

БЕКТОР

БЕСТ

Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса М к вирусу
паротита в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВектоПаротит-IgM

НАБОР РЕАГЕНТОВ

D-2604

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «ВектоПаротит-IgM» предназначен для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М (IgM) к вирусу паротита в сыворотке (плазме) крови человека.

Один набор рассчитан на проведение 96 анализов, включая контрольные образцы. Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контрольные образцы. Набор комплектуется всеми необходимыми для ИФА реагентами.

Выявление иммуноглобулинов класса М к вирусу паротита может быть использовано для диагностики острой первичной паротитной инфекции, а также для проведения сероэпидемиологических исследований.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения IgM к вирусу паротита основан на твердофазном непрямом иммуноферментном анализе с использованием очищенного инактивированного вируса паротита.

Во время первой инкубации происходит связывание содержащихся в анализируемом образце специфических антител к вирусу паротита с антигенами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета.

Во время второй инкубации связавшиеся антитела класса М взаимодействуют с конъюгатом антител к IgM человека с пероксидазой хрена.

Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы — перекиси водорода и хромогена — тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgM к вирусу паротита в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

- планшет разборный с иммобилизованными антигенами вируса паротита — 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+) — 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^-) — 1 фл., 3 мл;
- конъюгат антител против IgM человека с пероксидазой хрена, концентрат — 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения сывороток (PPC) — 1 фл., 12 мл;
- раствор для разведения конъюгата (PRK) — 1 фл., 13 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) — 1 фл., 10 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) — 2 фл. по 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования — 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент — 1 фл., 12 мл;

- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с компонентами набора

Все компоненты набора являются нетоксичными.

Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. *В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.*

Обращение с исследуемыми образцами

При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «ИНСТРУКЦИИ ПО МЕРАМ ПРОФИЛАКТИКИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ РАБОТЕ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 3.2. настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ДЕЗИНФЕКЦИИ, ПРЕДСТЕРИЛИЗАЦИОННОЙ ОЧИСТКЕ И СТЕРИЛИЗАЦИИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ» (утв. департаментом госсанэпиднадзора МИНЗДРАВА РФ ОТ 30.12.1998).

3.2. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (ГОСТР51609-2000).

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

– для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (перекись водорода, деохлор, хлорамин), в помещениях,

где проводят ИФА, приводит к серьезному искажению результатов;

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором субстрата;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо обрабатывать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона с раствором ТМБ;

- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив

эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

— Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

— Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.

— Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

— Следите за состоянием промывочного устройства — регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

— Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

Ложноположительные результаты могут быть обусловлены:

а) получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50);

б) контаминацией отрицательных сывороток в рабочем и вспомогательных планшетах положительными сыворотками крови из соседних лунок;

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать наконечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника;

б) тщательно перемешивать сыворотку при предварительном разведении 1:10.

Для исключения взаимной контаминации сывороток во вспомогательном планшете для предварительного разведения сывороток и в рабочем планшете необходима тщательная и аккуратная работа, без разбрызгивания растворов.

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором необходимо следующее дополнительное оборудование и материалы:

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм, и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм или в одноволновом режиме при длине волны 450 нм;

- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные и многоканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- промыватель ручной или автоматический;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 100, 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

На один анализ потребуется 10 мкл сыворотки (плазмы) крови человека.

Требования к образцам

Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку, содержащую азид натрия.

Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 14 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес. Следует избегать многократного замораживания / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

Образцы сывороток крови, содержащие взвешенные частицы, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

6. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Перед проведением анализа вскрыть упаковку набора, извлечь все компоненты, в том числе и запечатанный пакет с планшетом. Выдержать все компоненты набора и анализируемые образцы при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

При детальном использовании набора после отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение 3 месяцев после первого вскрытия, но в пределах срока годности набора.

Контрольные образцы, раствор ТМБ и стоп-реагент готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

6.1. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с вла-

гопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение 3 месяцев.

6.2. Подготовка исследуемых образцов

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого внести в лунки вспомогательного планшета по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки, тщательно перемешать. При разведении сыворотки красный цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, анализ образца сыворотки может дать неправильный результат. При разведении плазмы цвет раствора в лунке меняется незначительно.

Хранение: при 18–25°C не более 3 ч.

6.3. Приготовление промывочного раствора

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз. Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) внести в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.

Таблица расхода компонентов

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл		ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	12,0	24,0	до 600

6.4. Приготовление рабочего раствора конъюгата

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Хранение: до 3 часов при 18–25°C.

6.5. Подготовка раствора тетраметилбензида

Раствор ТМБ готов к использованию. Исключить воздействие прямого света на раствор тетраметилбензида. Непосредственно перед внесением и в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) отобрать необходимое количество раствора ТМБ в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента.

Утилизировать раствор тетраметилбензида, оставшийся в ванночке или флаконе после проведения ИФА (не сливать во флакон с исходным раствором).

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.1. Внесение образцов

Раствор РРС перед использованием перемешать встряхиванием.

Внести контрольные образцы:

- 1 лунка – 100 мкл K^{+} ;
- 2 лунки – по 100 мкл K^{-} .

Например, в лунки А-1 и В-1 внести по 100 мкл K^- , в лунку С-1 внести 100 мкл K^+ .

В остальные лунки внести по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых образцов (п. 6.2.), тщательно перемешать.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех лунок планшета.

7.2. Инкубация

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

7.3. Промывка

По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 6.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.4. Внесение конъюгата

В лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 6.4.).

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.5. Инкубация

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

7.6. Промывка

По окончании инкубации промыть планшет как описано выше.

7.7. Внесение ТМБ

Внести во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ (п. 6.5.).

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.8. Инкубация

Планшет выдержать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре 18–25°C.

7.9. Внесение стоп-реагента

Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензидина.

Краткая схема проведения ИФА приведена в приложении 1 в конце настоящей инструкции.

7.10. Проведение измерений

Измерить оптическую плотность с помощью спектрофотометра в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение только с фильтром 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

8. УСЛОВИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ РАБОТЫ НАБОРА

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

- среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,25 ед. опт. плотн (о.е.);

- значение оптической плотности в лунке с положительным контрольным образцом не менее 0,80 о.е.

9. РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Вычислить критическое значение оптической плотности по формуле:

$$ОП_{\text{крит.}} = ОП_{\text{ср.}} \cdot K^- + 0,3.$$

где $ОП_{\text{ср.}} K^-$ — среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом.

Результат анализа **положительный**, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$, где $ОП_{обр.}$ — оптическая плотность исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $ОП_{обр.} \leq 0,8 \times ОП_{крит.}$.

Результат анализа **неопределенный**, если $0,8 \times ОП_{крит.} < ОП_{обр.} < ОП_{крит.}$.

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно $ОП_{крит.}$.

Для расчета коэффициента позитивности образцов использовать следующую формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{обр.}}{ОП_{крит.}}$$

Результат анализа **положительный**, если $КП_{обр.} \geq 1$, где $КП_{обр.}$ — коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $КП_{обр.} \leq 0,8$.

Результат анализа **неопределенный**, если соответствующее ему значение $КП_{обр.}$ попадает в интервал от 0,8 до 1,0.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации специфических антител класса М в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации IgM к вирусу паротита в динамике в парных образцах сывороток.

10. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В случае положительного результата анализа рекомендуется проведение повторного анализа таких сывороток для исключения ложноположительных результатов, обусловленных случайными, несистемными ошибками при постановке анализа.

Ложноположительные результаты могут показать сыворотки, содержащие ревматоидный фактор класса М (РФ-М). Поэтому рекомендуется проанализировать положительные сыворотки на наличие ревматоидного фактора класса М и, при его обнаружении, повторить анализ после очистки сыворотки от РФ-М.

Для выявления РФ-М рекомендуется набор реагентов «ВектоРевматоидный фактор класса М» производства ЗАО «Вектор-Бест». При наличии РФ-М в исследуемой сыворотке его можно удалить с использованием набора реагентов «ВектоРФ-иммуносорбент» и повторить анализ на наличие специфических IgM к вирусу паротита.

Отрицательный результат анализа не означает, что пациент не инфицирован вирусом паротита. Если кровь взята у больного в начале острой фазы заболевания, IgM в сыворотке крови могут отсутствовать, поэтому при подозрении на наличие инфекции (контакт, клинические проявления) рекомендуется исследовать сыворотку, взятую у пациента через 5–14 дней вме-

сте с первым образцом (парные сыворотки), на наличие IgM, и IgG для выявления сероконверсии и подтверждения факта первичного инфицирования вирусом паротита.

При **неопределенном** результате рекомендуется повторить анализ таких сывороток. Если результат анализа вновь попадает в диапазон от $0,8 \times \text{ОП}_{\text{крит.}}$ до $\text{ОП}_{\text{крит.}}$, рекомендуется исследовать первичную сыворотку вместе со вторым образцом, взятым через 5–14 дней после первого забора, на наличие IgM и IgG.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации IgM к вирусу паротита в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоПаротит-IgM»

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

Внести:	по 100 мкл K^+ , K^- ; по 90 мкл РРС и по 10 мкл предварительно разведенных анализируемых образцов.
Инкубировать:	30 мин, 37°C.
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
Инкубировать:	30 мин, 37°C.
Промыть:	промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
Внести:	по 100 мкл раствора ТМБ.
Инкубировать:	25 мин, 18–25°C, в темноте.
Внести:	по 100 мкл стоп-реагента.
Измерить:	ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

14.08.14.

D-2604

23

Во время второй инкубации связавшиеся антитела класса М взаимодействуют с конъюгатом антител к IgM человека с пероксидазой хрена.

Количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы — перекиси водорода и хромогена — тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации IgM к вирусу паротита в анализируемом образце.

2.2. Состав набора

- планшет разборный с иммобилизованными антигенами вируса паротита — 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+) — 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^-) — 1 фл., 3 мл;
- конъюгат антител против IgM человека с пероксидазой хрена, концентрат — 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС) — 1 фл., 12 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК) — 1 фл., 13 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС) — 1 фл., 10 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) — 2 фл. по 28 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования — 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент — 1 фл., 12 мл;

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (9 мес.). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

По окончании срока годности набор не использовать.

Замораживание набора не допускается.

Дробное использование набора может быть реализовано не позднее **3 месяцев** с даты проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности.

При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т, РПРС, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест».

Нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

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

Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «ВектоПаротит-IgM»

*Использовать только после внимательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл
предварительно разведенных
анализируемых образцов.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора
конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором,
400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора ТМБ.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная
длина волны 620–655 нм.

14.08.14.