

ТЕСТ-СИСТЕМА D-ЛАКТАМ*инструкция по применению***Область применения**

Тест-система D-ЛАКТАМ (ТУ ВУ 391360704.001–2014, далее - тест-система) предназначена для определения уровня D-лактата биологических субстратов. Область применения тест-системы – клиническая медицина.

Комплектность тест-системы

| Наименование компонента | Количество |
|---|------------|
| Маркированный флакон, содержащий стандарт лития D-лактата (Флакон 1) | 1 шт. |
| Маркированный флакон, содержащий компоненты буферной смеси (Флакон 2) | 1 шт. |
| Маркированный флакон, содержащий ферментный микст (Флакон 3) | 1 шт. |
| Маркированный флакон, содержащий субстратный микст (Флакон 4) | 1 шт. |
| Планшет иммунологический | 1 шт. |

Приготовление рабочих растворов

- Приготовление стандартного раствора лития D-лактата (Стандарт) – во Флакон 1 осторожно вскрыть, внести 1000 мкл воды очищенной и перемешать до полного растворения. Данный раствор допускается хранить в морозильной камере при -18°C в течение 3 месяцев.
 - Приготовление буферного раствора – во Флакон 2 добавить 2,30 мл воды очищенной, интенсивно перемешать до полного растворения.
- Приготовление рабочего раствора ферментного микста - во Флакон 3 поместить:
 - 810,0 мкл воды очищенной для формата на 8 определений или
 - 630 мкл воды очищенной для формата на 4 определения или
 - 495 мкл воды очищенной для формата на 1 определение, осторожно перемешать до растворения. Данный раствор допускается хранить в морозильной камере при -18°C в течение 3 месяцев.
- Приготовление рабочего раствора субстратного микста – во Флакон 4 поместить:
 - 2,24 мл буферной смеси для формата на 8 определений или
 - 1,60 мл для формата на 4 определения или
 - 1,12 мл для формата на 1 определение. Данный раствор допускается хранить в морозильной камере при -18°C в течение 3 месяцев.

Ход определения

- Для приготовления градуировочного графика в лунки иммунологического планшета внести 0,25, 5,0, 7,5, 10,0, 12,5, 15,0, 17,5 Стандарта и довести водой очищенной до 25 мкл
- Для приготовления опытных образцов и контролей мутности в лунки иммунологического планшета внести 25 мкл биологического субстрата.
- В калибровочные и опытные образцы внести по 45 мкл ферментного микста
- В контрольные образцы внести по 45 мкл воды очищенной
- Во все исследуемые образцы добавить 80 мкл субстратного микста

| Наименование образца | Образец (мкл) | Стандарт (мкл) | Вода дистиллированная (мкл) | Ферментный микст (мкл) | Субстратный микст (мкл) |
|------------------------|---------------|----------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|
| Испытуемый образец (О) | 25 | - | - | 45 | 80 |
| Контроль мутности (К) | 25 | - | 45 | - | 80 |
| Калибровочный образец | - | 2,5 – (шаг 2,5)–17,5 | 17,5 – (шаг 2,5)–2,5 | 45 | 80 |

- Инкубировать в термостате ($37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$) в течение 30 минут.
- Измерить оптическую плотность на планшетном ридере (светофильтр 570-600 нм против воздуха).

Учет результатов

От значения оптической плотности каждого калибровочной ячейки отнять оптическую плотность реagenтного бланка (нулевого калибратора – $(A_i - A_0)$), соответственно разность для реagenтного бланка будет равняться нулю.

Построить калибровочную зависимость полученной разности от концентрации D-лактата в диапазоне 0,03, 0,6, 0,9, 1,2, 1,5, 1,8, 2,1 мМ, откладывая по оси абсцисс концентрацию, а по оси ординат – $(A_i - A_0)$.

От оптической плотности каждого опытного образца отнять разницу оптической плотности контроля мутности и пустой ячейки $\Delta A = A_0 - (A_k - A_{\text{п}})$

Для каждого образца рассчитать концентрацию по калибровочному графику с учетом коэффициентов уравнения линейной регрессии. Например, если уравнение линейной регрессии имеет вид $\Delta A = aC + b$, следовательно $C = (\Delta A - b)/a$

где C – концентрация D-лактата (ммоль/л)

a – наклон регрессионной прямой

b – отрезок регрессионной прямой

ВНИМАНИЕ! ФЛАКОНЫ СОДЕРЖАТ СУБСТАНЦИИ ПОД ГЛУБОКИМ ВАКУУМОМ! ПЕРЕД ВСКРЫТИЕМ ФЛАКОНОВ ВПУСТИТЬ ВОЗДУХ С ПОМОЩЬЮ ОДНОРАЗОВЫХ ИГЛ.