

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents
B7851	200 / 600	R1 6 x 20 ml
B7853	300 / 600*	R1 6 x 20 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

For the quantitative determination of lactate in plasma or cerebrospinal fluid.

Summary:

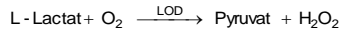
Anaerobic glycolysis markedly increases blood lactate and causes some increase in pyruvate levels, especially with prolonged exercise. The common cause for increased blood lactate and pyruvate is anoxia resulting from such conditions as shock, pneumonia and congestive heart failure. Lactic acidosis may also occur in renal failure and leukaemia. Thiamine deficiency and diabetic ketoacidosis are associated with increased levels of lactate and pyruvate.

Lactate levels in cerebrospinal fluid (CSF) are increased in bacterial meningitis. Increased (CSF) levels also occur in hypocapnia, hydrocephalus, brain abscesses, cerebral ischemia and any clinical condition associated with reduced oxygenation of the brain and / or increased intracranial pressure.

The method presented here uses an enzymatic reaction to convert lactate to pyruvate. The hydrogen peroxide produced by this reaction is then used in an enzymatic reaction to generate a colored dye.

Test principle:

Lactate-oxidase (LOD) cleaves lactate into pyruvate and H₂O₂, which reacts in the presence of peroxidase (POD) with 4-aminoantipyrine and TBHB to a red quinoneimin dye. The increase of color is proportional to the lactate concentration.



Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer pH 7.5	150 mmol/l
Lactate oxidase (LOD)	> 0.3 kU/l
Peroxidase (POD)	> 1.0 kU/l
4-aminoantipyrine	0.3 mmol/l
TBHB*	2.5 mmol/l

*Tribrom-3-hydroxybenzoic acid

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Onboard stability: R1: 60 days

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Test results were obtained on a **BioLyzer® 300** analyzer.

Specimen:

- Do not use serum.
- CSF or Plasma with one of the following anticoagulants: Potassium EDTA, Fluoride EDTA, Fluoride Heparin, or Fluoride Oxalate.
- Use plasma from blood collected by standard venipuncture technique. Centrifuge within 15 minutes of drawing specimen.
- Cerebrospinal fluid (CSF) may be used as obtained.
- Blood samples should only be drawn prior to the administration of Metaminizole.

Please note:

1. The lactate level increases during rapidly physical exercise. The time required for return to normal lactate values depends on the physical fitness of the subject. Thirty minutes at rest is usually sufficient for this purpose.
2. Blood samples should be drawn from a stasis-free vein. However, minimal hemostasis (less than 30 seconds) will not affect lactate levels. Avoid the use of a tourniquet, if possible.
3. Glycolysis in blood samples can rapidly increase lactate levels. Cells contribute to the glycolysis and their quick removal is essential for accurate lactate analysis. Heparinized plasma is acceptable, but precautions must be taken to retard glycolysis by keeping the whole blood on ice and then separating the plasma from the cells within 15 minutes of collection.

Stability:

Plasma	2 hours	at +20°C to +25°C
	24 hours*	at +2°C to +8°C
CSF	3 hours	at +20°C to +25°C
	24 hours	at +2°C to +8°C
	1 month	at -20°C

* Determine Potassium EDTA Plasma within 2 hours.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Plasma

Ascorbic acid: Interference at all concentrations.

Icterus: No significant interference up to an index I of 12.5 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration 12.5 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an Index H of 125 (approximate hemoglobin concentration: 125 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 67.5 (approximate triglycerides concentration: 125 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

False low results can occur in patients taking Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetyl cysteine (NAC) or Metamizole (Dipyrone). The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and Controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Conversion into SI-units: Lactate [mg/dl] x 0.11 = [mmol/l]

Measuring / reportable range:

1.0 – 200 mg/dl (0.11 – 22.2 mmol/l)*

Determine samples with higher concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl as diluent.

* BioLyzer 200: 1.0 – 150 mg/dl (0.11 – 16.5 mmol/l)

Analytical sensitivity (lower detection limit):

0.2 mg/dl (0.02 mmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable lactate concentration that can be distinguished from zero.

Expected values:

According to Tietz:

Plasma:	4.5 – 19.8 mg/dl	0.5 – 2.2 mmol/l	venous
	4.5 - 14.4 mg/dl	0.5 – 1.6 mmol/l	arterial
CSF:	10 – 60 mg/dl	1.1 – 6.7 mmol/l	neonate
	10 – 40 mg/dl	1.1 – 4.4 mmol/l	3-10 days old
	10 – 25 mg/dl	1.1 – 2.8 mmol/l	> 10 days old
	10 – 22 mg/dl	1.1 – 2.4 mmol/l	adult

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the lactate results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls between day (n = 20) and within run (n = 20). The following results were obtained:

Plasma	Within run			
	Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
	Sample 1	14.1	0.103	0.7
	Sample 2	40.8	0.282	0.7
	Sample 3	100.3	0.852	0.8

Plasma	Run to run			
	Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
	Sample 1	13.9	0.182	1.3
	Sample 2	40.6	0.890	2.2
	Sample 3	101.9	0.979	1.0

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest[®] Lactate determination (y) with another commercial available assay (x) gave the following correlation (mg/dl):
 $y = 1.3344x + 1.891$ $r^2 = 0.9953$

Quality Control:

Human Control Serum:

Contronorm [®] Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath [®] Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio-Cal [®] E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal [®]	20 x 3 ml	#1420

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended:

- After lot change
- as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Barhan D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst* 97.1972:142.
2. Bergmeyer HU (ed), New York, NY: Academic Press Inc; 1974;1464.
3. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 4th ed. St.Louis. Elsevier Saunders; 2006.
4. Gutmann I, Wahlefeld A. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed.
5. Noll F. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed. Bergmeyer HU ed.
6. Tietz NW. *clinical Guide to Laboratory Tests*. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1995: 382 – 383.
7. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 1969;6:24.
8. Westgard JO, Lahmeyer BL, Birnbaum ML. *Clin Chem.* 1972; 18:1334-1338.
9. Heil W, Rick W. Lactatbestimmung im Liquor cerebrospinalis zur Differenzierung zwischen bakterieller und viraler Meningitis. *Internist* 1984; 25:320-324.

Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt		
B7851	200 / 600	R1	6 x	20 ml
B7853	300 / 600*	R1	6 x	20 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

Zur quantitativen Bestimmung von L-Lactat in Plasma und Liquor.

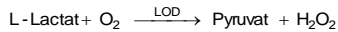
Zusammenfassung:

Anaerobe Glykolyse erhöht die Lactat-Konzentration im Blut deutlich und bedingt eine gewisse Erhöhung der Pyruvatkonzentration, besonders bei längerer körperlicher Betätigung. Ein häufiger Grund für erhöhte Lactat und Pyruvatwerte im Blut ist eine Anoxie, die durch Schock, Pneumonie und kongestive Herzinsuffizienz hervorgerufen werden kann. Lactatazidose kann auch bei Nierenversagen und Leukämie auftreten. Mit erhöhten Lactat- und Pyruvatkonzentrationen gehen auch Thiaminmangel und diabetische Ketoazidose einher. Erhöhte Lactatwerte im Liquor findet man bei bakterieller Meningitis, aber auch bei Hypokapnie, Hydrozephalus, Gehirnabszessen zerebraler Ischämie und in jeder klinischen Situation, bei der die Sauerstoffversorgung des Gehirns vermindert und/oder der Schädelinnendruck erhöht ist. Lactatmessungen zur Bewertung des Säure-Base-Status werden bei der Diagnose und Behandlung von Lactatazidosen (abnorm hoher Blut pH Wert) durchgeführt.

Die hier vorgestellte Methode zur Lactatbestimmung ist eine enzymatische Reaktion, bei der Lactat zu Pyruvat umgesetzt wird. Das in dieser Reaktion gebildete Wasserstoffperoxid wird dann in einer zweiten Enzymreaktion zur Farbentwicklung eingesetzt.

Testprinzip:

Lactat-Oxidase (LOD) spaltet Lactat in Pyruvat und H₂O₂, das in Gegenwart von Peroxidase (POD) mit 4-Aminoantipyrin und Phenol zu einem roten Chinonimin-farbstoff reagiert. Die Farbzunahme ist der Lactatkonzentration proportional.



Konzentrationen der Reagenzien:

Tris-Puffer pH 7,5	150 mmol/l
Lactatoxidase (LOD)	> 0,3 kU/l
Peroxidase (POD)	> 1,0 kU/l
4-Aminoantipyrin	0,3 mmol/l
TBHB*	2,5 mmol/l

*Tribrom-3-hydroxybenzoesäure

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnete Packungsbestandteile: bis zum angegebenen Verfallsdatum bei +2°C bis +8°C.

Onboard-Stabilität: R1: 60 Tage

Probenentnahme und Vorbereitung:

- Kein Serum verwenden.
- Liquor (CSF) oder Plasma mit einem der folgenden Gerinnungshemmer: Kalium EDTA, Fluorid EDTA, Fluorid Heparin oder Fluorid Oxalat.
- Plasma von Blut verwenden, das mit der Standard-Venenpunktionstechnik entnommen wurde. Innerhalb von 15 Minuten nach Probenentnahme zentrifugieren.
- Liquor kann, wie entnommen, eingesetzt werden.
- Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Metaminazol entnommen werden.

Bitte beachten:

- 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.
- Die Blutproben sollten aus einer ungestauten Vene stammen. Aber minimale Hämostase (weniger als 30 Sekunden) beeinflusst die Lactatkonzentrationen nicht. Falls möglich, keinen Stauschlauch verwenden.
- In den Blutproben kann die Glykolyse den Lactatspiegel schnell erhöhen. Da Zellen zur Glykolyse beitragen ist ihre schnelle Entfernung für die genaue Laktatanalyse wesentlich. Heparinplasma ist geeignet, es müssen jedoch Vorsichtsmaßnahmen zur Verzögerung der Glykolyse getroffen werden, indem man das Vollblut auf Eis kühlt und dann das Plasma innerhalb von 15 Minuten nach der Blutabnahme von den Zellen abtrennt.

Stabilität:

Plasma	2 Stunden	bei +20°C - +25°C
	24 Stunden*	bei +2°C - +8°C
CSF	3 Stunden	bei 20°C - +25°C
	24 Stunden	bei +2°C - +8°C
	1 Monat	bei -20°C.

* Kalium EDTA Plasma innerhalb von 2 Stunden untersuchen.

Proben, die Präzipitate enthalten, vor Testdurchführung zentrifugieren.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten. Messungen wurden auf einem **Bioalyzer® 300** durchgeführt.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Kriterium: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert

Plasma

Ascorbinsäure: Beeinflussung bei allen Konzentrationen.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einem Index I von 12,5 (ca. 12,5 mg/dl unkonjugiertes und konjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung durch Hämoglobin bis zu einem Index H von 125 (ca. 125 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung durch Lipämie bis zu einem Index L von 67 (ca. 125 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Falsch niedrige Ergebnisse können bei Patienten auftreten, die Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetylcystein (NAC) oder Metaminazol (Novaminusulfon, Dipyron) bekommen. Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

- Arbeitslösungen wie oben angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibratoren und Kontrollen wie unten angegeben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Umrechnung in SI-Einheiten: Lactat [mg/dl] x 0,11 = [mmol/l]

Messbereich:

1 – 200 mg/dl (0,11 – 22,2 mmol/l)*

Proben mit höheren Lactat-Konzentrationen werden über die Rerun-Funktion mit NaCl-Lösung (0,9%) gemessen.

* Bioalyzer 200: 1.0 – 150 mg/dl (0.11 – 16.5 mmol/l)

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0,2 mg/dl (0,02 mmol/l)

Die untere Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Lactat-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Referenzbereich:

Nach Tietz:

Plasma:	4,5 – 19,8 mg/dl	0,5 – 2,2 mmol/l	venös
	4,5 – 14,4 mg/dl	0,5 – 1,6 mmol/l	arteriell
CSF:	10 – 60 mg/dl	1,1 – 6,7 mmol/l	Neugeborenes
	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.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß eines internen Protokolls (n = 20) bestimmt und führte zu folgenden Ergebnissen:

Probe	In der Serie		
	Mittelwert mg/dl	SD Mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	14,1	0,103	0,7
Kontrollserum 2	40,8	0,282	0,7
Kontrollserum 3	100,3	0,852	0,8

Probe	Tag zu Tag		
	Mittelwert mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	13,9	0,182	1,3
Kontrollserum 2	40,6	0,890	2,2
Kontrollserum 3	101,9	0,979	1,0

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® Lactat (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):

$$y = 1,3344x + 1,891 \quad r^2 = 0,9953$$

Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

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

Kalibration:

Kalibrationstyp: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio-Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

Kalibrationshäufigkeit

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- Nach Flaschenwechsel
- Nach Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Literatur:

1. Barhan D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst* 97.1972:142.
2. Bergmeyer HU (ed), New York, NY: Academic Press Inc; 1974;1464.
3. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 4th ed. St.Louis. Elsevier Saunders; 2006.
4. Gutmann I, Wahlefeld A. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed.
5. Noll F. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed. Bergmeyer HU ed.
6. Tietz NW. *clinical Guide to Laboratory Tests*. 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1995: 382 – 383.
7. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 1969;6:24.
8. Westgard JO, Lahmeyer BL, Birnbaum ML. *Clin Chem.* 1972; 18:1334-1338.
9. Heil W, Rick W. Lactatbestimmung im Liquor cerebrospinalis zur Differenzierung zwischen bakterieller und viraler Meningitis. *Internist* 1984; 25:320-324.