ЛАКТАТ (lactate) 1001330

Ферментативный колориметрический метод (LO-POD) для определения лактата в сыворотке.
IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001330 5x10 мл

ПРИНЦИП
Лактат окисляется лактатоксидазой до пирувата и перекиси водорода воды (H_2O_2), которая под влиянием пероксидазы (ПОД), 4-аминофеназона (4-AP) и 4-хлорфенола образует красный киноновый комплекс в соответствии со следующей реакцией:

$$\text{Лактат} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{лактатоксидаза}} \text{пирувата} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-аминофеназон} + \text{4-хлорфенол} \xrightarrow{\text{ПОД}} \text{кинон} + H_2O$$

Изменение окраски прямо пропорционально концентрации фруктозамина в сыворотке[1].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
Лактат – это продукт метаболизма, образующийся в результате молочной ферментации из глюкозы, и который накапливается при физических упражнениях с высокой нагрузкой как результат повышения гликолитической активности. Формирование АТФ связано с образованием лактата и H^+: При развитии утомления повышенные уровни лактата коррелируют со снижением силы[1,4,5].
Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 (R1) буфер	PIPES буфер pH 7,5 4-хлорфенол	50 ммоль/л 4 ммоль/л
Реагент 2 (R2) ферменты	Лактатоксидаза (LO) Пероксидаза (ПОД) 4-аминофеназон (4-AP)	800 E/л 2000 E/л 0,4 ммоль/л
Стандарт	Лактат (водный раствор)	**1,11 ммоль/л** (10 мг/дл)

ПОДГОТОВКА
Рабочий регент: Разведите содержимое одного флакона ферментов (R2) в 10 мл буфера (R1). Закройте крышку и осторожно перемешайте до полного растворения содержимого.
Реагент после разведения стабилен 1 месяц при 2-8°C или 1 неделю при комнатной температуре (15-25єC). Избегать прямого солнечного света.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАКТИВОВ
Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на упаковке даты (Expiration Date) в плотно закрытых флаконах при 2-8°C. Избегать прямого солнечного света и контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока хранения.
Калибратор лактата: Открытый калибратор стабилен 1 месяц в плотно закрытом флаконе при 2-8°C или 2 месяца при -20єC. Избегать прямого солнечного света и контаминации при использовании.
Признаки порчи реагентов:
- наличие частиц и мутности;
- абсорбция бланка (A) при 505 нм ≥ 0,180.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ
- Спектрофотометр или биохимический анализатор с фильтром 505 нм.
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1,0 см.
- Обычное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ
Сыворотка или гепаринизированная плазма. Не используйте гемолизированные пробы[1]. Сыворотка или плазма должны быть помещены в холодильник и отделены от клеток крови в течение 15 мин, в противном случае клетки крови будут перерабатывать глюкозу в молочную кислоту. После разделения лактат стабилен.

ПРОЦЕДУРА
Условия теста:

Длина волны:	505 нм (490–550 нм)
Оптический путь:	1 см
Температура:	15-25/37°C
Измерение:	против бланка по реагенту.
Метод:	по конечной точке по стандарту (**1,11 ммоль/л**) время инкубации 5 мин (37°C) или 10 мин (25°C)

Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.

Отдозируйте в кюветы:

	Полумикрометод			Микрометод		
	Бланк	Стандарт	Проба	Бланк	Стандарт	Проба
Стандарт	–	10 мкл	–	–	5 мкл	–
Проба	–	–	10 мкл	–	–	5 мкл
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл	500 мкл	500 мкл	500 мкл

Перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C или 10 мин при комнатной температуре.

Измерить оптическую плотность пробы и стандарта при 505 нм против бланка по реагенту. Окраска стабильна до 30 мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

$$C\ (\text{мкмоль/л}) = C\ \text{калибратора} \times \frac{A\ \text{пробы}}{A\ \text{калибратора}}$$

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,111 = ммоль/л

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контроли с каждой серией проб. Для контроля могут быть использованы нормальные и патологические контрольные сыворотки SPINTROL(кат. 1002120 и 1002210). Если результаты контроля вне определенного диапазона, проверьте прибор, реагенты и калибратор.

Каждая лаборатория должна определять собственную систему ведения контроля качества и действий для коррекции при выходе контроля за приемлемые границы.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ1

0,5 – 2,2 мкмоль/л (4,5–19,8 мг/дл)

Эти значения даны для ориентировочных целей, каждая лаборатория должна определять собственный референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: от *уровня определения* в 0,043 ммоль/л (0,39 мг/дл) до *предела линейности* в 16,7 ммоль/л (150 мг/дл). Если получаемые результаты выходят за предел линейности, разведите пробы в два раза физраствором (NaCl 9 г/л) и умножьте результат на 2.

Воспроизводимость:

	Внутри серии тестов (n=20)		Между сериями тестов (n=20)	
Среднее (мкмоль/л)	11,1	21,8	11,4	22,1
SD	0,24	0,25	0,36	0,54
CV %	2,14	1,16	3,12	2,47

Чувствительность: 1 мг/дл = 0,010 A.

Правильность: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий.

Результаты обследования 50 пациентов были следующими:

Коэффициент корреляции: (r) 0,998. Уравнение регрессии: y=0,9979x + 1,2518.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Внутривенные инъекции епинефрина, глюкозы, бикарбоната, или другие инфузии, которые изменяют кислотно-щелочной баланс, вызывают повышение уровня лактата. Нельзя использовать гемолизированные пробы[1]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение лактата, представлен в работах Young и др.[3,4].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Калибровка с водным стандартом может быть причиной систематической ошибки в автоматических процедурах. В этих случаях рекомендуется использовать калибратор на основе сыворотки.
2. Используйте чистые одноразовые наконечники для дозирующих пипеток.
3. **У SPINREACT есть адаптации инструкций для многих автоматических анализаторов. Инструкции для них доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА

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 Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
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.