



Lactate

Para la determinación de lactato en plasma y líquido cefalorraquídeo

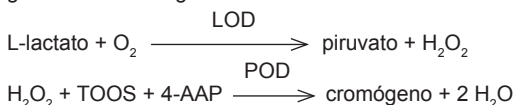
SIGNIFICACION CLINICA

El ácido láctico, un intermediario del metabolismo anaeróbico de los hidratos de carbono, proviene principalmente del músculo esquelético, cerebro, piel, médula renal y eritrocitos. La concentración de lactato en la sangre dependerá del balance entre su producción en estos tejidos y su metabolismo en hígado y riñones. Aproximadamente el 65% del lactato generado es utilizado por el hígado principalmente en el proceso de gluconeogénesis. Cuando la concentración de lactato es mayor a 18 mg/dL (2 mmol/L) el clearance hepático de lactato se satura aumentando su nivel en sangre. Un ejemplo concreto sucede durante el ejercicio prolongado en el que los niveles de lactato pueden aumentar significativamente. El aumento de lactato en sangre asociado a una disminución del pH arterial recibe el nombre de acidosis láctica. La disminución de la oxigenación tisular (hipoxia) es la causa más común de acidosis láctica por ejemplo hipoxia secundaria a diferentes condiciones clínicas como shock, neumonía, hemorragia aguda, edema pulmonar e insuficiencia cardíaca congestiva. También se han registrado casos de acidosis láctica en necrosis hepática, neoplasmas, linfomas, varias formas de leucemia, la deficiencia de tiamina y en la cetoacidosis diabética. Otras causas de acidosis láctica incluye la infusión intravenosa de ciertas sustancias como fructosa, sorbitol, epinefrina y la ingesta incrementada de alcohol y/o acetaminofeno.

Los niveles de lactato en el líquido cefalorraquídeo (LCR) son similares a sus niveles en sangre, pero en presencia de patologías del SNC la concentración de lactato en LCR varía en forma independiente observándose un aumento de los niveles de lactato en líquido cefalorraquídeo (LCR) en meningitis bacteriana, hipocapnia, hidrocefalia, abscesos cerebrales, isquemia cerebral y/o cualquier condición clínica asociada a una oxigenación reducida del cerebro, inflamación y/o presión intracraneal aumentada.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El lactato de la muestra es oxidado por la enzima específica lactato oxidasa (LOD). El peróxido de hidrógeno formado en esta reacción es luego utilizado por la peroxidasa (POD) para generar un cromógeno.



La intensidad cromática del complejo formado es directamente proporcional a la concentración de L-lactato en la

muestra y se determina midiendo el aumento de absorbancia a 540-550 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: TOOS 3,5 mM; ascorbato oxidasa (pepino) ≥ 30 U/ mL; buffer fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0.1\%$.

B. Reactivo B: 4-aminoantipirina 5 mM; lactato oxidasa (microorganismos) ≥ 10 U/mL; peroxidasa (rábano picante) ≥ 24 U/mL; buffer fosfato 100 mM pH 7,8, azida sódica $< 0,1\%$.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/L).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: los reactivos sin abrir son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Plasma y LCR

a) Recolección: la muestra a recolectar puede ser plasma o líquido cefalorraquídeo. No utilizar suero.

Las muestras de sangre deben extraerse de una vena libre de estasis, si tiene una hemostasis mínima (inferior a 30 segundos) no afecta el nivel de lactato. Evitar en lo posible el uso de torniquete.

En caso de recolectar plasma, centrifugar dentro de los 15 minutos después de obtenida la muestra.

Los sistemas de recolección de muestras para plasma de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistema de recolección de muestras para plasma) seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

El LCR puede usarse directamente sin tratar.

b) Aditivos: en caso de obtener plasma, utilizar fluoruro/EDTA (**Anticoagulante G** de Wiener lab.), fluoruro/heparina y fluoruro/oxalato. Si se obtiene plasma sin inhibidores de la glucólisis (fluoruro) guardar la sangre entera en hielo y separar el plasma de las células dentro de un plazo de 15 minutos tras recogerla.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 1400 mg/dL, bilirrubina hasta 32 mg/dL, hemoglobina hasta 1000 mg/dL, heparina hasta 55 UI/L y ácido ascórbico hasta 50 mg/dL. Referirse a la bibliografía de Young para ver los efectos de otros interferentes en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras de plasma deben procesarse rápidamente, de lo contrario deben ser mantenidas a 2-10°C o congeladas a -20°C debido a que el lactato aumenta un 20% en 3 minutos y un 70% en 30 minutos a 25°C. Las muestras son estables 8 días a 2-10°C y 4 semanas a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático.

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para determinación de lactato en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Muestra o Calibrador	2 uL
-----------------------------	------

Reactivo A	175 uL
-------------------	--------

Incubar durante 120 segundos a 37°C. Leer absorbancia a 540-550 nm (blanco de muestra).

Reactivo B	35 uL
-------------------	-------

Incubar durante 300 segundos a 37°C. Leer absorbancia a 540-550 nm (concentración de lactato).

Los analizadores Wiener lab. calculan automáticamente la concentración de lactato de cada muestra.

CALIBRACION

El Calibrador A plus es procesado de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente. Los valores de concentración de lactato son variables lote a lote. Consultar los valores en el manual de instrucciones de Calibrador A plus de Wiener lab.

Se recomienda usar calibración a dos puntos después de cambiar lote de reactivo y cuando el control de calidad lo requiera.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de lactato.

VALORES ESPERADOS

Plasma

Sangre venosa: 4,5 - 19,8 mg/dL

Sangre arterial: < 11,3 mg/dL

LCR

Neonatos: 10 - 60 mg/dL

3-10 días: 10 - 40 mg/dL

> 10 días y adultos: 10 - 25 mg/dL

CONVERSION DE UNIDADES

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

El nivel de lactato aumenta rápidamente luego de la actividad física. El tiempo requerido para retomar los valores basales depende de cada individuo pero generalmente con 30 minutos de reposo es suficiente.

Una vez activado el proceso de glucólisis, el nivel de lactato comienza a aumentar rápidamente. Debido a que las células presentes en el plasma favorecen este proceso, resulta fundamental separar el plasma del paquete globular rápidamente a fin de obtener concentraciones de lactato exactas. El lactato aumenta 20% en 3 minutos y 70% en 30 minutos a 25°C. Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas. Se recomienda utilizar Standatrol S-E 2 niveles de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	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) Linealidad: la reacción es lineal hasta 130 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra 1+2 partes con solución fisiológica (NaCl 9 g/L), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

c) Límite de detección: 0,7 mg/dL

d) Límite de cuantificación: 1,8 mg/dL

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

72 mL: 1 x 60 mL Reactivo A
1 x 12 mL Reactivo B
(Cód. 1999795)

72 mL: 1 x 60 mL Reactivo A
1 x 12 mL Reactivo B
(Cód. 1009380)

24 mL: 1 x 20 mL Reactivo A
1 x 4 mL Reactivo B
(Cód. 1009370)

24 mL: 1 x 20 mL Reactivo A
1 x 4 mL Reactivo B
(Cód. 1009668)

BIBLIOGRAFIA

- 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 No.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.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-77



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina