

LIPASA

MÉTODO COLORIMÉTRICO

Para la determinación "in vitro" de lipasa en suero o plasma

PRINCIPIO DEL TEST

A pH alcalino, el sustrato de lipasa 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster se desdobla por acción de la lipasa pancreática, formándose 1,2-O-dilauril-rac-glicerol y ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster, que es un producto inestable.

Este, en solución alcalina, se transforma espontáneamente en ácido glutárico y metilresorufina, cuya intensidad de color a 578nm es directamente proporcional a la actividad de la lipasa presente en la muestra.

UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La lipasa se encuentra elevada en pancreatitis de cualquier origen, y estos valores permanecen elevados durante más tiempo que los de la amilasa.

En alteraciones crónicas del páncreas se encuentra un valor elevado de lipasa y lo mismo ocurre en casos de cirrosis biliar primaria, insuficiencia renal crónica y en pacientes en hemodiálisis.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

REACTIVOS

Kit 1 x 80 mL. (Ref. 99 11 15). Contiene:

A. 1 x 50 mL Disolución tampón

B. 1 x 30 mL Sustrato

C. 1 x 1 mL Estándar liofilizado

La concentración viene indicada en la etiqueta del vial

Ref. 99 11 20

Ref. 99 12 15

Ref. 99 13 07

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B, están listos para su uso.

El estándar liofilizado se debe rehidratar con 1 mL de agua desionizada.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

Las concentraciones de los reactivos son:

A. Disolución tampón

Tampón Bicina pH 8,0

50 mM

Colipasa

≥ 1 mg/L

Desoxicolato Na

1,8 mM

Cloruro cálcico

12 mM

B. Sustrato

Tampón Tartrato pH 4,0

12 mM

1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-

ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster

0,27 mM

Taurodesoxicolato

9,0 mM

Estabilizantes y conservantes

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El estándar una vez rehidratado es estable 15 días a 2-8°C.

Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de turbidez o de partículas. Blanco del reactivo de trabajo ≥0,500.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material de uso general de laboratorio.

Espectrofotómetro, fotómetro o analizador automático termostatzado. Cubeta 1 cm de paso de luz.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado. No emplear plasma con EDTA. Utilizar muestras exentas de hemólisis. La actividad lipásica en suero es estable 4 días a 2-8°C y 24 horas a temperatura ambiente (≤ 25°C).

PRECAUCIONES

El reactivo contiene azida sódica al 0,09%, manipular con precaución.

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo.

La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

PROCEDIMIENTO

Atemperar el reactivo de trabajo y llevar el instrumento a 37°C

Técnica	BL mL	PR mL	ST mL
Agua	0,01	---	---
Muestra	---	0,01	---
Estándar	---	---	0,01
Reactivo A	1,00	1,00	1,00
Mezclar e incubar 5 min, a 37°C. Adicionar seguidamente el reactivo B			
Reactivo B	0,60	0,60	0,60

Mezclar bien. Al cabo de 60s leer la absorbancia Abs1
Pasados 90s más, leer de nuevo la absorbancia Abs2

Lectura

Longitud de onda: 578nm

Blanco: agua desionizada

Cubeta termostatzada: 1 cm de paso de luz

CÁLCULOS

Determinar ΔAbs para cada muestra y el estándar

ΔAbs = Abs2 - Abs1

$$\frac{\Delta\text{Abs PR} - \Delta\text{Abs BL}}{\Delta\text{Abs ST} - \Delta\text{Abs BL}} \times \text{Conc. ST (U/L)} = \text{U/L}$$

Resultados en μkat/L

U/L x 0,0167 = μkat/L

VALORES DE REFERENCIA

Suero, plasma: < 38 U/L.

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados.

Los siguientes datos se han obtenido manualmente

Sensibilidad, como límite de detección: 6,9 U/L

Linealidad: La reacción es lineal hasta 300 U/L. Sin embargo para concentraciones superiores diluir la muestra 1/5 con disolución salina y multiplicar el resultado por 5.

Exactitud, como % de recuperación: 104%

Precisión en la serie, como Coeficiente de Variación: 3,01%

Precisión entre series, como Coeficiente de Variación: 3,65%

Veracidad: Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

INTERFERENCIAS

Se recomienda el uso de material desechable para la realización del ensayo.

Evitar el uso de muestras hemolizadas.

La hemoglobina interfiere a partir de 125mg/dL, la bilirrubina a partir de 20mg/dL y los triglicéridos a partir de 625mg/dL.

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) en cada proceso de medida para verificar los resultados.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones detectadas.

AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

BIBLIOGRAFÍA

Rick, W., (1969), Zeitschrift Clin. Chem. Clin. Biochem., 7, 530 - 536.

Ziegenhorn, J. et al., (1979), Clin. Chem., 25, 1067.

Neumann, U., Kaspar, P., Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3rd edition), 26 - 34.

Lott, J. A. et al., (1986). Clin. Chem., 32, 1290 - 1302.

Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

LIPASE

COLORIMETRIC METHOD

For the "in vitro" determination of lipase in serum or plasma

PRINCIPLE

At alkaline pH the lipase substrate 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3- glutaric acid-(6-methylresorufin)-ester is cleaved by the catalytic action of pancreatic lipase to form 1,2-O-dilauryl-rac-glycerol and unstable compound glutaric acid-(6-methylresorufin)-ester. In that alkaline solution, this compound degrades to glutaric acid and methyl-resorufin. The color intensity of the red dye formed is directly proportional to the lipase activity. This activity can be measured at 578nm.

DIAGNOSTIC USE

The lipase is increased in pancreatitis from any source, and these values remain high longer than amylase values.

In chronic disorders of the pancreas the Lipase value is high and the same applies in cases of primary biliary cirrhosis, chronic renal failure and hemodialysis patients.

Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

REAGENTS

Kit 1 x 80 mL. (Ref. 99 11 15). Contains:

A. 1 x 50 mL Buffer solution

Ref. 99 11 20

B. 1 x 30 mL Substrate

Ref. 99 12 15

C. 1 x 1mL Freeze-dried Standard

Ref. 99 13 07

The concentration is stated on the label of the vial.

WORKING REAGENT PREPARATION

Reagents are ready to use.

Rehydrate the standard with 1 mL of deionised water.

REAGENT COMPOSITION

The concentrations in the reagents solutions are:

A. Buffer solution

Bicin buffer pH 8.0

50 mM

Colipase

≥ 1 mg/L

sodium deoxycholate

1.8 mM

calcium chloride

12 mM

B. Substrate

Tartrate buffer pH 4.0

12 mM

1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-

-(6-methylresorufin) - ester

0.27 mM

Taurodeoxy-cholate

9.0 mM

Surfactants and preservatives

STORAGE AND STABILITY

When stored at 2°-8°C, the components of the kit will remain stable until the expiration date stated on the label.

The standard, once rehydrated, is stable for 15 days at 2-8°C.

Signs of reagent deterioration:

Presence of particles or turbidity in the reagent. Working reagent blank ≥0.500.

ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.

Spectrophotometer, automated analyzer or photometer with thermostated cuvette.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma. Use samples free from hemolysis. Do not use plasma with EDTA.

The lipase activity in serum is stable for 4 days at 2-8°C and for 24h at room temperature (≤ 25°C).

CAUTION

The reagent contains sodium azide at 0.09%. Handle with care.

The safety statements are on the label. It is advisable to look at the MSDS before using the reagent.

The disposal of the residues has to be made according to local regulations.

PROCEDURE

Bring reagents and the analyzer to 37°C.

Technique	BL mL	SA mL	ST mL
Water	0.01	---	---
Sample	---	0.01	---
Standard	---	---	0.01
Reagent A	1.00	1.00	1.00
Mix and incubate 5min, at 37°C. Then add Reagent B			
Reagent B	0.60	0.60	0.60

Mix well. After 60s read (Abs1). After 90s more, read again (Abs2)

Reading

Wavelength: 578nm

Blank: deionised water

Cuvette thermostated: 1cm light-path

CALCULATION

Determine ΔAbs for each sample and the standard:

ΔAbs = Abs2 - Abs1

$$\frac{\Delta\text{Abs SA} - \Delta\text{Abs BL}}{\Delta\text{Abs ST} - \Delta\text{Abs BL}} \times \text{Conc. ST (U/L)} = \text{U/L}$$

Results as μkat/L

U/L x 0.0167 = μkat/L

REFERENCE VALUES

Serum, plasma: < 38 U/L.

Each particular laboratory should establish its own normal range, obtained from samples of a representative population, using its own instrumentation, blood collection methods and assaying procedures.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained using a manual method.

Sensitivity, as detection limit: 6.9 U/L

Linearity: Up to 300 U/L. For higher values, it is recommended to dilute the sample 1/5 in saline (NaCl 0.9%) and assay once again. Multiply the final result by 5.

Accuracy: 104%

Within-run Precision as Coefficient of Variation: 3.01%

Run-to-run Precision as Coefficient of Variation: 3.65%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the performance studies are available on request

INTERFERENCES

Hemolysis interferes with the assay.

Concentrations of hemoglobin higher than 125 mg/dL, of bilirubin higher than 20 mg/dL and triglycerides higher than 625 mg/dL can interfere with the assay.

To perform this test, the use of disposable labware is highly recommended.

QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) should be included in each test series. Each particular laboratory should establish its own control program.

AUTOANALYZERS

QCA has adaptation to other autoanalyzers on request.

REFERENCES

Rick, W., (1969), Zeitschrift Clin. Chem. Clin. Biochem., 7, 530 - 536.

Ziegenhorn, J. et al., (1979), Clin. Chem., 25, 1067.

Neumann, U., Kaspar, P., Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3rd edition), 26 - 34.

Lott, J. A. et al., (1986). Clin. Chem., 32, 1290 - 1302.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

LIPASE

MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE

Pour la détermination in vitro de la lipase dans le sérum ou le plasma

PRINCIPE

À un pH alcalin, le substrat de lipase 1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthylrésorufine) ester se scinde sous l'action de la lipase pancréatique en 1,2-O-dilauryl-rac-glycérol et en acide glutarique-(6-méthyl-résorufine) ester, qui est un produit instable. Dans une solution alcaline, ce dernier se transforme spontanément en acide glutarique et en méthyl-résorufine, dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à l'activité de la lipase présente dans l'échantillon quantifié à 578nm.

UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

La lipase est élevée en cas de pancréatite de n'importe quelle origine, et ces valeurs restent élevées plus longtemps que les valeurs de l'amylase.

En cas de troubles chroniques du pancréas, la valeur de la lipase est élevée et la même chose s'applique dans les cas de cirrhose biliaire primitive, d'insuffisance rénale chronique et des patients hémodialysés.

Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

RÉACTIFS

Kit 1 x 80 mL. (Réf. 99 11 15). Contenu:

A. 1 x 50 mL Solution tampon	Réf. 99 11 20
B. 1 x 30 mL Substrat	Réf. 99 12 15
C. 1 x 1 mL Étalon lyophilisé	Réf. 99 13 07

La concentration est indiquée sur l'étiquette de la fiole.

PRÉPARATION DU REACTIF DE TRAVAIL

Les réactifs A et B sont prêts à l'emploi.

Étalon: Réhydrater le contenu de la fiole avec 1 mL d'eau déionisée.

COMPOSITION DU REACTIFS

Les concentrations des réactifs sont les suivantes:

A. Solution tampon	
Tampon Bicin pH 8,0	50 mM
Colipase	≥ 1 mg/l
Désoxycholate Na	1,8 mM
Chlorure de calcium	12 mM
B. Substrat	
Tampon tartrate pH 4,0	12 mM
1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthyl-résorufine) ester	0,27 mM
Taurodésoxycholate	9,0 mM
Stabilisants et conservateurs	

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservés entre 2-8°C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Après réhydratation, l'étalon est stable pendant 15 jours à une température comprise entre 2-8°C.

Les réactifs seront altéré si:

Il existe une présence de particules ou de turbidité. Blanc Réactif de travail > 0,500.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37°C.

ÉCHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné. Ne pas utiliser de plasma sur EDTA. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. L'activité lipasique est stable dans le sérum pendant 4 jours entre 2-8°C et 24 heures à température ambiante(≤ 25°C).

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Le réactif contient de l'azide de sodium (0,09 %) comme conservateur. Manipuler avec précaution. On conseille de consulter la fiche des données de sécurité avant de manipuler le réactif. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

TECHNIQUE

Mélanger puis incuber le réactif de travail et l'analyseur à 37°C.

Technique	BL mL	ESSAI mL	ÉTALON mL
Eau	0,01	---	---
Échantillon	---	0,01	---
Étalon	---	---	0,01
Réactif A	1,00	1,00	1,00
Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 37 °C. Ajouter ensuite le réactif B.			
Réactif B	0,60	0,60	0,60

Bien mélanger puis lire (Abs1) au bout de 60 secondes.

Effectuer une nouvelle lecture (Abs2) au bout de 90 secondes.

Lecture

Longueur d'onde: 578nm

Blanc: le contenu du tube BL

CALCULS

Calculer ΔAbs pour chaque échantillon et pour l'étalon

ΔAbs = Abs2 - Abs1

$$\frac{\Delta\text{Abs ESSAI} - \Delta\text{Abs BL}}{\Delta\text{Abs ÉTALON} - \Delta\text{Abs BL}} \times \text{Conc. Étalon (U/L)} = \text{U/L}$$

Résultats en μkat/L

U/L x 0,0167 = μkat/L

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Sérum, plasma: < 38 U/L

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenues avec une méthode manuelle.

Sensibilité comme limite de détection: 6,9U/L

Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 300 U/L. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/5 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multipliez le résultat par 5.

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 104%.

Précision dans la série, comme CV% : 3,01%

Précision totale, comme CV% : 3,65%

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif sont disponibles sur demande.

INTERFÉRENCES

L'hémoglobine et la bilirubine interfèrent à partir de 125 mg/dL et de 20 mg/dL respectivement.

Triglycérides à partir de 625mg/dL.

L'utilisation de matériel jetable est recommandée pour la réalisation de cet essai.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion de sérums de contrôle Seriscann normale (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormale (Ref 99 46 85) dans chaque processus de mesure pour vérifier les résultats.

Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

ANALYSEURS AUTOMATIQUES

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande..

BIBLIOGRAPHIE

Rick, W., (1969), Zeitschrift Clin. Chem. Clin. Biochem., 7, 530 - 536.

Ziegenhom, J. et al., (1979), Clin. Chem., 25, 1067.

Neumann, U., Kaspar, P., Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3e édition), 26 - 34.

Lott, J. A. et al., (1986). Clin. Chem., 32, 1290 - 1302.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, PA

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).