



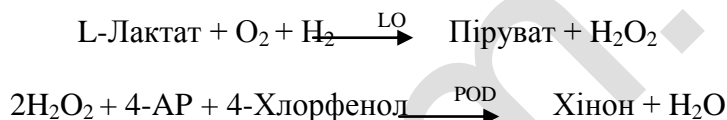
### Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості лактату в сироватці або плазмі крові ЛАКТАТ СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

#### Принцип методу

Лактат окислюється лактатоксидазою (LO) в піруват та пероксид водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), який з 4-амінофеназоном (4-AP) та 4-хлорфенолом, під дією пероксидази (POD), утворюють червоний хіноновий комплекс:



Інтенсивність кольору пропорційна концентрації лактату у зразку.

#### Клінічне значення

Лактат (молочна кислота) - продукт вуглеводного обміну, рівень якого в крові показує, наскільки тканини (особливо м'язова) насичені киснем. Аналіз за визначенням концентрації лактату в крові проводять для виявлення порушень кровообігу, гіпоксії (дефіциту кисню в тканинах) і ацидозу при серцевій недостатності та цукровому діабеті. При вираженій гіпоксії, порушення енергетичного обміну в крові накопичується надмірна кількість лактату, що призводить до зміни рН крові в кислу сторону (розвивається лактатацидоз).

Лактатацидоз розвивається при низькій концентрації кисню в крові та порушенні споживання його тканинами. Це може бути пов'язано з дихальними порушеннями, шоком, серцевою недостатністю, інфарктом міокарда, тяжкою анемією і внутрішньоклітинними порушеннями (змінami мітохондрій і їх ферментів). При важкому фізичному навантаженні концентрація лактату в крові підвищується в 5-10 разів.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

#### Склад набору

1. **Реагент 1.** Буфер. PIPES рН 7.5 - 50 ммоль/л, 4-хлорфенол - 4 ммоль/л.
2. **Реагент 2.** Ензими. Лактат оксидаза - 800 Од/л, пероксидаза - 2000 Од/л, 4-амінофеназон - 0,4 ммоль/л.
3. **Стандарт.** Водний розчин лактату - 1.123 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

#### Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірального діапазону: 0.1 - 13.3 ммоль/л.

Відхилення від лінійності не перевищує 15%.

Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножте результат на два.

- Чутливість не менш 0.1 ммоль/л.
- Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 15%.

### Матеріал для дослідження

Сироватка або гепаринизована плазма крові. Без слідів гемолізу. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 15 хв. після взяття крові, так як клітини крові будуть перетворювати глюкозу в молочну кислоту. Після відокремлення, лактат буде стабільним. Уникайте використання мутних та ліпідних зразків.

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 505 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Приготування робочий реагенту **РР** розчиніть вміст одного флакона **Р2** в 10 мл **Р1**. Закрити кришкою, перемішати **РР** стабільний 3 тижня при 2-8°C.

### Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
  - довжина хвилі 505 (490-550) нм
  - кювета з товщиною оптичного шару 1 см
  - температура 37/15-25°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

|               | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
| РР, мл        | 1.0             | 1.0                | 1.0              |
| Стандарт, мкл | -               | 10                 | -                |
| Зразок, мкл   | -               | -                  | 10               |

**Прим.** Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

- Перемішати та інкубувати 5 хв. при 37°C або 10 хв. при кімнатній температурі.
- Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка. Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.

### Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де:  $C_{\text{дос}}$  - концентрація лактату в дослідному зразку, мг/л.

$E_{\text{дос}}$  - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$  - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$  - вміст лактату в стандарті, 1.123 ммоль/л.

### Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень лактату в сироватці або плазмі крові становить:

0.5-2.2 ммоль/л або 45-198 мг/л.

Перехід в додаткові одиниці: мг/л x 0.01123 = ммоль/л

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» (Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

### Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- Бланк поглинання (E) при 505 нм > 0.18.

### Примітки

1. Лактат Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
2. Рекомендовано використовувати одноразові витратні матеріали
3. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих системах. У таких випадках, рекомендується використовувати Калібратор-сироватку.