

## CE

### ЦИТРАТ

#### Цитратлиаза/Малатдегидрогеназа

КОД 11795 1 x 50 мл
Хранить при 2-8° С
Реагенты для измерения концентрации цитрата Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Путем протекания связанных реакций, в которых участвует цитрат, содержащаяся в образце, образуется NADH, который может быть измерен спектрофотометрически:

ЦД  
Цитрат  $\longrightarrow$  Оксалоацетат + Ацетат

МДГ  
Оксалоацетат + NADH + H<sup>+</sup>  $\longrightarrow$  малат + NADH

#### СОСТАВ

**A Реагент.** 1x40 мл ТРИС 40 ммоль/л, NADH 0,4 ммоль/л, консерванты, pH 9,5

**B1 Реагент.** 1 x 10 мл PIPES 600 ммоль/л, консерванты, pH 6,5

*Раздражитель (X): R43 может вызвать раздражение при контакте с кожей. Использовать подходящие защитные аксессуары (маска, перчатки)*

**B2 Реагент** 1 для 10 мл. Малатдегидрогеназа >40 КМЕ/л, цитратлиаза > 1 КМЕ, после разведения.

**S Стандарт Цитрата:** 1 x 3 мл. Лимонная к-та, 100 мг/дл (5,20 ммоль/л). Первичный водный стандарт.

*Раздражитель (X): R43 может вызвать раздражение при контакте с кожей. Использовать подходящие защитные аксессуары (маска, перчатки)*

#### ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8° С  
Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

#### Признаки загрязнения:

- Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция выше 1.2 при 340 нм (1 см кювета).
- Стандарт: присутствие взвешенных частиц, мутность

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

**Реагент А:** Готов к использованию

**Реагент В:** Поместите содержимое флакона В2 во флакон В1. Аккуратно перемешайте. Стабилен в течение 2-х месяцев при 2-8 ° С.

Открытые флаконы с реагентами, хранимые в холодильнике стабильны в течение 6 недель.

#### НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурным режимом 37 ° С и с фильтром 340±20 нм.

#### ОБРАЗЦЫ

**Семенная плазма:** Образец свежей семенной жидкости, разжижающийся при 30° С за 30 минут. Центрифугировать для того, чтобы отделить сперматозоиды, далее декантировать семенную плазму. Цитрат в семенной плазме стабилен в течение 6 месяцев при -20° С.

**Моча:** Собрать суточную мочу как образец, используя HCl как консервант. Стабильна в течение 30 дней при 2-8 ° С. Центрифугировать или фильтровать перед исследованием.

#### ПРОЦЕДУРА

##### Приготовление образца

Стандарт и образцы мочи не требуют подготовки.

1. Разлить в подписанные пробирки:

Семенная плазма	200 мкл
Дист. вода	800 мкл

2. Тщательно перемешать. Образец стабилен в течение 8 часов при 15-25 ° С и 24 часа при 2-8 ° С

##### Ручная процедура

1. Довести реагенты до комнатной температуры
2. Раскапать в подписанные пробирки:

	Бланк	Стандарт	Образец
Дист. вода	20 мкл	-	-
Стандарт цитрата	-	20 мкл	-
Образец	-	-	20 мкл
Реагент А	1,2 мл	1,2 мл	1,2 мл
Реагент В	300 мкл	300 мкл	300 мкл

- Тщательно перемешать и инкубировать в пробирках в течение 10 минут при комнатной температуре (16-25 °С) или в течение 5 минут при температуре 37 °С.
- Измерить оптическую плотность (А) стандарта, образца и бланка при 340 нм против бланка. Цвет стабилен в течение 30 минут.
- Рассчитать концентрацию глюкозы, следуя приведенной формуле:

	Семенная плазма	Моча
$A_{\text{образец}} - A_{\text{бланк}}$	$x500 = \text{мг/дл цитрат}$ $x26,1 = \text{моль/л цитрат}$	$x100 = \text{мг/дл цитрат}$ $x5,21 = \text{моль/л цитрат}$
$A_{\text{стандарт}} - A_{\text{бланк}}$		

#### Автоматическая процедура (Примечание 1)

		A-25	A-15	
Общая	Название теста	ЦИТРАТ	ЦИТРАТ	
	Режим анализа	дифф. бираг	дифф. бираг	
Процедура Образцы	Тип пробы	СПЕР/МОЧА	СПЕР/МОЧА	
	Единицы	мг/дл	мг/дл	
	Тип реакции	убывающий	убывающий	
	Децимоли	0	0	
	число повторов	1	1	
	имя теста	-	-	
	Считывание	Монохром	Монохром	
	Образец	4	4	
	Реагент 1	240	240	
	Реагент 2	60	60	
Калибровка	Промывка	1,2	1,2	
	Фактор разведения	-	-	
	Ф-р постразведения	2	2	
	Длина основная	340	340	
	Референтная	-	-	
	Считывание 1	75 с	72 с	
	Считывание 2	390 с	384 с	
	Считывание 3	90 с	96 с	
	Опции	Тип калибровки	специфичный	специфичный
		Число повторов	3	3
Повторов бланка		3	3	
Калибр. кривая		-	-	
Опции	Предел абс. бланка	1,200	1,200	
	Кин. предел бланка	-	-	
	Предел линейности	1250(моча 250)	1250(моча 250)	

Рекомендуется выполнять бланк реагента ежедневно, а калибровку как минимум каждые 6 недель, после смены лота реагента или тогда, когда этого требуют процедуры по контролю качества.

#### НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

##### Семенная плазма:

- > 300 мг/дл = 15,6 ммоль/л
- > 10 мг/эякулят = 13 мкмоль/эякулят

##### Моча:

- Мужчины: 116-924 мг/сутки = 0,60-4,81 ммоль/сутки
- Женщины: 250-1160 мг/сутки = 1,3-6,04 ммоль/сутки

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать Фертильный б/х контроль (код 18053) чтобы проверить воспроизводимость измерительной процедуры.

Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

#### МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Следующие данные были получены с использованием анализатора А-25. Детали по оценке данных доступны по запросу.

- Предел линейности: 1250 мг/дл = 65 ммоль/л. (семенная плазма); 250 мг/дл = 13 ммоль/л (моча) Для превышающих значений разведите образец 1/2 дистиллированной водой.
- Предел обнаружения: 19 мг/дл = 1,0 ммоль/л (семенная плазма); 3,8 мг/дл = 0,2 ммоль/л (моча)
- Сходимость (внутри серии):

концентрация (плазма)	концентрация (моча)	CV	n
200 мг/дл = 10,4 ммоль/л	40 мг/дл = 2,08 ммоль/л	2,5%	20
750 мг/л = 27,3 мкмоль/л	150 мг/л = 7,80 мкмоль/л	1,1%	20

- Воспроизводимость (между сериями):

концентрация (плазма)	концентрация (моча)	CV	n
200 мг/дл = 10,4 ммоль/л	40 мг/дл = 2,08 ммоль/л	3,8%	25
750 мг/л = 27,3 мкмоль/л	150 мг/л = 7,80 мкмоль/л	3,3%	25

- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

#### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Цитрат, выделяемый предстательной железой, обнаруживается в семенной плазме. Это основной анион, содержащийся в предстательной железе, который играет важную роль, как ион-хелатирующий агент. Измерение концентрации цитрата в семенной плазме используется как маркер при определении секреторной функции предстательной железы. Низкие количества цитрата свидетельствуют о нарушении секреторной функции железы, причиной которого может являться нарушение проходимости канальцев вследствие воспалений острого или хронического характера.

Цитрат мочи ингибирует формирование почечных камней путем образования растворимых комплексов с кальцием. Снижение выделения цитрата в мочу может быть следствием образования камней, а его измерение в моче в целом является фактором оценки риска образования камней.

#### ПРИМЕЧАНИЕ

- Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции предъявляются при запросе.

## **БИБЛИОГРАФИЯ**

1. Mollering, H & Gruber, W Determination of citrate with citrate liase Anal.Biochem. 1966; 17:369-376.
2. Poirit C, Cherrau. Infertilidad masculine. Aspectos clinicos e investigaciones biological. Acta Bioquim Clin Latinoam 2005; 39:225-241
3. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics 4-th ed. Burtis CA, Ashwood ER. Bruns DE. WB Saunders Co, 2005
4. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge university press, 4-th edition 1999