mti diagnostics
medizin.-techn. Investitionsprojekte GmbH

IVD CE

Lactate
LOX-PAP Fluid

Calibrator

Multicalibrator	973S	2 x 5 ml

Quality Control

Human Control Serum Multicontrol Level I	570-466 LI	6 x 5 ml
Multicontrol Level II	570-456 LII	6 x 5 ml

Die Kontrollintervalle und Grenzwerte müssen an die individuellen Labor- und länderspezifischen Anforderungen angepasst werden. Die erhaltenen Werte sollten innerhalb festgelegter Grenzen liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen festlegen, wenn Werte außerhalb der Grenzwerte liegen.

Anwendungszweck

Diagnostisches Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von Lactat in humanem Serum oder Plasma an photometrischen Systemen.

Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle geeignetes Kontrollmaterial verwenden.
Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen
jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen.
Die Ergebnisse müssen innerhalb der beschriebenen Bereiche liegen.
Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Zusammenfassung

In den letzten Jahren gewannen die enzymatischen Methoden zur Lactat- Bestimmungen gegenüber den kolorimetrischen und titrimetrischen Methoden zunehmend an Bedeutung. Enzymatische Methoden sind generell einfacher in ihrer Handhabung und liefern eine höhere Spezifität, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit.
Der erste Enzymtest, der zur Lactatbestimmung beschrieben wurde, basierte auf dem Transfer eines H+ -Ions von Lactat auf Kaliumferricyanat (rotes Blutlaugensalz) durch die Lactatdehydrogenase (LDH). Das Verfahren war jedoch aufwendig und fand keine große Akzeptanz.
Die folgenden Methoden beruhten auf der UV-Messung der NADH-Bildung. 1974 beschrieben Gutmann und Wahlefeld1 eine Lactat-Bestimmung, bei der das durch die LDH- katalysierte Lactatoxidation gebildete NADH gemessen wird; das gebildete Pyruvat wird durch Hydrazin weggefangen. Auch eine von Noll2 beschriebene Methode basiert auf der katalytischen Wirkung der LDH, enthält aber ALT in der Reaktionslösung, um das bei der Lactatumsetzung anfallende Pyruvat schneller entfernen zu können.
Die hier vorgestellte Methode ist eine Enzymreaktion, bei der Lactat zu Pyruvat umgesetzt wird. Das in dieser Reaktion gebildete Wasserstoffperoxid wird dann in eine zweite Enzymreaktion zur Farbentwicklung eingesetzt. Diese Methode bietet eine längere Reagenzstabilität als die früheren enzymatischen UV-Methoden.

Anwendung

Für die quantitative Bestimmung von Lactat in Serum, Cerebrospinal-Flüssigkeit oder Vollblut , manuell , oder an Analysenautomaten

Test principle

L-Lactat wird durch das spezifische Enzym Lactatoxidase (LOX) zu Pyruvat oxidiert. Das in der ersten Reaktion gebildete Wasserstoffperoxid wird mit Peroxidase (POD) zu einem Farbstoff umgesetzt.

$$\text{L-Lactat} + O_2 \xrightarrow{\text{LOX}} \text{Pyruvat} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{Phenol} + \text{4-Aminoantipyrin} + \xrightarrow{\text{POD}} \text{Chromogen} + 4\ H_2O$$

Die Intensität der gebildeten Farbe ist der L- Lactatkonzentration proportional.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In vitro Diagnosticum. Die im Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen

Kriterium: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert
Plasma
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einem Index I von 10 (ca. 10 mg/dl unkonjugiertes und konjugiertes Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung durch Hämoglobin bis zu einem Index H von 220 (ca. 220 mg/dl Hämoglobin).
Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung durch Lipämie bis zu einem Index L von 50 (ca. 100 mg/dl Triglyzerid).
Es gibt eine geringe Korrelation zwischen Trübung und Triglycerid-Konzentration.

Messbereich

2,0 - 140 mg/dl (0,2 - 15,5 mmol/l)

Probenverdünnung

Proben mit Lactat- Konzentrationen > 140 mg/dl mit der Rerun- Funktion bestimmen. Bei Geräten ohne Rerun- Funktion Proben manuell mit Natriumchlorid- Lösung (0,9%) verdünnen (d.h.1+1). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (d.h. 2).

