УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
_____ Е.Н.Схолль-Энгбертс
«10» декабря 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации молочной кислоты в цельной крови (с депротеинизацией), сыворотке и плазме крови энзиматическим колориметрическим методом

(ЛАКТАТ-ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения концентрации молочной кислоты (лактата) в цельной крови (с депротеинизацией), сыворотке и плазме крови человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Молочная кислота под воздействием лактатоксидазы в присутствии кислорода расщепляется на пировиноградную кислоту и перекись водорода. Последняя в присутствии 4-аминоантипирина и п-хлорфенола под воздействием пероксидазы образует хинониминовое соединение, окраска которого пропорциональна содержанию лактата в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 505 (490-520) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буфер, pH 7,5, состоящий из трис-HCl, 50 ммоль/л; п-хлорфенола, 6,0 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (50 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: лактатоксидаза, 200 ед/л; пероксидаза, 2000 ед/л; 4-аминоантипирин, 0,4 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 0,4%) - 5 флаконов;
- реагент 3: кислота хлорная, 3,3%, готова к использованию - 1 флакон (30 мл);
- калибратор: калибровочный раствор молочной кислоты с концентрацией 3,3 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (1,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации молочной кислоты – в диапазоне от 0,6 до 13,3 ммоль/л, отклонение от "линейности" не превышает 5%.

Чувствительность определения - не более 0,3 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов измерений - не более 5%.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации молочной кислоты в сыворотке (плазме) крови и цельной крови человека составляют: венозная кровь - 0,5-2,2 ммоль/л, артериальная кровь - 0,5-1,6 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

ОБРАЗЦЫ

Цельная кровь (с депротеинизацией), сыворотка или плазма крови. В качестве антикоагулянта необходимо использовать ЭДТА/фторид.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При работе с кровью необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Следует избегать контакта анализируемого образца и рабочего реагента с кожей пальцев из-за высокого содержания лактата, в связи с чем для отбора реагентов и анализируемых проб необходимо использовать полуавтоматические пипетки, а так же надевать резиновые или пластиковые перчатки.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 505 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490 – 520 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- центрифуга, развивающая ускорение 900 g;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 0,05; 0,2; 0,5; 1,0 и 2,0 мл;
- пробирки вместимостью 5,0 мл;
- колба стеклянная вместимостью 50 мл;
- физиологический раствор (0,9% раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- вода бидистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

В колбе стеклянной вместимостью 50 мл растворить содержимое одного флакона реагента 2 в 10 мл реагента 1 и выдержать после полного растворения лиофилизата при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 10 мин.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°С не более 14 дней.

Реагент 3 и калибратор готовы к использованию.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Цельная кровь

Подготовить по одной пробирке вместимостью 5,0 мл для каждой анализируемой пробы цельной крови (опытные пробы), одну пробирку для калибратора (калибровочная проба) и одну пробирку для контрольной (холостой) пробы. Во все пробирки внести по 0,5 мл реагента 3. В пробирки с опытными пробами добавить по 0,05 мл анализируемой крови; в пробирку с калибровочной пробой - 0,05 мл калибратора, в пробирку с контрольной (холостой) пробой - 0,05 мл бидистиллированной воды. Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре в течение 10 мин. После окончания инкубации центрифугировать только опытные пробы при 900 g в течение 5-10 мин при комнатной температуре; супернатант отделить.

Внести в пробирки вместимостью 5,0 мл реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Супернатант	0,2	-	-
Раствор для калибровочной пробы	-	0,2	-
Раствор для холостой пробы	-	-	0,2
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0

Содержимое пробирок перемешать и инкубировать в течение 5 мин при комнатной температуре (+18-25°С). Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 505 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Окраска стабильна в течение 20 мин после окончания инкубации.

Сыворотка (плазма) крови

Подготовить по одной пробирке вместимостью 5,0 мл для каждой анализируемой пробы сыворотки (плазмы) крови (опытные пробы), одну пробирку для калибратора (калибровочная проба) и одну пробирку для контрольной (холостой) пробы.

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба.
Рабочий реагент	1,0	1,0	1,0
Калибратор	-	0,01	-
Сыворотка (плазма) крови	0,01	-	-

Содержимое пробирок перемешать и инкубировать в течение 5 мин при комнатной температуре. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 505 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Оптическая плотность стабильна не более 20 мин после окончания инкубации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

РАСЧЕТЫ

Концентрацию молочной кислоты в сыворотке (плазме) крови и цельной крови определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_{кал}} \times 3{,}3$$

где: С - концентрация молочной кислоты в анализируемой пробе, ммоль/л;

$E_{оп}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн;

$E_{кал}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн;

3,3 - концентрация молочной кислоты в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8°С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до + 25°С не более 5 сут.

Срок годности набора – 12 мес.

Реагенты 1 и 3 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С в течение срока годности набора.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °С не более 60 дней при условии достаточной герметичности флакона.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8 °С не более 14 дней.

Если концентрация молочной кислоты в сыворотке (плазме) крови и цельной крови превышает 13,3 ммоль/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 2 раза, повторить определение и полученный результат умножить на 2.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО
Минздрава России, д. м. н., профессор В.В. Долгов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru