LIPASE

MÉTODO:
Enzimática Colorimétrica.

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa da atividade da lipase em amostras biológicas de soro e plasma heparinizado humanos em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A lipase presente em secreções pancreáticas é uma enzima digestiva cuja função é hidrolisar os triglicerídeos obtidos a partir dieta em ácidos graxos e glicerol. Níveis elevados de lipase no soro, em conjunto com avaliação clínica e/ou resultado alterado de amilase no soro, podem indicar inflamação aguda no pâncreas. A elevação dos níveis de lipase começa em um período entre 4 e 8 horas, tem pico em aproximadamente 24 horas e decresce entre 7 e 14 dias após o início do quadro de pancreatite aguda. O aumento da concentração da lipase sérica pode ser entre 2 e 50 vezes maior que o limite superior do intervalo de referência, mas esse número não é necessariamente proporcional à gravidade da inflamação. As causas da pancreatite aguda incluem o uso excessivo de bebida alcoólica, uso de esteroides, cálculos biliares, hipertrigliceridemia e doenças autoimunes.

FUNDAMENTO:
A lipase presente na amostra, na presença de colipase e ácidos biliares, hidrolisa o substrato sintético 1,2-o-dilauril-rac-glicerol-3-ácido glutárico-(6-metil-resorufina)-éster, resultando em um intermediário instável, que é degradado espontaneamente em metil resorufina, de cor vermelha. A intensidade da cor produzida pode ser medida fotométricamente e é proporcional à concentração de lipase presente na amostra.

$$1,2\text{-}o\text{-}dilauril\text{-}rac\text{-}glicero\text{-}3\text{-}\acute{a}cido\ glut\acute{a}rico(5\text{-}metil\text{-}resorufina)ester \xleftrightarrow{Lipase/\ Colipase} 1,2\text{-}o\text{-}dilauril\text{-}rac\text{-}glicerol + acido\ glut\acute{a}rico(6\text{-}metil\ resorufina)ester$$

$$\acute{A}cido\ glut\acute{a}rico(5\text{-}metil\text{-}resorufina)ester \xleftrightarrow{Degradação\ espontânea} \acute{A}cido\ glut\acute{a}rico\ +\ Metil\ resorufina$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Good		
Colipase	≥2,0	mg/L
Desoxicolato	≥1,0	mmol/L
Taurodeoxicolato	≥1,0	mmol/L
Íons de cálcio	≥1,0	mmol/L
Detergente e conservante		
R2:		
Tampão Tartarato		
Substrato de cor	≥0,1	mmol/L
Estabilizante e conservante		

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

ESTABILIDADE:
Os reagentes armazenados entre 2 e 8 °C e ao abrigo de luz são estáveis até a data de validade impressa no rótulo. Após aberto, os reagentes são estáveis por até 28 dias armazenado entre 2 e 8 °C ao abrigo de luz.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 39 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 25 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.
PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os reagentes contêm conservantes que podem reagir fortemente com cobre, chumbo e outros metais, formando azida metálica. Portanto, deve-se lavar os tubos de drenagem para evitar resíduos durante o descarte.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro e plasma heparinizado.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A lipase no soro é estável por 7 dias entre 2 e 8 °C e 12 meses a -20 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	50 mg/dL
Bilirrubina	50 mg/dL
Hemoglobina	400 mg/dL
Triglicérides	1000 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura de 37 °C. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda primário (λ): 580 nm
Temperatura: 37 °C
Tipo de reação: Cinética crescente
Calibração: Linear de 2 pontos

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	20 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	20 µL	---
Amostra	---	---	20 µL
Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos à 37 °C			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 2 minuto a 37 °C e medir a absorbância A1 do Calibrador/Padrão e da Amostra a 580 nm
3- Incubar por mais 2 minutos e medir a absorbância A2 por minuto (em 1 e em 2 minutos) do Calibrador/Padrão e da Amostra.

D-Cálculo:
Calcular o delta da absorbância dos calibradores e das amostras por minuto:
$\Delta Abs/min = Abs_{Amostra/Calibrador} - Abs_{Branco}$

$$Atividade\ da\ Lipase\ (U/L) = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Calibrador}} \times Concentração\ do\ Calibrador/Padrão$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{Amostra}$: 0,039
$\Delta Abs_{Calibrador}$: 0,059
Concentração do calibrador/padrão: 102 U/L

$$Atividade\ da\ Lipase\ (U/L) = \frac{0,039}{0,059} \times 102\ U/L$$

Atividade da Lipase (U/L) = **67,4 U/L**

E-Cálculo com fator:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{Concentração\ do\ Calibrador}{\Delta Abs/min\ do\ Calibrador}$$

$$Atividade\ da\ Lipase\ (U/L) = \Delta Abs/min_{Amostra} \times Fator\ de\ calibração$$

Exemplo:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{102\ U/L}{0,059}$$

Fator de calibração = 1729
Atividade da Lipase (U/L) = 0,039 × 1729

LIPASE

Atividade da Lipase (U/L) = **67,4 U/L**

VALORES DE REFERÊNCIA:

0 a 19 anos	4 – 39 U/L	(0,068 – 0,063 µkat/L)
Adulto (> 90 anos)	13 – 60 U/L	(0,22 – 1,00 µkat/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L = 0,01667 µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 300 U/L (5,0 µkat /L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 1,0 U/L (0,017 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 20*	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	65,1	1,16	1,78
Amostra 2	108,8	3,28	3,02

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 840 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 20*	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	60,1	1,70	2,83
Amostra 2	94,0	2,18	2,31

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 76 amostras comparando-se o reagente LIPASE (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0{,}9735x + 1{,}7837$ coeficiente de correlação (*r*-Pearson) = 0,9899

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	**VOLUME**	**CONTEÚDO**	
			R1	**R2**
LIPASE (Universal)	HMG010307200EN	50 mL	2 x 20 mL	2 x 5 mL
LIPASE (BM SERIES I)	HMG010308175EN	50 mL	2 x 20 mL	2 x 5 mL
	HMG010308749EN	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL
LIPASE (BM SERIES III)	HMG010308755EN	75 mL	1 x 60 mL	1 x 15 mL

ANVISA: 81692610194

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co. 1122, 1997
4. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
5. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
6. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
7. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
8. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 2017, 18, 1158–1176
9. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.
11. McPherson R,A, Pincus M,R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 24th Ed, Philadelphia, PA: Elsevier, 2021.
12. Rifai, N, Horvath, AR, Wittwer CT. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 6th Ed, Missouri: Elsevier, 2018.
13. Pirahanchi Y, Sharma S. Biochemistry, Lipase. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura

REF Código do Produto


Consultar Instruções de Uso

LOT Número do Lote

IVD Produto para Diagnóstico In Vitro