

## Lipase colorimetric

### Lipase, método colorimétrico

#### Informações para encomenda

COBAS INTEGRA® Lipase colorimetric	200 testes	Ref. 03029590 System-ID 07 5900 7
Calibrator f.a.s.	12 × 3 ml	Ref. 10759350 System-ID 07 3718 6
Precinorm® U	20 × 5 ml	Ref. 10171743 System-ID 07 7997 0
Precipath® U	20 × 5 ml	Ref. 10171778 System-ID 07 7998 9
Precinorm® U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149435 System-ID 07 7999 7
Precipath® U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149443 System-ID 07 8000 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassete

INTEGRA 400/ 400 plus	INTEGRA/ INTEGRA 700	INTEGRA 800
●	●	●

#### Função

A cassete COBAS INTEGRA Lipase colorimetric (LIPC) contém um sistema de reagentes para diagnóstico in vitro, para utilização nos sistemas COBAS INTEGRA, com vista à determinação quantitativa da actividade catalítica da lipase (EC 3.1.1.3; triacilglicerol acil-hidrolase) em soro e plasma (teste LIPC, 0-100).

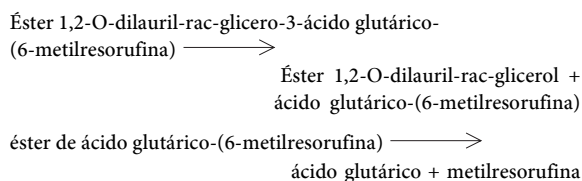
#### Características<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup>

As lipases são glicoproteínas com um peso molecular de 47000 daltons. São definidas como hidrolases triglicéridas que catalizam a clivagem de triglicéridos em diglicéridos, com a subsequente formação de monoglicéridos e ácidos gordos. Para além da  $\alpha$ -amilase, as lipases pancreáticas têm sido, desde há muitos anos e de forma indiscutível, os mais importantes parâmetros químicos clínicos utilizados para o diagnóstico diferencial das doenças do pâncreas. A determinação da actividade da lipase ganhou grande reconhecimento a nível internacional devido à sua elevada especificidade e rápida resposta. Após uma pancreatite aguda, a actividade da lipase aumenta no espaço de 4-8 horas, atingindo um pico após 24 horas, e diminuindo após 8 a 14 dias. No entanto, não existe qualquer correlação entre a actividade da lipase determinada no soro e a extensão das lesões provocadas no pâncreas. Foram descritos diversos métodos para determinação da lipase, que determinam turbidimétrica ou nefelometricamente a diminuição do substrato, ou que determinam os produtos de degradação. Este método baseia-se na clivagem de um substrato cromogénico específico da lipase, o éster 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metil-resorufina) emulsionado com ácidos biliares. A actividade enzimática do pâncreas é determinada especificamente através da combinação de colipase e ácido biliar utilizada neste ensaio. Na ausência de colipase não é detectada virtualmente nenhuma actividade de lipase. A colipase activa unicamente a lipase pancreática, e não as outras enzimas lipolíticas existentes no soro. A elevada quantidade de colatos assegura que as esterases presentes no soro não reagem com o substrato cromogénico devido à carga de superfície altamente negativa.

#### Princípio do teste<sup>8,9,10,11</sup>

Ensaio colorimétrico enzimático com éster 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metil-resorufina) como substrato.

O substrato cromogénico específico da lipase éster 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina) é clivado pela acção catalítica da solução de lipase alcalina, para formar 1,2-O-dilauril-rac-glicerol e um intermédio instável, o éster de ácido glutárico (6-metilresorufina). Este decompõe-se espontaneamente em solução alcalina, formando ácido glutárico e metilresorufina. A adição de detergente e colipase aumenta a especificidade do ensaio para lipase pancreática. Na ausência de colipase não é detectada virtualmente nenhuma actividade de lipase. A colipase activa unicamente a lipase pancreática, e não as outras enzimas lipolíticas existentes no soro. A elevada quantidade de colatos assegura que as esterases presentes no soro não reagem com o substrato cromogénico devido à carga de superfície altamente negativa.



