

CONTINUT

REF 1143005

Lipase BR

1 x 45 mL

Numai pentru diagnosticarea *in vitro*

LIPAZA

Metoda colorimetrica enzimatica
CINETIC

PRINCIPIUL

In aceasta metoda directa(1) lipaza catalizeaza hidroliza unui substrat sintetic * in mediu alcalin. Substratul este despartit in prezenta sarurilor biliare in colipaza si Ca+2 catre un compus intermediar instabil ce hidrolizeaza spontan, conducand la obtinerea de acid glutaric si metil-reosulfina un cromofor albastru-violet.

Monitorizand cinetic la 580 nm cantitatea de reosulfina rezultata, se obtine o variatie a absorbantei proportionala cu activitatea enzimatica din proba.

* 1-2-O-dilauril-rac-glicerol-3-glutaric-acid-(4-metil-resorufin)-ester.

COMPOZITIA REACTIVILOR

R1	Tampon lipaza TRIS 40 mmol/L pH 8.3, colipaza ≥ 1 mg/L, desoxicolat ≥ 1.8 mmol/L, taurodesoxicolat ≥ 7.0 mmol/L.
R2	Substrat lipaza Tampon tartrat 15 mmol/L pH 4.0, substrat lipaza ≥ 0.7 mmol/L, Ca +2 ≥ 1 mmol/L.
CAL	Standard lipaza . Activitatea data in U/L metilreosulfina la 37°C inscrisa pe eticheta. Liofilizat.

PASTRARE SI STABILITATE

Pana la data inscrisa pe ambalaj daca se respecta conditiile de pastrare la 2-8 °C.

RECONSTITUIRE

Reactivii **R1** si **R2** sunt gata de utilizare, Stabili dupa deschidere 90 la 2-8°C daca este evitata contaminarea.

Reactivul **R2** este o microemulsie stabilizata de culoare portocalie. Prezinta turbiditate. Daca se inrosete aruncati. Rasuciti usor flaconul inainte de efectuarea testelor.

Calibratorul. Reconstituiti continutul fiolei cu 1.0 mL de apa distilata, agitand usor pana la dizolvarea completa. Stabil 7 zile la 2-8°C. Daca doriti pastrarea mai indelungata impartiti in cantitati mai mici si congelati pana la 3 luni la -20°C.

PROBELE

Ser proaspat sau plasma heparinizata. Stabil 7 zile la 2-8°C.

INTERFERENTE

Hemoglobina (>150 mg/dL) si bilirubina (>20 mg/dL) nu interfera. Trigliceridele (>300 mg/dL) afecteaza negativ testul/ Morfinea si anumite medicamente colinergice pot duce la crsterea nivelului lipazei in ser.

MATERIALE NECESARE

Fotometru sau spectrofotometru cu celula de citire termostata la 37°C, capabil sa citeasca absorbanta la 580 ± 10 nm.

Cronometru de laborator, hartie milimetrica sau imprimanta.

Cuvete cu drum optic de 1 cm.

Cele de mai sus se pot inlocui cu un spectrofotometru semiautomat sau automat.

Pipete cu varfuri de unica folosinta pentru masurarea reactivilor si a probelor.

PROCEDURA

1. Preincubati reactivii, probele si standardul la temperatura de reactie.
2. Efectuati balnkul instrumentului cu apa distilata
3. Pipetati in cuvete etichetate:

TUB	Blank	Proba	Standard
Apa distilata	10 uL	-	-
proba	-	10 uL	-
CAL	-	-	10 uL
R1	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
R2	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml

4. Amestecati usor oprin inversare. Introduceti cuvetta in locasul de citire si porniti cronometrul

5. Incubati pentru 1 minut si notati citirea absorbantei initiale.

6. Repetati citirile de absorbanta dupa exact 1 minut si dupa 2 minute. (la un minut dupa a doua citire).

7. Calculati diferenta absorbantelor.

8. Calculati media rezultatelor gasite pentru blank, probe si standard, pentru calculul mediei variatiei absorbantei / minut. ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULE

Scadeți din $\Delta A/\text{min}$ corespunzătoare probei (standardului) $\Delta A/\text{min}$ corespunzătoare balnului pentru a obține valoarea $\Delta A/\text{min}$ corectată. Aplicați

$$\frac{\Delta A/\text{min}_{\text{proba}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = \text{U/L lipaza}$$

Unitatea de lipaza. O unitate (U) este definită cantitatea de activitate enzimatică ce eliberează 1 μmol de methyl-resorufin din substrat în timp de un minut, la temperatura de 37°C.

VALORI DE REFERINȚĂ

Ser, plasma

Pacienți normali $\leq 30 \text{ U/L}$
--

Se recomandă ca fiecare laborator să-și stabilească propriile valori de referință, specifice populației explorate.

CONTROLUL DE CALITATE

Pentru asigurarea unui control de calitate corespunzător (QC) fiecare set de analize trebuie să includă un set de controale (normale și anormale) cu valori tratate ca și necunoscute.

1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL

1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL

SEMNIFICATIA CLINICA

Nivelul lipazei are aproximativ aceeași semnificație ca și nivelul amilazei în diagnosticul pancreatitelor acute. Cea mai mare creștere a fost observată mai ales în pancreatitele acute decât în cele cronice.

Deoarece lipaza serică nu este derivată din mai multe țesuturi, cum este cazul amilazei, este mai specifică decât amilaza în diagnosticul pancreatitelor acute.

În tulburările pancreatice, lipaza serică poate crește mai lent decât amilaza serică, dar rămâne ridicată pentru o perioadă de timp mai îndelungată și de aceea este mai utilă în diagnostic și în urmărirea tratamentului.

PERFORMANȚE ANALITICE

- **Linearitate.** Până la 250 U/L

- **Precizie**

U/L	intra—test			intre teste		
media	11.6	119.5	215	11.6	119.5	215
SD	2.55	4.13	5.97	1.17	5.43	10.79
CV %	21.8	3.4	2.8	10	4.5	5
N	20	20	20	20	20	20

Probe repetate: 20 pentru fiecare nivel

Aparat: HITACHI 704, timp de 8 zile

- **Sensibilitate.** 5 U/L.

- **Corelația.** Acest test (y) a fost comparat cu o metodă similară, disponibilă comercial (x). Pentru N = 20 probe, rezultatul este:

$$y = 0.500x + 3.944$$

Coefficientul de corelație : r = 0.997

BIBLIOGRAFIE

- 1 EP 207252. Neumann, U. "New substrates for the optical determinations of lipase" (1987).
- 2 Junge, W., Leubold, K. and Kraack, B. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21 : 445 (1983).