкубировать стрипы при встряхивании в течение 15 минут **в термостатируемом шейкере при температуре +37°С со скоростью 500-800 об/мин.**

**7.2.8.** По окончании инкубации удалить содержимое лунок декантированием и промыть лунки согласно п. **7.2.5.**

**7.2.9.** Немедленно внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Инкубировать стрипы в темноте при комнатной температуре (+18...25°С) в течение 15-30 минут в зависимости от степени развития окраски.

**7.2.10.** Добавить во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор ТМБ, по 100 мкл стоп-реагента для остановки ферментной реакции, перемешать на шейкере в течение 1-2 минут при комнатной температуре.

**7.2.11.** Если невозможно измерить оптическую плотность в лунках планшета непосредственно после выполнения п. **7.2.10.**, то следует иметь в виду, что окраска в лунках планшета стабильна не более 20 минут при комнатной температуре.



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

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить на фотометре вертикального сканирования оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм. Если значение оптической плотности превышает предел линейного измерения спектрофотометра, считывание результатов проводят при 405 нм. Рабочий диапазон спектрофотометра необходимо уточнять в паспорте прибора.

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 свободного $T_3$ (пмоль/л) в калибровочных пробах (Рисунок 2). Внешний вид графика зависит от способа преобразования осей.

***Примечание 1:*** *для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер».*

***Примечание 2:*** *для построения калибровочного графика на масштабной бумаге необходимо пользоваться формулой 1 или 2.*



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

*Если программа фотометра позволяет вычитать величину оптической плотности в лунках А1 и А2 из значений оптических плотностей всех остальных лунок, то для расчетов для каждой калибровочной или исследуемой пробы использовать формулу (1):*

$$B/B_1 x100\%, \quad (1)$$

*Если программа фотометра не позволяет вычитать величину оптической плотности в лунках А1 и А2, то использовать формулу (2):*

$$(B-B_T)/(B_1-B_T)x100\%, \quad (2)$$

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

*$B_1$ – среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочную пробу №1,*

*$B_T$ — среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках А1 и А2.*

**9.2.** Определить содержание свободного $T_3$ в пробах по калибровочному графику.

**9.3.** Для образцов сыворотки крови со значениями оптической плотности выше оптической плотности нулевого калибратора ($B_1$) принимать значение концентрации «ниже 0,5 пмоль/л».

**9.4.** Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации свободного $T_3$, превышающих номинал КП №6, не допускается. При наличии таких случаев принимать значение концентрации исследуемого образца «выше концентрации КП №6».



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

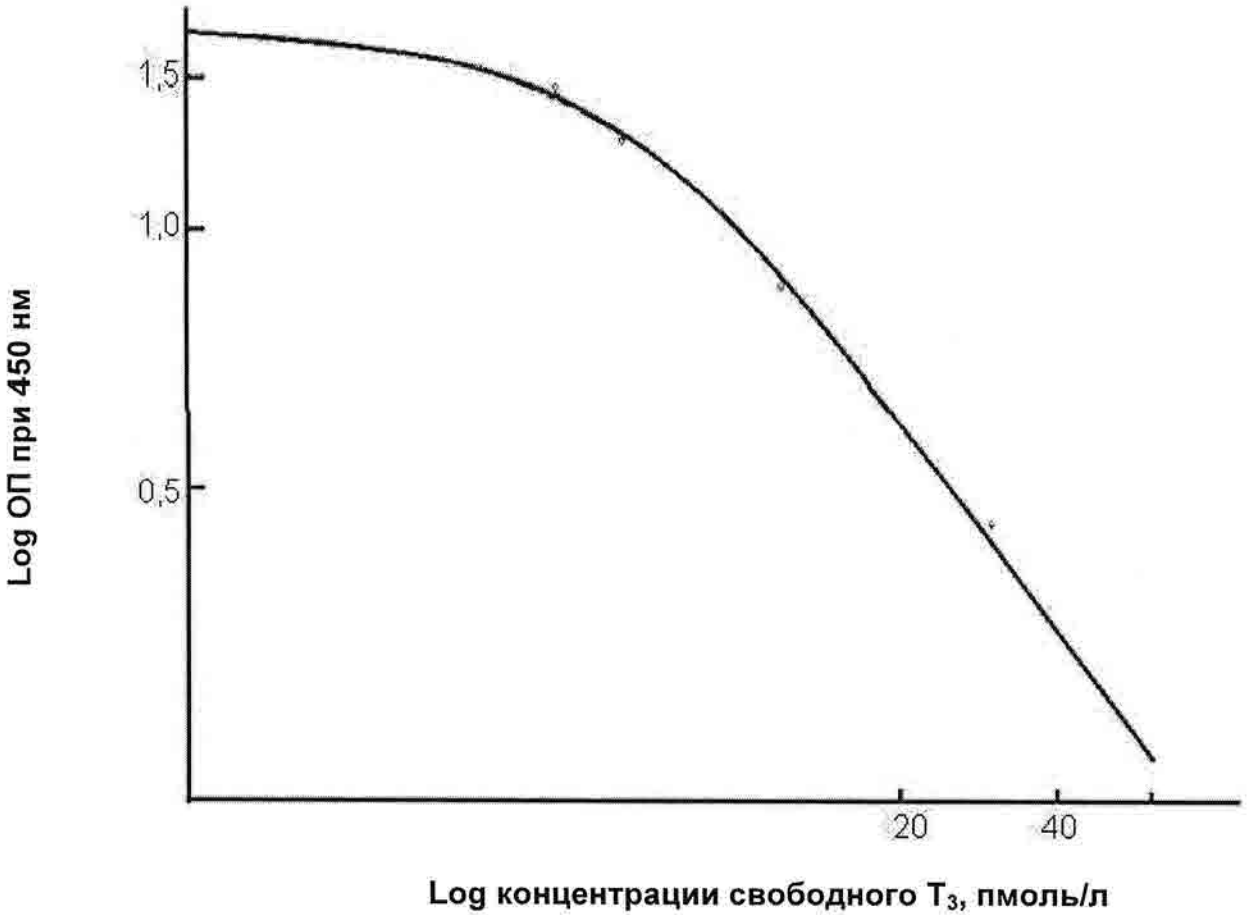



**Рисунок 2. Типичный калибровочный график**

*Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!*

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

**10.1.** Набор «ТироидИФА-свободный $T_3$» 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.



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

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

- стрипы поместить сначала в пакет с этикеткой, затем в пластиковый пакет с замком и герметично закрыть. Хранить в герметично закрытом пакете при температуре +2...8°С в течение всего срока годности;
- жидкие, готовые к использованию, калибровочные пробы и контрольную сыворотку после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- восстановленные (растворенные) из лиофилизованных препаратов калибровочные пробы и контрольную сыворотку хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- буфер А, конъюгат и раствор ТМБ после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С не более 1 месяца;
- промывочный раствор, подготовленный к использованию, хранить закрытым при комнатной температуре (+18...25°С) не более 5 суток;
- буфер Р и стоп-реагент после вскрытия флаконов хранить при температуре +2...8°С в течение всего срока годности.

**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 свободного $T_3$ в контрольной сыворотке;
- запрещается возвращать избыток конъюгата, ТМБ, буфера А 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, стоп-реагента и концентрированного промывочного раствора, входящего 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.



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 | Темпе-ратура | Время | Примечания |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Внесение реагентов | ***80 мкл*** буфера А | **КТ** (+18 … +25°С) | Внесение КП, КС и исследуемых образцов не более 15' | В лунки для определения ОП ТМБ ничего не вносить |
| 2 | | ***20 мкл*** КП и КС | | | |
| 3 | | ***20 мкл*** исследуемых образцов | | | |
| 4 | **Инкубация №1** | — | **+37°С** | 45' | Термостатируемый **шейкер**, 500 – 800 об/мин |
| 5 | Промывка | ***300 мкл*** в лунку **1*промывочного раствора** (4 раза) | | | **1***промывочный раствор = = 14 мл буфера Р + 266 мл $H_2O$ |
| 6 | Внесение конъюгата | ***100 мкл*** конъюгата | | | Конъюгат **не вносить** в лунки для определения ОП ТМБ |
| 7 | **Инкубация №2** | — | **+37°С** | 15' | Термостатируемый **шейкер**, 500-800 об/мин |
| 8 | Промывка | ***300 мкл*** в лунку **1*промывочного раствора** (4 раза) | | | **1***промывочный раствор = = 14 мл буфера Р + 266 мл $H_2O$ |
| 9 | Внесение хромогена | ***100 мкл*** **ТМБ** | | | |
| 10 | **Инкубация с ТМБ** | — | **КТ** | 15 - 30' | В темноте |
| 11 | Остановка ферментной реакции | ***100 мкл*** **стоп-реагента** | | | |
| 12 | Перемешивание | | **КТ** | 1 – 2' | **Шейкер** |
| 13 | Регистрация результатов | — | | В течение 20' после остановки ферментной реакции | **Фотометр**, 450 нм, 405 нм (см.**п. 8**) |
| 14 | Обработка результатов | | | | Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО |

***Примечания**:*

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



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

**По вопросам качества набора «ТироидИФА-свободный $T_3$» 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