

Lipase Liquicolor

MÉTODO:

Enzimático colorimétrico.

Um substrato de lipase produzido sinteticamente (1,2-o-dilauryl-rac-glicero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin)ester) é adicionado a uma microemulsão que é especificamente desintegrada pela lipase na presença de colipase e ácido biliar. A combinação de lipase e ácido biliar garante a especificidade da determinação da lipase pancreática sem qualquer reação devido a enzimas lipolíticas ou esterases. A composição do reagente foi otimizada para que não se tenha efeitos com a matriz do soro. O methylresorufin-ester produzido é degradado espontaneamente a methylresorufin. A absorbância da cor vermelha é diretamente proporcional a atividade da lipase na amostra.

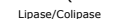
FINALIDADE:

Teste enzimático colorimétrico para determinação quantitativa da Lipase em soro e plasma Humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A lipase catalisa a reação:

1,2-dilauryl-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester



1,2-o-dilauryl-rac-glicerina + ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester

Ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester $\xrightarrow{\text{degradação espontânea}}$

Ácido glutárico + Metilresorufina

SIGNIFICADO CLÍNICO:

Lipases são enzimas que hidrolisam ésteres de glicerol de ácidos graxos longos. A enzima e seu cofator colipase são produzidos no pâncreas; a lipase também é secretada em pequenas quantidades das glândulas salivares, mucosa gástrica, pulmonar e intestinal. Ácidos biliares e colipase formam um complexo micelar com os lípidos e ligam a lipase ao substrato/interface de água. A determinação da lipase é usada para investigação de desordens pancreáticas. Na pancreatite aguda a concentração da lipase aumenta de 2 a 50 vezes o limite superior de referência dentro de 4-8 horas depois de picos de dores abdominais em 24 horas, e diminui dentro de 8 a 14 dias. Valores de lipase elevados podem ser observados em pancreatites e obstruções do ducto pancreático.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

BUF - Tampão: Tampão Goods pH 8,0; Taurodesoxicolato \geq 1,0 mmol/L; Desoxicolato \geq 1,0 mmol/L; Íons de Cálcio \geq 1,0 mmol/L; Colipase \geq 2 mg/L; Detergente e conservante.

SUB - Substrato: Tampão Tartarato pH 4,0; Substrato de Lipase \geq 0,1 mmol/L; Estabilizante e conservante.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade quando armazenados fechados entre 2 e 8°C. Evitar congelamento e contaminação.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

PREPARO DOS REAGENTES:

O **BUF** e o **SUB** estão prontos para uso. Estabilidade depois de aberto é de 90 dias quando armazenado entre 2 e 8°C. Mantenha longe da luz direta. Homogeneizar bem antes de usar.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. Todos os reagentes contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as normas de biossegurança.
- Para descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- SUB** é uma micro-emulsão turva de cor laranja, descartar se virar para vermelho. Em algumas condições de armazenamento (por exemplo, armazenamento a uma temperatura mais baixa do que a indicada) pode aparecer no frasco, que não influenciará o desempenho do reagente; No entanto, recomenda-se ressuspender o produto com uma ligeira rotação do frasco antes de efetuar a análise.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

Soro ou plasma heparinizado.

Estabilidade: 7 dias entre 20 e 25°C; 3 semanas entre 4 e 8°C; 1 ano a -20°C. Descartar amostras contaminadas.

- O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

INTERFERÊNCIAS:

- Hemoglobina abaixo de 250 mg/dL e intralípide abaixo de 250 mg/dL podem causar interferência, bilirrubina até 40 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não interferem nos resultados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho-maria 37°C

MÉTODO DE ANÁLISE:

A- Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 580 nm, Hg 578 nm

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 37°C

Medida: Contra ar (aumento de absorbância).

B. Esquema de Pipetagem:

Para a calibração utilizar o calibrador AUTOCAL, calibrador liofilizado da Human para Sistemas de Química Clínica.

