«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора
от «03» августа 2011г. № 4729-Пр/11

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ **СВОБОДНОЙ β-СУБЪЕДИНИЦЫ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА** В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА **(«ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч»)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» предназначен для количественного определения свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека (далее свободной β-ХГч) в сыворотке крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Бета-субъединица – одна из двух субъединиц гетеродимерного гормона ХГч. В отличие от альфа-субъединицы, идентичной в лютеинизирующем, фолликулостимулирующем и тиреотропном гормонах гипофиза, бета-субъединица уникальна и специфична только для ХГч. В свободной форме бета-субъединица поступает в кровоток беременной женщины двумя путями: секреция клетками трофобласта и деградация ХГч.

Изменение концентрации свободной β-ХГч в сыворотке крови беременных женщин широко используется в пренатальной диагностике синдрома Дауна. При беременности концентрация свободной β-ХГч в сыворотке крови постепенно

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

увеличивается к десятой неделе, затем начинает снижаться. При наличии синдрома Дауна у плода содержание свободной бета-субъединицы в сыворотке крови матери повышается.

Определение уровня свободной β-ХГч может быть использовано при диагностике трофобластической болезни и хориокарциномы у женщин, некоторых опухолей яичка у мужчин, а также мониторинге ряда герминогенных опухолей.

Установлено, что комбинация данного теста с определением PAPP-A (ассоциированного с беременностью протеина А плазмы), данными УЗИ (толщина воротникового пространства), оценкой возрастных факторов риска является оптимальным методом для пренатального скрининга синдрома Дауна в первом триместре беременности.

1.3. Набор «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» 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 месяца после вскрытия компонентов набора.*

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

В наборе «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» использован «сэндвич»-вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к β-субъединице ХГч. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с пероксидазой хрена.

В лунках, при добавлении исследуемого образца и аналитического водно-солевого раствора, во время первой инкубации происходит связывание свободной β-ХГч с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами, специфичными к эпитопу на молекуле свободной β-ХГч. Во время второй инкубации конъюгат анти-β-ХГч-пероксидаза связывается с комплексом, образовавшимся во время первой инкубации. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству свободной β-ХГч в исследуемом образце (Рисунок 1).

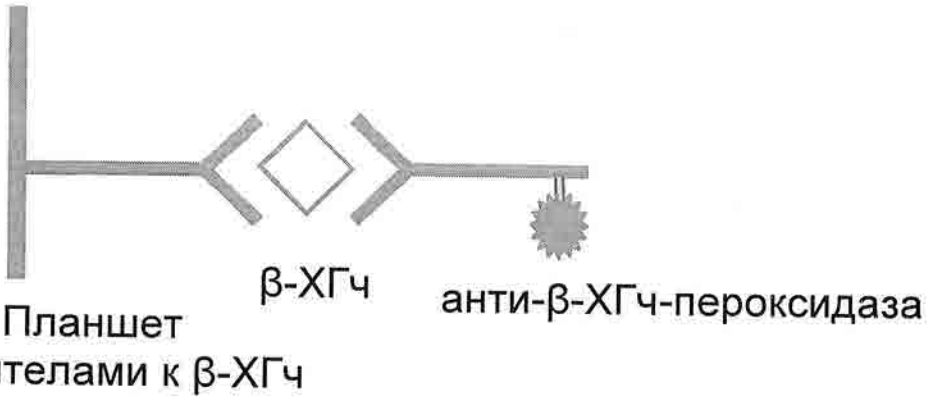


Рисунок 1. Схема анализа

Во время инкубации с раствором ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропор-

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

циональна концентрации свободной β-ХГч в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация свободной β-ХГч в исследуемых образцах.

2.2. Состав набора

- комплект из двенадцати восьмилуночных стрипов в рамке с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к свободной β-ХГч, маркирован «Стрипы с моноклональными антителами к бета-ХГч» – 1 упаковка;
- калибровочные пробы (КП), аттестованные по Международному стандарту WHO IRP 75/551, содержащие известные количества свободной β-ХГч. Флаконы маркированы «Калибровочная проба №1», «Калибровочная проба №2», «Калибровочная проба №3», «Калибровочная проба №4», «Калибровочная проба №5», «Калибровочная проба №6»; точные значения концентраций свободной β-ХГч в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов, ориентировочные – 0; 8; 25; 50; 100; 200 нг/мл – 6 флаконов (лиофилизованные препараты или жидкости по 0,5 мл);
- аналитический водно-солевой раствор, маркирован «Буфер А» – 1 флакон (25 мл);
- конъюгат анти-β-ХГч-пероксидаза, маркирован «Конъюгат Е» — 1 флакон (14 мл);
- концентрированный водно-солевой раствор для промывки лунок, маркирован «Буфер Р» — 2 флакона (14 мл);
- раствор тетраметилбензидина, маркирован «Раствор ТМБ» — 1 флакон (14 мл);
- стоп-реагент (1 Н соляная кислота), маркирован

