

Lipasa DC* FS**

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de lipasa en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase
1 4321 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 4321 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 4321 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL

Resumen [1,2]

Las lipasas son enzimas que hidrolizan ésteres de glicerol de los ácidos grasos largos. La enzima y su cofactor colipasa son producidos en el páncreas, aunque la lipasa también se secreta en cantidades pequeñas por las glándulas salivales así como también por la mucosa gástrica, pulmonar e intestinal. Los ácidos biliares y la colipasa forman micelas con los lípidos y fijan lipasa en la interfase sustrato/agua. La determinación de lipasa se utiliza para la investigación de desórdenes pancreáticos. En la pancreatitis aguda las concentraciones de lipasa suben a 2 – 50 veces el límite de referencia superior dentro de 4 a 8 horas después de empezar el dolor abdominal alcanzando el máximo a las 24 horas y disminuyen dentro de 8 a 14 días. También pueden observarse valores elevados de lipasa en la pancreatitis crónica y obstrucción del conducto pancreático.

Método

Test enzimático colorimétrico

Un sustrato de lipasa sintéticamente producido (1,2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufin) ester) es añadido a una microemulsión el cual es específicamente dividido por la lipasa en presencia de colipasa y ácidos biliares. La combinación de lipasa y ácidos biliares hace que sea específico y confiable para la lipasa pancreática sin ninguna reacción debido a las enzimas lipolíticas o esterases. La composición del reactivo se ha perfeccionado completamente de manera que no haya ningún efecto de la matriz del suero.

El metilresorufin-ester generado es espontáneamente degradado al metilresorufin. La absorbancia de este colorante rojo es directamente proporcional a la actividad de la lipasa en la muestra.

Principio

La lipasa cataliza la reacción:

Ácido 1,2-o-Dilauril-rac-glicero-3-glutárico(6-metilresorufin)-ester

< Lipasa / Colipasa >

1,2-o-Dilauril-rac-glicerina + Ácido Glutárico-(6-metilresorufin)-ester

Ácido Glutárico-(6-metilresorufin)-ester degradación espontánea >

Ácido glutárico + Metilresorufin

El aumento en la absorbancia es determinado fotométricamente.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

Reactivo 1:

Solución amortiguadora Good	pH 8,0	50 mmol/L
Taurodesoxicolato		4,3 mmol/L
Desoxicolato		8,0 mmol/L
Cloruro de calcio		15 mmol/L
Colipasa		2,2 mg/L

Reactivo 2:

Solución amortiguadora tartrato	pH 4,0	7,5 mmol/L
Taurodesoxicolato		17,2 mmol/L
Sustrato de color		0,65 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

El reactivo es estable hasta el final del mes indicado de expiración, si es almacenado a 2 – 8 °C y se evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos y protegerlos de la luz!

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Los reactivos son listos para ser usados. ¡No agitar!

Materiales requeridos pero no suministrados

Solución de NaCl 9 g/L

Equipo general de laboratorio

Advertencias y Precauciones

- Reactivo 2: Atención. H319 Provoca irritación ocular grave. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P305+P351+P338 En caso de contacto con los ojos: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P337+P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
- Reactivo 1 contiene azida de sodio (0,95 g/L) como preservativo. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
- Muchos otros reactivos clínicos contienen lipasa o concentraciones elevadas de detergentes. Evitar la contaminación por arrastre. Las cubetas y otro material de vidrio deben ser limpiados cuidadosamente después de usarse, para luego usarse en otros ensayos.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [11].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Tipo de muestra

Suero o plasma heparinizado

Estabilidad [8]:	7 días	de	20 a 25 °C
	7 días	de	4 a 8 °C
	1 año	a	-20 °C

¡Desechar las muestras contaminadas! ¡Congelar sólo una vez!
Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	580 nm, Hg 578 nm
Paso Óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medición	Contra blanco de reactivo

Muestra/Calibrador	Blanco	Muestra
Agua destilada	-	20 µL
Reactivo 1	20 µL	-
Mezclar cuidadosamente (no agitar), incubar 1 – 5 min. Iniciar la reacción añadiendo el reactivo 2:	1000 µL	1000 µL
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, incubar 2 min. a 37 °C, leer la absorbancia y iniciar el cronómetro. Después de exactamente 1 y 2 min. leer la absorbancia otra vez, pues calcular ΔA/min.		

$$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Muestra/Calibrador}] - [\Delta A/\text{min Blanco}]$$

Cálculo

Con calibrador:

$$\text{Lipasa [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$$

Factor de conversión

$$\text{Lipasa [U/L]} \times 0,0167 = \text{Lipasa [\mu kat/L]}$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda utilizar el calibrador DiaSys TruCal U. Los valores de calibración se han obtenido a partir del coeficiente de extinción molar de un método de medición disponible. Para el control de calidad interno deben utilizarse los controles DiaSys TruLab N y P. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	N° de pedido	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de Medida

El test ha sido desarrollado para determinar las concentraciones de lipasa hasta 300 U/L. Cuando los valores exceden este rango, las muestras deben ser diluidas 1 + 1 con solución de NaCl (9 g/L) y el resultado multiplicado por 2.

Especificidad/Interferencias

No se observó ninguna interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina libre y conjugada hasta 60 mg/dL, hemoglobina hasta 500 mg/dL, y lipemia hasta 1000 mg/dL de triglicéridos. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [9].

Sensibilidad/Límite de Prueba

El límite más bajo de detección es de 3 U/L.

Imprecisión

Según el protocolo EP-5 del NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	13,4	0,24	1,81
Muestra 2	58,9	0,60	1,01
Muestra 3	103	1,50	1,45

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	13,4	0,24	1,81
Muestra 2	58,9	0,49	0,82
Muestra 3	103	0,65	0,63

Comparación de métodos

Una comparación entre Lipasa DC FS de DiaSys (y) con otro test colorimétrico comercialmente disponible (x) utilizando 67 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 0,96 x - 1,15 \text{ U/L}, r = 0,999.$$

Rango de Referencia [10]

$$\leq 60 \text{ U/L } (\leq 1,00 \mu \text{kat/L})$$

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- Lorentz K. Lipase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 95-7.
- Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 689-708.
- Tietz N, Shuey DF. Lipase in serum – the elusive enzyme: an overview. Clin Chem 1993; 39: 746-56.
- Lott J, Patel ST, Sawhney AK, Kazmierczak SC, Love JE. Assays of serum lipase: analytical and clinical considerations. Clin Chem 1986; 32: 1290-1302.
- Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. Adv Clin Enzymol 1986; 4: 60-7.
- Borgström B. The action of bile salts and other detergents on pancreatic lipase and the interaction with colipase. Biochimica et Biophysica Acta 1977; 488: 381-91.
- Gargouri Y, Julien R, Bois A, Verger R, Sarda L. Studies on the detergent inhibition of pancreatic lipase activity. J of Lipid Research 1983; 24: 1336-42.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 36-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Junge W, Abicht K, Goldman J. Evaluation of the colorimetric liquid assay for pancreatic lipase on Hitachi analyzers in 7 clinical centres in Europe. Clin Chem Lab Med 1999;37, Special suppl: 469.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240-1243.

Fabricante



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania