Інструкція

з використання набору реагентів
для визначення кількості лактату в плазмі крові

Лактат СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 ºC

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Лактат окислюється лактатоксидазою (LO) в піруват та пероксид водню (H_2O_2), який з 4-амінофеназоном (4-AP) та 4-хлорфенолом, під дією пероксидази (POD), утворюють червоний хіноновий комплекс:

$$\text{L-Лактат} + O_2 + H_2 \xrightarrow{LO} \text{Піруват} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-AP} + \text{4-Хлорфенол} \xrightarrow{POD} \text{Хінон} + H_2O$$

Інтенсивність кольору пропорційнаа 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 pH 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 (змінами 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 pH 7.5 - 50 mmol/l (ммоль/л), 4-хлорфенол - 4 mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** Ензими. Лактат оксидаза - 800 U/l (Од/л), пероксидаза – 2000 U/l (Од/л), 4-амінофеназон - 0,4 mmol/l (ммоль/л).
3. **Стандарт.** Водний розчин лактату. Точна концентрація вказана в сертифікаті якості.
4. Інструкція з використання.
5. Сертифікат якості.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.1 – 13.3 mmol/l (ммоль/л).
Відхилення від лінійності не перевищує 5%.
Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 g/l (г/л) та помножте результат на два.
2. Чутливість не менш 0.1 mmol/l (ммоль/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Плазма крові. В якості антикоагулянтів використовувати інгібітори гліколізу, наприклад фторид/оксалат або фторид/гепарин. Без слідів гемолізу. Досліджувані зразки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 15 min (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. Стабільність 8 h (год) 20-25 ºC або 14 d (доб) 2-8 ºC.

granum.ua

e-mail: **granumlab@gmail.com**
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561

Перелік необхідного устаткування

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

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

Приготування робочий реагенту **РР** розчиніть вміст одного флакона **Р2** в 10 ml (мл) **Р1**. Закрити кришкою, перемішати **РР** стабільний 3 wk (тижд) при 2-8 °C.

Проведення аналізу

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

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Дослідний зразок
РР, ml (мл)	1.0	1.0	1.0
Стандарт, µl (мкл)	-	10	-
Зразок, µl (мкл)	-	-	10

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

4. Перемішати та інкубувати 5 min (хв) при 37 °C або 10 min (хв) при кімнатній температурі.
5. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 min (хв) при кімнатній температурі.

Розрахунок результатів

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

де: $C_{дос}$ - концентрація лактату в дослідному зразку, mmol/l (ммоль/л).
$E_{дос}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.
$E_{ст}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.
$C_{ст}$ - вміст лактату в стандарті.

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 плазмі крові становить:
0.5-2.2 mmol/l (ммоль/л) або 45-198 mg/l (мг/л).
Перехід в додаткові одиниці: mg/l (мг/л) x 0.01123 = mmol/l (ммоль/л)

Відтворюваність

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	13,8	31,7	14,3	32,1
SD	0,07	0,18	0,34	0,64
CV, %	0,53	0,56	2,36	2,00

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

granum.ua

***e-mail:** granumlab@gmail.com*
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561

Результати:
Коефіцієнт кореляції $(r)^2$: 0,998
Рівняння регресії: y=1,14886x – 0,9688
Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Ін'єкції епінефрину, глюкози, бікарабанату та інших сполук, що змінюють кислотно-лужний баланс, впливають на вміст лактату. Уникайте гемолізованих зразків.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.
Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Лактат Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
3. Рекомендовано використовувати одноразові витратні матеріали
4. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих системах. У таких випадках, рекомендується використовувати Калібратор-сироватку.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 ºC. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °C.
Допускається транспортування при середньодобової температурі 37 °C не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів

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

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Комплектація

	REF 2.021	REF 2.044	REF 2.022
Вміст	50 визн.	100 визн.	200 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)	1 x 200 ml (мл)
P2	1 x 5 фл.	1 x 10 фл.	1 x 20 фл.
Стандарт	1 x 1 ml (мл)	1 x 1.5 ml (мл)	1 x 2 ml (мл)

ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

granum.ua

granum.ua

Символи на продукції

Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер серії IVD Виріб медичний для діагностики in vitro Консультуйтесь з інструкцією із використання Берегти від сонячного світла Знак відповідності Технічним регламентам Температурне обмеження Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів REF Каталожний номер

e-mail: **granumlab@gmail.com**
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561