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

«Стоп-реагент» — 1 флакон (14 мл);

- контрольная сыворотка с известным содержанием свободной β-ХГч, 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. Антитела, иммобилизованные на твердой фазе, обладают 100% специфичностью к свободной β-ХГч. Антитела, использованные для синтеза конъюгата, обладают 100% перекрестной реактивностью с ХГч, < 1,0% с ЛГ, < 1,0% с ТТГ и 0% с ФСГ.

3.2. Коэффициент вариации результатов определения свободной β-ХГч в одном и том же образце сыворотки крови человека с использованием набора «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации свободной β-ХГч 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» свободной β-ХГч — проверка соответствия значения определяемой концентрации свободной β-ХГч расчетной величине, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы №3. Процент открытия составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно опреде-

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

ляемая набором концентрация свободной β-ХГч в сыворотке крови человека не превышает 2 нг/мл.

3.6. Диапазон ожидаемых значений. Концентрацию свободной β-ХГч измеряли в сыворотках крови 863 беременных женщин с 9-й по 13-ю неделю беременности. Значения медиан по срокам беременности приведены в Таблице 1.

Таблица 1

Срок беременности (полных недель)	Медиана свободной β-ХГч (нг/мл)	Минимальное / максимальное значение концентрации свободной β-ХГч в группе (нг/мл)	Число образцов в группе
9	72,77	4,8/406,0	122
10	62,72	0,4/380,0	214
11	51,68	9,9/227,0	197
12	45,17	1,9/320,0	229
13	40,51	6,3/181,0	101

Значение медианы, рассчитанное для каждого срока беременности, зависит от многих факторов: специфичности метода, особенностей исследуемой популяции, точности метода в конкретной лаборатории. По этой причине каждой лаборатории рекомендуется использовать предоставленные изготовителем значения медиан только до тех пор, пока специалистами лаборатории не будут определены медианы, характерные для конкретной популяции в месте расположения лаборатории.

Примечание: *В наборе «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» значения концентраций калибровочных проб выражены в нг/мл. Для пересчета концентраций в мМЕ/мл необходимо пользоваться соотношением: 1 нг/мл = 1 мМЕ/мл.*

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора — класс 2б.

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, так как 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.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм;

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

- 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 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 2-х 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 и контрольной сывороткой внести по 0,5 мл дистиллированной воды и закрыть крышка-

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

ми. 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. Буфер А готов к использованию. Расход буфера А на один стрип составляет 2,08 мл.

7.1.4. Конъюгат готов к использованию. Расход конъюгата на один стрип составляет 1,15 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.

7.1.9. Разведение исследуемых образцов сывороток крови. Если по результатам анализа (см. п. **9.3.**) значения концентрации свободной β-ХГч в исследуемых образцах выше КП №6, образцы следует развести калибровочной пробой №1 в 5 раз. Пример подготовки образца к анализу:

40 мкл КП№1 + 10 мкл исследуемого образца.

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

При каждом разведении необходимо тщательное перемешивание.

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. Во все лунки, кроме лунок A1 и A2, внести по 200 мкл буфера А.

7.2.3. Внести в соответствующие лунки по 20 мкл калибровочных проб и контрольной сыворотки, 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 инкуба-*

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

ции различных образцов будет значительно отличаться, что приведет к неправильным результатам.

7.2.4. Инкубировать стрипы в течение 45 минут при встряхивании **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 гипохлорита натрия или 6% раствором перекиси водорода) и промыть лунки 5 раз. При каждой промывке во все лунки добавить 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. Во все лунки, кроме лунок А1 и А2, внести по 100 мкл конъюгата.

7.2.7. Инкубировать стрипы в течение 15 минут в термостатируемом шейкере при температуре +37°С **без шейкирования.**

7.2.8. По окончании второй 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.

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

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.*

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 (+18...25°С).

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 температуре +18...25°С.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить калибровочный график зависимости оптических плотностей от концентрации свободной β-ХГч (нг/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: *для построения калибровочных графиков рекомендуется использовать Программное обеспечение «ИФА Мастер».*

Примечание 2: *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.

9.2. Определить содержание свободной β-ХГч в пробах по калибровочному графику. В случае дополнительного разведения образцов необходимо измеренную концентрацию свободной β-ХГч умножить на фактор разведения.

9.3. Экстраполяция калибровочного графика для значений концентрации свободной β-ХГч, превышающих номинал КП №6, не допускается. Для точного определения концентрации свободной β-ХГч в таких образцах необходимо выполнить их разведение в соответствии с п. **7.1.9**.

9.4. Для расчета риска в пренатальном скрининге результаты измерения свободной β-ХГч указываются в МОМ (multiple of medians) и вычисляются по формуле:

МОМ = Измеренная концентрация (свободная β-ХГч)/ Медиана (свободная β-ХГч).

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

9.5. Для автоматизированного расчета риска синдрома Дауна можно воспользоваться специальным программным обеспечением.

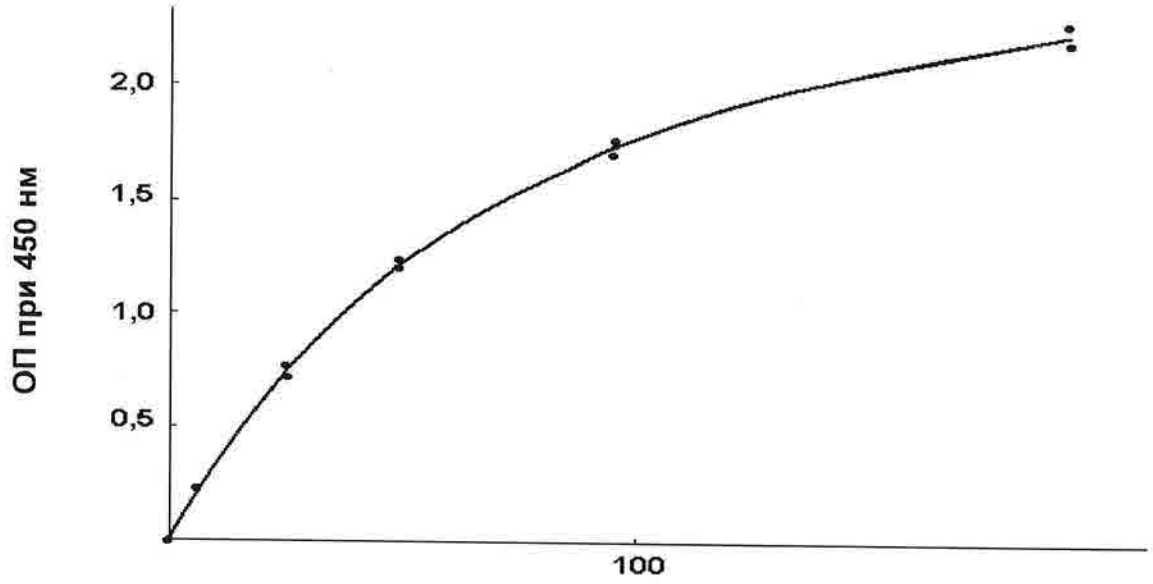


Рисунок 2. Типичный калибровочный график

Запрещается использовать для оценки реальных экспериментальных данных!

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» 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 необходимо хранить следующим образом:

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

- 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;
- 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 А, 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 свободной β-ХГч в контрольной сыворотке;
- запрещается возвращать избыток конъюгата, буфера А, ТМБ и стоп-реагента из ванночек во флаконы;
- из флаконов с открытыми крышками происходит испарение, которое может привести к получению некорректных

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

результатов при повторном использовании реагентов. После окончания внесения реагентов в лунки планшета на каждой стадии анализа необходимо плотно закрывать крышки флаконов и помещать их 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, 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.

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	**200 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** (5 раз)			**1***промывочный раствор = 14 мл буфера Р + 266 мл H_2O
6	Внесение конъюгата	**100 мкл** коньюгата			В лунки для определения ОП ТМБ конъюгат не вносить
7	**Инкубация №2**	—	**+37°С**	15'	Без шейкирования
8	Промывка	**300 мкл** в лунку **1*промывочного раствора** (5 раз)			**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 темном месте
11	Остановка ферментной реакции	**100 мкл** стоп-реагента			
12	Перемешивание		**КТ**	1-2'	**шейкер**
13	Регистрация результатов	—		В течение 20' после остановки ферментной реакции	450 нм
14	Обработка результатов				Калькулятор и масштабная бумага/ соответствующее ПО

Примечания:

КП — калибровочная проба;

КС — контрольная сыворотка;

ОП — оптическая плотность;

ПО — программное обеспечение;

КТ — комнатная температура (+18...25°С).

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

По вопросам качества набора «ГонадотропинИФА-свободная бета-ХГч» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный проспект, д. 40, тел/факс: (812) 677-87-79.

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