

LIPASE

REF 1143005 1 x 60 mL CONTENU Réactif R1. 1 x 50 mL Réactif R2. 1 x 10 mL CAL 1 x 3 mL	REF 1143010 1 x 60 mL CONTENU Réactif R1. 1 x 50 mL Réactif R2. 1 x 10 mL	LIPASE <i>Méthode Enzymatique colorimétrique</i> CINETIQUE
Uniquement pour diagnostic in vitro		

PRINCIPE

Dans cette méthode directe, la lipase catalyse l'hydrolyse d'un substrat synthétique* en milieu alcalin. Le substrat est clivé en présence des sels biliaires, colipase et des ions Ca^{+2} en un composé intermédiaire instable qui spontanément s'hydrolyse facilement en acide glutarique et methyl-resorufine, un chromophore bleuâtre pourpre.

La quantité de resorufine formée, mesurée cinétiquement à 580 nm, est proportionnelle à l'activité de l'enzyme présente dans l'échantillon^{2,3}.

* 1-2-O-dilauryl-rac-glycero-3-acide glutarique-(4-methyl-resorufine)-ester.

COMPOSITION DES REACTIFS

R1 **Tampon lipase** TAPS¹ 100 mM. Hydroxyde de sodium 40 mM. Sodium deoxicholate 34 mM. Sodium azide 7.7 mM.

R2 **Suстрat lipase** (+)-Acid tartarique 9.5 mM. Hydroxyde de sodium 19 mM. Colipase 23.2 U/ml. 2-Propanol 0.65 M, DGGMR² 0.4 mM.

CAL **Standard Lipase**. Lyophilisé. Activité donnée en U/L de methyl-resorufine à 37°C. La concentration est spécifique à chaque lot. Ref. 1943005.

TAPS¹: N-Tris(hydroxymethyl)methyl-3-aminopropanesulfonic acid.
DGGMR²: 1,2-O-Dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) ester.

CONSERVATION ET STABILITE

 Conserver à 2-8°C.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration.

Conserver les flacons hermétiquement fermés, protégés de la lumière et hors des contaminations pendant l'usage.

Stabilité: 90 jours à 2-8 °C après ouverture.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Le réactif R2 est un micro-émulsion stabilisée boueuse teinte orange. Jeter si elle devient rouge.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs **R1** y **R2** sont prêts à l'emploi. Après être ouverts sont stables.

Calibreur. Reconstituer le flacon en ajoutant exactement **3,0 mL** d'eau distillée à 20-25°C. Fermer le flacon et mélanger soigneusement et laisser reposer pendant 30 minutes avant de l'utiliser protégé de la lumière. La stabilité est de 7 jours à 2-8°C. et 3 mois à -20°C une fois congelée en petits volumes.

ECHANTILLONS

Sérum frais et plasma hépariné. Stable 5 jours à 2-8°C.

INTERFERENCES

- L'Hémoglobine (1000 mg/dL) et la bilirubine (25 mg/dL) n'interfèrent pas.
- Les Triglycérides (1000 mg/dL) et intralipids (800 mg/dL) affectent négativement le test.
- La Morphine et certaines drogues cholinergiques causent une augmentation de l'activité de la lipase sérique.

MATERIEL AUXILLIAIRE

- Photomètre ou colorimètre avec compartiment de mesure thermostable, capable de lire à 570 ± 10 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimant.
- Cuvettes de 1-cm de trajet optique.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Pré incuber les réactifs de travail, les échantillons et calibreur à la température de réaction.
2. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
3. Pipeter dans des cuves:

TUBES	Blanc	Echantillon	Standard
Eau distillée	15 µL	—	—
Echantillon		15 µL	—
CAL	—	—	15 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
R2	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL

4. Mélanger doucement par retournement. Insérer la cuve dans la cellule de lecture et déclencher le chronométrage.
5. Incuber pendant 1 minute et faire la lecture de l'absorbance initiale.
6. Répéter exactement la lecture de l'absorbance après 1 et 2 minutes.
7. Calculer la différence d'absorbances.
8. Calculer la moyenne des résultats trouvés pour le Blanc, l'Echantillon et le Standard afin d'obtenir la variation moyenne d'absorbances par minute (A/min).

CALCULS

Calculer le facteur d'essai applique la formulation suivante:

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Activité}_{\text{Calibreur}}}{\Delta A_{\text{Calibreur}} / \text{min}}$$

Activité de la Lipase de l'échantillon = Facteur x $\Delta A_{\text{Echantillon}} / \text{min} / \text{min}$

Unité Lipase. Un (U) est défini comme la quantité d'activité de l'enzyme qui libère 1 μmol de methyl-resorufine du substrat par minute à 37°C.

Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à 700 U/L doivent être dilués à la proportion de 1:2 avec l'eau physiologique et refaire l'analyse. Multiplier les résultats obtenus par 2.

VALEURS DE REFERENCE ⁴

Sérum, plasma

Sujet Normal 5,6 – 51,3U/L

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

L'usage d'un standard pour calculer les résultats permet d'obtenir une précision indépendante du système ou de l'instrument utilisés. Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Évalué comme niveau normal de Lipase.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Évalué comme niveau élevé de Lipase.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont en dehors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE¹

Les valeurs de la Lipase ont à peu près la même signification que celles de l'amylase dans le diagnostic de la pancréatite aigüe où elles sont plus grandement augmentées que dans la pancréatite chronique. La lipase sérique est plus spécifique que l'amylase dans le diagnostic de la pancréatite aigüe d'autant plus qu'elle n'est pas dérivée de beaucoup de tissus que l'amylase.

Pendant les troubles pancréatiques, l'activité de la lipase sérique peut augmenter plus lentement que celle de l'amylase sérique, mais elle peut rester élevée pour une plus longue période de temps et par conséquent être plus utile dans le diagnostic et le suivi de la maladie.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Linéarité.** Jusqu'à 700 U/L

- **Précision**

U/L	Intra série			Inter série		
Moyenne	35	63	93	34	58	117
SD	1,41	1,61	1,46	1,63	1,78	2,54
CV%	4,08	2,56	1,57	4,75	3,07	2,17
N	20	20	20	20	20	20

Reproductibilité: 20 fois par niveau.

Reproductibilité: 20 fois par niveau.

Instrument: HITACHI 704

pour 8 jours.

- **Sensibilité.** 2 U/L.

- **Corrélation.** Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

N = 40 r = 1,00 y = 1,04x - 2,52

BIBLIOGRAPHIE

1. Tietz NW et al. Lipase in serum-the elusive enzyme: An overview. Clin Chem 1993;39:746-756.
2. Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis. (Review). Ann Intern Med 1985; 102:576-580.
3. Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. Adv clin Enzymol 1986;4:60-67.
4. Junge, W., Leubold, K. y Kraack, B. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21 : 445 (1983).