

Comunicación breve

Evaluación del grado de acuerdo entre dos kits para determinación de lactacidemia en pacientes de una Unidad de Cuidados Intensivos

RECIBIDO: 26/05/2014

REVISIÓN: 20/09/2014

ACEPTADO: 24/09/2014

Abrego, M. F.^{1,*} • Barbosa, L. A.¹ • Bergara, M. B.¹ • Farías, R.¹ • Labriola, M. del H.¹ • Monzón, J.¹ • Salcedo, C.¹ • Walz, M. F.²

¹ Laboratorio de Urgencias del Hospital San Martín, Paraná, Entre Ríos, Argentina.

² Departamento de Matemática Aplicada, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Paraje El Pozo S/N, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

* Abrego, María Fernanda, Feliciano 952, CP 3100, Paraná, Entre Ríos, Argentina.

E-mail: mf-abrego@hotmail.com

RESUMEN: La hipoxia hística es la causa más frecuente de acidosis láctica clínicamente significativa, y su magnitud parece correlacionarse con el pronóstico de recuperación de pacientes críticos. Uno de los problemas existentes para laboratorios con unidades de terapia intensiva de escaso número de camas es la relación desfavorable entre costo del kit y el número de determinaciones, en el período de tiempo acotado por el plazo de caducidad del equipo. Cobrando así relevancia la existencia de presentaciones llamadas POCTest. Se buscó evaluar el grado de acuerdo en la determinación de lactacidemia entre dos equipos y analizar la repetibilidad de cada método. Se determinó lactacidemia a 42 pacientes de UTI mediante los reactivos: LACT2 (Cobas C111) y BM-lactato (Accutrend). El coeficiente de correlación y porcentaje de acuerdo entre estos métodos revelaron que ambos informan valores altamente confiables en términos de repetibilidad

y, en cuanto a la concordancia, resultaron mínimas las diferencias entre los valores determinados por uno u otro método.

PALABRAS CLAVE: lactacidemia, métodos, correlación, paciente crítico.

SUMMARY: *Evaluation of the degree of agreement between two kits for determination of lactacidemia in an intensive care unit patients.*

Tissue hypoxia is the most frequent cause of clinically significant lactic acidosis, and its magnitude seems to correlate with the prognosis of recovery of critically ill patients. One of the problems to laboratories with units of intensive care of very limited number of beds is the unfavorable relationship between costs of the kit vs number of determinations, in the period of time bounded by the term of expiration of the team. The existence of presentations called POCTest, so gaining relevance. We sought to evaluate the degree of agreement on the determination of

lactacidemia between two teams and analyze the repeatability of each method. Lactacidemia was determined at 42 patients of UTI by reagents: LACT2 (Beckman Coulter) and BM-lactate (Accutrend). The coefficient of correlation, percentage of agreement between these

methods revealed that both report highly reliable values in terms of repeatability, and in terms of the agreement, the differences between the values for one or another method were minimal.

KEYWORDS: lactacidemia, methods, correlation, critically patient.

1. Introducción

El ácido láctico es un ácido orgánico, disociado por completo al PH de los fluidos corporales. Se forma, principalmente, como subproducto de la glucólisis, en su fase anaeróbica y que se desarrolla fuera de la mitocondria.

La concentración de lactato aumenta cuando la tasa de producción supera la tasa de eliminación. Su acumulación puede provocar una importante disfunción celular y orgánica dando lugar a un cuadro metabólico denominado acidosis láctica (1).

El lactato que se encuentra circulando procede principalmente del músculo esquelético y de los eritrocitos; el valor de referencia de la lactacidemia es menor a 2 mmol/l (2).

En reposo, el hígado es el principal órgano responsable del metabolismo del lactato. Éste, al ingresar al hepatocito, puede seguir, principalmente, dos caminos: transformarse en glucosa (neoglucogénesis) o pasar a piruvato e ingresar finalmente a la mitocondria para terminar de oxidarse generando dióxido de carbono y agua.

La continua reducción de NAD^+ a NADH_2^+ durante la glucólisis anaeróbica suele equilibrarse por la reoxidación mitocondrial de NADH_2^+ a NAD^+ . Una menor función mitocondrial (por ejemplo, una reducción de la disponibilidad de oxígeno) reduce la disponibilidad del NAD^+ en el citosol y esta reducción provocará una des-

viación del equilibrio del sistema LDH (lacticodehidrogenasa) hacia la formación de ácido láctico (3). Por esta razón el lactato resulta ser un marcador de hipoxia tisular.

Tradicionalmente las acidosis lácticas se clasifican en 2 tipos.

