

Lipase Direta

Kit para determinação quantitativa da atividade da lipase pancreática por metodologia cinética-colorimétrica.

REF. 409

MS 8002230168



Analisa

MÉTODO

Cinético-colorimétrico.

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da lipase pancreática no soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A lipase em meio alcalino catalisa a hidrólise do substrato de 1-2-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico(6-metilresorufina)-éster formando o 1-2-dilauril-rac-glicerol e o ácido glutárico (6-metilresorufina), que é um intermediário instável. O composto instável se decompõe espontaneamente liberando ácido glutárico e metilresorufina de cor vermelha.

A intensidade de cor vermelha, medida fotometricamente, é diretamente proporcional à atividade catalítica da lipase na amostra analisada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A lipase é uma enzima secretada pelo pâncreas para o duodeno para hidrolisar os triglicérides em seus constituintes, os ácidos graxos.

A sua excreção é feita por filtração através dos glomérulos renais.

Assim como a amilase, a lipase aparece na corrente sanguínea após uma lesão das células acinares pancreáticas.

A determinação da lipase sérica é considerada um teste muito sensível e específico para a pancreatite aguda.

O consenso na literatura de um modo geral é de que a dosagem da lipase é provavelmente um teste cerca de 10% menos sensível do que a amilase sérica, porém é cerca de 20 a 30% mais específico.

Na pancreatite aguda, os níveis de lipase normalmente acompanham os da amilase.

Os valores de lipase geralmente aumentam um pouco mais tarde do que os da amilase, começando dentro de 3-6 horas, atingindo o pico em 24-48 horas e, na maioria dos casos, retornam para a faixa de referência em 7-10 dias.

Na pancreatite a taxa de lipase pode alcançar de 5-10 vezes o limite superior de referência, enquanto que nas outras doenças os seus valores são sempre inferiores a 3 vezes os valores de referência.

Como a excreção da lipase é feita através dos rins, na insuficiência renal de uma maneira geral os níveis de lipase são altos.

Valores elevados

As patologias que mais comumente apresentam valores elevados de lipase são: pancreatite aguda primária, pancreatite crônica recidivante, colecistite aguda, insuficiência renal, obstrução intestinal e infarto intestinal.

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia colorimétrica direta para a determinação da lipase facilmente adaptável em analisadores manuais, automáticos e semi-automáticos.
- A metodologia permite obter resultados precisos e exatos, se for executada conforme descrita na Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Tampão** - Contém tampão pH 8,0 50 mmol/L, colipase 1 mg/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Substrato** - Contém tampão pH 4,0 10 mmol/L, 1-2-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico(6-metilresorufina)-éster 0,27 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com cubeta termostatizada (leitura entre 550 a 600 nm);
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (heparina).

A enzima é estável no soro por 7 dias na temperatura ambiente e por um ano a 20 °C negativos.

Os anticoagulantes citrato, EDTA e fluoreto produzem resultados diminuídos porque inibem a lipase.

Não usar amostra com sinais de contaminação bacteriana.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 60 mg/dL, lipemia (triglicérides até 2000 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 500 mg/dL) não produzem interferências significativas. Amostras com valores de bilirrubina, triglicérides e hemoglobina acima dos especificados devem ser diluídas com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) antes de realizar os ensaios. No final, multiplicar os resultados pelo fator de diluição empregado.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Notas

1. A metodologia deve ser realizada sempre no modo birreagente e a ordem de adição é a seguinte: Tampão (1), Amostra, Substrato (2). Não alterar esta ordem.
2. Os reagentes devem permanecer abertos e fora da temperatura recomendada somente o tempo necessário para obtenção do volume a ser utilizado no ensaio.

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 570 nm
- Temperatura: 37 °C
- Medida: Acertar o Zero de absorvância com água deionizada
- Tipo de Reação: Cinética de tempo fixo crescente (dois pontos)

B. Técnica de Análise com Calibrador REF. 410 da Gold Analisa

Notas

1. Utilizar o Calibrador REF. 410 da Gold Analisa. Ver Instruções de Uso e valor tabelado para lipase.
2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

Dosagem do Calibrador e do Teste

1. Ajustar a temperatura do fotômetro para 37 °C e o comprimento de onda em 570 nm (550 a 600 nm).
2. Acertar o Zero de absorvância do equipamento com água deionizada.
3. Em um tubo rotulado Calibrador ou Teste pipetar: 700 µL de Tampão (1).
4. Adicionar 10 µL de Calibrador ou de amostra e homogeneizar.
5. Adicionar 400 µL de Substrato (2) e homogeneizar.
6. Transferir imediatamente para a cubeta termostatizada a 37 °C e acionar o cronômetro.
7. Fazer uma leitura fotométrica do Calibrador (AC) e do Teste (AT) aos 90 segundos (A_{90}) e uma segunda leitura aos 180 segundos (A_{180}).
8. Calcular diferença de absorvância entre 90 e 180 segundos ($A_{180} - A_{90}$) para o Calibrador e para o Teste.

Cálculos

Ver Linearidade.

ΔA do Teste ou do Calibrador = A_{180} segundos - A_{90} segundos

Como a metodologia obedece à lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta P = (A_{180} - A_{90})$ Padrão

$\Delta T = (A_{180} - A_{90})$ Teste

CC = Concentração do Calibrador = x U/L (Ver valor de lipase indicado na Tabela do Calibrador)

CT = Concentração do Teste em U/L

FC = $CC \div \Delta C$

CT = FC x ΔT

Exemplo

Se A_{90} Calibrador = 0,0506

Se A_{180} Calibrador = 0,1282

$\Delta C = 0,1282 - 0,0506 = 0,0776$

Se A_{90} Teste = 0,0338

Se A_{180} Teste = 0,0882

$\Delta T = 0,0882 - 0,0338 = 0,0544$

Se CC = 95 U/L (Valor de lipase indicado na tabela do Calibrador)

FC = $95 \div 0,0776 = 1224$

CT = $1224 \times 0,0544 = 66$ U/L

Atenção

- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.

- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

VALORES DE REFERÊNCIA

Idade	U/L
Até 1 ano	0 a 29
De 1 a 12 anos	10 a 37
De 13 a 18 anos	11 a 46
Acima de 18 anos	13 a 60

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES

Unidades Convencionais (U/L) x 0,0167 = Unidades SI (µkat/L).

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁸

Linearidade

A reação é linear até 300 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de lipase utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 0,7 e 0,6%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de lipase em dias diferentes utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,3 e 1,2%.

Sensibilidade Analítica

O limite de detecção é igual a 1,0 U/L, equivalente a média mais três desvios padrão (DP) obtidos a partir de 10 replicatas em uma amostra protéica não contendo lipase.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com um método turbidimétrico através da análise de 88 amostras de soro humano com valores de lipase desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com um coeficiente de correlação linear $r = 0,985$ e uma equação de regressão $y = 0,914x - 0,581$.

OBSERVAÇÕES

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Annino JS. Clinical Chemistry. Principles and Procedures, 4ª ed. Little, Brown and Company.
- Henry, R.J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2ª ed. Harper and Row, 1974.
- Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico - Aplicações Diagnósticas. BH - Analisa Diagnóstica, 2000.
- Neumann, U, Junius M, Maier B. Sensitive Colorimetric Assay for the Kinetic Lipase Determination in Serum. Boehringer Mannheim GmbH Biochemical Research Center, 1986.
- Prinzling U, Zielenski L, Schellong L, Klein G, Meier G, Hammer B. Kinetic colorimetric assay for pancreatic lipase (PL) based on a chromogenic substrate. Poster No. 122, 50th Annual Meeting of the American Association for Clinical Chemistry, 1998.
- Rabbo, E.: J. Clin. Lab. Invest. 29,297, 1972.
- Tonks D.B.: Clin. Chem. 9, 217, 1963.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
409	Tampão	3 x 10 mL
	Substrato	3 x 6 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230168

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020








Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Data limite de utilização		Consultar as instruções de uso
	Fabricado por		

Revisão: 02/18