



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Fev/18)

LIPASE

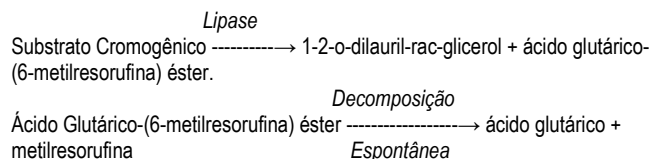
Método Cinético Colorimétrico

FINALIDADE

Determinação quantitativa da atividade enzimática da lipase pancreática em soro e plasma animal. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro."

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Neste teste, o substrato cromogênico 1-2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico (6-metilresorufina)-éster é clivado em meio alcalino por ação catalítica da lipase formando o 1-2-o-dilauril-rac-glicerol e o intermediário instável ácido glutárico-(6-metilresorufina) éster, que se decompõe espontaneamente no meio alcalino para formar ácido glutárico e metilresorufina (cor vermelha). A intensidade da cor formada é diretamente proporcional à atividade da lipase na amostra.



SIGNIFICADO CLÍNICO

A lipase pancreática (LPS) é uma enzima secretada pelo pâncreas e lançada para o duodeno com a função de hidrolisar os triglicérides sem seus constituintes, os ácidos graxos. Sua excreção é feita por filtração através dos glomérulos renais. Sua avaliação é essencial no diagnóstico das patologias pancreáticas. Na pancreatite aguda, os níveis de lipase normalmente acompanham os da amilase. Os níveis de lipase geralmente aumentam um pouco mais tarde do que os da amilase, começando dentro de 3-6 horas, atingindo seu pico em 24-48 horas e, na maioria dos casos, retornam a faixa normal em 7-10 dias. Os valores de lipase na pancreatite podem alcançar de 5-10 vezes o limite superior de referência. Seu aumento não necessariamente se correlaciona com a gravidade da doença. Em outras doenças seus níveis são 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, seus níveis são elevados.

Outras patologias que elevam os níveis de lipase: infarto intestinal, colangite aguda, obstrução do intestino delgado, pancreatite crônica recidivante e colecistite aguda.

REAGENTES

1. Tampão: 02 frascos com 18 mL de solução tamponada em pH 8,0 contendo colipase 1,0 mg/L e azida sódica 0,095%. Conservar entre 2 e 8°C.

2. Substrato: 02 frascos com 4,5 mL de solução tampão 10 mmol/L pH 4,0; 1-2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico (6-metilresorufina) éster 270 µmol/L; surfactante e azida sódica 0,095%. Conservar entre 2 e 8°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Vidraria
Centrífuga
Pipetas manuais ou automáticas
Banho-maria
Água destilada ou deionizada
Cronômetro
Soro Calibrador

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.

Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2 a 8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz.

Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas de 15 a 25°C até um limite de 48 horas.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. Evitar contaminação com ions metálicos ou agentes oxidantes.
3. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receberem manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
4. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
5. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
6. Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente. Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
7. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
8. O desempenho do ensaio pode ser afetado se esse reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
9. Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
10. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosmético dentro da área de trabalho onde reagente e amostras estiverem sendo manuseados.
11. Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.
12. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
13. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
14. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
15. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.
16. Em caso de sinais de deterioração, descartar o reagente caso seja observado a presença de partículas e de turbidez no Tampão e cor vermelha com partículas no Substrato.

AMOSTRA

Soro e plasma (Heparina).

Amostras de soro e plasma podem ser armazenadas de 2 a 8°C por até 7 dias antes do ensaio. Para armazenamento de longo período, as amostras devem ser mantidas congeladas abaixo de -20°C.

Deixar as amostras atingirem a temperatura ambiente antes do teste. Amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e homogeneizadas antes do ensaio. Amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

PROCEDIMENTO

Atenção:

É imprescindível a aquisição do **Soro Calibrador Biofocvet** para calibração do kit de Lipase.

