

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ
КЛАССА G, M, A К Toxoplasma gondii
"Токсо-AGM"**

Настоящая инструкция распространяется на "Токсо- AGM" - тест-систему иммуноферментную, предназначенную для выявления антител класса G, M, A к Toxoplasma gondii методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе.

Набор состоит из 12 реагентов:

- Иммуносорбент** – антиген Toxoplasma gondii, сорбированный в лунках планшета;
- Фосфатно-солевой буферный раствор с твином, 25X концентрат (**ФСБ-Т**) – прозрачная, слегка опалесцирующая, бесцветная жидкость;
- Разводящий буферный раствор для сывороток (**РБП-С**) – прозрачная опалесцирующая жидкость **фиолетового** цвета;
- Раствор конъюгата моноклональных антител мыши к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (**PKг- IgG**) – прозрачная опалесцирующая жидкость **зелёного** цвета;
- Раствор конъюгата моноклональных антител мыши к IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (**PKг- IgM**) – прозрачная опалесцирующая жидкость **синего** цвета;
- Раствор конъюгата моноклональных антител мыши к IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена (**PKг- IgA**) – прозрачная опалесцирующая жидкость **жёлтого** цвета;
- Положительный контрольный образец (**K+ IgM**) – инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела классов M к токсоплазме - прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость **синего** цвета;
- Положительный контрольный образец (**K+G/A**) – инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела классов G и A к токсоплазме - прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость **красного** цвета;
- Отрицательный контрольный образец (**K-**) - инактивированная сыворотка крови человека, не содержащая специфических антител к токсоплазме – прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость **желтого** цвета;
- Сыворотка-калибратор (**СК+**) - инактивированная сыворотка крови человека, содержащая антитела класса G к Toxoplasma gondii с содержанием антител 60МЕ/мл, – прозрачная, слегка опалесцирующая, жидкость **зелёно-бурого** цвета;
- Хромоген – тетраметилбензидин - субстрат (**ТМБ –субстрат**) – бесцветная или светло-желтого цвета жидкость;
- Стоп-реагент** – прозрачная бесцветная жидкость.

Тест-система "Токсо- AGM" рассчитана на 96 определений, включая контрольные образцы.

Назначение

Выявление индивидуальных антител класса G, M, A к Toxoplasma gondii в сыворотке (плазме) крови человека.

Способ применения

Предупреждение! Несмотря на то, что тест-система "Токсо- AGM" является биологически безопасной, с ней следует обращаться, как с потенциально инфекционным материалом: все использованные материалы подвергать обработке раствором спирта этилового с объемной долей 70 % или раствором водорода перекиси с массовой долей 6 % с последующей выдержкой при температуре от 20 до 25 °С не менее 2 ч.

Внимание! При проведении анализа нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их в процессе приготовления растворов.

Окисляющие агенты, ионы металлов, моющие средства на посуде могут разлагать ТМБ. Во избежание ложных результатов необходимо тщательно отмывать посуду раствором кислоты серной 1 моль/л или кислоты соляной 1 моль/л с последующей отмывкой водой дистиллированной.

1 Приготовление реагентов и исследуемого материала

1.1 Приготовление ФСБ-Т

При наличии во флаконе с ФСБ-Т осадка солей флакон с концентратом выдержать при температуре (37±1) °С до полного растворения солей.

Содержимое одного флакона с ФСБ-Т перенести в мерный цилиндр вместимостью 1 л и довести объем раствора до 650 мл водой дистиллированной.

Хранение: неиспользованный концентрат ФСБ-Т в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С, раствор ФСБ-Т – в течение месяца при температуре от 2 до 8 °С.

В случае использования одного или нескольких стрипов планшета в чистый флакон отобрать необходимое количество ФСБ-Т для данной серии в соответствии с таблицей

		Количество используемых стрипов											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Объем, мл	Концентрат ФСБ-Т, мл	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	26
	Вода дистил- лированная, мл	до 50	до 100	до 150	до 200	до 250	до 300	до 350	до 400	до 450	до 500	до 550	до 650

1.2 РБП-С, PKг-IgG, PKг-IgM, PKг-IgA, ТМБ-субстрат– готовы к использованию

Хранение: неиспользованные РБП-С, PKг-IgG PKг-IgM, PKг-IgA, ТМБ-субстрат хранят в течение срока годности

набора при температуре от 2 до 8 °С.

1.3 К-, (К+ IgM), (К+G/A), СК+ - готовы к использованию.

Хранение: после вскрытия флакона до 48 ч при температуре от 20 до 25° С и в течение срока годности набора при температуре от 2 до 8 °С.

1.4 Стоп-реагент готов к использованию. Хранение: не ограничено.

2 Подготовка исследуемых сывороток

Для выявления антител класса G, M, A к *Toxoplasma gondii* использовать сыворотку (плазму) крови человека как свежеприготовленную, так и хранившуюся в течение 24 ч при температуре от 2 до 8 °С или в течение трех месяцев при температуре минус 20 °С.

Для проведения анализа использовать образцы сыворотки или плазмы крови человека объемом не менее 100 мкл.

Для исключения ложноположительных результатов исследуемые сыворотки необходимо готовить и хранить в стерильных условиях, исключающих возможность бактериального пророста. Необходимо осветлять образцы сывороток, содержащие осадок и агрегаты, путем центрифугирования. Не использовать сыворотки с выраженным гемолизом, гиперлипидемией и бактериемией. Избегать повторных циклов замораживания-оттаивания образцов. Не допускать тестирование пула, содержащего несколько образцов сывороток.

Каждый образец сыворотки или раствора необходимо отбирать новым наконечником. Для отбора исследуемых проб и компонентов применять автоматические пипетки с погрешностью измерения объема не более 2 %.

3 Проведение ИФА

I. Выявление антител класса IgG

Комплект перед проведением анализа выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 25° С.

3.1.1. Планшет промыть один раз ФСБ-Т, при этом в каждую лунку планшета внести от 200 до 250 мкл раствора. По окончании промывки остатки жидкости удалить активным встряхиванием, постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3.1.2. Для внесения контрольных сывороток можно использовать любые лунки планшета. Для этого в одну лунку внести по 100 мкл (К+G/A), в две лунки планшета внести по 100 мкл СК+, в две другие лунки планшета - по 100 мкл К-. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл РБР-С. Одну лунку оставить с РБР-С для контроля конъюгата. При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для К-, СК+ и (К+G/A) - по одной лунке.

В остальные лунки планшета внести по 10 мкл исследуемых сывороток. Раствор перемешать пять раз пипетированием, при этом цвет РБР-С должен измениться.

После этого планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.1.3. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3.1.4. После промывки и удаления влаги в каждую лунку планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата против иммуноглобулинов G человека (PKг-IgG) **зелёного цвета**. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.1.5. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3.1.6. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ- субстрата.

Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и поместить на 15 мин в защищенное от света место при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.1.7. Реакцию остановить внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реагента.

Учет результатов

Результаты ИФА регистрируют на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху. Результаты учитывают только в том случае, если значение ОП в лунке с контролем конъюгата (ОПКг) не превышает 0,15, в лунках с К- среднее значение ОП (ОПК-) не более 0,2, в лунках с К+ среднее значение ОП (ОПК+) не менее 1,0.

Рассчитывают ОПКрит. по формуле:

$$\text{ОПКрит.} = \text{ОПК(ср.)} + 0,2,$$

где ОПК(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по двум лункам.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $\leq 0,9 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа считают отрицательным, IgG к токсоплазме не определены.

Если ОПиссл. попадает в интервал от $0,9 \times \text{ОПКрит}$ до $1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить анализ такой сыворотки.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $> 1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа считают положительным.

II. Выявление антител класса IgM

Комплект перед проведением анализа выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 25° С.

3. II.1 Планшет промыть один раз ФСБ-Т, при этом в каждую лунку планшета внести от 200 до 250 мкл раствора. По окончании промывки остатки жидкости удалить активным встряхиванием, постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3. II.2. Для внесения контрольных сывороток можно использовать любые лунки планшета. Для этого в лунку внести по 100 мкл(К+ IgM), в две другие лунки планшета - по 100 мкл К-. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл РБР-С. Одну лунку оставить с РБР-С для контроля конъюгата. При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для К- и (К+ IgM) - по одной лунке.

