

LIPASE

Colorimetric method

ENDPOINT

REF KR10430 1 x 36 mL CONTENTS R1. 1 x 30 mL R2. 1 x 6 mL For <i>in vitro</i> diagnostic use only

SUMMARY

The method for the determination of lipase is based on the cleavage of specific chromogenic lipase substrate 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methyl-resorufin)-ester emulsified in stabilized micro-particles. In the presence of specific activators of pancreatic lipase as colipase, calcium ions and bile acids, the substrate is converted to 1,2-O-dilauryl-rac-glycerol and glutaric acid-6'-methylresorufinester which decomposes spontaneously to glutaric acid and methylresorufin. The increase of absorbance at 580 nm, due to methylresorufin formation, is proportional to the activity of lipase in the sample.

REAGENT

R1. Tris buffer, pH 8.3 40 mmol/L, Colipase \geq 1 mg/L, Desoxycholate \geq 1.8 mM/L, Taurodesoxycholate \geq 7.0 mM/L.

R2. Tartrate buffer, pH 4.0 15 mM/L, Lipase Substrate \geq 0.7 mM/L, Calcium Ions \geq 1 mM/L.

PREPARATION Ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. The Reagents are stable until the expiry date stated on the label. Stability: 90 days at 2-8 °C after opening. After daily use stored tightly closed and protected from light. On board is stable 30 days.

Discard if appear signs of deterioration:

R1. Presence of particles and turbidity.

R2. Is a turbid orange-colored micro-emulsion. Discard if it turns red. In some storage conditions (i.e. storage at a temperature lower than the one indicated) a precipitate may appear in the vial that will not influence the reagent performance; however, it is recommended to resuspend the product with a slight rotation of the vial before carrying out the analysis.

SAMPLE COLLECTION

Serum, EDTA plasma unhemolyzed. Lipase in serum and plasma is stable for 1 week at 2-8°C, and for up to 4 months at -20°C.

INTERFERENCES

- Triglycerides (>300 mg/dL) may affect the results.
- Hemoglobin (>150 mg/dL) does not affect the results.
- Bilirubin (>20 mg/dL) does not affect the results.
- Other drugs and substances may interfere.

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.
- Cleaning solutions Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.
- Multicalibrator CC/H 10x3 mL Ref. CT19750.

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test.

Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method.

It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

Recalibrate weekly, when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument. Two point calibration is recommended (S1: NaCl 9 g/L and S2: Calibrator). A reagent blank should be run daily before sample analysis.

RESULTS

Samples with concentrations higher than 250 U/L should be diluted 1:10 with saline and assayed again. Multiply the results by 10.

EXPECTED VALUES

Serum, plasma

Adults	< 38 U/L
--------	----------

It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) Ref. CT19800-CT19850 with assayed values handled as unknowns.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Lipase enzymes are produced in the pancreas and also secreted in small amounts by the salivary glands as well as by gastric, pulmonary and intestinal mucosa. Determination of lipase is used for diagnosis and treatment of diseases of the pancreas such as acute and chronic pancreatitis and obstruction of the pancreatic duct.

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

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 Williams & 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).



LIPASA

Método Colorimétrico

PUNTO FINAL

REF KR10430 1 x 36 mL CONTENIDO R1. 1 x 30 mL R2. 1 x 6 mL Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
--

FUNDAMENTO

El método está basado en la segmentación del cromógeno específico sustrato ácido 1,2-O-dilaurilrac-glicero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin)-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.

REACTIVO

- R1.** Tampón Tris, pH 8.3 40 mmol/L, Colipasa \geq 1 mg/L, Desoxycholate \geq 1.8 mM/L, Taurodesoxycholate \geq 7.0 mM/L.
R2. Tampón Tartrate, pH 4.0 15 mM/L, Sustrato Lipasa \geq 0.7 mM/L, Iones calcio \geq 1 mM/L.

PREPARACION Listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. El Reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. La estabilidad una vez abierto: 90 días a 2-8°C. Después de su uso diario, mantener bien cerrado y protegido de la luz. En el analizador es estable 30 días.

Descartar si aparecen signos de deterioro:

- R1.** Presencia de partículas y turbidez.
R2. Es una micro-emulsión naranja. Descartar si se vuelve roja. En algunas condiciones de almacenamiento (p.e. conservación a temperaturas inferiores a la indicada) pueden aparecer precipitados que no influyen en la funcionalidad del reactivo; pero se recomienda resuspender suavemente antes del ensayo.

MUESTRAS

Suero o plasma sin hemolizar recogido en EDTA. La lipasa en suero o plasma es estable 1 semana a 2-8°C y hasta 4 meses a -20°C.

INTERFERENCIAS

- Triglicéridos (>300 mg/dL) puede afectar los resultados.
- Hemoglobina (>150 mg/dL) no interfiere.
- Bilirrubina (>20 mg/dL) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.
- Soluciones de lavado Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.
- Multicalibrador CC/H 10x3 mL Ref. CT19750

TECNICA AUTOMATICA

Una representación gráfica visualiza los ajustes específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

CALIBRACION

Recalibrar semanalmente, al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento. Se recomienda la Calibración de dos puntos (M1: ClNa 9 g/L y M2: Calibrador). Realizar un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

CALCULOS

Muestras con concentraciones de lipasa superiores a 250 U/L deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10.

VALORES DE REFERENCIA

Suero, plasma

Adultos	< 38 U/L
---------	----------

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

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) Ref. CT19800-CT19850 que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Las enzimas de la lipasa se produce en el páncreas y secretadas en pequeñas cantidades por las glándulas salivales, así como por la mucosa gástrica, pulmonar e intestinal. La determinación de la lipasa se utiliza para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades del páncreas como la pancreatitis aguda y crónica y la obstrucción del conducto pancreático.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

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 Williams & 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).

