

# LACTATO ENZIMÁTICO

Instruções de Uso

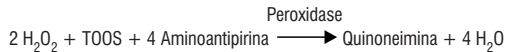
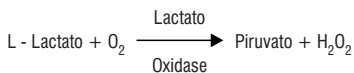
Ref.: **138**  
MS 10009010258

**Finalidade** . Sistema enzimático para a determinação quantitativa do lactato em plasma (fluoreto) e líquido cefalorraquidiano.

**Uso profissional.**

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

**Princípio** . O lactato é determinado de acordo com as seguintes reações:



Na presença de oxigênio, a lactato oxidase catalisa a oxidação do ácido láctico, promovendo a formação de piruvato e peróxido de hidrogênio. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre o peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e TOOS, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máximo de absorvância em 550 nm.

A intensidade da cor do produto da reação é diretamente proporcional à concentração do lactato na amostra.

**Características do sistema**<sup>1,2</sup>. O sistema utiliza a enzima lactato oxidase na determinação da concentração de lactato presente em uma amostra. O método enzimático é altamente específico e de simples execução.

Os dados de repetitividade e reprodutibilidade demonstram que o método é capaz de fornecer resultados que atendem às especificações desejáveis de erro máximo, baseadas nos componentes da variação biológica.

A medição em 550 nm minimiza a interferência de bilirrubina e hemoglobina.

Concentrações de triglicérides até 1100 mg/dL, bilirrubina até 30 mg/dL e hemoglobina até 300 mg/dL não interferem significativamente na reação.

O produto pode ser aplicado em procedimento manual, semiautomático e automático.

**Metodologia** . Enzimático - Trinder

## Reagente

### 1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém tampão 50 mmol/L pH 7,2; 4-aminoantipirina  $\geq 0,05$  mmol/L; peroxidase  $\geq 1000$  U/L e conservante.

### 2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém tampão 50 mmol/L pH 7,2; lactato oxidase  $\geq 1000$  U/L; N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfofopropyl)-3-methylaniline (TOOS)  $\geq 1,5$  mmol/L e conservante.

### 3. [CAL] - Padrão - 40 mg/dL. Armazenar entre 2-8°C.

Contém lactato de lítio e azida sódica 0,09%.

Após o manuseio armazenar bem vedado para evitar evaporação.

Os reagentes quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e cuidados especiais

Para preservar o desempenho, os reagentes devem permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para se obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. Não utilizar os reagentes quando estes se mostrarem turvos ou com sinais de contaminação.

O padrão contém azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

## Materiais necessários e não fornecidos

1. Banho-maria mantido à temperatura constante (37°C).
2. Fotômetro capaz de medir com exatidão a absorvância em 550 nm (530 a 570).
3. Pipetas para medir amostras e reagentes.
4. Cronômetro.

Usar plasma (fluoreto) ou líquido cefalorraquidiano.

O fluoreto inibe a glicólise, sendo assim, é responsável pela estabilização do lactato sanguíneo.

## Recomendações para preparo do paciente, obtenção e processamento da amostra

. Antes da realização do procedimento de coleta de sangue o paciente deve permanecer em repouso por pelo menos 30 minutos.

A coleta de sangue deve ser realizada preferencialmente sem garroteamento ou imediatamente após a aplicação do torniquete. Se a coleta não for completada logo após a aplicação do torniquete, este último deve ser removido e a coleta só deve ser novamente iniciada após 2 minutos. O paciente deve evitar exercitar as mãos e os braços imediatamente antes e durante o procedimento de coleta.

A separação por centrifugação deve ser realizada dentro de no máximo 15 minutos.

Após a separação, o plasma é estável 8 horas entre 20-25°C, 14 dias entre 2-8°C ou 1 mês a -20°C.

O líquido cefalorraquidiano deve ser centrifugado e usado sem modificações adicionais.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

## Interferências<sup>1</sup>

Concentrações de triglicérides até 1100 mg/dL, bilirrubina até 30 mg/dL e hemoglobina até 300 mg/dL não interferem significativamente na reação.

Amostras com bilirrubina, hemoglobina e triglicérides em concentrações maiores que as acima referidas devem ser diluídas em NaCl 150 mmol/L (0,85%) antes de se realizar os ensaios. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

**Preparo do reagente de trabalho** . O conjunto de um frasco de Reagente 1 e um frasco de Reagente 2 permite preparar o Reagente de Trabalho. Transferir o conteúdo de um frasco de Reagente 2 para um frasco de Reagente 1 e homogeneizar suavemente. Identificar o frasco do Reagente de Trabalho e anotar a data de expiração.

