

Bioclin

LIPASE

K025

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da atividade da Lipase. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Colorimétrica

A Lipase atua hidrolisando os ésteres de Glicerol de Ácidos graxos de cadeias longas (triacilgliceróis) em diglicerídeos, monoglicerídeos e Ácidos graxos livres. Durante a reação o substrato, em meio tamponado e estabilizado, adquire uma forma emulsificada (micelas) formando interfaces (lípidos-água) necessárias a ação da Lipase que em presença do Ácido ditionitrobenzóico (DTNB) forma um cromógeno de cor amarela sendo proporcional à atividade da Lipase no soro.

REAGENTES

Número 1 - Tampão - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Tris (hidroximetilamino metano) 100 mmol/L, pH 8,5.

Número 2 - Inibidor Enzimático - conservar entre 2 e 8°C.

Contém: Fenilmetil sulfonil fluoreto 8 mmol/L e solubilizante.

Numero 3 - Reagente de Cor - conservar entre 2 e 8°C.

Contém: DTNB (Ácido ditionitrobenzóico) 3 mmol/L, Acetato de Sódio 100 mmol/L, estabilizador, pH 6,0 .

Número 4 - Substrato - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tributirato ditiopropanol 20 mmol/L e surfactante.

Número 5 - Acetona - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Acetona p.a.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Reagente Nº 1	40 mL
Reagente Nº 2	1 mL
Reagente Nº 3	4 mL
Reagente Nº 4	2 mL
Reagente Nº 5	80 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, centrífuga, pipetas, tubos de ensaio.

Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas entre 15 e 30 °C não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas. **Não congelar.** Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;
- 5 - As cubetas do colorímetro ou espectrofotômetro devem estar rigorosamente secas;
- 6 - É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura;

7 - Os Reagentes Nº 2, 3 e 4 são tóxicos e irritantes para a pele e mucosas. Manusear com cuidado;

8 - **O Substrato e o Inibidor são acondicionados em ampolas; depois de abertas, transferir o conteúdo para os frascos vazios que acompanham o kit;**

9 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. Outros anticoagulantes (EDTA, citrato, oxalato) inibem a atividade da Lipase. A amostra é estável no plasma por 24 horas entre 15 e 30 °C e 21 dias entre 2 e 8 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

Marcar 2 tubos de ensaio: C (Controle), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Controle	Amostra
Reagente Nº 1	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	50 µL	50 µL
Reagente Nº 2	—	50 µL
Reagente Nº 3	100 µL	100 µL

Colocar os tubos em banho-maria a 37°C por 2 minutos para equilibrar a temperatura. Em seguida adicionar:

Reagente Nº 4	—	0,1 mL
---------------	---	--------

Homogeneizar e incubar a 37 °C por exatamente 30 minutos e em seguida adicionar:

Reagente Nº 5	2,0 mL	2,0 mL
---------------	--------	--------

Homogeneizar bem e deixar em repouso por 3 minutos.

Transferir os conteúdos dos tubos Controle e Amostra para 2 tubos de centrifugação. Centrifugar a 3.500 rpm por 5 minutos. Transferir os sobrenadantes límpidos para cubetas secas do colorímetro ou do espectrofotômetro e determinar as absorbâncias dos tubos Controle e Amostra em 410 nm (400-415), acertando o zero com água destilada ou deionizada. A cor formada é estável por 30 minutos.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

$$\text{Lipase (UI)} = \frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Controle}}{7} \times 1.000$$

Exemplo:

Abs. da Amostra = 0,131
Abs. do Controle = 0,102

$$\text{Lipase (UI)} = \frac{0,131 - 0,102}{7} \times 1.000 = 4,14 \text{ UI}$$

A reação é linear até 75 UI. Para valores maiores, realizar nova determinação, reduzindo o tempo de incubação. Multiplicar o resultado por 30 e dividir pelo tempo de incubação utilizado, em minutos.

INTERFERENTES

Algumas drogas como: colinérgicos, codeína, indo-metacina, meperidina e morfina podem provocar um aumento na Lipase sérica. Já os íons Cálcio podem interferir diminuindo os valores de Lipase.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método é indicado somente para determinação manual da Lipase sérica.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em UI, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Lipase em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro: 2 a 15 UI

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95 e 107%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit de Lipase foi comparado com outros métodos para dosagem de Lipase. De acordo com os resultados de 05 amostras clínicas, os métodos mostraram uma excelente correlação. O coeficiente de correlação foi de 0,99941 e a equação da reta de regressão foi de $Y = 0,9798 + 0,9994 X$. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETITIVIDADE

A repetitividade refere-se a 20 determinações sucessivas de Lipase, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (UI)	28,60	5,44	30,95
Desvio Padrão (UI)	2,210	0,184	0,998
Coefficiente de Variação (%)	7,727	3,391	3,226

REPRODUTIVIDADE:

A reprodutividade refere-se 20 determinações de Lipase, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Conc. Média/dia (UI)	30,08	5,69	33,67
Desvio Padrão (UI)	1,61	0,23	2,73
Coefficiente de Variação (%)	5,36	4,05	8,09

Efeito Matriz

Diluições variadas da matriz não demonstraram alterações na sensibilidade diagnóstica utilizando-se esta metodologia.

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra de concentração 0 (zero) de Lipase.

A média da concentração de Lipase foi 0,00085 UI com Desvio Padrão de 0,00037 UI. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a 3 vezes o Desvio Padrão = 0,0111 UI.

Significado Diagnóstico

A Lipase é uma enzima produzida quase que exclusivamente pelo pâncreas. Na presença de pancreatite, a Lipase é liberada em altas concentrações no sangue, persistindo por muito mais tempo que a Amilase, possibilitando a confirmação do diagnóstico tardio da doença.

Os valores de Lipase na pancreatite podem alcançar de 5 a 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. A Lipase aumenta na pancreatite aguda, pancreatite crônica (câncer da cabeça do pâncreas), obstrução dos dutos pancreáticos por cálculos ou neoplasias. Como a excreção da Lipase é feita através dos rins, na insuficiência renal de uma maneira geral, os níveis de Lipase são altos. No infarto intestinal, na colangite aguda e na obstrução do intestino delgado valores aumentados da Lipase também podem ser observados. A Lipase pode estar diminuída fisiologicamente durante a gravidez, no curso da tuberculose e de outras doenças infecciosas.

NÚMERO DE TESTES

20 Testes/ 50 µL de amostra/3 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - CHERRY, I.S., CRANDAL, L.A.: Am J. Physiol.: 100:266, 1932
- 2 - RICK; W.: Klin, Chem. Klin. Biochem.: 7: 530, 1969.
- 3 - FRIED. R., HOEFMAYER, J.: Z. Klin Chem. Klin Biochem.: 11:89, 1973.
- 4 - ROE. J.H., BYLER, R.E.: Anal. Biochem. 6:451, 1963.
- 5 - TIETZ, N.W., FIERECK, E.º: Clin. Chim. Acta. 13:352, 1966.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA:10269360102.