- *Tipo A*, vinculadas con el desbalance entre el aporte y la necesidad de oxígeno, ejercicio voluntario intenso (mayor demanda de oxígeno), hipotensión o paro cardíaco (menor disponibilidad de oxígeno), envenenamiento con monóxido de carbono, anemia muy intensa, asfixia (menor contenido arterial de O_2).

- *Tipo B*, están vinculadas a desórdenes metabólicos (cetoacidosis diabética, falla hepática severa, sepsis, neoplasias) o por la acción de ciertos medicamentos o toxinas (intoxicación con etanol o salicilatos, ciertos hipoglucemiantes). La determinación del lactato en una persona que presente una acidosis diabética es de vital importancia para diferenciar entre lactoacidosis y cetoacidosis, ya que cada una de ellas requiere un tratamiento diferente. En el estudio realizado por Castagnino y cols. se ha evidenciado que niveles altos de lactato están asociados a aumento de la mortalidad en pacientes que se encuentran en cuidados intensivos (4).

La hipoxia hística es la causa más frecuente de acidosis láctica clínicamente sig-

nificativa, y la magnitud de la misma parece tener una buena correlación con el pronóstico de recuperación de estos pacientes. Se acepta, en general, que concentraciones de lactato superiores a 5 mmol/l, implican un mal pronóstico en pacientes graves. Se ha demostrado que un nivel elevado de lactato en el contexto de un paciente crítico es un signo de mal pronóstico que indica la necesidad de medidas terapéuticas inmediatas e intensivas. Si estas medidas consiguen reducir la lactacidemia en 24–48 hs, las posibilidades de supervivencia se incrementan notablemente (5).

Un aumento moderado de su concentración (inferior a 5 mmol/l) suele cursar sin signos ni síntomas específicos. Pero, a medida que se eleva la misma por encima de ese nivel, aumenta el riesgo de aparición de las manifestaciones clínicas de la acidosis láctica: taquicardia, taquipnea y alteración del estado mental, que puede ir desde un leve estado confusional hasta el coma (6).

La SEMES (Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias) y la SEMICYUC (Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias) en sus documentos de consenso sobre el manejo diagnóstico-terapéutico de la sepsis grave en los Servicios de Urgencias Hospitalarias incluyen la medida del lactato en la valoración inicial del paciente con sospecha de padecer una sepsis grave. Una lactacidemia superior a 3 mmol/l es uno de los criterios para la identificación de esta patología. La persistencia de niveles séricos elevados (> 3 mmol/l) tras la estabilización hemodinámica sugiere una mala perfusión tisular, e indicaría una intensificación de las medidas terapéuticas (7).

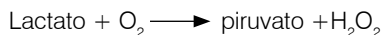
En la actualidad, la medición de la lactacidemia como parte del laboratorio del

paciente crítico ha alcanzado la categoría de examen rutinario y es una solicitud habitual en los laboratorios de terapia intensiva.

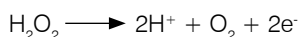
Existen varios kits comerciales utilizados en la determinación del lactato plasmático o en sangre entera. Los más ampliamente utilizados se basan en la actuación mediadora de una enzima.

1.1. Métodos amperométricos

Se basan en un electrodo sensible al lactato con un cátodo de plata y un ánodo de platino. La enzima lactato oxidasa inmovilizada cataliza la siguiente reacción:



El H_2O_2 producida llega al ánodo de platino:

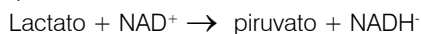


La intensidad de corriente eléctrica generada es proporcional a la concentración de lactato.

1.2. Métodos espectrofotométricos

La enzima lactato deshidrogenasa cataliza la oxidación del lactato a piruvato con la reducción simultánea de NAD^+ a NADH^- .

La absorbancia del NADH^- es directamente proporcional a la concentración de lactato:



Uno de los principales problemas que existen para aquellos laboratorios que atienden unidades de terapia intensiva con un bajo número de camas, es la relación desventajosa entre el costo del kit vs el número de determinaciones en el período de tiempo acotado por el plazo de caducidad del equipo. Desde este punto de vista, cobra relevancia la existencia en el mercado de presentaciones con un bajo número de unidades de detección y que no requieren grandes inversiones en instrumental, como los POC-Test. Otra ventaja que presentan estos dis-

positivos es la rapidez con la que es posible obtener el resultado (minutos). Sin embargo, estos Test deben ser correlacionados con algún otro que tenga posibilidades de controlarse adecuadamente ya que pueden presentar bajos niveles de precisión y exactitud.

2. Objetivos

Evaluar el grado de acuerdo en la determinación de lactacidemia entre dos equipos, que comparten el mismo fundamento de detección pero de requerimientos instrumentales diferentes, y analizar la repetibilidad de cada método.

3. Materiales y métodos

Se realizó la determinación de lactacidemia a 42 pacientes mayores de 15 años internados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital San Martín de la ciudad de Paraná. Se utilizó sangre arterial extraída con motivo de la realización de los controles rutinarios matutinos y/o vespertinos.

A cada muestra de sangre se le realizaron 4 determinaciones de lactato plasmático, dos mediante el método Lactato Enzimático LACT2 (autoanalizador Cobas C111) y otras dos usando BM-lactato con tiras reactivas, leídas en el equipo Accu-

trend. Esta última técnica requiere de sangre entera, pero una función matemática del equipo permite mostrar valores en plasma o sangre entera según seleccione el operador. Todas las determinaciones se hicieron antes de los 15 minutos posteriores a la obtención de la muestra. Ambos equipos pertenecen a la firma Roche Diagnostics.

Las dos determinaciones realizadas con cada método fueron empleadas para calcular los coeficientes de repetibilidad de cada uno. Luego, con las dos mediciones (efectuadas por cada método) se calculó el promedio de nivel de lactato en cada paciente, esto fue empleado como la única medición por método, para el cálculo del Coeficiente de Correlación Intraclase y el porcentaje de acuerdo, usados para evaluar la concordancia entre ellos.

Fundamentos de las reacciones de los métodos utilizados:

Lactato LACT2

Principio del test: prueba colorimétrica

El L-lactato es oxidado a piruvato por la enzima específica Lactato Oxidasa (LOD). La peroxidasa (POD) se emplea para generar un material utilizando el peróxido de hidrógeno producido en la primera reacción (9, 10).



La intensidad cromática del complejo formado es directamente proporcional a la concentración de L-Lactato. Se determina midiendo el aumento de la absorbancia en el autoanalizador de Química Cobas C111.

BM Lactato

Principio del test: la sangre entera apli-

cada se filtra a través de una malla protectora presente en la tira reactiva hasta la red de fibra de vidrio; los eritrocitos quedan retenidos y sólo alcanza la película indicadora el plasma sanguíneo.

Allí se produce una reacción colorimétrica como la anterior con la mediación de la Lactato Oxidasa. El cromógeno formado es

proporcional a la concentración de L-Lactato en sangre y se determina por fotometría de reflectancia en el equipo Accutrend Plus, a una longitud de onda de 657 nm,

L-lactato + mediador (forma 1) $\xrightarrow{\text{LOD}}$ piruvato + mediador reducido

Mediador reduc + 2,18 fosfomolibdato \longrightarrow Azul de molibdeno + mediador (forma 2)

4. Resultados y discusión

Respecto a la repetibilidad que cada método tiene se encontró que la media de las diferencias entre las réplicas de las mediciones de lactato realizadas en cada paciente, por el método Lactato Enzimático LACT2, resultó ser $-0,02$, valor significativamente igual a cero, según valor $p=0,78$ de la prueba t -Student; con un desvío estándar de $0,14$. Medida que resultó ser, también, igual a cero, cuando las réplicas se hicieron con el método de BM-lactato (media= $0,03$; desvío= $0,18$, valor $p=0,67$). Esto revela que ambos métodos informan valores altamente confiables en términos de repetibilidad. Asumiéndose, así, que la variabilidad observada dentro de cada uno se debe al error experimental incontrolable.

En cuanto a la concordancia entre los métodos, se encontró que el Coeficiente

de Correlación intraclase fue de $0,9331$, lo que implica que son mínimas las diferencias numéricas entre los valores determinados por uno u otro método. En la Fig. 1 se puede observar la correlación de las mediciones realizadas por ambos métodos.

El porcentaje de acuerdo entre ambos, para un punto de corte en las diferencias de $0,5$, fue del 88% . Y del 98% para valores de diferencias inferiores a uno (Fig. 2). Solo el 2% de las veces, el resultado informado por el método enzimático fue superior a 3 (y menor a $3,5$) cuando lo informado por el método de las tiras fue menor a 3 (y mayor a $2,6$). Sin embargo, esta proporción de desacuerdo, justo en el límite de corte del valor de lactato que determina estado patológico, resultó ser, estadísticamente, nula; según valor $p=0,87$ de la prueba Z .

Figura 1. Mediciones de lactato realizadas por el método BM-lactato y LACT2. Línea de igualdad.

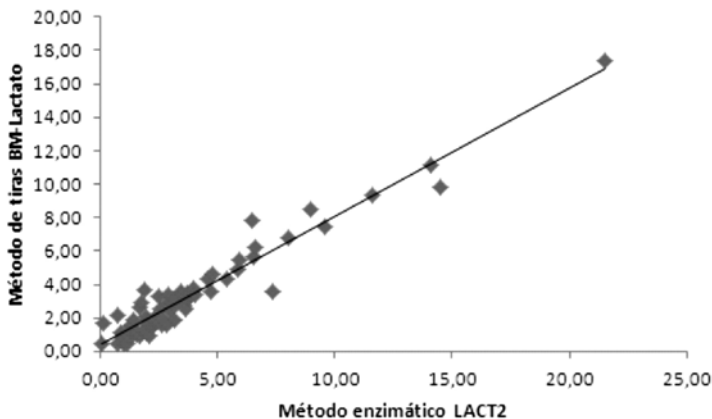
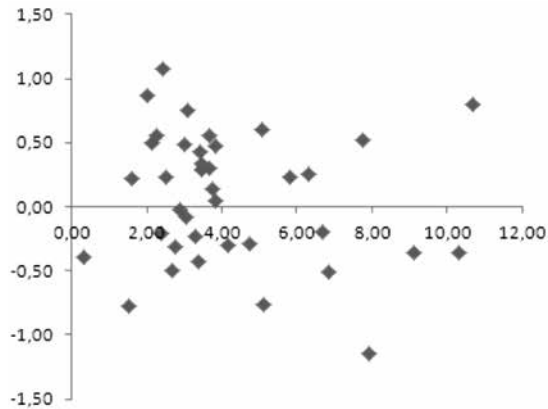


Figura 2. Método de Bland–Altman: Contraste de diferencias de valores medidos entre métodos vs. medias entre ellos.



5. Conclusión

Dado que el valor de acuerdo de ambos kits es alto y aceptable, cada equipo de profesionales intervinientes en el laboratorio de urgencias deberá evaluar y valorar para sus condiciones, posibilidades y alcances, el conjunto de fortalezas y debilidades que presenta cada equipo. El BM–Lactato tiene como ventaja su forma de presentación, en 25 determinaciones individuales, que lo hace sumamente accesible para un laboratorio donde la frecuencia de demanda está presente pero es baja; también debe mencionarse el bajo volumen de muestra utilizado (50 ul de sangre entera) y la rapidez en la obtención del resultado (menos de 1 minuto de reacción).

Si nos referimos al LACT2, podríamos decir que es un método totalmente automatizado y, aunque el tiempo de reacción es un poco mayor al anterior, cuenta con las grandes ventajas analíticas de una metodología que puede ser validada, puede mantenerse bajo control estadístico, y de la que podemos conocer el Error Total con el que estamos trabajando, lo que brinda un gran

confiabilidad a la hora de emitir el resultado.

En cuanto a los costos por determinación, al menos con estas dos presentaciones comerciales no hay una diferencia importante (menos del 10 %) que pueda hacernos inclinar por una u otra.

Referencias bibliográficas

1. Documentos de la SEQC 2010, "Lactato: utilidad clínica y recomendaciones para su medición". Documento N. Fase 3. Versión 3, p. 34
2. Kaplan, L. A., Pesce, A. J., Gau, N, 1986. "Acido láctico. Hidratos de carbono y metabolitos". Química Clínica. Editorial Panamericana, pp.1226–1230
3. Maxwell, Kleeman y Marins, 1976. "Trastornos clínicos hidroelectrolíticos". Editorial Panamericana, p. 141.
4. Castagnino, J.; Reussi, R. y otros, 1998. Niveles elevados de lactato medidos a la cabecera del paciente se asocian a mayor riesgo de muerte en cuidados intensivos. *AMA*, 3. En: http://www.ama-med.org.ar/publicaciones_revistas.asp
5. Documentos de la SEQC 2010, "Lactato: utilidad clínica y recomendaciones para su medi-

ción". Documento N. Fase 3. Versión 3, p. 35.

6. Mordes, J. P.; Rossini, A. A.; 1999. Lactic acidosis. In: Irwin R, Cera FB, Rippe JM. Irwin and Rippe's Intensive Care Medicine. 4^o ed. Philadelphia: Lippincott-Raven.

7. León Gil, C., García-Castrillo Riesgo I, Moya Mir MS, Artigas Raventós A, Borges Sa M, Candel Gonzalez FJ, Chanovas Borrás M, Ferrer Roca R, Julián Jiménez A, Loza Vazquez A, Sánchez García M. Documento de Consenso (SEMES-SEMICYUC), 2007. Recomendaciones del manejo diagnóstico-terapéutico inicial y mul-

tidisciplinario de la sepsis grave en los Servicios de Urgencia Hospitalarios. *Emergencias*, **19**, 5:260-72.

8. Documentos de la SEQC 2010, "Lactato: utilidad clínica y recomendaciones para su medición". Documento N. Fase 3. Versión 3, p. 36.

9. Trinder P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* **6**:24.

10. Barhan, D., Trinder, P., 1972. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*, **97**,151:142.