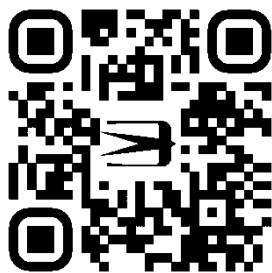


# ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для  
выявления антигенов вируса Конго-Крымской  
геморрагической лихорадки методом  
иммуноферментного анализа  
«БиоСкан-ККГЛ-AG»



[www.bioservice.ru](http://www.bioservice.ru)

Е-1255 **БиоСкан-ККГЛ-AG**

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ.

Набор реагентов «БиоСкан-ККГЛ-AG» предназначен для выявления антигенов вируса Конго-Крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ) в полевых и клинических анализируемых образцах: иксодовых клещах, органах погибших людей, органах позвоночных животных.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

### 2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА.

На поверхности лунок полистиролового планшета иммобилизованы поликлональные мышинные иммуноглобулины класса G против вируса ККГЛ (С-лунки) и иммуноглобулины, полученные от неиммунизированных мышей (К-лунки).

**ВНИМАНИЕ:** каждый образец тестируется в двух параллельных лунках.

Если в исследуемом образце присутствуют вирусные антигены, то при инкубации произойдет их связывание с IgG-антителами против вируса ККГЛ в С-лунках, в К-лунках связывания специфических антител не происходит. **ВНИМАНИЕ:** для повышения чувствительности анализа и сокращения времени реакции рекомендуется проводить инкубацию на термошейкере.

После промывки вносят конъюгат, представляющий собой мышинные поликлональные антитела к вирусу ККГЛ, меченные пероксидазой хрена. После удаления (отмывки) не связавшихся молекул конъюгата в лунки планшета добавляют рабочий раствор ТМБ, включающий субстрат и хромоген 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Пероксидаза катализирует реакцию окисления хромогена (ТМБ) в присутствии перекиси водорода, что приводит к образованию окрашенного продукта. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию антигенов вируса ККГЛ в образце.

После остановки реакции стоп-реагентом интенсивность окрашивания раствора измеряют на спектрофотометре по оптическому поглощению при длине волны 450 нм (длина волны сравнения 620-650 нм).

### 2.2. СОСТАВ НАБОРА.

В состав набора входят следующие компоненты, упакованные в коробку:

| Компонент                                                              | Описание                                                                                                                   | Количество           |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Иммуносорбент (ИС)                                                     | Разборный полистироловый 96-луночный планшет для иммунологических реакций с прозрачным плоским дном лунок.                 | 2 шт.                |
| Положительный контрольный образец инактивированный (K <sup>+</sup> AG) | Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета.                                                              | 0,3 мл<br>1 пробирка |
| Отрицательный контрольный образец инактивированный (K <sup>-</sup> AG) | Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета.                                                                | 0,3 мл<br>1 пробирка |
| Концентрат конъюгата (КК)                                              | Опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета.                                                                              | 0,3 мл<br>1 пробирка |
| Концентрат раствора                                                    | Пенящаяся прозрачная или опалесцирующая бесцветная жидкость. При хранении возможно расслоение и выпадение кристаллического | 25 мл<br>2 флакона   |

|                                                    |                                                                                                                                                                                          |                      |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| для промывания планшетов (ПР×25)                   | осадка, растворяющегося при температуре от +35 °С до +37 °С в течение 30 минут.                                                                                                          |                      |
| Раствор для разведения образцов и антигенов (РРОА) | Прозрачная или опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость. При хранении допускается выпадение рыхлого комкующегося осадка разной интенсивности, легко разбивающегося при встряхивании. | 25 мл<br>2 флакона   |
| Раствор для разведения конъюгата (РРК)             | Прозрачная или опалесцирующая бесцветная пенящаяся жидкость. При хранении допускается выпадение рыхлого комкующегося осадка разной интенсивности, легко разбивающегося при встряхивании. | 25 мл<br>1 флакон    |
| Раствор для разведения хромогена (РРХ)             | Прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                          | 13 мл<br>2 флакона   |
| Хромоген (ТМБ)                                     | Прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                          | 2,5 мл<br>1 пробирка |
| Стоп-реагент (СР)                                  | Прозрачная бесцветная жидкость.                                                                                                                                                          | 13 мл<br>1 флакон    |
| Ванночка для разведения реагентов                  | Ванночка из поливинилхлорида для 8-ми канального дозатора.                                                                                                                               | 2 шт.                |
| Пленка для заклеивания планшета                    | Самоклеящаяся влагонепроницаемая пленка.                                                                                                                                                 | 2 шт.                |

Один набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контрольные образцы.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ.**

Чувствительность набора по образцам стандартной панели предприятия, содержащим антигены вируса ККГЛ, составляет 100 %.

Специфичность набора по образцам стандартной панели предприятия, не содержащим антигены вируса ККГЛ, составляет 100 %.

Специфический антигенный компонент набора реагентов полностью инактивирован и не содержит инфекционного вируса, однако при обследовании полевых или клинических образцов необходимо соблюдать меры предосторожности и обращаться с образцами, сточными растворами, а также с оборудованием и материалами, находящимися с ними в контакте, как с потенциально инфекционными в соответствии СП 3.3686-21 (IV) «Санитарно-эпидемиологические требования к обеспечению безопасности при работе с ПБА»:

- работать в резиновых перчатках, за защитным экраном;
- не пипетировать растворы ртом, при работе использовать индивидуальные средства защиты (резиновые перчатки и защитные очки);

- все отработанные растворы и отходы после завершения анализа обрабатывать в соответствии с установленными нормами безопасности (например, в течение 16-18 часов в растворе гипохлорита натрия в конечной концентрации 1 %);
- все твердые отходы сбрасывать в специальный контейнер с пломбируемой крышкой и затем подвергать автоклавированию в течение 60 мин при +121°C или сжигать;
- инструменты и оборудование до и после работы протирать 70 %-м раствором этилового спирта;
- утилизировать отходы, соблюдая законодательство по охране окружающей среды.

#### **4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА:**

- дистиллированная или деионизированная вода;
- физиологический раствор;
- дезинфицирующие растворы, соответствующие санитарным требованиям;
- спирт этиловый 70%;
- пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,01 мл до 5,0 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- пипетки 8- или 12-канальные автоматические со сменными наконечниками позволяющие отбирать объемы жидкостей от 10 мкл до 100 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- наконечники полипропиленовые вместимостью до 200 мкл, до 1000 мкл, до 5000 мкл;
- центрифуга настольная на (3-10) тыс. об/мин для получения и осветления образцов;
- пробирки центрифужные полипропиленовые вместимостью (1,5-2,2) мл для получения, хранения, осветления образцов;
- фарфоровая ступка с пестиком;
- мерный стакан или цилиндр вместимостью (250-500) мл;
- мерная посуда вместимостью до 25 мл;
- воздушный термостат на +37°C;
- термостатируемый шейкер для планшетов с возможностью температурной стабилизации +37°C;
- аппарат для промывания планшетов;
- спектрофотометр для измерения оптического поглощения в лунках планшета при длине волны 450 нм (длина волны сравнения 620-650 нм);
- контейнер для сброса твердых отходов;
- контейнер для слива использованных жидкостей;
- автоклав для инактивации отходов;
- устройство для промывания планшетов;
- холодильник с камерами, поддерживающими температурные режимы +4°C и -20 °C;

- резиновые перчатки;
- вата гигроскопическая;
- фильтровальная бумага.

