

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 14, 1976, pp. 415-417

Erfahrungen mit der Glucose-Dehydrogenase-UV-Methode zur Bestimmung der Blutglucose

Von Roswitha Dolhofer, L. Weiss und O. H. Wieland

Klinisch-Chemisches Institut, Städt. Krankenhaus München-Schwabing, 8000 München 40, Kölner Platz 1

(Eingegangen am 12. März/23. Mai 1976)

Zusammenfassung: Eine Methode zur Blutzuckerbestimmung mit Glucose-Dehydrogenase wird beschrieben. Unserer Erfahrung mit dieser Methode liegen 70 000 Blutzuckerbestimmungen innerhalb von sechs Monaten zu Grunde. Ein weiter Linearitätsbereich, Richtigkeit und Spezifität zeichnen diese Methode aus. Störungen durch physiologischerweise im Blut vorkommende Substanzen sind nicht bekannt. Die Glucose-Dehydrogenase-Methode korreliert gut mit der Hexokinase-Glucose-6-phosphatdehydrogenase-Methode.

Experience with the Glucose-Dehydrogenase-UV-Method for the Determination of Blood Glucose

Summary: A method for glucose determination using glucose-dehydrogenase is described. Our experience with this method is based on 70 000 determinations of blood glucose within six months. Linearity over a wide range, accuracy and specificity highly recommend this method. No interference was noticed by substances physiologically occurring in blood. The glucose-dehydrogenase-method correlated well with the hexokinase glucose-6-phosphatedehydrogenase method for the determination of blood glucose.

Einführung

Die Messung der Blutglucose gehört zu den häufigsten in einem klinisch-chemischen Laboratorium durchgeführten Untersuchungen. Eine Methode, die einfach und schnell durchzuführen ist, Spezifität und nur geringe Störanfälligkeit aufweist und darüber hinaus ökonomische Aspekte berücksichtigt, ist zu empfehlen. Eine von *Banauch et al.* (1) 1975 beschriebene Methode der Glucosebestimmung mit Glucose-Dehydrogenase (EC 1.1.1.47) aus *Bacillus megaterium* M 1286 wird diesen Ansprüchen gerecht. Die vorliegende Arbeit berichtet über unsere Erfahrungen, die wir bei mehrmonatigem Einsatz dieser Methode im klinisch-chemischen Routinebetrieb gesammelt haben.

Material und Methoden

Geräte

1. Eppendorf Photometer 1100M mit Schreiber
2. Eppendorf Substratautomat 5030
3. Mikrolitersystem Eppendorf

Reagenzien

1. 30 g/l (0,33 mol/l) Perchlorsäure
2. Testpackung „Merckotest Glucose“ (Gluc-DH-Methode) UV-Test

3. Glucose-6-phosphat und Glucose-1-phosphat Fa. Boehringer, Mannheim
4. Alle anderen Reagenzien stammten von der Fa. E. Merck, Darmstadt (Reinheitsgrad p.A. oder für biochemische Zwecke).

Herstellung der Reagenzlösung

Zur Glucosebestimmung werden die Enzyme Glucose-Dehydrogenase und Mutarotase in Natrium-Phosphatpuffer pH 7,6, 0,12 mol/l so gelöst, daß der Testansatz 5 kU/l Glucose-Dehydrogenase und 0,18 kU/l Mutarotase (EC 5.1.3.3) enthält. Als Coenzym wird NAD in einer Endkonzentration von 2,2 mmol/l der Pufferenzymlösung zugesetzt.

Bestimmungsmaterial

Für die Bestimmung kann Vollblut oder Plasma verwendet werden. Vollblut oder Plasma werden im Verhältnis 1:11 mit Perchlorsäure gemischt, 2 min bei etwa $10\,000 \times g$ zentrifugiert und der eiweißfreie Überstand zur Bestimmung eingesetzt.

Manuelle Bestimmung

0,05 ml Perchlorsäureüberstand werden mit 0,5 ml Reagenzlösung 10 min bei 37°C (oder 15 min bei 25°C) inkubiert und die Absorption der Probe gegen einen Reagenzienleerwert, bestehend aus 0,05 ml Perchlorsäure und 0,5 ml Reagenzlösung, bei 366 nm gemessen.

Berechnung

Die Berechnung der Glucosekonzentration erfolgt, sofern nicht anders angegeben, mittels des molaren Absorptionskoeffizienten für NADH, $\epsilon_{366} = 3,3 \times 10^6 \text{ cm}^2/\text{mol}$. Der Verdünnungsfaktor durch Perchlorsäure beträgt für Vollblut 10.85.