Pipetar dentro das cubetas:		
	Branco	Amostra
Calibrador/Amostra	-	20 μ L
Água destilada	20 μ L	-
BUF	1000 μ L	1000 μ L
Homogeneizar cuidadosamente (não sacudir), incubar 5 minutos. Iniciar a reação adicionando o SUB		
SUB	250 μ L	250 μ L
Homogeneizar, incubar por 2 minutos a 37°C. Ler a absorbância e cronometrar o tempo de parada. Após exatamente 1 e 2 minutos ler a absorbância novamente e calcular o $\Delta A/\text{min}$		

CÁLCULO:

Lipase = $\Delta A/\text{min}_{\text{AMOSTRA}} \times \frac{\text{Concentração do Calibrador}}{\Delta A/\text{min}_{\text{CALIBRADOR}}}$ U/L

$$\Delta A/\text{min}_{\text{AMOSTRA/CALIBRADOR}} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1)}{2}$$

Exemplo:

A0AMOSTRA = 0,658

A1AMOSTRA = 0,681 $\Delta A/\text{min}_{\text{AMOSTRA}} = (0,681 - 0,658) + (0,710 - 0,681) / 2$

A2AMOSTRA = 0,710 $\Delta A/\text{min}_{\text{AMOSTRA}} = 0,026$

A0CALIBRADOR = 0,824

A1CALIBRADOR = 0,897 $\Delta A/\text{min}_{\text{CALIBRADOR}} = (0,897 - 0,824) + (0,963 - 0,897) / 2$

A2CALIBRADOR = 0,963 $\Delta A/\text{min}_{\text{CALIBRADOR}} = 0,070$

Concentração do calibrador: 68,4 U/L

Lípase = $0,026 \times (68,4/0,070) = 25,4$ U/L

Se o valor limite for ultrapassado, sugere-se a diluição da amostra 1:1 com solução salina (0,9%) e repetir o ensaio, multiplicando o resultado por 2.

INTERVALO DAS CALIBRAÇÕES:

Deve-se calibrar o branco diariamente.

Deve-se calibrar o sistema ao se mudar de lote ou quando os valores dos soros controle utilizados ficarem fora da faixa especificada para o Controle de Qualidade.

RASTREABILIDADE:

O método da Lipase Liquicolor é rastreável ao protocolo EP-5 do NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standards).

AUTOMAÇÃO:

Protocolos de aplicação para equipamentos semi-automáticos ou automáticos serão fornecidos quando solicitados pelo cliente. Cada laboratório deve ser responsável pela validação da aplicação.

LINEARIDADE:

A reação é linear de 10 a 300 U/L. Não é observado efeito de prozona. A linearidade e limite de prozona dependem do analisador utilizado.

SENSIBILIDADE:

O limite de detecção foi avaliado a partir do Desvio Padrão de 20 replicatas de 1 amostra zero (salina). O limite de detecção resultante foi de 1,00 U/L.

VALORES DE REFERÊNCIA:

\leq 60 U/L.

Esta faixa é fornecida apenas como orientação. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para a atividade da Lipase, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser empregado.

REPETIBILIDADE:

N	Média (U/L)	DP (U/L)	% CV
20	9,91	0,211	2,13
20	29,4	0,279	0,951
20	54,1	0,385	0,711

REPRODUTIBILIDADE:

N	Média (U/L)	DP (U/L)	% CV
20	19,8	0,360	1,82
20	66,1	1,12	1,69
20	91,8	1,71	1,86

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

A Lipase Liquicolor foi comparada contra um método comercialmente disponível. Amostras de pacientes foram empregadas na comparação (N=67).

Regressão linear obtida:

$R = 0,99$

$Y = -1,15X + 0,964$

$X_{média} = 48,91 \text{ U/L}$

$Y_{média} = 46,321 \text{ U/L}$

Os métodos mostraram uma boa concordância e nenhum desvio significativo foi observado em nenhuma das amostras.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
12006	BUF SUB	4 x 10 mL 2 x 5 mL	40
12006-IV1/2	BUF SUB	2 x 10 mL 1 x 5 mL	Varia de acordo com o equipamento
12006-IV3/4	BUF SUB	2 x 10 mL 1 x 5 mL	Varia de acordo com o equipamento

BIBLIOGRAFIA:

1. Lorentz K., in: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 130 - 133 (2012)
2. Moss D. W., Henderson A.R., in: Burtis C.A., Ashwood E.R., eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company, 689-708 (1999)
3. Bruns, D, editor. Tietz Textbook, 585 - 587 (2012)
4. Lott J. et al., Clin Chem 32, 1290-1302 (1986)
5. Leybold A., Junge W., Adv Clin Enzymol 4, 60-67 (1986)
6. Borgstrom B., Biochimica et Biophysica Acta 488, 381-391 (1977)
7. Cargouri Y., J of Lipid Research 24, 1336-1342 (1983)
8. Junge W. et al., Clin Chem Lab Med 37, Special suppl: 469 (1999)
9. Guder W et. Al., Die Qualitat diagnostischer Proben, 7 Edition (2012)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricante: HUMAN GmbH, Stegelitzer straÙe, 3 39126- Magdeburg - Alemanha

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial -

Itabora/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463

ANVISA: 10303460436 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação