Lipase liquicolor - SNIBE

MÉTODO
Enzimático colorimétrico.

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

FUNDAMENTO
Um substrato de lípase produzido sinteticamente (1,2-o-dilauryl-rac-glycero-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.

A lipase catalisa a reação:
1,2-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester
$\xleftarrow{\text{Lipase/Colipase}}$
1,2-o-dilauril-rac-glicerina + ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester

Ácido glutárico-(6-metilresorufina)ester $\xleftarrow{\text{degradação espontânea}}$
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 lípides 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 8ºC.

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

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

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.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade quando armazenados fechados entre 2 e 8ºC. 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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

TERMOS E CONDIÇOES 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 transmitem 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro ou plama heparinizado.

Estabilidade das amostras: 7 dias entre 20 e 25ºC; 3 semanas entre 4 e 8ºC; 1 ano a –20ºC. 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 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE
A- Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 580 nm, Hg 578 nm
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: Contra ar (aumento de absorbância).

B. Procedimento de teste:

Pipetar dentro das cubetas:		
	Branco	Amostra
Calibrador/Amostra	-	20 µL
Água destilada	20 µL	-
BUF	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar cuidadosamente (não sacudir), incubar 5 minutos. Iniciar a reação adicionando o SUB		
SUB	250 µL	250 µL
Homogeneizar, incubar por 2 minutos a 37ºC. Ler a absorbância e cronometrar o tempo de parada. Após exatamente 1 e 2 minutos ler a absorbância novamente e calcular o ΔA/mim		

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

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

Exemplo:
A0AMOSTRA= 0,658
A1AMOSTRA= 0,681 ΔA/min AMOSTRA= (0,681-0,658) + (0,710 – 0,681) / 2
A2AMOSTRA= 0,710 ΔA/min AMOSTRA= 0,026

A0CALIBRADOR= 0,824
A1CALIBRADOR= 0,897 ΔA/min CALIBRADOR= (0,897-0,824) + (0,963 – 0,897) / 2
A2CALIBRADOR= 0,963 ΔA/min CALIBRADOR = 0,070

Concentração do calibrador: 68,4 U/L

Lipase = 0,026 x (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.

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica – Snibe de acordo com os procedimentos descritos em suas instruções de uso e tabelas com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

VALORES DE REFERÊNCIA
≤ 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. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
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 U/L
$Y_{média}$ = 46,321 U/L

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

Precisão
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

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.

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.

Interferentes
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.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Nº Cat.	Reagente	Volume
821-1	BUF SUB	1 x 40 mL 1 x 10 mL

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 Sauders 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 Biophysika 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: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF-MG 4463
ANVISA: 10303460588 Classe de risco: II

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