

Lipase

Kit para determinação da lipase através de metodologia colorimétrica.

REF. 304

MS 80022230151



Analisa

MÉTODO

Colorimétrico.

FINALIDADE

Reagentes para a determinação da atividade enzimática da lipase em amostras de soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A lipase sérica hidrolisa especificamente um tioéster, liberando o tioálcool correspondente e ácido butírico. O tioálcool reage com ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzóico em meio tamponado formando um ânion de coloração amarela, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da enzima e apresenta a absorção máxima em 412 nm.

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 níveis 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.

Os valores de lipase na pancreatite podem alcançar de 5-10 vezes o limite superior de referência, enquanto que nas outras doenças os níveis de lipase 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. Infarto intestinal, colangite aguda e obstrução do intestino delgado são outras doenças que podem apresentar níveis altos de lipase sérica.

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 MÉTODO

- Metodologia colorimétrica específica, mais simples e menos trabalhosa do que as metodologias turbidimétricas e titulométricas existentes.
- O inibidor empregado na metodologia evita a interferência de esterases inespecíficas que poderiam hidrolisar o substrato.
- Os volumes dos reagentes e da amostra podem ser alterados proporcionalmente.
- 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 TRIS 100 mmol/L e azida sódica 7,7 mmol/L. Conservar entre 2-8 °C.
2. **Inibidor:** Contém PMFS (fenil-metil-sulfonil fluoreto) 20 mmol/L em etanol. Conservar entre 2-8 °C.
3. **Reagente de Cor:** Contém acetato de sódio 25 mmol/L; DTNB (ácido ditio bis-2-nitrobenzóico) 3 mmol/L e azida sódica 7,7 mmol/L. Conservar entre 2-8 °C.
4. **Substrato:** Contém BALB (tributirato de 2,3 dimercaptopropanol) 20 mmol/L; laurilsulfato de sódio 20 mmol/L em etanol. Conservar em temperatura ambiente depois de aberto o kit.
5. **Inativador:** Contém lauril sulfato de sódio 27,6 mmol/L. Conservar em temperatura ambiente depois de aberto o kit.

Atenção

Os reativos Inibidor (2) e Substrato (4) são envasados em ampolas. Para utilizá-los, quebrar as ampolas e acondicioná-los nos frascos vazios devidamente identificados que acompanham o kit.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados em temperatura entre 2-8 °C, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

NOTA: Homogeneizar os reagentes Substrato (4) e Inativador (5) antes do uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura em 412 nm);
- Banho-maria ou termostator na temperatura constante de 37°C;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados especiais habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.
- Os reagentes Inibidor (2) e Substrato (4) são inflamáveis. Evitar fontes de ignição durante a manipulação dos mesmos.
- Os reagentes Tampão (1), Inibidor (2), Reagente de Cor (3) e Substrato (4) contêm azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosas.
- Em caso de acidentes tomar as medidas cabíveis de primeiros socorros.

AMOSTRA

SORO.

A enzima é estável no soro por 7 dias na temperatura ambiente e por várias semanas entre 2-8 °C.

Não usar soro hemolisado. Uma concentração de 0,16 g/mL de hemoglobina produz moderada inibição, sendo que 0,5 g/mL inibe até 50%.

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

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

PROCEDIMENTO DO TESTE

NOTAS

1. O nível de água do banho maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos.
2. O controle de temperatura e dos tempos de incubação deve ser rígido.
3. O reagente Inibidor (2) quando misturado com o Substrato (4) tem sua capacidade inibitória diminuída.
4. A ordem de entrada dos reagentes na reação de cor deve ser criteriosamente observada.
5. As leituras fotométricas deverão ser feitas logo após o término da reação de cor.

A. Condições de Reação

- Equipamento: Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Leitura: Comprimento de onda 412 nm (410 a 415).
- Medida: Contra Branco do Teste.

B. Técnica de Análise

1. Identificar dois tubos de ensaio como Branco do Teste e Teste e proceder:

Tubos	Branco do Teste	Teste
Tampão (1)	1,0 mL	1,0 mL
Soro	50 µL	50 µL
Inibidor (2)	20 µL	20 µL
Reagente de Cor (3)	100 µL	100 µL

2. Homogeneizar bem. Incubar a 37 °C por 2 minutos.

Substrato (4)	----	100 µL
---------------	------	--------

3. Homogeneizar bem. Incubar a 37 °C por 30 minutos.

Inativador (5)	2,0 mL	2,0 mL
Substrato (4)	100 µL	----

4. Homogeneizar bem.

5. Efetuar **imediatamente** as leituras fotométricas em 412 nm (faixa de 410 a 415 nm), acertando o Zero com o tubo Branco do Teste.

Atenção

Para obter o rendimento de 40 testes, reduzir os volumes de reagentes e de amostra para metade na técnica de análise.

C. Cálculos

At = Absorbância do Teste

Unidades de Lipase em U/L = At x (1000 ÷ 7) = At x 143

O fator fixo 143 (1000 ÷ 7) é utilizado para converter as unidades espectrofotométricas de lipase em U/L.

Exemplo

At = Absorbância do Teste = 0,223

Lipase (U/L) = 0,223 x 143 = 32 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

2 a 18 U/L.

Estes valores devem ser usados como uma orientação.

É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

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 75 U/L. Para valores maiores, adotar o seguinte procedimento:

1. Repetir a dosagem, reduzindo o tempo de incubação após a adição do Substrato (4).
2. Calcular o valor, multiplicando o valor encontrado por 30 e dividindo-o pelo tempo de incubação utilizado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 10 determinações, utilizando 3 amostras com valores de 72 U/L, 31 U/L e 11U/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 3,6 , 5,2 e 7,3%, respectivamente.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 10 determinações, utilizando 3 amostras com valores de 72 U/L, 31 U/L e 11U/L. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 3,6 , 5,5 e 6,9%, respectivamente.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de amostras de soro humano com valores desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 1,427x + 0,977$.

OBSERVAÇÕES

1. 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.
2. 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.
3. 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

1. Annino JS . Clinical Chemistry. Principles and Procedures, 4ª ed. Little, Brown and Company.
2. Caraway WT. Am J Clin Path 1959; 32: 97.
3. Henry, R.J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2ª ed. Harper and Row, 1974.
4. Jaffe, M. Z. Physiol. Chem. 10, 39, 1886.
5. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico - Aplicações Diagnósticas. BH - Analisa Diagnóstica, 2000.
6. Rabbo, E.: J. Clin. Lab. Invest. 29,297, 1972.
7. Tonks D.B.: Clin. Chem. 9, 217, 1963.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
304	20 a 40	Tampão	1 x 40 mL
		Inibidor	1 x 1,5 mL
		Reagente de Cor	1 x 4 mL
		Substrato	1 x 4,5 mL
		Inativador	1 x 80 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 80022230151

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		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Inflamável		

Revisão: 02/18