Estão disponíveis para venda também, nossos Soros Controles.

É importante atentar ao valor de concentração destes reagentes a cada mudança de lote.

Reagentes prontos para uso.

	Condições para os testes
Temperatura de trabalho	37°C ± 0,5 °C
Comprimento de onda	580 nm (550 a 600)

Tomar 4 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

1-Pré-aquecer os Reagentes durante 2 minutos a 37°C.

2-Acertar o zero do aparelho com água destilada.

3-Pipetar em um tubo de ensaio:

	Teste	Calibrador
Tampão	800 µL	800 µL
Calibrador	-	10 µL
Amostras	10 µL	-
Substrato	200 µL	200 µL

Nota: A metodologia deve ser seguida em formato bi-reagente, adicionando-se o tampão, amostras e o substrato. Não alterar a ordem proposta.

Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostaticada a 37°C. Acionar o cronômetro. Efetuar as leituras de absorbância em 580 nm aos 90 e 180 segundos. A diferença (A180 – A90) entre as leituras será usada nos cálculos abaixo.

CÁLCULOS

$$\text{Lipase (U/L)} = \frac{\text{Teste (A180 - A90)}}{\text{Calibrador (A180 - A90)}} \times \text{Concentração do Calibrador}$$

Exemplo:

Teste: A90=0,036 A180= 0,089
Calibrador: A90 = 0,052 A180= 0,133

Concentração do Calibrador: 109,0 U/L

$$\text{Lipase (U/L)} = \frac{0,089 - 0,036}{0,133 - 0,052} \times 109,0 = 71,3$$

0,133 – 0,052

VALORES DE REFERÊNCIA

< 40 U/L

Estes valores de referência devem ser considerados apenas como orientação. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência, baseados em sua população.

LINEARIDADE

A reação é linear entre 3,0 a 300 U/L. Em casos de valores maiores que 300 U/L, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%.

Exatidão: A comparação com método similar validado demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,995 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 1,0219x + 2,2772$ que demonstra uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2
Média	42,4	97,6
Desvio Padrão	1,43	2,85
Coefficiente de Variação (%)	3,4	2,9

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2
Média	44,5	97,2
Desvio Padrão	1,92	2,92
Coefficiente de Variação (%)	4,3	3,0

Sensibilidade analítica: O kit possui sensibilidade de 3 U/L.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Não utilizar amostras com EDTA, Citrato, Fluoreto ou Oxalato de Sódio, pois as mesmas produzem resultados diminuídos por inibição da atividade da lipase. Não usar amostras com partícula de fibrina ou contaminada, apresentando crescimento microbiano.

Concentrações de bilirrubina total até 40 mg/dL, hemoglobina até 400 mg/dL e triglicérides até 300 mg/dL não interferem significativamente na reação.

Amostras com bilirrubina, hemoglobina e triglicérides em concentrações maiores que as referidas devem ser diluídas em NaCl 150 mmol/L (0,85%) antes de realizar os ensaios.

Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Amostras fortemente hemolisadas, lipídicas ou turvas não devem ser usadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- McNeely M. Lipase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1130-1134, 892.
- Neumann U, Junius M, Maier B. A Sensitive Colorimetric Assay for the Kinetic Lipase Determination in Serum. Boehringer Mannheim GmbH, Biochemical Research Center, 1986.
- Prinzinger U, Zielenski L, Schellong L, Klein G, Meier G, Hammer B. Kinetic colorimetric assay for pancreatic lipase (PL) based on a chromogenic substrate. Poster N° 122, 50th Annual Meeting of the American Association for Clinical Chemistry, 1988.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981; 27:493-501.

APRESENTAÇÃO

	Volume
1. Tampão	2 x 18 mL
2. Substrato	2 x 4,5 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

(31) 3309-9262

e-mail: biofocovet@focovet.com.br



CNPJ: 71.437.917/0001-04

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote