

LIPASE

<p>REF 1143005 1 x 60 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 50 mL R2. Reactivo 1 x 10 mL CAL 1 x 3 mL</p>	<p>REF 1143010 1 x 60 mL CONTENIDO R1. Reactivo 1 x 50 mL R2. Reactivo 1 x 10 mL</p>
<p>Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i></p>	

LIPASA

Método enzimático colorimétrico

CINETICO

FUNDAMENTO

El método está basado en la segmentación del cromógeno específico sustrato ácido 1,2-O-dilauryl-rac-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 glutárico-6'-methylresorufinester que se descompone espontáneamente a ácido glutárico 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 \geq 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, Ca²⁺ \geq 1 mmol/L.
- CAL** **Patrón Lipasa.** Actividad expresada en U/L de metilresorufina a 37°C, en la etiqueta. Liofilizado. Ref. 1943005.

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 **3,0 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 μ L	-	-
Muestra	-	10 μ L	-
CAL	-	-	10 μ L
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
R2	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 ($\Delta A/min$).



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 μmol de metilresorufina del sustrato por minuto a 37°C.

VALORES DE REFERENCIA ²

Suero, plasma

Adultos sanos ≤ 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 Wilkins & 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).