Estudos demonstram que o reagente de trabalho apresenta elevada estabilidade. Após o preparo, deve-se considerar que a data de expiração do reagente de trabalho é a mesma dos reagentes que o compõe, desde que mantido entre 2 e 8°C, em recipiente fechado e quando não houver contaminação química ou microbiana. O desenvolvimento de coloração levemente rósea no Reagente de Trabalho é normal e não afeta o seu desempenho.

Opcionalmente, pode-se preparar menor volume do Reagente de Trabalho utilizando a proporção 4 volumes do Reagente 1 e 1 volume do Reagente 2. Para preparar o volume de reagente necessário para realizar um teste, misturar 0,8 mL do Reagente 1 e 0,2 mL do Reagente 2.

Para preservar seu desempenho o reagente deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para se obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

**Procedimento** . Ver Observações 1 e 2.

Identificar 3 tubos de ensaio e proceder como descrito a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-----	0,01 mL	-----
Padrão	-----	-----	0,01 mL
Água	0,01 mL	-----	-----
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar e colocar em banho-maria a 37°C durante 5 minutos. O nível da água no banho deve ser superior ao nível dos reagentes no tubo de ensaio. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 550 nm (530 - 570), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 30 minutos.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem prejuízo para o desempenho do teste, mantendo-se inalterado o procedimento de cálculo. Em caso de redução dos volumes, é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes de amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

**Cálculos** . Ver linearidade.

$$\text{Lactato (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 40$$

O resultado também pode ser obtido utilizando o fator de calibração:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{40}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Lactato (mg/dL)} = \text{Absorbância do Teste} \times \text{Fator de calibração}$$

## Exemplos

Os dados apresentados a seguir são ilustrativos.

Absorbância do Teste: 0,450  
Absorbância do Padrão: 0,757

$$\text{Lactato (mg/dL)} = \frac{0,450}{0,757} \times 40 = 24$$

ou

$$\text{Fator de calibração} = \frac{40}{0,757} = 52,84$$

$$\text{Lactato (mg/dL)} = 0,450 \times 52,84 = 24$$

## Calibração

**Calibrações manuais** . obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

### Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85%);

Usar calibrador Calibra H - Labtest.

### Intervalos de calibração

Calibração de 2 pontos ao mudar de lote;

Calibração de 2 pontos quando o controle da qualidade indicar.

## Linearidade

A reação é linear até 150 mg/dL. Para valores maiores que 150 mg/dL, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

**Controle interno da qualidade**<sup>2,8,9</sup> . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorizar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB).

Sugere-se utilizar os produtos da linha Qualitrol - Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

**Intervalo de referência**<sup>10,11</sup> . Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

### Recém-nascidos, crianças e adolescentes

Plasma (fluoreto)	mg/dL	mmol/L
0 a 90 dias	9 - 32	1,0 - 3,5
3 a 24 meses	9 - 30	1,0 - 3,3
2 a 18 anos	9 - 22	1,0 - 2,4

## Adulto

Plasma (fluoreto)		
	mg/dL	mmol/L
Venoso	4,5 - 19,8	0,5 - 2,2
Arterial	4,5 - 14,4	0,5 - 1,6

A concentração de lactato no liquor normalmente é semelhante aos níveis sanguíneos. Contudo, em alterações bioquímicas no SNC, os valores de lactato no liquor alteram-se independentemente dos valores no sangue.

**Conversão** . Unidades convencionais (mg/dL) x 0,111 = Unidades SI (mmol/L).

## Características de desempenho<sup>12</sup>

**Estudos de recuperação** . Em duas amostras com concentrações de lactato iguais a 9,8 mg/dL e 19,7 mg/dL foram adicionadas quantidades diferentes do analito, sendo obtidos os seguintes resultados:

Concentração (mg/dL)				Percentual de recuperação
Inicial	Adicionada	Esperada	Encontrada	
9,8	40,8	38,2	39,5	103,4%
19,7	10,2	76,4	77,1	100,9%

O erro sistemático total estimado é igual a 0,3 mg/dL para o nível de 13,6 mg/dL, 0,8 mg/dL para o nível de 37,1 mg/dL e 1,78 mg/dL para o nível de 82,8 mg/dL. A média dos erros é menor que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada nos componentes da VB que é  $\leq \pm 8,0\%$ .

