Lipasa-LQ

Cinético colorimétrico. Liquido

Determinación cuantitativa de lipasa

CE IVD

PRESENTACIÓN

Ref.: 101-0410	Cont.: 4 x 10 / 1 x 8 mL

Conservar a 2-8ºC

SIGNIFICADO CLÍNICO

La lipasa (LPS) es una enzima pancreática necesaria para la absorción y digestión de los nutrientes, cataliza la hidrólisis de los esteres de glicerol de los ácidos grasos. La determinación de la LPS es útil para el diagnóstico de enfermedades del páncreas como pancreatitis aguda y obstrucción pancreática[1,7,8]. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La lipasa pancreática en presencia de colipasa, iones calcio y desoxicolato, hidroliza el sustrato 1-2-O-dilauril-rac-glicerol-3-glutárico-(6' -metilresorufina)-ester. Las secuencias de las reacciones para la determinación directa de la lipasa son las siguientes:

1-2-O-dilauril-rac-glicerol-3-glutárico -(6' -metilresorufina)-ester

$$\xrightarrow{\text{Lipasa}}$$ 1-2-O-dilauril-rac-glicerol + Ácido glutárico-6'-etilresorufina-ester (no estable) $$\xrightarrow{OH^-}$$ Ácido glutárico + Metilresorufina

La velocidad de formación de metilresorufina determinado fotometricamente, es proporcional a la concentración catalítica de lipasa en la muestra ensayada.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 8,3 Colipasa Desoxicolato Taurodesoxicolato	40 mmol/L ≥ 1 mg/L 1,8 mmol/L 7,2 mmol/L
R 2 (micro-emulsión)	Tartrato pH 4,0 Lipasa Cloruro calcico ($CaCl_2$)	15 mmol/L ≥ 0,7 mmol/L 0,1 mmol/L
LIPASA CAL	Patrón. Suero humano liofilizado. La actividad de la LPS (U/L de metilresorufin a 37º C) está indicada en la etiqueta del vial	

PRECAUCIONES

LIPASE CAL Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACIÓN

- **R1 – R 2** Listos para su uso.
  R2 Mezclar suavemente antes de usar (Nota 1).
- **LIPASE CAL**: Reconstituir con 1 mL de agua destilada. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 7 días a 2-8º C o 3 meses a -20ºC.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8º C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.
No usar reactivos fuera de la fecha indicada.
Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 580 ≥ 1,4.
- R 2 micro-emulsión de color naranja, descartar si se vuelve roja.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 580 nm.
- Baño termoestable a 37ºC (± 0,1º C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma con citrato sódico, EDTA o heparina[1].
No congelar y descongelarlas las muestras repetidas veces.
Estabilidad: 2 días a 2-8º C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: . . . . . 580 nm
   Cubeta:. . . . . .1 cm paso de luz
   Temperatura constante . . . . . .37º C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta (Nota 2):

	Blanco	Calibrador/ Muestra
R1 (mL)	1,0	1,0
R2 (µL)	200	200
Agua destilada (µL)	10	--
Patrón / Muestra (µL)	--	10

4. Mezclar, incubar a 37º C 1 minuto.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 2 minutos.
6. Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

(ΔA/min) Muestra - (ΔA/min) Blanco= (ΔA/min) Muestra

(ΔA/min) Patrón - (ΔA/min) Blanco= (ΔA/min) Calibrador

$$\frac{\Delta A/min \quad Muestra}{\Delta A/min \quad Calibrador} \times \text{Actividad Calibrador} = \text{U/L de lipasa en la muestra}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de substrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).
Factor de conversión: LPS [U/L] x 0,01667= LPS [µkal/L]

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:
Contro-N (Ref. 101-0083 y 101-0252) y Contro-P (Ref. 101-0084 y 101-0253).
Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.
Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA[1]

≤ 38 U/L (U/L de metilresorufina a 37º C).
Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* 5 U/L hasta el *límite de linealidad* 250 U/L.
Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	40,2	59,35	38,5	58,9
SD	0,410	0,875	1,10	1,25
CV (%)	1,02	1,47	2,86	2,13

Sensibilidad analítica: 1 U/L= 0,00059792 (A)
Exactitud: Los reactivos CHRONOLAB (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Los resultados obtenidos con 101 muestras fueron los siguientes:
Coeficiente de regresión $(r)^2$: 0,99732.
Ecuación de la recta de regresión: y= 0,50054x + 3,9443.
Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos a 300 mg/dL interfieren en la determinación de la lipasa reduciendo su actividad un 6%. Hemoglobina hasta 150 mg/dL y bilirrubina hasta 20 mg/dL no interfieren[2,3,4].
Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la Lipasa[5,6].

NOTAS

1. En algunas condiciones de almacenamiento (p.e. almacenaje a temperatura inferior a la recomendada) puede aparecer precipitación, que no influye en su funcionalidad; es recomendable resuspender mediante rotación suave del vial.
2. A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
3. **CHRONOLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

1. McNeely M. Lipase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1130-1134, 892.
2. Neumann U et al. Comptes Rend. 4 colloque de Pont-a-Musson, Masson 627-634 (1979)
3. Junge W et al. J.Clin.Chem.Clin.Biochem., 21 445-451 (1983).
4. Neumann U et al. Methods of Enzymatics Analysis, 3rd ed. Vol.4, 26-34 (1984)
5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
6. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
7. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
8. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

CHRONOLAB SYSTEMS, S.L., Travessia Prat de la Riba 34 B, 08849 Sant Climent de Llobregat, Barcelona, Spain
Tel. +34 617722466, www.chronolab.com, e-mail: info@chronolab.com