

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania mleczanu w ludzkim osoczu. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Tylko Rx

Znaczenie kliniczne

Oznaczanie mleczanów jest wykorzystywane w diagnostyce kwasicy mleczanowej. Wstrząs jest najbardziej znaną przyczyną kwasicy mleczanowej, chociaż możliwe jest, że podwyższony poziom mleczanu poprzedza wstrząs. Zawał mięśnia sercowego, ciężka zastoinowa niewydolność serca, obrzęk płuc i utrata krwi są częstymi przyczynami wstrząsu, który prowadzi do kwasicy mleczanowej. Kwasica mleczanowa może również wynikać z niewydolności nerek i białaczki. Niedobór tiaminy i cukrzyca kwasica ketonowa zwykle skutkują zwiększonym poziomem mleczanu.

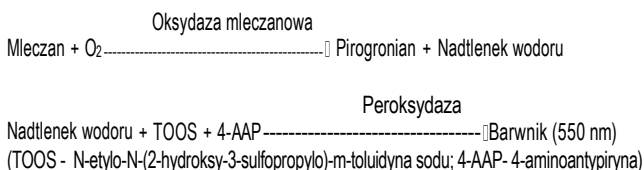
Metodyka

Pierwotnie oznaczanie kwasu mlekowego wykonywano metodami miareczkowymi lub kolorymetrycznymi.

Pierwsza metoda enzymatyczna dla kwasu mlekowego opierała się na przeniesieniu wodoru z mleczanu na żelazocyjanek potasu przez dehydrogenazę mleczanową (LD). Procedura ta była bardzo uciążliwa i nie zyskała szerokiej akceptacji. Bardziej aktualne metody enzymatyczne obejmowały pomiar NADH utworzonego w wyniku utleniania mleczanu przez LD.^{1,2} Ta metoda stała się szerzej stosowana, ale nadal cierpi na niestabilność w wielu systemach analizatorów. Obecna metoda enzymatyczna opiera się na działaniu oksydazy mleczanowej. Ta metoda jest szybka, dokładna i znacznie bardziej stabilna niż poprzednie metody enzymatyczne.

Zasada działania

Oksydaza mleczanowa katalizuje utlenianie kwasu mlekowego do pirogronianu i nadtlenu wodoru. Peroksydaza następnie katalizuje reakcję nadtlenu wodoru z donorem wodoru, w obecności 4-aminoantypirenu, do wytworzenia barwnika. Intensywność barwy, mierzona przy 550 nm, jest proporcjonalna do stężenia mleczanu w próbce.



Odczynniki

Odczynnik mleczanowy (R1): bufor TRIS 100 mM, 4-aminoantypiren 1,7 mM, peroksydaza (chrzanowa) > 10 000 U/L, środek powierzchniowo czynny, stabilizator, azydek sodu (0,09%) jako środek konserwujący.

Odczynnik mleczanowy (R2): bufor TRIS 100 mM, oksydaza mleczanowa (mikrobowa) > 1000 U/L, TOOS 1,5 mM, środek powierzchniowo czynny, stabilizator, azydek sodu (0,09%) jako środek konserwujący.

Środki ostrożności

1. Ten odczynnik przeznaczony jest **wyłącznie** do diagnostyki *in vitro*.
2. Odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Po usunięciu słupek dużą ilością wody.
3. Wszystkie próbki użyte w tym teście należy uznać za potencjalnie zakażne. Podczas obchodzenia się z materiałami i ich usuwania w trakcie i po badaniu należy stosować uniwersalne środki ostrożności, jakie mają zastosowanie w danej placówce.
4. Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykiecie zestawu.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki mleczanowe R1 i R2 są gotowe do użycia w urządzeniach odpowiednich do analizy dwuodczynnikowej.

Przechowywanie odczynników

Wszystkie odczynniki zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie, jeśli są przechowywane w temperaturze 2-8°C.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Zalecaną próbką jest osocze pobrane na fluorek sodu/szczawian potasu. Próbkę należy natychmiast umieścić na lodzie, a komórki należy oddzielić w ciągu 15 minut.³ Próbki należy pobrać z żyły wolnej od zastojów.⁴ Jeśli nie zostanie szybko przeanalizowana, próbki można przechowywać w temperaturze 2-8°C przez maksymalnie 2 dni. Jeśli próbki muszą być przechowywane dłużej niż 2 dni, można je przechowywać przez jeden miesiąc zamrożone w temperaturze -20°C.⁵

Interferencje

Wszystkie badania interferencji przeprowadzono w oparciu o procedury zalecane w wytycznych NCCLS nr EP7-P.⁶ Stwierdzono, że hemoglobina na poziomach do 500 mg/dl i bilirubina na poziomach do 20 mg/dl wykazują znikomą interferencję (<5%) na tej metodzie. Próbki z poziomami substancji interferujących wyższymi niż górne limity należy przed oznaczeniem rozcieńczyć roztworem soli fizjologicznej. Wynik uzyskany z ręcznego rozcieńczenia pomnożyć przez odpowiedni współczynnik rozcieńczenia. Obszerny przegląd wpływu leków na poziom mleczanu można znaleźć w artykule Young.⁷

Materiały dostarczane

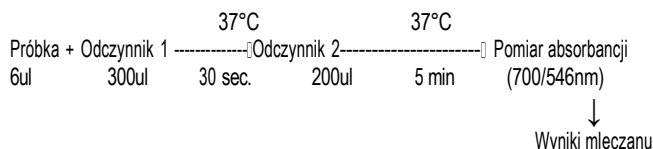
Zestaw odczynników mleczanowych (płynnych).

Materiały wymagane, niewchodzące w skład produktu

1. Standard mleczanu lub odpowiedni kalibrator na bazie surowicy.
2. Kontrole z normalnym i podwyższonym poziomem mleczanu.
3. Zautomatyzowany analizator chemii klinicznej, który może obsługiwać testy dwuodczynnikowe.

Procedura

Poniżej znajduje się ogólny przykład procedury testu mleczanu dla automatycznego analizatora. Aby uzyskać pomoc dotyczącą aplikacji na analizatorach automatycznych, prosimy o kontakt z Działem Obsługi Technicznej producenta.



Ograniczenia

1. Nie należy stosować antykoagulantów zawierających cytryniany..
2. Chronić odczynniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
3. Próbki o wartościach większych niż 15 mmol/L należy rozcieńczyć solą fizjologiczną w stosunku 1:1 i ponownie oznaczyć. Wynik pomnoż przez dwa.

Kalibracja

Użyj wzorca mleczanu identyfikowalnego przez NIST lub odpowiedniego wzorca mleczanu opartego na surowicy. Procedurę należy skalibrować zgodnie z instrukcjami producenta przyrządu. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, procedurę należy ponownie skalibrować.

Pointe Lactate Reagent Set

Kontrola jakości

Wiarygodność wyników testów należy rutynowo monitorować za pomocą materiałów kontrolnych, które w rozsądny sposób imitują wyniki próbek pobranych od pacjentów. Materiały do kontroli jakości są przeznaczone do użytku wyłącznie jako monitory dokładności i precyzji. Odzyskiwanie wartości kontrolnych w odpowiednim zakresie powinno być kryterium stosowanym do oceny przyszłych wyników testu. Kontrole należy przeprowadzać z każdą zmianą roboczą, podczas której wykonywane są oznaczenia mleczanów. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Wymagania kontroli jakości powinny być określone zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami akredytacyjnymi.

Wyniki

Aby przeliczyć jednostki SI na jednostki konwencjonalne, należy pomnożyć jednostki SI przez współczynnik 9,01.

Przykład: $\text{mmol/L} \times 9.01 = \text{mg/dL}$ Mleczanu

Oczekiwane wartości

Sugerowany jest następujący zakres referencyjny dla L-mleczanu.⁸

Krew żylna	0.5-2.2 mmol/L
Krew tętnicza	0.5-1.6 mmol/L

Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres oczekiwanych wartości.

Wydajność

- Zakres testu: 0-15 mmol/L
- Porównanie: Ten odczynnik mleczanowy porównano z metodą wykonaną na analizatorze chemicznym Dade. Badanie przeprowadzono na 57 próbkach pacjentów w zakresie od 0,3 do 10,4 mmol/L. Dane poddano analizie regresji liniowej metodą najmniejszych kwadratów, która dała współczynnik korelacji (r) równy 0,998 z równaniem regresji $y = 0.97x + 0.1$.
- Precyzja: Precyzja w ciągu dnia dla odczynnika mleczanowego została określona po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T2.9 Badania precyzji w ciągu dnia dały następujące wyniki:

Próbka	N	W serii		
		Mean	S.D.	C.V.%
Niski	20	1.52	0.04	2.63
Średni	20	3.98	0.07	1.76
Wysoki	20	8.89	0.09	1.01

Precyzję z dnia na dzień określono również po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T2.⁹ Badania precyzji z dnia na dzień dały następujące wyniki:

Próbka	N	Całkowita		
		Mean	S.D.	C.V.%
Niski	20	1.51	0.04	2.65
Średni	20	4.12	0.09	2.18
Wysoki	20	9.19	0.17	1.85

- Czułość: Określono, że analityczna czułość dla mleczanu wynosi 0,15 jednostek absorpcji na 1 mmol/l mleczanu.

Bibliografia

- Gutmann, I., Wahlefeld, A., Methods of Enzymatic Analysis. 2nd Ed., Academic Press, New York, 1974, 1464.
- Noll, F., Methods of Enzymatic Analysis. 2nd Ed., Academic Press, New York, 1974, 1465.
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 4th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1996, 367.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1995, 382-383.
- Westgard, J.O., Lahmeyer, B.L., Birnbaum, M.L., Clin Chem 1972, 18:1334- 1338.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, June 1984.
- Young, D.S., effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd Ed., AACC Press, Washington D.C., 1990.
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 4th Ed., W.B. Saunders Company, 1996, 801.
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed., 1992.

Symbole

Termin przydatności (RRRR-MM-DD) (Numer LOT oraz kod kreskowy
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Tylko Rx: Wyłącznie do zastosowania profesjonalnego
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

L7596



Manufactured by:
HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive
Canton, MI 48108



Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.

Rev. 06/23 P803-L7596-01-PL