

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
11 2291 2811 ou sac@ebram.com
www.ebram.com



QUIMILAC - LACTATO

REG. MS: 10159820246

Revisão: Setembro/2020

FINALIDADE. Reação colorimétrica para determinação quantitativa de lactato em amostras de plasma e líquido cefalorraquidiano (LCR) humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro."

PRINCÍPIO. O lactato é oxidado em piruvato e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela lactato oxidase (LOX). Na presença de peroxidase (POD), o peróxido de hidrogênio reage com o ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzoico (THB) e com a 4-aminoantipirina (4-AAP) para formar um corante vermelho de quinoneimina. A intensidade de cor do corante medida em 546 nm é diretamente proporcional à concentração de lactato presente na amostra.



METODOLOGIA. Colorimétrico enzimático

SIGNIFICADO CLÍNICO. O ácido láctico, presente no sangue inteiramente como lactato é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos e é derivado principalmente de células musculares e eritrócitos. A concentração de lactato no sangue é afetada pela sua produção nas células musculares e eritrócitos e sua taxa de metabolismo no fígado. Durante o exercício, o lactato sanguíneo pode aumentar até dez vezes os níveis normais. Em condições normais, a razão entre lactato e piruvato é constante (10:1). O fígado pode normalmente metabolizar mais lactato do que é produzido, porém no caso de diminuição da perfusão do fígado, a remoção de lactato pelo fígado pode ser significativamente reduzida. O lactato no líquido cefalorraquidiano normalmente se iguala aos níveis sanguíneos, sendo que este nível aumenta em casos de meningite bacteriana, epilepsia e hemorragia intracraniana. O nível de lactato no LCR auxilia na distinção de meningite bacteriana e viral.

REAGENTES.

Reagente 1: Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão Tris 100 mmol/L, ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzoico 2,0 mmol/L, 4-aminoantipirina 0,8 mmol/L.

Reagente 2: Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Lactato oxidase > 20 U/L, peroxidase > 15 U/L, azida de sódio 0,02%

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO (RT): Misturar os reagentes na proporção: 9 partes do reagente 1 + 1 parte do reagente 2 (900 µL R1 + 100 µL R2). Estável durante 3 meses à 2 - 8°C.

Padrão: Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de lactato rastreável ao Material de Referência GB/T 21415-2008 / ISO 17511:2003. Verifique a concentração do padrão. Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Os frascos devem ser mantidos fechados, protegidos da luz e deve-se evitar a contaminação durante o uso.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS.

- Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico in vitro.
- Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.
- Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.
- Não usar o reagente se o mesmo estiver visualmente turvo, apresentar precipitado, ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o controle fresco.
- Não usar se a absorbância do branco estiver superior à 0,1 quando medido em 546 nm (cuveta de 1cm) ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o controle fresco.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 546 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.

- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador, quando necessário.
- Cronômetro.

AMOSTRA. Plasma e líquido cefalorraquidiano (LCR).

Não usar amostras de soro. Evitar amostras ictericas ou hemolíticas. Os únicos anticoagulantes aceitáveis são fluoreto/heparina e iodoacetato/heparina.

Imediatamente após a coleta, o sangue deve ser resfriado em gelo e plasma deve ser separado em no máximo 15 minutos. Nestas condições, o Lactato é estável no plasma por 2 horas entre 20 - 25°C e 2 dias entre 4 - 8°C. Utilizar as amostras de LCR com adição de inibidor da glicólise, por exemplo, fluoreto de sódio. O Lactato no LCR é estável por 3 horas entre 20 - 25°C, por 24 horas entre 4 - 8°C e por 2 meses congelado à -20°C. Todas as amostras e padrões são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

PREPARO DO PACIENTE. O paciente deve estar em jejum e em repouso completo, sendo quem o movimento do braço ou da mão deve ser evitado antes ou durante a coleta da amostra. Além disso, é recomendado que as amostras sejam coletadas de acordo com as recomendações médicas e/ou norma de referência utilizada pelo laboratório.

INTERFERÊNCIAS.

- Hemoglobina > 2,5 g/L ou Bilirrubina > 4,0 mg/dL provocam aumento significativo da concentração aparente de lactato na amostra;
- Lipemia não interfere;
- Concentrações fisiológicas de ácido ascórbico não interferem. Níveis de ácido ascórbico superiores a 5 mg/dL diminuem significativamente a concentração aparente de lactato.

