

Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von Lactat im Blut, Plasma und Liquor

LAC 142

Best. Nr. LAC 142
Inhalt: 40 Tests

Methode

Enzymatischer Farbttest, LOD-PAP-Methode¹⁾
 Die Bestimmung kann direkt aus Blut erfolgen.
 Blut wird durch das Reagenz sofort und vollständig hämolysiert.

Probenmaterial

Kapillarblut oder Venenblut, Plasma, Liquor.
 Serum ist zur Lactatbestimmung nicht geeignet.¹⁾
 In der Sportmedizin wird ausschließlich Kapillarblut (aus dem hyperämisierten Ohrfläppchen) eingesetzt. Blut muss sofort in die Rundküvette pipettiert werden.
Haltbarkeit* der hämolysierten Probe in der Pufferlösung:
 bei +2°C bis +8°C: 24 Stunden
 bei +8°C bis +20°C: 12 Stunden
 bei +20°C bis +30°C: 6 Stunden
 bei +30°C bis +40°C: 3 Stunden
 * Anstieg der Lactatkonzentration < 5 %

Zur Gewinnung von Plasma ca. 2 mL Blut mit 2 Tropfen Fluorid/EDTA mischen und innerhalb von 2 Stunden ca. 5 Min. bei 3000 U/min zentrifugieren.²⁾
 Stabilität des Lactats im Überstand bei +2 bis +8°C: 24h

Reagenz

Inhalt / Konzentrationen:
 1. Startreagenz (Kappen in der PE-Flasche)
 Lactatoxidase (LOD) > 450 U/L, Peroxidase (POD) > 750 U/L,
 4-Aminophenazon 0,23 mmol/L
 2. Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)
 4-Chlorphenol 1,8 mmol/L, Natriumazid < 0,1 %, Triton X-100 < 1%, PIPES-Puffer 20 mmol/L

Sicherheitshinweis

Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid (< 0,1 %) und Triton X-100 (< 1%). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.
 Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem Behälter entnehmen.

Messbedingungen

Messgeräte: Diaglobal Photometer
 Messwellenlänge: 520nm
 Temperatur: +5°C bis +40°C
 Messzeit: Ca. 3 - 4 Min. (temp.abhängig)

Messbereich

0,2 - 30 mmol/L (1,8 - 273 mg/dL)

Arbeitsanleitung

Die Bestimmung kann als Einzelmessung oder in Serie [mit Saldierung der E(0)-Werte] durchgeführt werden.

A. Einzelmessung

In Rundküvette pipettieren:	
	Analyse
Probe	10 µL
Gut mischen.	

- Test <LAC> anwählen
- Küvette mit Probe in das Photometer einsetzen (Nullpunkteinstellung)
- Kappe aus der PE-Flasche auf die Küvette aufschrauben und Startreagenz durch mehrmaliges Kippen lösen
- Taste [ON/ENTER] drücken
- Küvette wieder in das Photometer einsetzen
- Nach Ablauf der Reaktionszeit Ergebnis ablesen

B. Serienmessung (bis zu 20 Proben)

In Rundküvetten pipettieren:	
	Analyse
Probe	10 µL
Gut mischen.	

- Test <LAC> anwählen
- Küvetten mit Probe nacheinander in das Photometer (Nullpunkteinstellungen)
- Kappen aus der PE-Flasche auf die Küvetten aufschrauben und Startreagenz durch mehrmaliges Kippen lösen
- Taste [ON/ENTER] drücken
- Die erste Küvette **sofort** wieder in das Photometer einsetzen
- Nach Ablauf der Reaktionszeit Ergebnis ablesen
- Die übrigen Küvetten in der Reihenfolge der Nullpunkteinstellungen in das Photometer einsetzen
- Ergebnisse der jeweiligen Proben werden sofort angezeigt

Qualitätssicherung

Für die Qualitätssicherung empfehlen wir das Diaglobal Qualitätskontrollset LAC QS.

