

## LIPASE CE

<b>REF 1143005</b> 1 x 60 mL <b>CONTENIDO</b> R1. Reactivo 1 x 50 mL R2. Reactivo 1 x 10 mL CAL 1 x 1 mL	<b>REF 1143010</b> 1 x 60 mL <b>CONTENIDO</b> R1. Reactivo 1 x 50 mL R2. Reactivo 1 x 10 mL	<h2>LIPASA</h2> <p>Método enzimático colorimétrico</p> <p>CINETICO</p>
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		

## FUNDAMENTO

El método está basado en la segmentación del cromógeno específico sustrato ácido 1,2-O-dilaurylrac-glicero-3-glutaric-(6'-methyl-resorufin)-ester emulsionado en micro-partículas estabilizante. En presencia de activadores específicos de la lipasa pancreática como colipasa, iones de calcio y ácidos biliares, el sustrato se transforma en ácido 1,2-O-dilauril-rac-glicerol y glutámico-6'-methylresorufinester que se descompone espontáneamente a ácido glutámico y metilresorufina. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lipasa en la muestra.

## COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

- R1** **Tampón lipasa** TRIS 40 mmol/L pH 8,3, colipasa 1 mg/L, desoxicolato  $\geq 1,8$  mmol/L, taurodesoxicolato  $\geq 7,0$  mmol/L.
- R2** **Sustrato lipasa** Tampón tartrato 15 mmol/L pH 4,0, lipasa sustrato  $\geq 0,7$  mmol/L,  $Ca^{2+} \geq 1$  mmol/L.
- CAL** **Patrón Lipasa.** Actividad expresada en U/L de metilresorufina a 37°C, en la etiqueta. Liofilizado.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C.  
 Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.  
 Estabilidad: 90 días a 2-8 °C una vez abierto.

## Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- El reactivo **R2** es una micro-emulsión estabilizada turbia de tinte anaranjado. Desecharla si vira a rojo.

## PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los reactivos **R1** and **R2** están listos para su uso. **R2** Homogeneizar con suavidad antes de efectuar el ensayo.

**Calibrador.** Reconstituir el contenido de un vial con **1,0 mL** de agua destilada homogeneizando con suavidad hasta su disolución completa. Estable 7 días a 2-8°C. Congelado en pequeñas alícuotas es estable 3 meses a -20°C.

## MUESTRAS

Suero reciente y plasma heparinizado. Estable 7 días a 2-8°C. Para periodos superiores congelar a -20°C.

## INTERFERENCIAS

- Hemoglobina hasta 150 mg/dL y bilirrubina hasta 20 mg/dL no interfieren.
- Los triglicéridos ( $> 300$  mg/dL) afectan negativamente al ensayo.
- La morfina y ciertas drogas colinérgicas originan un aumento de los niveles séricos de lipasa.

## EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o espectrofotómetro con compartimiento de medición termostaticado a 37°C, para leer a  $580 \pm 10$  nm.
- Cronómetro, registrador gráfico o impresora.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

## TECNICA

1. Preincubar los reactivos, muestras y patrón a la temperatura de reacción.
2. Ajustar a 0 el fotómetro con agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

TUBOS	Blanco	Muestra	Patrón
Agua destilada	10 $\mu$ L	-	-
Muestra	-	10 $\mu$ L	-
<b>CAL</b>	-	-	10 $\mu$ L
<b>R1</b>	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
<b>R2</b>	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

4. Mezclar suavemente por inversión. Insertar la cubeta en el compartimiento termostaticado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
5. Incubar durante 1 minuto, y anotar la absorbancia inicial.
6. Repetir las lecturas exactamente a los 1 y 2 minutos.
7. Calcular la diferencia entre absorbancias.
8. Calcular el promedio de los resultados del Blanco, Muestra y Patrón para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).



## CALCULOS

Restar el  $\Delta A/\text{min}$  del Blanco de los  $\Delta A/\text{min}$  de la Muestra y el Patrón para obtener las respectivas absorbancias corregidas. Aplicar:

$$\frac{\Delta A/\text{min}_{\text{Muestra}}}{(\Delta A/\text{min})_{\text{Calibrador}}} \times \text{Actividad Calibrador} = \text{U/L lipasa}$$

**Unidad de lipasa.** Una unidad (U) se define como la cantidad de actividad enzimática que libera 1  $\mu\text{mol}$  de metilresorufina del sustrato por minuto a 37°C.

## VALORES DE REFERENCIA <sup>2</sup>

Suero, plasma

Adultos sanos $\leq 38$ U/L
-----------------------------

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

## CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

## SIGNIFICADO CLINICO

Los valores de la lipasa tienen aproximadamente el mismo significado que los de la amilasa en el diagnóstico de la *pancreatitis aguda* hallándose los aumentos más elevados en esta que en la *pancreatitis crónica*. Puesto que la lipasa sérica no se origina en tantos tejidos como la amilasa, resulta más específica que aquella en la *pancreatitis aguda*.

Durante los *trastornos pancreáticos*, la actividad de la lipasa sérica puede elevarse más lentamente que la de la amilasa, pero puede permanecer elevada por períodos más largos de tiempo y por lo tanto más útil en el diagnóstico y seguimiento de los mismos.

## CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Linealidad.** Hasta 250 U/L

- **Precisión**

U/L	Intraserial			Interserial		
Media	11,6	119,6	215,0	11,6	119,6	215,0
DE	2,6	4,1	6,0	1,2	5,4	10,8
CV%	22	3,4	2,8	10	4,5	5,0
N	20	20	20	20	20	20

Replicados: 20 por nivel.

Instrumento: HITACHI 917

Replicados: 20 por nivel

durante 8 días.

- **Sensibilidad.** 5 U/L.

- **Correlación.** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 20 \quad r = 0,997 \quad y = 0,500x + 3,944$$

## REFERENCIAS

1. NCCLS. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
2. Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).
3. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.
4. Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., DeMott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Wil-liams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
5. Bonora, R., De Luca, U., Panteghini, M.: "Measurement of pancreatic lipase activity in serum by a kinetic colorimetric assay utilizing a chromogenic substrate reagent". SIBIOC 8-11 october 1996, Pesaro.
6. Neumann, U. et al.: "New substrates for the optical determination of lipase". EP 207252 (1987).