A intensidade da cor do corante formado é directamente proporcional à actividade da lipase. É determinada medindo o aumento da absorvância a 583 nm.

#### Reagentes - soluções de trabalho

R1 Tampão, colipase e colato no frasco A (líquido).

R2 = SR Substrato cromogénico e colato no frasco C (líquido).

**Componentes activos**

Componentes	Concentrações			Teste	
	R1	SR			
BICIN	50		27		mmol/l
Colipase (pâncreas suíno)	≥1		≥0,53		mg/l
Cloreto de cálcio	10		5,3		mmol/l
Deoxicolato de sódio	1,6		0,85		mmol/l
Tampão tartrato Éster		10	3,2		mmol/l
1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metil resorufina)		0,27	0,09		mmol/l
Taurodeoxicolato		8,8	2,8		mmol/l
pH	8,0	4,0	7,9		

O reagente contém detergente e estabilizantes não reactivos. Consulte o rótulo da cassete para saber quais são os volumes de enchimento dos reagentes.

**Precauções e advertências**

Preste atenção a todas as precauções e advertências incluídas na Introdução do Capítulo 1.

**Preparação dos reagentes**

Pronto a ser utilizado.

**Conservação e estabilidade**

Validade a 2 - 8°C	Ver o prazo de validade na cassete.
INTEGRA 400	
No analisador a 10 - 15°C	4 semanas
INTEGRA 700/800	
No analisador a 8°C	4 semanas

**Colheita e preparação das amostras**

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro: o soro é colhido em tubos de amostra padrão. A amostra de eleição é soro recém-colhido.

Plasma: Plasma com heparina de lítio.

Não utilize complexos anticoagulantes de cálcio como citrato, fluoreto e EDTA.

Ao utilizar amostras em tubos primários, consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade: <sup>12</sup>	1 semana a 20-25°C
	1 semana a 4-8°C
	1 ano a -20°C

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

**Materiais fornecidos**

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

**Materiais necessários (mas não fornecidos)**

COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7. Recomendam-se ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam executadas em conjunto nos sistemas COBAS INTEGRA. Para mais informações sobre combinações de testes que requerem ciclos de lavagem suplementares, consulte o Capítulo 1, Introdução, Parte III.

**Realização do ensaio**

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

**Aplicação para soro e plasma****INTEGRA 400 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Crescente
Comprimento de onda A/B	583/659 nm
Primeiro/último cálc.	43/51
Intervalo do teste	0-300 U/l (0-5,0 µkat/l)
com pós-diluição	0-3000 U/l (0-50 µkat/l)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	U/l

**Parâmetros de pipetagem**

	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	
R1	80 µl	
Amostra	2 µl	20 µl
SR	48 µl	
Volume total	150 µl	

**INTEGRA 700/800 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Crescente
Comprimento de onda A/B	583/659 nm
Primeiro/último cálc.	62/75
Intervalo do teste	0-300 U/l (0-5,0 µkat/l)
com pós-diluição	0-3000 U/l (0-50 µkat/l)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	U/l

**Parâmetros de pipetagem**

	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	
R1	80 µl	
Amostra	2 µl	20 µl
SR	48 µl	
Volume total	150 µl	

**Calibração**

Calibrador	Calibrator f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado (recomendado)
Intervalo de calibração	Cada lote

Rastreabilidade: Este método foi padronizado manualmente contra reagente Roche.<sup>13</sup>

**Controlo de qualidade**

Intervalo de referência	Precinorm U ou Precinorm U plus
Intervalo patológico	Precipath U ou Precipath U plus
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

**Cálculo**

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a actividade do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (COBAS INTEGRA 400/800).

Factor de conversão: U/l  $\times$  0,0167 =  $\mu$ kat/l

**Limitações - interferências**

Critério: Recuperação dentro de  $\pm$  10% do valor inicial.

Soro, plasma

Hemólise	Sem interferência significativa.
Icterícia	Sem interferência significativa.
Lipemia	Sem interferência significativa.
Anticoagulantes	Têm de ser evitados os complexos anticoagulantes de cálcio, como EDTA, fluoreto e citrato.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

**Valores teóricos<sup>14</sup>**

Adultos	13-60 U/l	(0,22-1,00 $\mu$ kat/l)
---------	-----------	-------------------------

Para relacionar os resultados com o intervalo de referência da lipase obtido através do método turbidimétrico, multiplique os resultados (U/l ou  $\mu$ kat/l) por um factor de 3,2 para obter uma comparação aproximada.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

**Dados específicos sobre o desempenho<sup>13</sup>**

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 20). Obtiveram-se os seguintes resultados.

	Nível 1	Nível 2
Média	42 U/l (0,71 $\mu$ kat/l)	153 U/l (2,55 $\mu$ kat/l)
CV intra-ensaio	1,2%	1,4%
CV inter-ensaio	2,7%	3,2%

**Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)**

0,5 U/l (0,01  $\mu$ kat/l)

O limite de detecção representa a concentração de analito mais baixa mensurável passível de ser distinguida de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 30).

**Comparação dos métodos**

Os valores de lipase para amostras de plasma e soro humanos, obtidos no COBAS INTEGRA 700 com a cassette COBAS INTEGRA Lipase colorimetric, foram comparados com o mesmo reagente no Roche/Hitachi 917 e com os valores determinados com reagentes comercialmente disponíveis para lipase no COBAS INTEGRA 700.

Os valores variaram entre 15,1 e 615 U/l (0,25 e 10,3  $\mu$ kat/l).

	Roche/Hitachi 917	COBAS INTEGRA 700
Tamanho da amostra (n)	62	85
Coefficiente corr. (r)	0,999	0,985
Regressão linear	$y = 1,02x + 3,5$ U/l	$y = 0,39x - 3,1$ U/l
Passing/Bablok	$y = 0,98x + 2,5$ U/l	$y = 0,39x - 11,1$ U/l

**Bibliografia**

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/NewYork: Schattauer Verlag 1995.
- Keller H, ed. Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag 1991:354-361.
- Kazmierczak S, Catrou P, Van Lente F. Diagnostic accuracy of pancreatic enzymes evaluated by use of multivariate data analysis. Clin Chem 1993;39:1960-1965.
- Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. Ann Intern Med 1985;102:576-580.
- Panteghini M et al. Diagnostic value of four assays for lipase determination in serum: A comparative reevaluation. Clin Biochem 1991;24:497-503.
- Tietz NW et al. Lipase in serum-the elusive enzyme: An overview. Clin Chem 1993;39:746-756.
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders 1995:865.
- Neumann U et al. New substrates for the optical determination of lipase. EP 207252 (1987).
- Borgström B. The action of bile salts and other detergents on pancreatic lipase and the interaction with colipase. Biochimica et Biophysica Acta 1977;488:381-391.
- Gargouri Y, Julien R, Bois A et al. Studies on the detergent inhibition of pancreatic lipase activity. J of Lipid Research 1983;24:1336-1342.
- Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. Adv Clin Enzymol 1986;4:60-67.
- Guder W, Fonseca-Wollheim W, Heil O et al. Maximum permissible transport and storage times for analysis of blood (serum, plasma), urine and cerebrospinal fluid. DG Klinische Chemische Mitteilungen 1995;26:207-224.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Junge W, Abicht K, Goldmann J et al. Evaluation of the Colorimetric Liquid Assay for Pancreatic Lipase on Hitachi Analyzers in 7 Clinical Centers in Europe, Japan and USA. Clin Chem Lab Med 1999;37:(Special Suppl)469.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