Referenzwerte²⁾ (Ruhelactat)

	mmol/L	mg/dL
Kapillarblut	0,5 - 1,8	4,5 - 16,2
Plasma (venös)	< 2,2	< 19,8
Liquor	1,2 - 2,1	10,8 - 18,9

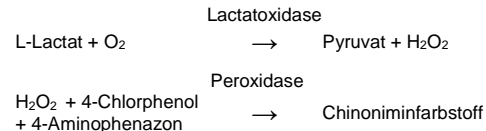
Zusammenfassung

Lactat ist das Endprodukt des anaeroben Glucose-Stoffwechsels. Es wird verstärkt gebildet, wenn die Körperzellen aufgrund eines Sauerstoffdefizits ihren Energiebedarf nicht mehr aerob (unter Beteiligung von Sauerstoff) decken können. Erhöhte Ruhe-Lactatwerte sind deshalb ein Indiz dafür, dass einzelne Bereiche des Körpers unzureichend mit Sauerstoff versorgt werden. Die Lactat-Messung ist deshalb unverzichtbar in zahlreichen Notfallsituationen, z.B. bei Schock, Herz-Kreislaufversagen, Herzinsuffizienz und metabolischen Azidosen. Ferner ist die Lactatbestimmung bei bakterieller Meningitis und entzündlichen Erkrankungen des Gehirns (hier wird als Probenmaterial Liquor eingesetzt) indiziert.²⁾

Besondere Bedeutung hat die Lactatmessung in der Sportmedizin (Leistungsdiagnostik) und Trainingssteuerung erlangt. Lactat ist der wichtigste Indikator zur Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Anhand der Lactatleistungskurve (Darstellung der Lactatkonzentration in Abhängigkeit von der Belastungsstufe) kann der Trainingszustand beurteilt und der optimale Trainingspuls festgelegt werden.⁴⁾ Längeres Training oberhalb der anaeroben Schwelle (4 mmol/L) verschlechtert die Ausdauerleistungsfähigkeit. Für den Fitness- und Freizeitsport werden Lactatkonzentrationen zwischen 1,5 und 3,0 mmol/L empfohlen.

Die Bestimmung des Lactats erlangte erst im letzten Quartal des vergangenen Jahrhunderts mit der Entwicklung einer UV-Methode, bei der das in einer LDH-katalysierten Reaktion gebildete NADH gemessen wird, praktische Bedeutung. Die dem Diaglobal-Test zugrundeliegende LOD-PAP-Methode basiert auf der enzymatischen Umsetzung von Lactat mittels Lactatoxidase (LOD) zu Pyruvat und der anschließenden Umsetzung des intermediär gebildeten H₂O₂ zu einem Farbstoff.²⁾

Messprinzip



Leistungsmerkmale

Spezifität / Interferenzen

Keine Störung durch Lipämie und Bilirubin (bis 10 mg/dL), Ascorbinsäure in physiologischen Konzentrationen (<30 mg/L) sowie durch niedrige und hohe Hämoglobin-Spiegel.
 Arzneimittelinterferenzen: Dopamin (10 mg/L), Levodopa (20 mg/L) und Methyldopa (20 mg/L) täuschen erniedrigte Lactatwerte vor.⁵⁾ Störungen durch andere Arzneimittel sind nicht bekannt.

Unpräzision

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [mmol/L]	Standard-Abweichung [mmol/L]	VK [%]
EDTA-Blut 1	1,58	0,04	2,8
EDTA-Blut 2	5,48	0,07	1,3
Kontrolle 1	3,95	0,07	1,7
Kontrolle 2	9,95	0,13	1,3
Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [mmol/L]	Standard-Abweichung [mmol/L]	VK [%]
Kontrolle 1	4,12	0,09	2,1
Kontrolle 2	10,1	0,19	1,9

Analytische Sensitivität

Untere Nachweisgrenze: 0,2 mmol/L (1,8 mg/dL)

Methodenvergleich

Ein Vergleich des Diaglobal-Tests LAC 142 (y) mit zwei anderen, auf der UV- bzw. der LOD-PAP-Methode basierenden kommerziell erhältlichen Tests (x) lieferte nach dem Verfahren von Passing/Bablok⁶⁾ folgende Korrelationsdaten:

a) LAC 142 / UV-Methode: Plasma
 $y = 1,020x - 0,05$
 $r = 0,999$
 $n = 32$

b) LAC 142 / LOD-PAP: Hämolysat
 $y = 1,016x + 0,03$
 $r = 0,998$
 $n = 46$

Konzentrationsbereich: 0,5 - 18 mmol/L

Hinweise zur Entsorgung

Abfallschlüsselnummer 180106:
 Küvetten mit Reagenz gelten als Sonderabfall. Reagenz nicht in Oberflächenwasser oder die Kanalisation gelangen lassen.
 Entsorgung gemäß den behördlichen Vorschriften.
 Nichtkontaminierte und restentleerte Verpackungen können einer Wiederverwertung zugeführt werden.

Literatur

- Schlegel R, In: Böning D, Clasing D, Weicker H. Stellenwert der Laktatbestimmung in der Leistungsdiagnostik Stuttgart: Gustav Fischer, 1994:251
- Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 268
- http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
- P. Janssen. Ausdauertraining – Trainingssteuerung über die Herzfrequenz- und Milchsäurebestimmung. 2. Aufl. 1999 – Balingen: Spitta Verlag GmbH
- Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985
- Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709

Reagent for quantitative In-vitro-determination of lactate in blood, plasma and liquor

LAC 142

Order No. LAC 142
Content: 40 tests

Method

Enzymatic colorimetric test, LOD-PAP method¹⁾
The determination can be carried out directly from blood.
Blood will be immediately and completely haemolyzed by the reagent.

Sample material

Capillary or venous blood, plasma, liquor.
Serum cannot be used for the determination of lactate¹⁾.
In sport medicine only capillary blood (from hyperaemized ear lobe) is used. Blood has to be pipetted into the round cuvette immediately.
Stability* of the haemolyzed sample in the buffer solution:
at +2°C to +8°C: 24 hours
at +8°C to +20°C: 12 hours
at +20°C to +30°C: 6 hours
at +30°C to +40°C: 3 hours

* Increase in lactate concentration < 5 %

Obtain plasma by mixing approx. 2 mL of blood with 2 drops of fluoride/EDTA and centrifuging for approx. 5 min. at 3000 U/min within 2 hours.²⁾ Stability of lactate in the decanted supernatant at +2 to + 8°C: 24h

Reagent

Contents / concentrations:
1. Starter reagent (caps in PE-bottle)
Lactate oxidase (LOD) > 450 U/L, Peroxidase (POD) > 750 U/L, 4-Aminophenazone 0.23 mmol/L
2. Buffer solution (pre-portioned in round cuvettes)
4-Chlorophenol 1.8 mmol/L, Sodium azide < 0.1 %, Triton X-100 < 1%, PIPES buffer 20 mmol/L

Safety information

The buffer solution (round cuvette) contains Sodium azide (<0.1 %) and Triton X-100. Do not swallow and avoid contact with skin and mucous membranes. If desired a safety data sheet will be provided.³⁾

Storage and shelf life

Reagents can be kept at a temperature between +2°C and +8°C until the expiry date indicated on the packaging. Please take the screw caps out of the container just before the analysis and close the container immediately.

Measurement conditions

Measurement devices: Diaglobal Photometer

Meas. wavelength: 520nm
Temperature: +5°C to +40°C
Meas. time Ca. 3 - 4 min. (depends on temp.)

Measurement range

0.2 - 30 mmol/L (1.8 - 273 mg/dL)

Working instructions

The measurement can be performed as a single or serial measurement [with a balancing of the A(0) counts].

A. Single measurement

Pipette into round cuvette:	
	Analysis
Sample	10 µL
Mix thoroughly.	

- Select the <LAC> test
- Insert analysis cuvette (blank value)
- Screw the cap from PE-bottle onto the cuvette, dissolve the starter reagent by inverting several times
- Press [ON/ENTER]
- Insert analysis cuvette again
- Wait for result

B. Measurement of series (up to 20 samples)

Pipette into round cuvettes:	
	Analysis
Sample	10 µL
Mix thoroughly.	

- Select the <LAC> test
- Insert the analysis cuvettes one after another (blank values)
- Screw the caps from PE-bottle onto the cuvettes, dissolve the starter reagent by inverting several times
- Press [ON/ENTER]
- Insert the first analysis cuvette **immediately** again
- Wait for result
- Insert the other analysis cuvettes one after another in the same order as of the blank value measurement
- Results of the respective analysis cuvette can be read immediately

Quality assurance

For quality assurance we recommend the Diaglobal control set LAC QS.

Reference values²⁾

	mmol/L	mg/dL
Capillary blood	0.5 - 1.8	4.5 - 16.2
Plasma (venous)	< 2.2	< 19.8
Liquor	1.2 - 2.1	10.8 - 18.9

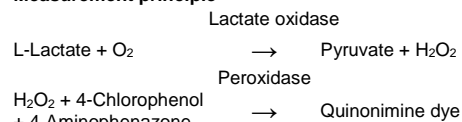
Summary

Lactate is the final product of the anaerobic glucose metabolism. It is increasingly produced when the rate of energy demand by somatic cells cannot be met by aerobic (involves oxygen) respiration due to an oxygen deficiency. Hence, high counts of lactate in resting indicate that several areas of the body are provided insufficiently with oxygen. Therefore, the lactate measurement is indispensable for numerous cases of emergency as, for example, in the case of shock, cardiovascular collapse, cardiac insufficiency, and metabolic acidoses. Furthermore, the determination of lactate is indicated when a bacterial meningitis and inflammatory cerebral diseases (here, apply sample material liquor) are existent.²⁾

The measurement of lactate has become notably important in sport medicine (performance diagnostics) and control of training cycles. Lactate is the most important indicator for the evaluation of the physical performance. On the basis of the lactate performance curve (representation of the lactate concentration depending on the degree of stress) the training condition may be evaluated and the optimal training pulse can be set up.⁴⁾ A longer training above the anaerobic barrier (4 mmol/L) deteriorates the endurance performance ability. It is recommended to have lactate concentrations between 1.5 and 3.0 mmol/L for fitness and recreational sport.

It was only during the last quarter of the past century that the determination of lactate became important practically due to the development of a UV method which measures NADH, which is generated in a LDH catalysed reaction. The LOD-PAP method, which forms the basis of the Diaglobal test, is rested upon the enzymatic conversion of lactate by means of lactate oxidase (LOD) to pyruvate and the following conversion of the intermediary-generated H₂O₂ to a dye.²⁾

Measurement principle



The concentration of the quinonimine dye is a measure for the lactate concentration in the blood and plasma respectively. It is measured photometrically at 520 nm. The end point of the reaction is identified automatically by the device itself.

Performance parameters Specificity / interferences

Neither lipaemia, bilirubin (up to 10 mg/dL), ascorbic acid in physiological concentrations (<30 mg/L) nor low and high haemoglobin levels will interfere with the determination. Pharmaceutical interferences: Low lactate counts due to Dopamine (10 mg/L), Levodopa (20 mg/L), and Methyldopa (20 mg/L).⁵⁾ Interferences due to other pharmaceuticals are not known.

Inaccuracy

The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 20]	Average [mmol/L]	Standard deviation [mmol/L]	VK [%]
EDTA blood 1	1.58	0.04	2.8
EDTA blood 2	5.48	0.07	1.3
Control 1	3.95	0.07	1.7
Control 2	9.95	0.13	1.3
From day to day [n = 20]	Average [mmol/L]	Standard deviation [mmol/L]	VK [%]
Control 1	4.12	0.09	2.1
Control 2	10.1	0.19	1.9

Analytic sensitiveness

Lower detection limit: 0.2 mmol/L (1.8 mg/dL)

Comparison of methods

A comparison of the Diaglobal test LAC 142 (y) and two other commercially available tests (x) based on the UV and LOD-PAP method respectively resulted in the following correlation data according to the Passing/Bablok⁶⁾ process:

a) LAC 142 / UV method: $y = 1,020x - 0,05$
Plasma $r = 0,999$
n = 32

b) LAC 142 / LOD-PAP: $y = 1,016x + 0,03$
Haemolysate $r = 0,998$
n = 46

Concentration range: 0.5 - 18 mmol/L

Information on disposal

Waste code number 180106:
Vials with reagent are considered hazardous waste. Do not allow reagent to reach surface water or sewage system. Dispose of in accordance with official regulations. Non-contaminated and completely empty packaging can be recycled. Non-contaminated and completely empty packaging can be recycled.

Bibliography

- Schlegel R, In: Böning D, Clasing D, Weicker H. Stellenwert der Laktatbestimmung in der Leistungsdiagnostik Stuttgart: Gustav Fischer, 1994:251
- Thomas L. Labor und Diagnose. 4. Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 268
- <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
- P. Janssen. Ausdauertraining – Trainingssteuerung über die Herzfrequenz- und Milchsäurebestimmung. 2. Aufl. 1999 – Balingen: Spitta Verlag GmbH
- Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985
- Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709