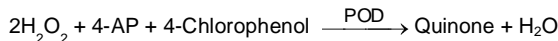
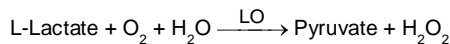


Quantitative determination of lactate IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Lactate is oxidized by lactate oxidase (LO) to pyruvate and hydrogen peroxide (H₂O₂), which under the influence of peroxidase (POD), 4-aminophenazone (4-AP) and 4-chlorophenol form a red quinone compound:



The intensity of the color formed is proportional to the lactate concentration in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Lactate is a metabolic intermediary, originated in the lactic fermentation from glucose, which accumulates during high intensity exercise as a result of the associated increase in glycolytic activity. The formation of ATP is linked to the generation of lactate and H⁺. If fatigue develops, the increased levels of lactate correlate with the reduction of force^{1,4,5}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	PIPES pH 7.5	50 mmol/L
Buffer	4- Chlorophenol	4 mmol/L
R 2	Lactate oxidase (LO)	800 U/L
Enzymes	Peroxidase (POD)	2000 U/L
	4- Aminophenazone (4-AP)	0.4 mmol/L
LACTATE CAL	Lactate aqueous primary standard 10 mg/dL	

PREPARATION

Working reagent (WR): Dissolve (→) the contents of one vial R 2 Enzymes in 10 mL of R 1 Buffer. Cap and mix gently to dissolve contents. The reagent is stable after reconstitution 1 month at 2-8°C or 1 week at room temperature (15-25°).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0.18.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or heparinized plasma. Free of hemolysis¹. Serum or plasma must be placed on a refrigerator and separated of the blood cells within 15 min; the reason is that blood cells will metabolise glucose to lactic acid. Once is separated, lactate is stable.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 505 nm. (490-550)
Cuvette: 1 cm. light path
Temperature: 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard ^(Note 1,2) (μL)	--	10	--
Sample (μL)	--	--	10

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C or 10 min. at room temperature (15-25°C).
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 10 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dL lactate in the sample}$$

Conversion factor: mg/dL x 0.1123= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

0.5-2.2 mmol/L ≅ 4.5-19.8 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,39 mg/dL to linearity limit of 150 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	11.1	21.8	11.4	22.1
SD	0.24	0.25	0.36	0.54
CV (%)	2.14	1.16	3.12	2.47

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,01 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient : (r) 0.998.

Regression equation: y= 0.9979x + 1.2518.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Intravenous injection of epinephrine, glucose, bicarbonate, or other infusions that modify the acid-base balance, causing an elevation in lactate. Avoid using hemolyzed samples¹.

A list of drugs and other interfering substances with lactate determination has been reported by Young et al.^{2,3}.

NOTES

- LACTATE CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

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

PACKAGING

Ref: 1001330

Cont.

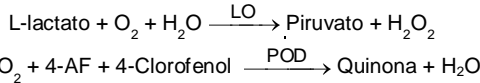
 5 x 10 mL

Determinación cuantitativa de lactato IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

El lactato es oxidado por la lactato oxidasa (LO) a piruvato y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) el cual en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 4-clorofenol forma un compuesto rojo de quinona:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

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 física^{1,4,5}.

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

REACTIVOS

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

PREPARACION

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 (2-8°C) o 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACION 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 2-8°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

Suero o plasma heparinizado. Libre de hemolisis¹.

El suero o plasma debe separarse de los hematíes antes de 15 min. ya que estos metabolizan la glucosa a lactato. Una vez separado el lactato es estable.

PROCEDIMIENTO

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

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

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

CALCULOS

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

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

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 REFERENCIA¹

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 0,39 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:

Media (mg/dL)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	11,1	21,8	11,4	22,1
SD	0,24	0,25	0,36	0,54
CV (%)	2,14	1,16	3,12	2,47

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,01 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión: (r) 0,998.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,9979x + 1,2518.

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 hemolizadas¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del lactato^{2,3}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFIA

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

PRESENTACION

Ref: 1001330 5 x 10 mL