Lactato

LO-POD. Enzimático colorimétrico

Determinación cuantitativa de lactato

CE

IVD

PRESENTACIÓN

Ref.: 101-0565	Cont.: 9 x 10 mL

Conservar a 2-8º C

SIGNIFICADO CLÍNICO

El lactato es un intermediario metabólico, se origina en la fermentación láctica a partir de la glucosa, y aumenta durante el ejercicio intenso, como consecuencia de la elevación de la actividad glucolítica. La formación de ATP se asocia con la generación de iones lactato e H^+.

El aumento de los niveles de lactato se relaciona proporcionalmente con la disminución de la fuerza fisica[1,4,5].

El diagnostico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El lactato es oxidado por la lactato oxidasa (LO) a piruvato y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) el cual en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 4-clorofenol forma un compuesto rojo de quinona:

$$\text{L-lactato} + O_2 + H_2O \xrightarrow{LO} \text{Piruvato} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-AF} + \text{4-Clorofenol} \xrightarrow{POD} \text{Quinona} + H_2O$$

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra ensayada[1].

REACTIVOS

R 1 Tampón	PIPES pH 7,5	50 mmol/L
	4- Clorofenol	4 mmol/L
R 2 Enzimas	Lactato oxidasa (LO)	800 U/L
	Peroxidasa (POD)	2000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
LACTATE CAL	Patrón primario acuoso de Lactato 10 mg/dL	

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Reconstituir el contenido de un vial de R 2 Enzimas en 10 mL de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad del reactivo reconstituido: 1 mes en nevera (2-8º C) o 1 semana a temperatura ambiente (15-25º C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8º C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 ≥ 0,18.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Plasma. Libre de hemolisis[1]. Como anticoagulantes utilizar inhibidores glicolíticos: fluoruro / oxalato o fluoruro / heparina.

El plasma debe guardarse en un refrigerador y separarse de las células de la sangre antes de 15 min, ya que estos metabolizan la glucosa a lactato. Una vez separado el lactato es estable en el plasma 8 horas a 20 - 25° C y 14 días a 2-8º C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: . . . . . .505 nm (490-550)
   Cubeta: . . . . . .1 cm paso de luz
   Temperatura: . . . . . .37º C / 15-25º C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta: (Nota 3)

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota1,2) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37º C ó 10 min. a temperatura ambiente (15-25º C).
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

$$\frac{(A)\,\text{Muestra} - (A)\text{Blanco}}{(A)\,\text{Patrón} - (A)\text{Blanco}} \times 10\ (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de lactato en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,1123= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:
Contro-N (Ref. 101-0083 y 101-0252) y Contro-P (Ref. 101-0084 y 101-0253).
Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.
Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA[1]

0,5-2,2 mmol/L ≅ 4,5-19,8 mg/dL
Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida*:* Desde el *limite de detección* de 0,099 mg/dL hasta el *limite de linealidad* de 150 mg/dL.
Si la concentración de la muestra es superior al *limite de linealidad*, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	13,8	31,7	14,3	32,1
SD	0,07	0,18	0,34	0,64
CV (%)	0,53	0,56	2,36	2,00

Sensibilidad analítica*:* 1 mg/dL = 0,013 A.

Exactitud: Los reactivos CHRONOLAB (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:
Coeficiente de regresión: $(r)^2$ 0,998.
Ecuación de la recta de regresión: y= 1,1488x – 0,9688
Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Inyecciones intravenosas de epinefrina, glucosa, bicarbonato u otras sustancias que puedan modificar el balance ácido-base, producen aumento en los valores de lactato. No usar muestras hemolizadas[1].

Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación del lactato[2,3].

NOTAS

1. LACTATE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
4. **CHRONOLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

1. Gau N. Lactic acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1040-1042 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

CHRONOLAB SYSTEMS, S.L., Travessia Prat de la Riba 34 B, 08849 Sant Climent de Llobregat, Barcelona, Spain
Tel. +34 608342282, www.chronolab.com, e-mail: info@chronolab.com