

Finalidade

Para a determinação de lactato em plasma e líquido cefalorraquidiano.

Significado clínico

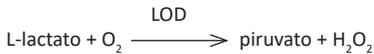
O ácido láctico, intermediário do metabolismo anaeróbico dos hidratos de carbono, provém principalmente do músculo esquelético, cérebro, pele, medula renal e eritrócitos. A concentração de lactato no sangue depende do equilíbrio entre a sua produção nestes tecidos e seu metabolismo no fígado e rins. Aproximadamente 65% do lactato gerado é utilizado pelo fígado principalmente no processo de gliconeogênese. Quando a concentração de lactato é maior que 18 mg/dL (2 mmol/L), a depuração hepática de lactato é saturada, aumentando seu nível no sangue. Um exemplo concreto ocorre durante o exercício prolongado em que os níveis de lactato podem aumentar significativamente.

O aumento de lactato no sangue associado à diminuição de pH arterial é conhecido como acidose láctica. A diminuição da oxigenação tissular (hipoxia) é a causa mais comum de acidose láctica, por exemplo hipóxia secundária a diferentes condições clínicas como choque, pneumonia, hemorragia aguda, edema pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva. Também foram registrados casos de acidose láctica em necrose hepática, neoplasmas, linfomas, várias formas de leucemia, na deficiência de tiamina e na cetoacidose diabética. Outras causas de acidose láctica incluem infusão intravenosa de substâncias como frutose, sorbitol, epinefrina e a ingestão abundante de álcool e/ou acetaminofeno.

Os níveis de lactato no líquido cefalorraquidiano (LCR) são semelhantes aos níveis no sangue, mas na presença de patologias do SNC, a concentração de lactato em LCR varia em forma independente observando-se um aumento dos níveis de lactato em líquido cefalorraquidiano em meningite bacteriana, hipocapnia, hidrocefalia, abscessos cerebrais, isquemia cerebral e/ou qualquer condição clínica associada a uma oxigenação reduzida do cérebro, inflamação e/ou pressão intracraniana aumentada.

Fundamentos do método

O lactato da amostra é oxidado pela enzima específica lactato oxidase (LOD). O peróxido de hidrogênio formado na reação é utilizado pela peroxidase (POD) para gerar um cromógeno.



A intensidade cromática do complexo formado é diretamente proporcional à concentração de L-lactato na amostra e é determinado o aumento de absorbância a 540-550 nm.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: TOOS 3,5 mM; ascorbato oxidase (pepino) ≥ 30 U/ mL; tampão fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica < 0,1%.

B. Reagente B: 4-aminoantipirina 5 mM; lactato oxidase (microrganismos) ≥ 10 U/mL; peroxidase (rábano picante) ≥ 24 U/mL; tampão fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica < 0,1%.

Reagentes não fornecidos

- Laborcal da Laborlab.
- Solução fisiológica (NaCl 9 g/L).

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: os reagentes não abertos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Amostra

Plasma e LCR

a) Coleta: a amostra a coletar pode ser plasma ou líquido cefalorraquidiano.

Não utilizar soro.

As amostras de sangue devem ser coletadas de uma veia sem garroteamento, embora um garroteamento mínimo (menor a 30 segundos) não afeta o nível de lactato. Evitar, se possível, o uso de torniquete.

Caso a amostra coletada seja plasma, centrifugar dentro dos 15 minutos após a amostra é obtida.

Os sistemas de coleta de amostra para plasma de diversos fabricantes, podem conter diferentes materiais que as vezes podem afetar os resultados. Se as amostras são processadas em tubos primários (sistema de coleta de amostras para plasma), seguir as instruções do fabricante dos tubos.

O LCR pode ser utilizado diretamente sem tratar.

b) Aditivos: caso seja utilizado plasma, coletar com fluoreto/EDTA, fluoreto/heparina e fluoreto/oxalato. Caso seja obtido plasma sem inibidores da glicólise (fluoreto), o sangue total deve ser conservado em gelo e o plasma deve ser separado das células dentro dos 15 minutos após a coleta.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras de plasma devem ser processadas rapidamente, caso contrário devem ser mantidas a 2-10°C ou congeladas a -20°C já que o lactato aumenta 20% em 3 minutos e 70% em 30 minutos a 25°C. As amostras são estáveis 8 dias a 2-10°C e 4 semanas a -20°C.

Interferências

Não são observadas interferências por triglicérides até 1400 mg/dL, bilirrubina até 32 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/dL, heparina até 55 U/L e ácido ascórbico até 50 mg/dL.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Micropipetas para medir os volumes indicados
- Analisador automático

Procedimento

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para determinação de lactato em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, suas instruções de trabalho devem ser seguidas. Em uma cubeta mantida à temperatura escolhida, colocar:

Amostra ou Calibrador	2 uL
Reagente A	150 uL

Incubação durante 120 segundos a 37°C. Ler absorbância a 540-550 nm (branco de amostra).

Reagente B	30 uL
------------	-------

Incubação durante 300 segundos a 37°C. Ler absorbância a 540-550 nm (concentração de lactato).

Os analisadores calculam automaticamente a concentração de lactato de cada amostra.

Calibração

O Laborcal é processado da mesma maneira que as amostras. A partir dele é calculado o fator correspondente. Os valores de concentração de lactato são variáveis lote a lote. Consultar os valores nas instruções de uso do Laborcal da Laborlab. Recomenda-se utilizar calibração de dois pontos quando mudar o lote e quando seja requerido pelo controle de qualidade.

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de lactato.

Valores de referência

Plasma

Sangue venoso: 4,5 - 19,8 mg/dL

Sangue arterial: < 11,3 mg/dL

LCR

Neonatos: 10 - 60 mg/dL

3-10 dias: 10 - 40 mg/dL

> 10 dias e adultos: 10 - 25 mg/dL

Conversão de unidades

1 mg/dL x 0,111 = 1 mmol/L

Exemplo:
(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Absorbância da amostra: 0,328

Absorbância do Calibrador: 0,527

$$\text{Fator} = \frac{29,7 \text{ mg/dL}}{0,527} = 56,4$$

Lactato (mg/dL) = 0,328 x 56,4 = 18,5 mg/dL

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

O nível de lactato aumenta rapidamente após a atividade física. O tempo necessário para voltar aos valores basais depende de cada indivíduo, mas geralmente 30 minutos de repouso é suficiente. Uma vez ativado o processo da glicólise, o nível de lactato começa a aumentar rapidamente. Visto que as células presentes no plasma favorecem o processo de glicólise, é importante separar o plasma do pacote globular rapidamente para obter concentrações exatas de lactato.

O lactato aumenta 20% em 3 minutos e 70% em 30 minutos a 25°C.

Para preservar a integridade dos reagentes, devem ser evitadas as contaminações. As micropipetas utilizadas para a medição devem estar perfeitamente limpas e secas.

Recomenda-se utilizar **Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida, já que são dependentes do método.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente replicados de uma mesma amostra, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	CV _{wr}	CV _t
11,6 mg/dL	± 0,15 mg/dL	1,3%	2,7%
21,9 mg/dL	± 0,26 mg/dL	1,2%	2,6%
38,5 mg/dL	± 0,50 mg/dL	1,3%	2,4%

b) Linearidade: a reação é linear até 130 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra 1+2 partes com solução fisiológica (NaCl 9 g/L), repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

c) Limite de detecção: 0,7 mg/dL.

d) Limite de quantificação: 1,8 mg/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

Apresentação

1 x 60 mL **Reagente A**

1 x 12 mL **Reagente B**

(Cód. 1770200)

Referências

- The Use of Lactate as a Biomarker. - Nicholas C. Watson and Stephen O. Heard. J Intensive Care Med 2010 25: 301.
- Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. - Ramon Martí, Encarna Varela, Rosa M. Segura, José Alegre, José M. Suriñach, and Carles Pascual. - Clinical Chemistry 43:6 1010-1015 (1997).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 5th edition 2001. Burtis CA, Ashwoos ER, editors.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. CLSI EP-5A Vol. 19 N°.2.1999.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N°.16.2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N°.19.2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N°.34.2004.

Termo de garantia

Este kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br