

BioTécnica
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA

X IVD

Li pase
Lípase / Lipase
Ref. 11.009.00

Responsável Técnico
Dr. Gison Séri Rizzo
CRF. MG – 5310
MG 80027310267

FINALIDADE
Kit destinado à determinação quantitativa da atividade enzimática da lipase no soro e plasma. Usado em diagnóstico *in vitro*.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Conservar de 2 a 8°C
- Manter ao abrigo da luz.
- A validade do kit está impressa no rótulo da embalagem
- Não usar reagentes com validade expirada.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO
 A lipase catalisa a divagem do substrato 1-2-O dilauryl-rac-glicerd-3-glicérico (6-metilresorufina)-éster em meio alcalino formando 1-2-O dilauryl-rac-glicerd-3-glicérico-6-metilresorufina-éster que se decompõe espontaneamente e em ácido glicérico e metilresorufina. A validação de formação da metilresorufina é proporcional à atividade catalítica da lipase na mostra.

1-2-O dilauryl-rac-glicerd-3-glicérico (6-metilresorufina)-éster $\xrightarrow{\text{Lípase}}$ 1-2-O dilauryl-rac-glicerd + Glicérico-6-metilresorufina-éster (instável)

\rightarrow Ácido Glicérico + Metilresorufina

AMOSTRAS: Ti PQ, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO
Tipo de Amostra: Soro e plasma (heparina)
Cd.eta, manuseio e preparo: Realizar a cd.eta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
Preservação: A lipase no soro e no plasma, é estável por 7 dias conservada em temperatura de 20 a 25 °C, 3 semanas em temperatura de 4-8 °C e 1 ano em temperatura de -20 °C

DESCRÇÃO DO PRODUTO

R 1
Tampão Búf. > 50 mmol/L; Cdpase > 1 mg/L; taurodeoxcd at. de sódio > 5 mmol/L, deoxcd at. de sódio > 1 mmol/L, ativador, detergente, conservante

R 2
Tampão Tartarato > 2 mmol/L; taurodeoxcd at. de sódio > 5 mmol/L, Cdpase > 0,1 mg/L; 1-2-O dilauryl-rac-glicerd-3-glicérico (6-metilresorufina)-éster > 0,2 mmol/L; estabilizantes, ativadores, detergentes, conservante

Rastreável à absorvidade específica do cromógeno Metilresorufina utilizando pipetas calibradas e espectrofotômetro manual que fornece valores absolutos.

ESTABILIDADE E MUSEIO

- Após aberto o produto (R1 e R2) em uso é estável até a validade impressa no rótulo, desde que seguída as condições de armazenament recomendadas (2 a 8°C).
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
 R1 e R2: Reagentes prontos para uso

B) INTERVALO OPERACIONAL
 O intervalo operacional do produto é de 3,78 U/L a 300 U/L. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controle e abaixo

Soro Calibrador - Autocal H REF 13.002.00
 Soro Controle e Normal - Quantidade m 13.003.00

Soro Control e Pad ôgico - Quantidade 13.004.00
PROCEDIMENTO DE ENSAIO, Cálculos e interpretação

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO
 1- Ajustar a temperatura do fotômetro em 37 °C, sedonar o comprimento de onda em 580nm e zerar com água purificada.
 2- Retirar o tubo de ensaio

	Volum
R1	800 μL
Água Purificada / Amostra / CAL	10 μL
R2	200 μL

3- Homogeneizar e inserir na cubeta termostalizada.
 4- Anotar a absorbância aos 90 segundos (A₁) e aos 180 segundos (A₂), do branco da amostra e do calibrador.

B) Cálculos
 Lipase (U/L) = $\frac{\Delta A \text{ Amostra} - \Delta A \text{ Branco}}{\Delta A \text{ Calibrador} - \Delta A \text{ Branco}}$ x Concentração Calibrador (U/L)

Onde:
 ΔA Branco = A₂ - A₁ da água purificada.
 ΔA Amostra = A₂ - A₁ da amostra.
 ΔA Calibrador = A₂ - A₁ do CAL.

C) interpretação
 A lipase é uma enzima que hidrólisa ésteres de glicerd com ácidos graxos de cadeia longa. A maior parte da enzima no soro é derivada do pâncreas. Sua determinação é utilizada para investigar distúrbios pancreáticos, tais como a pancreatite aguda, a crônica e a obstrução do canal pancreático. Após um evento de pancreatite aguda, a atividade da lipase no soro aumenta dentro de 4 a 8 horas, alcançando o máximo por volta de 24 horas e diminuindo após 8 a 14 dias. Entretanto, a elevação da atividade da lipase no soro não é proporcional ao dano causado pelo evento. Os valores apresentam-se elevados também na doença renal aguda e crônica e na cd estite aguda.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES

Hemólise, Ictericidade e Lipemia: Hemoglobina > 150 mg/dL / Bilirrubina > 40 mg/dL / Triglicérides > 900 mg/dL

Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade: Limite de detecção: 3,16 U/L / Limite de quantificação: 3,78 U/L

Especificidade Analítica: O produto determina especificamente lipase na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações inferiores às máximas.

Exatidão: O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 0,989x + 2,529 e coeficiente de correlação r=0,9976. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de 3,958% para um nível de 50 U/L e 1,429% para um nível de 100 U/L.

Predição: Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtidos:

Amostras (U/L)	Repetições	Predição intracorrída		Predição total	
		SD (U/L)	%CV	SD (U/L)	%CV
31,480	80	0,540	1,7	0,794	2,5
85,252	80	1,405	1,6	2,540	3,0
147,311	80	2,199	1,5	4,017	2,7

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem. SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CU DADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na RSPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenament o especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e pontetes descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Soro / Plasma	< 60 U/L
---------------	----------

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): μkat/L
 Lipase (U/L) x 0,0167 = lipase (μkat/L)

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 580 nm (500-600).
- Banho de água, termostalizado a 37 °C
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Rótulos ou Cronômetros
- Tubos de ensaio

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (RSPQ) deste produto, disponível em www.biotechincalnd.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciament o de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica 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 especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (juntos impressos nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotechincalnd.com.br

AUTOMAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em www.biotechincalnd.br

ENGLISH

INTENDED USE
 Kit for the quantitative determination of lipase enzymatic activity in serum and plasma. *In vitro* diagnostic use.

STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C
- Protect from light.
- Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
- Do not use reagents whose date has expired

WORKING PRINCIPLE

Lipase catalyzes the cleavage of the 1-2-O dilauryl-rac-glycerd-3-gliceric- (6-methylresorufin)-ester substrate in alkaline medium forming 1-2-O dilauryl-rac-glycerd and gliceric-6'-methylresorufin ester which spontaneously decomposes into gliceric acid and methylresorufin. The velocity of formation of methylresorufin is proportional to the catalytic activity of the lipase in the sample.

1-2-O dilauryl-rac-glycerd-3-gliceric- (6-methylresorufin)-ester $\xrightarrow{\text{Lípase}}$ 1-2-O dilauryl-rac-glycerd + Gliceric-6'-methylresorufin-ester (unstable) \rightarrow Gliceric Acid + Methylresorufin

SAMPLES – TYPE, COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION

Sample Type: Serum and plasma (heparin).
Collection, handling and preparation: Perform the sample collection according to Good Clinical Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.

Preservation: Serum and plasma lipase is stable for 7 days at 20-25 °C, 3 weeks at 4-8 °C and 1 year at -20 °C

PRODUCT DESCRIPTION

Buffer >= 50 mmol/L; Cdpase >= 1 mg/L; sodiumtaurodeoxycholate >= 5 mmol/L, sodiumdeoxycholate >= 1 mmol/L, activator, detergent, preservative
 Tartarate buffer >= 2 mmol/L; sodiumtaurodeoxycholate >= 5 mmol/L, Cdpase >= 0,1 mg/L; 1-2-O dilauryl-rac-glycerd-3-gliceric- (6-methylresorufin)-ester >= 2 mmol/L; Stabilizers; activators, detergents, preservative

Traceable to the specific absorbance of the chromogen Methylresorufin using calibrated pipettes and handheld spectrophotometer that provide absolute values.

STABILITY IN USE

- After opening, the product (R1 and R2) in use is stable to the expiration date printed on the label, recommended storage conditions are followed (2 to 8 °C).
- Reagents should remain outside the specified temperature only for the time required to perform the tests.

TREATMENT AND HANDLING OF THE PRODUCT

A) REAGENT PREPARATION

R1 and R2: Ready-to-use reagents.

B) OPERATIONAL INTERVAL

The operating range of the product is 3.78 U/L to 300 U/L. For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0.9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.

QUALITY CONTROL

The use of controls should be routine practice in the laboratory. It is suggested to use one control in the reference range or at the decision level and another control with value in another range of clinical significance. For Calibration and Internal Quality Control Laboratory it is recommended to use the calibrator serum and control sera below

Serum Calibrador - Autocal H	REF	13.002.00
Normal Control Serum Quantinorm		13.003.00
Serum Pathológico Control - Quantidade		13.004.00

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE
 1- Adjust the temperature of the photometer to 37 °C, select the wavelength at 580nm and read with purified water.
 2- Pipette into test tube.

	Volum
R1	800 μL
Purified Water / Sample / CAL	10 μL
R2	200 μL

- 3- Homogenize and insert into the thermostated cuvette. Set the stopwatch
- 4- Note the absorbance at 90 seconds (A₁) and 180 seconds (A₂), write, sample and calibrator.

B) CALCULATION

Lipase (U/L) = $\frac{\Delta A \text{ Sample} - \Delta A \text{ White}}{\Delta A \text{ Calibrador} - \Delta A \text{ White}}$ x Concentration Calibrator (U/L)

Where:
 ΔA White = A₂ - A₁ of purified water.
 ΔA Sample = A₂ - A₁ of the sample
 ΔA Calibrator = A₂ - A₁ of the CAL

C) INTERPRETATION

Lipase is an enzyme that hydrolyzes esters of glycerol with long chain fatty acids. Most of the enzyme in the serum is derived from the pancreas. Its determination is used to investigate pancreatic disorders, such as acute pancreatitis, chronic pancreatitis, and pancreatic canal obstruction. After an acute pancreatitis event, serum lipase activity increases within 4 to 8 hours, peaking at around 24 hours and decreasing after 8 to 14 days. However, elevation of serum lipase activity is not proportional to the damage caused by the event. Values are also elevated in acute and chronic renal disease and in acute cholecystitis.

INTERFERING AND LIMITATIONS

Hemolysis, Icteric and Lipemia: Hemoglobina > 150 mg/dL / Bilirubin > 40 mg/dL / Triglicérides > 900 mg/dL

Medications: consult recommended literature reference (Young, 2000).