В остальные лунки планшета внести по 10 мкл исследуемых сывороток. Раствор перемешать пять раз пипетированием, при этом цвет РБР-С должен измениться.

После этого планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. II.3. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3. II.4. После промывки и удаления влаги в каждую лунку планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата против иммуноглобулинов М человека (РКг-IgM) **синего цвета**. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. II.5. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3. II.6. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ- субстрата.

Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и поместить на 15 мин в защищенное от света место при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. II.7. Реакцию остановить внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реагента.

Учет результатов

Результаты ИФА регистрируют на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху. Результаты учитывают только в том случае, если значение ОП в лунке с контролем конъюгата (ОПКг) не превышает 0,15, в лунках с К- среднее значение ОП (ОПК-) не более 0,2, в лунках с К+ среднее значение ОП (ОПК+) не менее 1,0.

Рассчитывают ОПКрит. по формуле:

$$\text{ОПКрит.} = \text{ОПК-(ср.)} + 0,25,$$

где ОПК-(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по двум лункам.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $\leq 0,9 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа считают отрицательным.

Если ОПиссл. попадает в интервал от $0,9 \times \text{ОПКрит}$ до $1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить анализ такой сыворотки. При повторном сомнительном результате необходимо проанализировать сыворотку, полученную через 10-15 дней на наличие IgM и IgG антител и параллельно с 1-м образцом сыворотки проследить увеличение концентрации IgM. При увеличении концентрации IgM или выявлении IgG антител результат считают положительным.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $> 1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа считают положительным. При анализе парных сывороток для контроля изменения концентрации IgM или наличия сероконверсии оба образца должны быть тестированы в дубликate одновременно во время одной постановки.

III. Выявление антител класса IgA

Комплект перед проведением анализа выдержать в течение 30 мин при температуре от 20 до 25°C .

3. III.1. Планшет промыть один раз ФСБ-Т, при этом в каждую лунку планшета внести от 200 до 250 мкл раствора. По окончании промывки остатки жидкости удалить активным встряхиванием, постукивая планшетом по сложенной в несколько раз фильтровальной бумаге.

3. III.2. Для внесения контрольных сывороток можно использовать любые лунки планшета. Для этого в лунку внести по 100 мкл (K+G/A), в две другие лунки планшета - по 100 мкл K-. В остальные лунки планшета внести по 100 мкл РБР-С. Одну лунку оставить с РБР-С для контроля конъюгата. *При постановке ИФА на одном стрипе допускается использовать для K- и (K+G/A) - по одной лунке.*

В остальные лунки планшета внести по 10 мкл исследуемых сывороток. Раствор перемешать пять раз пипетированием, при этом цвет РБР-С должен измениться.

После этого планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. III.3. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3. III.4. После промывки и удаления влаги в каждую лунку планшета внести по 100 мкл раствора конъюгата против иммуноглобулинов А человека (РКг-IgA) **жёлтого цвета**. Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. III.5. По окончании инкубации планшет промыть ФСБ-Т пять раз, как описано в п.3.1.

3. III.6. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл раствора ТМБ- субстрата.

Планшет закрыть крышкой или заклеить клейкой лентой и поместить на 15 мин в защищенное от света место при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3. III.7. Реакцию остановить внесением в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реагента.

4. Учет результатов

Результаты ИФА регистрируют на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряют при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задают по воздуху. Результаты учитывают только в том случае, если значение ОП в лунке с контролем конъюгата (ОПКг) не превышает 0,15, в лунках с К- среднее значение ОП (ОПК-) не более 0,2, в лунках с К+ среднее значение ОП (ОПК+) не менее 1,0.

Рассчитывают ОПКрит. по формуле:

$$\text{ОПКрит.} = \text{ОПК-(ср.)} + 0,2,$$

где ОПК-(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по двум лункам.

Если значение оптической плотности исследуемого образца ОПиссл. $\leq 0,9 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа считают отрицательным, IgA к токсоплазме не определены.

Если ОПиссл. попадает в интервал от $0,9 \times \text{ОПКрит}$ до $1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить анализ такой сыворотки.

Если ОПиссл. $> 1,2 \times \text{ОПКрит}$, то результат анализа исследуемого образца считают положительным. Присутствие IgA к токсоплазме отражает наличие текущей или реинфекции.

Форма выпуска

Тест-систему "Токсо- AGM" выпускают в виде набора, упакованного в коробку из картона, куда вкладывают инструкцию.

Набор состоит из следующих компонентов: иммуносорбент, запаянный в пластиковый пакет, – 1 шт.; ФСБ-Т (25X концентрат) по 26 мл - 1 флакон; РБР-С по 12 мл - 1 флакон; РКг-IgG по 12 мл – 1 флакон; РКг- IgA – 1 флакон по 12 мл; РКг- IgM – 1 флакон по 12 мл; ТМБ-субстрат по 12 мл - 1 флакон; (K+ IgM) по 1,5 мл – 1 флакон; (K+G/A) по 1,5 мл – 1 флакон; СК+ по 1,5 мл – 1 флакон; К- по 2.5 мл - 1 флакон; стоп-реагент по 6 мл - 1 флакон.

Срок годности, условия хранения и транспортирования

Срок годности набора 9 месяцев.

Хранение при температуре от 2 до 8 °С.

Транспортирование производить при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше 27 °С в течение 5 дней.

Не допускать замораживания.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

«ТОКСО AGM»

В серодиагностике токсоплазмоза наиболее часто используется тест ELISA, выявляющий антитела к *T. gondii* классов IgM, IgA, IgE, IgG. В соответствии с принятыми принципами интерпретации результатов иммуноферментных тестов наличие антител класса IgM и / IgA может указывать на свежую инвазию. Наличие низкого уровня IgG (<60 МЕ/мл) вместе с наличием антител IgM и / IgA указывает на активный токсоплазмоз. В период свежей инвазии наличие паразита в организме хозяина стимулирует иммунную систему к производству очень высоких концентраций IgG (>60 МЕ/мл). Продолжающаяся инвазия приводит к образованию антител IgG, строго соответствующих антигену и быстро с ним соединяющихся, то есть антитела высокой avidности, которые успешно элиминируют *T. gondii* из кровообращения. В период возникновения антител IgG высокой активности, постепенно снижается уровень ранних показателей заражения (IgM и IgA), которые в течение месяца исчезают. Токсоплазмоз переходит в хроническую фазу, для которой характерны антитела класса IgG высокой avidности.

Результаты анализов и их интерпретация

Результаты	Интерпретация
ОПсыворотки > ОП (СК+)	Результат положительный. При высокой avidности IgG и отсутствием IgM антител женщина имеет защитный иммунитет. Нет причин для тревоги.
ОПсыворотки < ОП (СК+) > ОПкрит	Промежуточный результат. Рекомендуется проверить avidность токсо- IgG и наличие антител класса IgM и IgA. Повторить тест через две недели на парных сыворотках. Если титр IgG антител при повторном (через две недели) анализе не увеличивается, то причин для тревоги нет, если титр IgG растет, следует рассмотреть вопрос о дополнительных исследованиях.
ОПсыворотки < ОПкрит	Результат отрицательный

В случае положительного результата на наличие антител IgM или IgA сыворотку крови пациента оставляют в замороженном виде. Через 10-15 дней повторно делают забор крови и ставят анализ на выявление антител IgG обоих образцов крови в сравнении. Причём, такое исследование сывороток должно проводиться в одной постановке анализа. Увеличение титра IgG в динамике в 1,5 – 2 раза и более свидетельствует об инфицировании *Toxoplasma gondii* в пределах предыдущих 2-3 месяцев.

В случае отрицательного, сомнительного и промежуточного результатов беременные относятся к группе риска по инфицированию *Toxoplasma gondii* во время беременности и каждые 1-2 месяца должны обследоваться на токсоплазмоз.

Результаты определения антител IgG у иммунодефицитных пациентов могут быть неоднозначными для интерпретации вследствие неадекватности иммунного ответа.

7. Краткая схема проведения ИФА.

№ п/п	Наименование операции	Время и температура инкубации
1.	Промыть однократным ФСБТ – 1 раз	Комнатная температура (18- 25° С)
2.	Внести по 100 мкл К+, К-, СК+ по 100 мкл РБР-С и а.) для выявления антител класса IgG внести по 10 мкл анализируемых образцов, б.) для выявления антител класса IgM внести по 10 мкл анализируемых образцов, в.) для выявления антител класса IgA внести по 10 мкл анализируемых образцов.	30 мин. при температуре 37° С
3.	Промыть однократным ФСБТ – 5 раз	Комнатная температура (18- 25° С)
4.	Внести по 100 мкл: а.) для выявления антител класса IgG внести по 100 мкл раствора конъюгата РКг-IgG зелёного цвета, б.) для выявления антител класса IgM внести по 100 мкл раствора конъюгата РКг-IgM синего цвета, в.) для выявления антител класса IgM внести по 100 мкл раствора конъюгата РКг-IgM жёлтого цвета.	30 мин. при температуре 37° С
5.	Промыть однократным ФСБТ – 5 раз	Комнатная температура (18- 25° С)
6.	Внести по 100 мкл ТМБ-субстрата	15 мин. при температуре 37° С
7.	Внести по 50 мкл стоп-реагента	Комнатная температура (18- 25° С)
8.	Измерить ОП при 450 нм	Комнатная температура (18- 25° С)

7. РЕКОМЕНДАЦИИ ПРИ РАБОТЕ С ИФА ТЕСТ-СИСТЕМАМИ

7.1. Общие рекомендации.

При работе с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках;
- не пипетировать растворы ртом;

все использованные материалы подвергать обработке 6%-ным раствором перекиси водорода (не менее 6 часов).

Необходимо предъявлять высокие требования к чистоте лабораторной посуды, наконечников, ванночек и т.п., поскольку даже следы применяемых дезинфицирующих и моющих средств приводят к искажению результатов ИФА.

- Предпочтительно использование одноразовой посуды.
- При многократном использовании контейнера или ванночки для компонента их следует использовать всегда для одного и того же реагента, при повторном применении следует тщательно промыть дистиллированной водой до и после каждого использования.
- Для работы с набором следует использовать дистиллированную воду высокого качества, так как компоненты набора очень чувствительны к микробиологическому загрязнению, хлорноватистой кислоте и ароматическим хлорсоединениям, ионам металлов, зачастую находящихся в воде.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий.
- При использовании автоматического вошера или гребёнки ёмкость и шланги для промывочного раствора рекомендуется 1 раз в неделю обрабатывать 70%-ным спиртом с последующей отмывкой дистиллированной водой.

7.2. Требования к анализируемым образцам.

- Для проведения ИФА не рекомендуется использовать гемолизированные, гиперлипидные или повторно замороженные сыворотки.
- Допускается хранение образцов сывороток при 2-8°С в течение 48 часов, либо при температуре минус 20°С в течение 3 месяцев.
- После размораживания образцы тщательно перемешать.
- При необходимости образцы очистить центрифугированием при 5-10 тыс.об/мин.

7.3. Возможные причины снижения чувствительности.

- Уменьшение времени инкубации (как правило, субстратной реакции).
- Использование загрязнённой посуды и наконечников.
- Замачивание посуды и наконечников в перекиси водорода или хлорсодержащих растворах без последующего кипячения в процессе мытья.
- Плохая отмывка после инкубации сывороток.
- Растворы, не нагретые перед постановкой до комнатной температуры.
- Размещение планшет в термостате стопкой.
- Низкая температура в лабораторных комнатах (ниже +18°С).
- Нарушение правил и сроков хранения вскрытых компонентов при дробном использовании набора.

7.4. Возможные причины ложноположительных результатов из-за погрешностей постановки

- Плохая отмывка на стадии конъюгата.
- Длительное внесение образцов по отношению к времени инкубации.
- Контаминированный вошер, гребёнка или низкого качества дистиллированная вода.
- Неправильная работа с пипетками.
- Многократное использование наконечников и посуды для ТМБ-субстрата.
- Нерастворённые кристаллы в концентрате отмывающего раствора.
- Сыворотки с бактериальным проростом или с наличием клеточных элементов.