

Lipase InviVET

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.

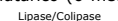
FINALIDADE:

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

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 no 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; Azida Sódica 0,05 - 0,095%.

SUB - Substrato: Tampão Tartarato pH 4,0; Substrato de Lipase \geq 0,1 mmol/L; Propan-1-ol 1,00 - 5,00%.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo depois de abertos, até o vencimento da data de validade quando armazenados 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.

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) um precipitado 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.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

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 até 400 mg/dL, bilirrubina até 50 mg/dL, intralípide até 1100 mg/dL e ácido ascórbico até 50 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

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

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

Lipase = $0,026 \times (68,4/0,070) = 25,4$ 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.

RASTREABILIDADE:

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

LINEARIDADE:

A reação é linear de 1 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:

Espécie	U/L
Canino	13 - 200
Felino	0 - 83

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para a atividade da Lipase, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser empregado. Aconselhamos o uso do Controle 1 InviVET e Controle 2 InviVET.

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 VET 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
417	BUF	2 x 10 mL	20
	SUB	1 x 5 mL	

BIBLIOGRAFIA:

- Lorentz K., in: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 130 - 133 (2012)
- 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)
- Bruns, D, editor. Tietz Textbook, 585 - 587 (2012)
- Lott J. et al., Clin Chem 32, 1290-1302 (1986)
- Leybold A., Junge W., Adv Clin Enzymol 4, 60-67 (1986)
- Borgstrom B., Biochimica et Biophysica Acta 488, 381-391 (1977)
- Cargouri Y., J of Lipid Research 24, 1336-1342 (1983)
- Junge W. et al., Clin Chem Lab Med 37, Special suppl: 469 (1999)
- Guder W et. Al., Die Qualität diagnostischer Proben, 7 Edition (2012)
- Eclinpath – Cornell University College of Veterinary Medicine
- Manual de Patologia Clínica Veterinária, LOPES, S.; BIONDO, A., SANTOS, A., UFSM, 3ª Edição, 2007.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.

Telefone: 31-3654-6366 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda.

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG CEP: 35903-053

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

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

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

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