Referenzbereich

Plasma:	4.5 – 19.8 mg/dl	0.5 – 2.2 mmol/l	Venös
CSF:	10 – 60 mg/dl	1.1 – 6.7 mmol/l	Neugeborene
	10 – 40 mg/dl	1.1 – 4.4 mmol/l	3-10 Tage alt
	10 – 25 mg/dl	1.1 – 2.8 mmol/l	> 10 Tage alt
	10 – 22 mg/dl	1.1 – 2.4 mmol/l	Erwachsene
Vollblut:	8.1 – 15.3 mg/dl	0.9 – 1.7 mmol/l	Venös
	< 11.3 mg/dl	< 1.3 mmol/l	Arteriell

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigene Patientengruppe überprüfen und gegebenenfalls selbst ermitteln.
Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze)

Nachweisgrenze: 2 mg/dl (0,2 mmol/l)
Die untere Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Lactat- Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als die Konzentration, die bei 21 Replikaten drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit für Plasmaproben wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (in der Serie n=21; von Tag / Tag n=63) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Plasma	**In der Serie**		
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human plasma	1.80	0.051	2.83
CS-N	3.35	0.059	1.76
CS-P	3.46	0.074	2.14

***mti*-diagnostics GmbH, Limburger Str. 45, D-65510 Idstein, ☎ +49(0)6126-9595 262 🖷 +49(0)6126-9595 264**
www.mti-diagnostics.de info@mti-diagnostics.com
CE Rev. 2018-01

IVD CE

Lactate
LOX-PAP Fluid

Plasma	Tag zu Tag		
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human plasma	1.67	0.028	1.68
CS-N	3.18	0.045	1.37
CS-P	3.39	0.024	0.71

Methodenvergleich
Ein Vergleich der Lactatbestimmung mit ***mti***-diagnostics Lactat- Test (y) mit einer anderen Lactat- Bestimmungsmethode (x) ergab die folgende Korrelation (mg/dl):

Plasma:

Passing/ Bablok	Lineare Regression
y = -0,11 + 1,015 x	y = 0,01 + 1,015 x
r = 1,00	r = 1,00
SD (ma 95) = 1,86	Sy,x = 1,20

Anzahl der gemessenen Proben: 30
Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 7,0 und 133,9 mg/dl.

CSF:

Passing/ Bablok	Lineare Regression
y = 0,30 + 1,012 x	y = 0,32 + 1,011 x
r = 1,00	r = 1,00
SD (ma 95) = 1,29	Sy,x = 0,92

Anzahl der gemessenen Proben: 49
Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 11,8 und 129,1 mg/dl.

Vollblut:

Passing/Bablok	Lineare Regression
y = 0,04 + 1,036 x	y = 0,13 + 1,040 x
r = 0,997	r = 0,997
SD (ma 95) = 2,9	Sy,x = 2,26

Anzahl der gemessenen Proben: 21
Die Probenkonzentrationen lagen zwischen 5,5 und 90,5 mg/dl.

Reagenzienkonzentration

R1:	
TRIS pH 7.5	50 mmol/l
TBHBS	6 mmol/l
LOX	0.2 kU/l
POD	3 kU/l
4-aminoantipyrin	0.4 mmol/l
R4	
Lactat Standard	30 mg/dl

Reagenz-Handhabung
R1: Gebrauchsfertige Lösung.
R4: Gebrauchsfertige Lösung.

Lagerung und Haltbarkeit
Ungeöffnete Packungsbestandteile bei 2–8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum.
R1: Offen und gekühlt auf dem Analysegerät: 90 Tage.
R2: Offen und gekühlt auf dem Analysegerät: 90 Tage.

Probenentnahme und Vorbereitung
Kein Serum verwenden. Plasma von Blut verwenden, das mit der Standard-Venenpunktionstechnik in Fluorid- Oxalat- Röhrchen (2,5 mg Natriumfluorid und 2,0 mg Kaliumoxalat/ml Blut) gesammelt wurde. Innerhalb von 15 Minuten nach Probenentnahme zentrifugieren. Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) kann, wie entnommen, eingesetzt werden. Vollblut mit zugesetztem Natriumfluorid/Kaliumoxalat- Antikoagulanz verwenden.

HINWEISE:

1. Die Lactatkonzentration steigt bei körperlicher Aktivität rasch an. Die Zeit, die zur Normalisierung der Werte benötigt wird, ist von der individuellen Fitness abhängig. In der Regel ist eine 30 minütige Ruhephase ausreichend.
2. Die Blutproben sollten aus einer ungestauten Vene stammen. Aber minimale Hämostase (weniger als 30 Sekunden) beeinflusst die Lactatkonzentrationen nicht. Falls möglich, keine Abschnürbinden verwenden.
3. Glykolyse in den Blutproben kann Laktatstufen schnell erhöhen. Zellen tragen zur Glykolyse bei und ihr schneller Abbau ist für genaue Laktatanalyse wesentlich. Heparinisiertes Plasma ist annehmbar, aber Vorsichtsmaßnahmen müssen zur Verzögerungglykolyse getroffen werden, indem man das Vollblut auf Eis hält und dann das Plasma von den Zellen innerhalb 15 Minuten der Ansammlung trennt

Vollblut muss vor der Bestimmung wie folgt enteiweißt werden:
In ein Polypropylen-Mikrozentrifugenröhrchen pipettieren:

Perchlorsäure 0,33M	200 µl
Vollblut	200 µl

Probe fest verschließen, auf dem Vibrationsmischer (Vortex) mischen und 10 Minuten bei 1500 RCF zentrifugieren . Danach in das Zentrifugengefäß pipettieren:

NaCl (0,9%)	100 µl

Das Zentrifugengefäß fest verschließen, mehrmals leicht schwenken und den Überstand in ein sauberes Probengefäß zur Analyse überführen. Der Überstand sollte klar bis leicht trübe und farblos sein. Eventuell auftretende Partikel sollten sich innerhalb weniger Minuten auf dem Boden des Probengefäßes absetzen. Das Ergebnis des Vollblutüberstandes mit 2,5 multiplizieren, um die Verdünnung zu berücksichtigen.