## **5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.**

**Внимание!** Перед использованием содержимое флакона РРОА интенсивно встряхнуть.

### **5.1. Приготовление суспензии клещей.**

Клещей исследовать в пробах, содержащих, в зависимости от целей исследования, от 1 до 20 экземпляров. Для приготовления суспензии тщательно растереть клещей пестиком в фарфоровой ступке, добавить к гомогенату физиологический раствор из расчета 400 мкл на 20 клещей. Полученную суспензию развести РРОА в равном объеме. Для исследования в ИФА использовать надосадочную жидкость (после отстаивания суспензии в течение 2-5 часов при температуре +4 °С или центрифугирования при 3000 об/мин в течение 5-7 мин).

### **5.2. Приготовление суспензий из органов позвоночных животных и погибших людей.**

Кусочки органов животных и людей растереть в фарфоровой ступке. К гомогенату добавить физиологический раствор из расчета 200 мкл на 1 г биологического материала. Полученную суспензию развести РРОА в равном объеме. В ИФА использовать надосадочную жидкость (после отстаивания суспензии в течение 2-5 часов при температуре +4°С).

Пробы, подготовленные для анализа, в случае необходимости, можно хранить при температуре не выше -20°С.

Каждый исследуемый образец или буферный раствор необходимо отбирать новым наконечником.

### **ВНИМАНИЕ!**

Нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов, кроме неспецифических компонентов (ПРх25, РРОА, РРК, ТМБ, РРХ, СР), которые взаимозаменяемы во всех наборах «БиоСкан» для арбовирусных инфекций АО «БТК «Биосервис».

При инкубациях не располагать планшеты стопкой!

Анализ проб следует проводить так, чтобы в случае отсутствия автоматического анализатора на одного оператора одновременно приходилось не более четырех планшетов.

## **6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ.**

Перед началом работы необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 мин набор и все компоненты, которые будут использованы в анализе.

Условия и сроки хранения компонентов набора приведены в Таблице №1.

Таблица №1

**Условия и сроки хранения компонентов набора**

| Условия транспортировки набора реагентов                                                            |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| При температуре от +2°С до +8°С                                                                     | Согласно СП 3.3683-21 (XLVIII)                                                                                                                                                                              |                                                                            |
| При температуре от +9°С до +25°С                                                                    | В течение 3 суток                                                                                                                                                                                           |                                                                            |
| Замораживание не допускается!                                                                       |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Условия хранения набора реагентов                                                                   |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| При температуре от +2°С до +8°С                                                                     | Согласно СП 3.3683-21 (XLVIII), в сухом, защищённом от света месте в холодильных камерах или в холодильниках                                                                                                | В течение установленного срока годности, указанного на наборе              |
| Замораживание не допускается!                                                                       |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Срок годности набора - 12 месяцев                                                                   |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит                                             |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Условия и сроки хранения неиспользованных компонентов набора после вскрытия индивидуальной упаковки |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Компонент                                                                                           | Условия хранения                                                                                                                                                                                            | Сроки хранения                                                             |
| ИС                                                                                                  | Неиспользованные стрипы поместить в оригинальную упаковку, дополнительно можно вложить осушитель-силикагель. В таком виде хранить при температуре от +2°С до +8°С в холодильных камерах или в холодильниках | В течение 2 месяцев                                                        |
| К <sup>+</sup> AG<br>К <sup>-</sup> AG<br>КК<br>ПРх25                                               | РРОА<br>РРК<br>РРХ<br>ТМБ<br>При температуре от +2°С до +8°С в холодильных камерах или в холодильниках                                                                                                      | В течение 2 месяцев                                                        |
| СР                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                             | В течение установленного срока годности, указанного на этикетке компонента |
| Условия и сроки хранения готовых рабочих растворов                                                  |                                                                                                                                                                                                             |                                                                            |
| Рабочий раствор<br>ПРх25                                                                            | При температуре от +18°С до +25°С                                                                                                                                                                           | Не более 4 ч                                                               |
|                                                                                                     | При температуре от +4°С до +12°С                                                                                                                                                                            | Не более 24 ч                                                              |
| Рабочее разведение конъюгата                                                                        | При температуре от +9°С до +25°С в защищённом от света месте                                                                                                                                                | Не более 15 мин                                                            |
| Рабочий раствор<br>ТМБ                                                                              |                                                                                                                                                                                                             | Хранению не подлежит                                                       |

**ВНИМАНИЕ! Перед использованием флаконы с К<sup>+</sup>AG, КК, ПРх25, РРОА, РРК интенсивно встряхнуть.**

Растворы РРОА, РРК, СР поставляются в готовом виде.

Расчет необходимых объемов реагентов в зависимости от количества используемых стрипов указан в таблице №2.

Таблица №2

|                                  | Число используемых стрипов в постановке |        |        |        |         |         |
|----------------------------------|-----------------------------------------|--------|--------|--------|---------|---------|
|                                  | 2                                       | 4      | 6      | 8      | 10      | 12      |
| <b>Рабочий раствор ПР</b>        |                                         |        |        |        |         |         |
| Концентрат ПРх25, мл             | 4,0                                     | 8,0    | 12,0   | 16,0   | 20,0    | 24,0    |
| Дистиллированная вода, мл        | до 100                                  | до 200 | до 300 | до 400 | до 500  | до 600  |
| <b>Рабочий раствор конъюгата</b> |                                         |        |        |        |         |         |
| КК, мкл                          | 20                                      | 40     | 60     | 80     | 100     | 120     |
| РРК, мл                          | до 2,0                                  | до 4,0 | до 6,0 | до 8,0 | до 10,0 | до 12,0 |
| <b>Рабочий раствор ТМБ</b>       |                                         |        |        |        |         |         |
| ТМБ, мкл                         | 200                                     | 400    | 600    | 800    | 1000    | 1200    |
| РРХ, мл                          | до 2,0                                  | до 4,0 | до 6,0 | до 8,0 | до 10,0 | до 12,0 |
| <b>СР</b>                        |                                         |        |        |        |         |         |
| СР, мл                           | 1,0                                     | 2,0    | 3,0    | 4,0    | 5,0     | 6,0     |

#### 6.1. Приготовление рабочего раствора ПР для промывания планшетов.

Содержимое флакона с концентратом раствора ПРх25 интенсивно встряхнуть. При выпадении в концентрате кристаллов, его следует прогреть при температуре от +35°C до +37°C до полного растворения.

В соответствии с числом используемых стрипов необходимое количество концентрата раствора ПРх25 перенести в мерную емкость, довести дистиллированной водой до указанного объема (табл.№2) и тщательно перемешать.

Готовый раствор хранить не более 24 ч при температуре от +4°C до +12°C или 4 часа при температуре от +18°C до +24°C.

#### 6.2. Приготовление рабочего разведения конъюгата.

Содержимое флакона КК и РРК интенсивно встряхнуть. Отобрать необходимое количество из пробирки КК (табл.№2) и добавить соответствующее количество РРК. Тщательно перемешать.

Готовый раствор рабочего разведения конъюгата хранить не более 15 мин при температуре от +9°C до +25°C в защищенном от света месте.

#### 6.3. Приготовление рабочего раствора ТМБ.

Отобрать необходимое количество ТМБ (табл. №2) и добавить соответствующее количество РРХ. Тщательно перемешать.

Готовый раствор хранению не подлежит.

**ВНИМАНИЕ!** Посуду и наконечники пипеток, контактирующие с рабочим раствором ТМБ и его компонентами (РРХ и ТМБ), нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку их остаточные количества приводят к неконтролируемому разложению хромогена в ходе пероксидазной реакции. Избегать контакта рабочего раствора ТМБ с металлами.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Освободить планшет из упаковки и оставить в рамке необходимое количество стрипов. Остальные стрипы поместить обратно в пакет и хранить в соответствии с условиями, указанными в таблице №1. Краткая схема проведения ИФА представлена в конце инструкции, стр. 11, *(используйте эту схему только после полного ознакомления с инструкцией)*.

### 7.1. Внесение контрольных и испытуемых образцов.

Для каждого исследуемого образца использовать две параллельные лунки, обозначаемые в дальнейшем как С-лунка и К-лунка (см. Таблицу №3).

Таблица №3

Схема внесения контрольных и испытуемых образцов

|   | 1                 | 2                 | 3       | 4       |
|---|-------------------|-------------------|---------|---------|
| A | K <sup>-</sup> AG | K <sup>-</sup> AG | № 5     | № 5     |
| B | K <sup>-</sup> AG | K <sup>-</sup> AG | № 6     | № 6     |
| C | K <sup>+</sup> AG | K <sup>+</sup> AG | № 7     | № 7     |
| D | K <sup>+</sup> AG | K <sup>+</sup> AG | № 8     | № 8     |
| E | № 1               | № 1               | № 9     | № 9     |
| F | № 2               | № 2               | № 10    | № 10    |
| G | № 3               | № 3               | № 11    | № 11    |
| H | № 4               | № 4               | № 12    | № 12    |
|   | С-лунки           | К-лунки           | С-лунки | К-лунки |

В две С-лунки и в две К-лунки внести по 90 мкл раствора РРОА и по 10 мкл каждого контрольного образца (K<sup>+</sup>AG и K<sup>-</sup>AG). В свободные лунки внести по 100 мкл приготовленных анализируемых образцов (см. п. 5).

**Инкубация.** Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при температуре +37°C или в термощейкере в течение 45 мин при +37°C с интенсивностью перемешивания от 650 до 700 об/мин

### 7.2. Промывание.

Удалить жидкость из лунок с помощью аппарата для промывания планшетов. Промыть планшет **3** раза рабочим раствором ПР (см. п. 6.1.), внося в лунки по 250 мкл раствора и выдерживая раствор в лунках не менее 20 с.

**ВНИМАНИЕ!** Неполное промывание лунок планшетов может привести к получению ложных результатов.

### 7.3. Внесение рабочего разведения конъюгата.

Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего разведения конъюгата (см. п. 6.2.).

**Инкубация.** Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при температуре +37°C или в термощейкере в течение 45 мин при +37°C с интенсивностью перемешивания от 650 до 700 об/мин

### 7.4. Промывание.

Удалить жидкость из лунок с помощью аппарата для промывания планшетов. Промыть планшет **5** раз рабочим раствором ПР (см. п. 6.1.), внося в лунки по 250 мкл раствора и выдерживая раствор в лунках не менее 20 с.

### 7.5. Внесение рабочего раствора ТМБ.

В каждую лунку планшета внести по 100 мкл рабочего раствора ТМБ (см. п. 6.3.). Планшет поместить в защищенное от света место на 15 мин при температуре от +15 °С до +25°С.

### 7.6. Внесение СР.

Остановить пероксидазную реакцию путем внесения во все лунки по 50 мкл СР и немедленно провести учет результатов.

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Измерение оптической плотности (ОП) проводить при длине волны 450 нм. Рекомендуемая длина волны сравнения (620-650) нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществлять по воздуху.

8.1. Результаты измерения, полученные на контрольных образцах должны удовлетворять следующим требованиям:

|                                                    |               |
|----------------------------------------------------|---------------|
| Среднее значение ОП в С-лунках с К <sup>+</sup> АГ | не менее 0,60 |
| Среднее значение ОП в К-лунках с К <sup>+</sup> АГ | не более 0,20 |
| Среднее значение ОП в С-лунках с К <sup>-</sup> АГ | не более 0,20 |
| Среднее значение ОП в К-лунках с К <sup>-</sup> АГ | не более 0,20 |

**ВНИМАНИЕ!** При получении иных показателей исследование повторить.

8.2. Рассчитать среднее арифметическое значение ОП<sub>ср</sub>К<sup>-</sup>АГ для К<sup>-</sup>АГ по двум С-лункам.

Исследуемый образец считается положительным, если ОП образца соответствует **всем** нижеперечисленным пунктам:

1. ОП образца в С-лунке  $\geq 0,35$  о.е.
2. ОП в С-лунке  $> 3 \times \text{ОП}_{\text{ср}}\text{К}^{-}\text{АГ}$
3. ОП образца в С-лунке  $> 3 \times \text{ОП}$  образца в К-лунке
4. ОП образца в К-лунке  $\leq 0,3$  о.е.

Если ОП для исследуемого образца в К-лунке превышает 0,3 о.е., то такой результат не учитывается.

## 9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Набор транспортируют и хранят в соответствии с СанПиН 3.3683-21 (XLVIII) при температуре от +2°С до +8°С. Замораживание не допускается. Допускается транспортирование в течение 3 суток при температуре от +9°С до +25°С.

Условия отпуска: для диагностики *in vitro* в лечебно-профилактических и санитарно-противоэпидемиологических учреждениях.

## 10. СРОК ГОДНОСТИ.

Срок годности набора 12 месяцев.

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

## 11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА.

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, ненадлежащих условий транспортирования и хранения, действия третьих лиц, непреодолимой силы. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

**Рекламации на качество набора** необходимо направлять в АО БТК «Биосервис» по адресу: 115088, г. Москва, а/я 20, тел. +7(495)142-5605,  
E-mail: [info@bioservice.ru](mailto:info@bioservice.ru).

**Консультацию специалиста по работе с набором** можно получить по тел. +7(495)142-5605

## Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «БиоСкан-ККГЛ-АГ»

| Термостат (продолжительность анализа: 2 ч 30 мин) |                                                                                                        |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Внести:                                           | по 90 мкл РРОА и по 10 мкл К <sup>+</sup> АГ и К <sup>-</sup> АГ<br>по 100 мкл анализируемых образцов. |
| Инкубировать:                                     | 60 мин при +37 °С.                                                                                     |
| Промыть:                                          | 3 раза рабочим раствором ПР по 250 мкл.                                                                |
| Внести:                                           | по 100 мкл рабочего разведение конъюгата.                                                              |
| Инкубировать:                                     | 60 мин при +37 °С.                                                                                     |
| Промыть:                                          | 5 раз рабочим раствором ПР по 250 мкл.                                                                 |
| Внести:                                           | по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.                                                                      |
| Инкубировать:                                     | 15 мин при +15 - +25 °С, в темноте.                                                                    |
| Внести:                                           | по 50 мкл СР.                                                                                          |
| Измерить ОП:                                      | при 450 нм (длина волны сравнения 620-650 нм).                                                         |
| Термошейкер (продолжительность анализа: 2 ч)      |                                                                                                        |
| Внести:                                           | по 90 мкл РРОА и по 10 мкл К <sup>+</sup> АГ и К <sup>-</sup> АГ<br>по 100 мкл анализируемых образцов. |
| Инкубировать:                                     | 45 мин при +37 °С, 650-700 об/мин                                                                      |
| Промыть:                                          | 3 раза рабочим раствором ПР по 250 мкл.                                                                |
| Внести:                                           | по 100 мкл рабочего разведение конъюгата.                                                              |
| Инкубировать:                                     | 45 мин при +37 °С, 650-700 об/мин                                                                      |
| Промыть:                                          | 5 раз рабочим раствором ПР по 250 мкл.                                                                 |
| Внести:                                           | по 100 мкл рабочего раствора ТМБ.                                                                      |
| Инкубировать:                                     | 15 мин при +15 - +25 °С, в темноте.                                                                    |
| Внести:                                           | по 50 мкл СР.                                                                                          |
| Измерить ОП:                                      | при 450 нм (длина волны сравнения 620-650 нм).                                                         |