**Estudos de comparação de métodos** . A exatidão do método foi verificada por comparação com outro método enzimático, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Lactato Enzimático
Número de amostras	40	40
Intervalo (mg/dL)	6,7 a 135,1	6,5 a 147,3
Equação da regressão	Lactato Enzimático = 1,060* (MC) + 0,138 mg/dL	
Coefficiente de correlação	0,999	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático (bias) estimado é igual a 2,8% para o nível de 15,7 mg/dL e 2,9% para o nível de 44,8 mg/dL. A média dos erros é menor que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada nos componentes da VB que é  $\leq \pm 8,0\%$ .

**Estudos de precisão** . Os estudos de precisão foram realizados utilizando duas amostras.

### Repetitividade - Imprecisão intraensaio

	N	Média (mg/dL)	DP	CV (%)
Amostra 1	80	15,7	0,11	0,71
Amostra 2	80	44,8	0,62	1,39

### Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média (mg/dL)	DP	CV (%)
Amostra 1	80	15,7	0,72	4,61
Amostra 2	80	44,8	1,26	2,81

A imprecisão encontrada atende à especificação desejável para imprecisão total baseada nos componentes da VB que é  $\leq 13,6\%$ .

O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado é igual a 10,39% para o nível de 15,7 mg/dL e 7,55% para o nível de 44,8 mg/dL. Os resultados indicam que o método atende à especificação desejável para erro total ( $\leq 30,4\%$ ) baseada nos componentes da VB.

**Sensibilidade metodológica** . Uma amostra contendo 15 mg/dL de lactato foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio, tendo sido encontrado um valor igual a 0,4 mg/dL, equivalente a três desvios padrão de uma corrida analítica com 20 replicatas.

Utilizando-se de absorbância do padrão como parâmetro verificou-se que o limite de detecção fotométrica é 0,05 mg/dL, correspondendo a uma absorbância de igual a 0,001.

**Efeitos da diluição da matriz** . Uma amostra com concentração igual a 151 mg/dL foi utilizada para avaliar a resposta do sistema na diluição da matriz com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fator de diluição de 2 a 16 foi encontrada recuperação média de 102,5% que corresponde a um erro sistemático médio igual a 2,5%.

**Significado clínico**<sup>10</sup> . O lactato é o produto final da degradação da glicose na ausência de oxigênio (glicólise anaeróbica) e é produzido pela redução do piruvato. O lactato é produzido em todos os tecidos; entretanto, o músculo esquelético, o cérebro e as hemácias são responsáveis pela produção da maior parte do lactato do organismo. A produção normal de lactato é de 1 mmol/Kg/hora. A concentração de lactato no sangue depende da taxa de produção e da taxa de metabolismo no fígado e nos rins. Aproximadamente 30% da produção basal total de lactato é utilizada pelo fígado com predominância na gliconeogênese.

Concentração aumentada do lactato no sangue indica um decréscimo do fluxo sanguíneo para os tecidos, com consequente diminuição do fornecimento de oxigênio.

A oxigenação tecidual diminuída, proveniente de hipovolemia, choque ou insuficiência ventricular esquerda pode predispor o indivíduo à acidose láctica (tipo A ou hipóxica), quadro em que se encontra concentração aumentada do lactato sanguíneo.

O aumento do lactato sanguíneo é também observado na acidose láctica tipo B ou metabólica. Esta última está associada a doenças como *Diabetes mellitus*, neoplasia e doença hepática ou a drogas e/ou toxinas, como o etanol, o metanol e o salicilato.

Após exercício físico de longa duração a produção do lactato pode aumentar consideravelmente. Para avaliar a capacidade de exercício e monitorar a intensidade de treinamento dos atletas pode ser realizada a determinação do lactato sanguíneo.

A concentração do lactato no liquor normalmente é semelhante aos níveis sanguíneos. Contudo, em alterações bioquímicas no SNC, os valores de lactato no liquor alteram-se independentemente dos valores no sangue. Níveis aumentados no liquor são observados em acidentes vasculares cerebrais, hemorragia intracraniana, meningite bacteriana, epilepsia e outros distúrbios do SNC.

### Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, a água deve ter resistividade  $\geq 1$  megaohm.cm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens/cm e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

### Referências

- Artiss JD, Karcher RE, Cavanagh KT, Collins SL, Peterson VJ, Varma S, Zak B. A Liquid-Stable Reagent for Lactic Acid Levels - Application to the Hitachi 911 and Beckman CX7. *Am J Clin Pathol* 2000; 114:139-143.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponível em: <http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170> (acesso em 04/2006).
- Tietz. *Textbook of Clinical Chemistry*, Burtis CA.; Ashwood ER. eds, 2ª edição, Philadelphia: WB. Saunders Co, 1994.

4. Savory J, Kaplan A. A gas chromatographic method for the determination of lactic acid in blood. Clin Chem 1966; 12:559-569.
5. Westgard JO, Lahmeyer BL, Birnbaum ML. Use of the Du Pont "Automatic Clinical Analyzer" in Direct Determination of Lactic Acid in Plasma Stabilized with Sodium Fluoride. Clin Chem 1972; 18 (11): 1334-1338.
6. Astles R, Williams CP, Sedor F. Stability of Plasma Lactate in Vitro in the Presence of Antiglycolytic Agents. Clin Chem 1994; 40 (7): 1327-1330.
7. The Quality of Diagnostics Samples, Samples and Stability of Analytes. Disponível em: <<http://www.diagnosticsample.com/samples.php3?lang=en>> (acesso em 27/05/09).
8. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
9. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
10. Tietz. Fundamentos de Química Clínica, Burtis CA; Ashwood ER. eds, 4ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
11. Pediatric Reference Ranges. Soldin SJ; Brugnara C; Wong EC. eds, 5ª edição, Washington, DC: AACC Press, 2005.
12. Labtest: Dados de Arquivo.

## Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Lactato Enzimático	138-1/50	<b>RI 1</b>	1 X 40 mL
		<b>RI 2</b>	1 X 10 mL
		<b>CAL</b>	1 X 5 mL
Lactato Enzimático Labmax 560/400	138-2/20	<b>RI 1</b>	2 X 16 mL
		<b>RI 2</b>	2 X 4 mL
		<b>CAL</b>	1 X 5 mL

## Informações ao consumidor

### [Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



### Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000

Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

**Serviço de Apoio ao Cliente** | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)

e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

Revisão: Outubro, 2012  
Ref.: 260117

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.  
Reprodução sob prévia autorização

# Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	<p><b>Conteúdo suficiente para &lt; n &gt; testes</b>          Contenido suficiente para &lt; n &gt; tests          Contains sufficient for &lt; n &gt; tests</p>	 <p><b>Risco biológico</b>          Riesgo biológico          Biological risk</p>
	<p><b>Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)</b>          Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa)          Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)</p>	 <p><b>Marca CE</b>          Marcado CE          CE Mark</p>
	<p><b>Material Calibrador</b>          Material Calibrador          Calibrator Material</p>	 <p><b>Tóxico</b>          Tóxico          Poison</p>
	<p><b>Material Calibrador</b>          Material Calibrador          Calibrator Material</p>	 <p><b>Reagente</b>          Reactivo          Reagent</p>
	<p><b>Limite de temperatura (conservar a)</b>          Temperatura límite (conservar a)          Temperature limitation (store at)</p>	 <p><b>Fabricado por</b>          Elaborado por          Manufactured by</p>
	<p><b>Representante Autorizado na Comunidade Europeia</b>          Representante autorizado en la Comunidad Europea          Authorized Representative in the European Community</p>	 <p><b>Número do lote</b>          Denominación de lote          Batch code</p>
	<p><b>Consultar instruções de uso</b>          Consultar instrucciones de uso          Consult instructions for use</p>	 <p><b>Controle</b>          Control          Control</p>
	<p><b>Número do catálogo</b>          Número de catálogo          Catalog Number</p>	 <p><b>Controle negativo</b>          Control negativo          Negative control</p>
	<p><b>Adições ou alterações significativas</b>          Cambios o suplementos significativos          Significant additions or changes</p>	 <p><b>Controle positivo</b>          Control positivo          Positive control</p>
	<p><b>Produto diagnóstico in vitro</b>          Dispositivo de diagnóstico in vitro          In vitro diagnostic device</p>	 <p><b>Controle</b>          Control          Control</p>
	<p><b>Liofilizado</b>          Liofilizado          Lyophilized</p>	 <p><b>Corrosivo</b>          Corrosivo          Corrosive</p>
	<p><b>Período após abertura</b>          Período post-abertura          Period after-opening</p>	 <p><b>Uso veterinário</b>          Uso veterinário          Veterinary use</p>
	<p><b>Instalar até</b>          Instalar hasta          Install before</p>	<p>Ref.: 140214  </p>