Stabilität Lactat:
Plasma (abgetrennt):2 Stunden bei 20-25 °C oder 2 Tage bei 2-8 °C.
CSF: 3 Stunden bei 20-25 °C, 24 Stunden bei 2-8 °C oder
1 Monat bei -20 °C.

Testverfahren
Gelieferte Materialien
• Arbeitslösungen wie vorher angegeben.
Benötigte Materialien (nicht mitgeliefert)
- Kalibratoren und Kontrollen wie unten angegeben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)
- Perchlorsäure (0,3M)

Manuelle Messung ohne Enteiweißung:

Wellenlänge:	Hg 546 nm (492 – 550 nm)
Temperatur:	+25°C / +30°C / +37°C
Küvette:	1 cm Lichtweg
Null Abgleich :	gegen Reagenzien Leerwert

	RL	Standard	Probe
Arbeitsreagenz	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Standard R4	---	10 µl	---
Probe	---	---	10 µl

Mischen und nach 5 min. Inkubation
bei +37°C oder nach 10 min. Bei +25°C messen.

Kalkulation:
ΔA Probe x Standard Konz. = Lactat Konzentration (mg/dl)
ΔA Standard
Die Konzentration des beigefügten Standard/ Kalibrator R4:
30 mg/dl (3,33 mmol/l)

mti-diagnostics GmbH, Limburger Str. 45, D-65510 Idstein, ☎ +49(0)6126-9595 262 🖷 +49(0)6126-9595 264
www.mti-diagnostics.de info@mti-diagnostics.com
CE Rev. 2018-01

IVD CE

Lactate
LOX-PAP Fluid

Manuelle Messung mit Enteiweißung:

Blut, Kale.:	100 µl
Perchlorid acid 0.33 M	200 µl

Mischen, zentrifugieren 5 min. bei 5000 rpm

	Blank	Probe
Supernatant	----	50 µl
Dest. Wasser	50 µl	----
Arbeitsreagenz	1000 µl	1000 µl

Gut mischen, Inkubieren bei + 37°C für 5 min. Ablesen der Absorption von Probe und Standard gegen Reagenz blank.

Kalkulation:

$$\frac{\Delta A \text{ Probe}}{\Delta A \text{ Standard}} \times \text{Konz. Kalibrator / Standard} = \text{Lactat Konz.}$$

Kalibrationshäufigkeit
Die Rekalibrierung wird empfohlen:
• Nach Flaschenwechsel (2-Punkt)
• Nach Chargenwechsel (2-Punkt)
• Bei Qualitätskontrollwerten außerhalb des angegebenen Bereichs.
Kalibrationsverifikation: Nicht erforderlich.

Entsorgung

Bitte beachten Sie entsprechenden Vorschriften.

Wichtige Gebrauchsinformation

Die Verwendung von Einmalmaterial ist dringend zu empfehlen, da Verunreinigungen jeder Art die Bestimmung stören können.
Dieses Reagenz ist ausschließlich für den Laborgebrauch bestimmt und darf nur von geschultem Laborpersonal verwendet werden.
Der Anwender verpflichtet sich zur Einhaltung aller Sicherheitsmaßnahmen und handelt nach der DIN 14971 (Risikomanagement).
Der Hersteller übernimmt keine Haftung für Falschanwendung.
Bitte beachten Sie auch das Sicherheitsdatenblatt.
Vor Sonneneinstrahlung schützen!

Literatur

1. Bablok W et al. A general regression procedure for method transformation. J Clin Chem Biochem. 1988;26:783-790.
2. Barhan D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 97.1972:142.
3. Bergmeyer HU (ed), New York, NY: Academic Press Inc; 1974;1464.
4. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co; 1994:976.
5. Gutmann I, Wahlefeld A. Methods of Enzymatic Analysis. 2nd ed.
6. Noll F. Methods of Enzymatic Analysis. 2nd ed. Bergmeyer HU ed.
7. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983;21:709-720.
8. Tietz NW. clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1995: 382 – 383.
9. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. 1969;6:24.

Westgard JO, Lahmeyer BL, Birnbaum ML. Clin Chem. 1972; 18:1334-1338

mti-diagnostics GmbH, Limburger Str. 45, D-65510 Idstein, ☎ +49(0)6126-9595 262 🖷 +49(0)6126-9595 264
www.mti-diagnostics.de info@mti-diagnostics.com

CE Rev. 2018-01