

Код за НК 024:2023 - 53342

ТУ У 20.5-24607793-025:2019

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ У ПЛАЗМІ ТА СМР (“ЛАКТАТ”)

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для визначення концентрації молочної кислоти (лактату) у плазмі та СМР людини в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб**) на відповідну кількість визначень молочної кислоти (Див. **Примітку 3**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP052.02</u>	10	5	2	<u>HP052.05</u>	50	25	12
<u>HP052.06</u>	100	50	25	<u>HP052.07</u>	200	100	50

Діапазон визначаємих концентрацій – від 0,15 ммоль/л до 13,3 ммоль/л (Див. **Примітку 1**).

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,15 ммоль/л (340 нм).

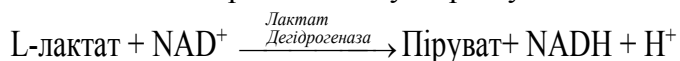
Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

За наявності NAD, лактат перетворюється на піруват лактатдегідрогеназою. В процесі реакції формується NADH, який вимірюється при довжині хвилі 340 нм. Інтенсивність забарвлення утворюваного NADH пропорційна до концентрації лактату в зразку.



СКЛАД НАБОРУ

- | | |
|---|---|
| 1. Ензимний реагент рН (9,0 ± 0,1) | <u>HP052.02</u> - 1 флакон з (8,0 ± 0,5) мл; |
| - лактатдегідрогеназа ≥ 25 кМО/л | <u>HP052.05</u> - 1 флакон з (40 ± 2) мл; |
| - стабілізатори, активатори. | <u>HP052.06</u> - 2 флакони по (40 ± 2) мл або
1 флакон з (80 ± 2) мл; |
| | <u>HP052.07</u> - 2 флакони по (80 ± 2) мл; |
| 2. Субстратний реагент | <u>HP052.02</u> - 1 флакон з (2,0 ± 0,2) мл; |
| - NAD ⁺ (20,0 ± 0,2) ммоль/л | <u>HP052.05</u> - 1 флакон з (10 ± 1) мл; |
| - стабілізатори, активатори. | <u>HP052.06</u> - 2 флакони по (10 ± 1) мл або
1 флакон з (20 ± 1) мл; |
| | <u>HP052.07</u> - 2 флакони по (20 ± 1) мл; |
| 3. Калібрувальний розчин молочної кислоти | <u>HP052.02</u> - 1 флакон з (1,0 ± 0,1) мл |
| (точне значення концентрації молочної кислоти | <u>HP052.05</u> , <u>HP052.06</u> , <u>HP052.07</u> |
| зазначено на флаконі з калібрувальним розчином) | - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл |

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжинах хвиль **334** або **340** нм у діапазоні (0 - 1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм (**Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача**).
- Піпетки місткістю 0,1, 1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
- Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °С.

ЗРАЗОК

Плазма крові. УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ! В якості антикоагулянтів використовувати інгібітори гліколізу, наприклад фторид/оксалат або фторид/гепарин. Уникайте використання мутних та ліпідних зразків, особливо при запуску реакції зразком.

Досліджувані зразки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 15 хв після взяття крові для попередження похибки, так як клітини крові будуть перетворювати глюкозу в молочну кислоту. **УНИКАТИ ЗАСТОСУВАННЯ ДЖГУТА.** Після відокремлення, лактат стійкий в плазмі 8 годин при температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С і 14 днів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С ⁶.

Ликвор (СМР). Збирають без використання консервантів. Досліджувати негайно, щоб уникнути помилково низьких результатів.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. ЗАПУСК РЕАКЦІЇ СУБСТРАТОМ:

Всі розчини готові для роботи. Придатні до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови збереження при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С у темному місці (світлочутливі).

2. ЗАПУСК РЕАКЦІЇ ЗРАЗКОМ:

Монореактив: змішати 4 частини **Ензимного реагенту** із 1 частиною **Субстратного реагенту**. Стабільність **Монореактива** до 2 тижнів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, наведеною в таблицях 1 (**ЗАПУСК РЕАКЦІЇ СУБСТРАТОМ**) або 2 (**ЗАПУСК РЕАКЦІЇ ЗРАЗКОМ**)

Таблиця 1

Відміряти у кювету, мкл	Дослідна проба			Холоста проба		
	макро	напівмікро	мікро	макро	напівмікро	мікро
Ензимний реагент	3200	1600	800	3200	1600	800
Зразок	48	24	12	-	-	-
Дистильована вода	-	-	-	48	24	12
Ретельно перемішати та інкубувати 5 хв при температурі плюс 37 °С. Виміряти оптичну щільність дослідної проби (E ₁) проти холостої проби , потім додати						
Субстратний реагент	800	400	200	800	400	200
Ретельно перемішати та інкубувати 5 хв при температурі плюс 37 °С. Виміряти оптичну щільність дослідної проби (E ₂) проти холостої проби . Забарвлення стабільне протягом (30±2) хв. Фотометрування – див. розділ “Обладнання”.						

Розрахуйте змінення екстинкції (ΔE) для **дослідної проби**:

$$\Delta E = (E_2 - E_1) \quad (1)$$

Розрахунок концентрації молочної кислоти проводять за формулою (2):

$$C = \Delta E \times F \quad \text{ммоль/л, де:} \quad (2)$$

C - концентрація молочної кислоти в зразку, ммоль/л;

ΔE - результуюча оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;

F – фактор перерахунку, ммоль/л; **F = 13,4** при використанні довжини хвилі **340** нм або **F = 13,5 - 334** нм.

Таблиця 2

Відміряти у кювету, мкл	Дослідна або калібрувальна проба			Холоста проба		
	макро	напівмікро	мікро	макро	напівмікро	мікро
Монореактив	4000	2000	1000	4000	2000	1000
Зразок або Калібрувальний розчин	40	20	10	-	-	-
Дистильована вода	-	-	-	40	20	10
Ретельно перемішати та інкубувати 5 хв при температурі плюс 37 °С. Виміряти оптичну щільність дослідної (E _{досл}) або калібрувальної проби (E _{кал}) проти холостої проби . Забарвлення стабільне протягом (30±2) хв. Фотометрування – див. розділ “Обладнання”.						

Розрахунок концентрації молочної кислоти проводять за формулою (3):

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал}}} \times A \quad \text{ммоль/л, де:} \quad (3)$$

$E_{\text{досл.}}$ - оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;

A - концентрація молочної кислоти в калібрувальній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{кал}}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: **Diacon N, Diacon P** (Австрія), **TruLab N, TruLab P** (Німеччина).

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

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ ⁵

В плазмі:

- венозна кров - 0,5 – 2,2 ммоль/л
- артеріальна кров - 0,5 – 1,6 ммоль/л

В СМР:

- Дорослі - 1,1 – 2,4 ммоль/л
- Новонароджені - 1,1 – 6,7 ммоль/л
- 3 – 10 діб - 1,1 – 4,4 ммоль/л
- > 10 діб - 1,1 – 2,8 ммоль/л

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди до 20 г/л), допамін до 10 мг/л, L- допамін до 20 мг/л, метилдопамін до 10 мг/л, гліколева кислота до 1200 мг/л, аскорбінова кислота до 300 мг/л, гемоглобін до 10 г/л та білірубін до 600 мг/л не заважають визначенню молочної кислоти. Існує слабка кореляція між мутністю і концентрацією тригліцеридів. Гемоліз впливає на хід визначення.

На хід визначення можуть впливати деякі ліки і речовини ².

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Лактат (молочна кислота) є кінцевим продуктом анаеробного гліколізу (виробляється в активних скелетних м'язах і еритроцитах та метаболізується у печінці) і служить індикатором для кисневого статусу в клітинних тканинах. Збільшені рівні лактату в крові зустрічаються в гіпоксії через потрясіння, застійну серцеву недостатність, інтоксикацію і дефіцит тіаміну. Тому, лактат вимірюється при інтенсивній медичній терапії. Також можливо визначити метаболічні зміни лактату у м'язах, використані в оцінці тренувального статусу у атлетів. Утворення АТФ пов'язане з генерацією лактату і H^+ .

Якщо розвивається втома, збільшення рівню лактату корелюється зі зниженням сили ^{1,4,5}.

При вираженій гіпоксії, порушенні 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.

1. Сироватка (плазма) крові, сеча добова.

↑. Лактоацидоз I типу (підвищений рівень молочної кислоти, відсутність вираженого ацидозу, нормальне співвідношення лактат/піруват); фізичне навантаження (при важкому фізичному навантаженні концентрація лактату в крові підвищується в 5-10 разів), гіпервентиляція, глюкагон, глікогенози, важка анемія, введення інсуліну, синдром Рейє.

Лактоацидоз II А типу, пов'язаний з гіпоксією (збільшене співвідношення лактат/піруват): будь-які стани з неадекватним вступом кисню в тканини, гостра кровотеча, важка гостра серцева недостатність, або інші причини судинного колапсу, захворювання серця з ціанозом або інші причини гострої гіпоксії, екстракорпоральний кровообіг.

Лактоацидоз II В типу, ідіопатичний (збільшене співвідношення лактат/піруват): легка уремія, інфекції, цироз, третій триместр вагітності, важкі судинні захворювання, лейкоз, анемії, хронічний алкоголізм, підгострий бактеріальний ендокардит, поліомієліт, діабет.

2. Ліквор.

↑. Зменшення припливу крові до мозку або її оксигенація, підвищений внутрішньочерепний тиск, травма, судоми, внутрішньочерепний крововилив, абсцес мозку, розсіяний склероз, первинний або метастатичний рак ЦНС, гіпокапнія, бактеріальний і туберкульозний менінгіт.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Якщо реактив потрапив в очі, на шкіру або слизові оболонки, його необхідно змити великою кількістю води. Постраждалому має бути надана кваліфікована медична допомога.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ПРИМІТКИ

1. Зразки з більш високою концентрацією лактату необхідно розвести **1:1** фізіологічним розчином (розчин хлориду натрію 150 ммоль/л) і аналіз провести повторно. Отриманий результат потрібно помножити на 2.

2. **УВАГА!** Контакт робочого реагенту з шкірою і слиною, а також використання для стерилізації посуду перекисів (що є одним з основних компонентів багатьох дезінфікуючих засобів) призводить до отримання завищених результатів. Не торкатися голими руками до робочого фрагмента наконечників автоматичних дозаторів і піпеток!

3. **Розраховано при витраті розчинів реагентів: 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-).**

Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:

ЗАПУСК РЕАКЦІЇ СУБСТРАТОМ:

Ензимний реагент : Субстратний реагент : Аналізуємий розчин = 800 : 200 : 12

ЗАПУСК РЕАКЦІЇ ЗРАЗКОМ:

Монореактив : Аналізуємий розчин = 1000 : 10

ЛІТЕРАТУРА

1. Gau N. Lactic acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1040-1042 and 418.
2. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: AACC Press 2000.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
6. Westgard JO, Lahmeyer BL, Birnbaum ML. Use of the Du Pont „Automatic Clinical Analyzer“ in Direct Determination of Lactic Acid in Plasma Stabilized with Sodium Fluoride. Clin Chem 1972;18:1334-8.
7. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, «Лабинформ», Москва, 1997, стр.289-290.
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м.Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: felicit@ukr.net **http:** //www.felicit.com.ua