PARÂMETROS DO SISTEMA:

Temperatura	37°C
Comprimento de Onda	546nm
Tipo de Reação	ponto final
Direção	Crescente
Relação Amostra x Reativo	1:100
Vol. Amostra	10 µL
Vol. RT	1,0 mL
Tempo de Incubação	5 minutos

CALIBRAÇÃO. Utilizar padrão que acompanha o kit.

PROCEDIMENTO AUTOMATIZADO. Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento ou entrar em contato com o SAC.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida, utilizar o equipamento para leitura utilizando o protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

PROCEDIMENTO MANUAL.

Permita que o reagente, padrão e amostra atinjam a temperatura ambiente (15 - 30°C) antes do teste.

- Separar 3 tubos de ensaio e realizar o procedimento conforme tabela abaixo:

	1. Branco	2. Padrão	3. Amostra/S.C.
Reagente	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Padrão	-	10 µL	-
Amostra/controle	-	-	10 µL

- Homogeneizar os tubos e incubar em banho-maria sob temperatura de 37°C por 5 minutos ou à temperatura ambiente (15 à 25°C) por 10 minutos.
- Zerar o equipamento com o branco do reagente à 546 nm e proceder às leituras das absorvâncias do padrão, controle (C) e amostras.

Nota: a cor final é estável por 30 minutos, protegida da luz

CÁLCULOS. A concentração de lactato na amostra é calculada a partir da seguinte fórmula geral:

$$\text{Conc. de Lactato (mg/dL)} = \frac{A_{\text{amostra}}}{A_{\text{padrão}}} \times \text{Conc. padrão}$$

$$\text{Lipase (U/L)} = \frac{A/\text{min. amostra}}{A/\text{min. padrão}} \times \text{Conc. Padrão}$$

EXEMPLO:

A amostra = 0,1783
 A padrão = 0,1636
 Conc. padrão = 10

$$\text{Conc. de Lactato (mg/dL)} = \frac{0,1783}{0,1636} \times 10 = 10,9$$

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 90 mg/dL. As amostras com concentrações de lactato superiores a 90 mg/dL devem ser diluídas com solução salina até atingirem resultado entre 0,3 mg/dL e 90 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE. Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos a utilização do controle que acompanha o kit, para kits com controle, ou de controles comerciais com valores pré-estabelecidos pelos fabricantes.

VALORES ESPERADOS.

Plasma	Venoso	4,5 - 19,8 mg/dL
	Arterial	4,5 - 14,4 mg/dL
LCR	Adulto	10 - 22 mg/dL
	Neonatos	10 - 60 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

ESTUDOS COMPARATIVOS. Estudos de precisão foram executados com dois níveis controle (normal e patológico) sendo que cada amostra foi dosada 20 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

Número de amostras	20
Coefficiente de correlação	0,992
Inclinação	0,9820
Intercepta	0,2093

PRECISÃO. Estudos de precisão foram executados com duas amostras sendo que cada amostra foi dosada 40 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=20	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	15,3 mg/dL	57,2 mg/dL
D.P. (mg/dL)	0,153	0,400
C.V. (%)	1,0	0,7

EXATIDÃO. Estudos de precisão foram executados com dois níveis de controle (normal e patológico) sendo que cada amostra foi dosada em quintuplicata em 5 dias diferentes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=25	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	16,0 mg/dL	58,1 mg/dL
D.P. (mg/dL)	0,160	0,349
C.V. (%)	1,0	0,6

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 0,3 mg/dL

ESPECIFICIDADE. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

OBSERVAÇÕES.

O diagnóstico clínico não deve ser feito apenas com os resultados de um único teste, ou seja, os dados clínico do paciente bem como os resultados de outros exames devem ser considerados para conclusão do diagnóstico.


APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: R1: 1 x 45 mL + R2: 1 x 5 mL + Padrão: 1 x 3 mL

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

- Bailey EM, Domenico P, Cunha BA. Bacterial or viral meningitis? Measuring lactate in CSF can help you know quickly. *Meningitis*.1990;88:217-223.
- Field M, Block JB, Levin R, Rall DP. Significance of blood lactate elevations among patients with acute leukemia and other neoplastic proliferative disorders. *Am J Med*. 1996;40:528-547.
- Klein TO. Nervensysteme. In: Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart:Schattauer; 1987:859-893.
- Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 4th ed. Philadelphia:WB Saunders;1996:351-374.
- Sacks DB. Carbohydrates in: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2nd ed. Philadelphia:WB Sander; 1994:928-1001.
- Tietz NW, ed. *Clinical Guide to laboratory tests*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders;1995:351-374.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO