



## LIPASA COLOR

**CATALOGO:** 991115

**PRESENTACIÓN:** R1:1 x 50 mL , R2: 1 x 30 mL

### USO

Conjunto de ensayo para la determinación cuantitativa de Lipasa. Para uso de diagnóstico IN VITRO.

### PRECAUCIONES

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos.

### ANTECEDENTES

La medición de la actividad de la lipasa en suero y en otros flujos se limita casi sin excepción alguna, a la evaluación de las condiciones asociadas con el páncreas.

La actividad de la lipasa se ha medido con un método turbidimétrico, utilizando triglicéridos como el sustrato, y con un método colorimétrico, utilizando sustratos sintéticos.

### PRINCIPIO

A un pH alcalino el sustrato de color de Lipasa 1,2-0-dilauril-rac-glicero -3- ácido glutárico-(6-metil-resorufina)-éster se desdobra por la acción de la Lipasa pancreática formándose 1,2-0-dilauril-rac-glicerol y ácido glutárico-(6-metil-resorufina)-éster, que es un producto inestable. Este en solución alcalina se transforma en ácido glutárico y metilresorufina. Cuya intensidad de color rojo formado es directamente proporcional a la actividad de la Lipasa presente en la muestra cuantificada a 578 nm.

### REACTIVOS

Cada kit de reactivos contiene:

**Reactivo 1:** 1 x 50 mL de una solución buffer conteniendo: buffer Bicin pH 8, 50 mM; Colipasa  $\geq 1$  mg/L; Desoxicolato Na 1.8 mM; cloruro de calcio 12 mM.

**Reactivo 2:** 1 x 30 mL de sustrato conteniendo: buffer de tartrato pH 4 12 mM; 1,2-0-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster 0.27 mM; taurodeoxicolato 9.0 mM; surfactantes y preservativos.

**Estandar:** liofilizado para reconstituir con agua desionizada 1 x 1 mL, para concentración ver etiqueta del vial.

### PREPARACION DEL REACTIVO

Los reactivos se proporcionan listos para usarse. El estándar se reconstituye agregando el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta.

### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos proporcionados son estables hasta la fecha de caducidad especificada en las etiquetas

mientras se conserven de 2 a 8°C. El estándar reconstituido es estable por 15 días cuando se conserve a una temperatura de 2 a 8°C.

### DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. La turbiedad indicaría deterioro.

### INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier instrumento con control de temperatura de  $\pm 0.5^\circ\text{C}$  que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 578 nm. El ancho de la banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de los 2 nm.

### COLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra de elección deberá ser un suero fresco, claro y no hemolizado o plasma heparinizado, no usar plasma con EDTA. El suero deberá separarse inmediatamente después de que se tomó la muestra y la actividad de la lipasa deberá ensayarse prontamente. La actividad lipasica en suero es estable 4 días a 2-8°C y 24 Hrs a temperatura ambiente.

### SUBSTANCIAS DE INTERFERENCIA

La hemólisis causa interferencia con la prueba. Concentraciones de Hemoglobina mayores a 400 mg/dL. Niveles de bilirrubina mayores a 20 mg/dL pueden interferir con el ensayo.

Se puede encontrar un resumen de la influencia de las drogas en pruebas de laboratorios clínicos consultando el Young, D.S.

### PROCEDIMIENTO

#### Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de lipasa.

#### Materiales Requeridos

1. Un instrumento que reúna los requisitos mencionados en la sección de instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo que transmita luz a 578 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado.
4. Pipetas del tamaño adecuado.
5. Agua desionizada.
6. Un cronómetro adecuado.

#### Condiciones Genéricas

Longitud de onda . . . . . 578 nm

Temperatura . . . . . 37°C

Paso de luz . . . . . 1 cm

Tipo de reacción . . . . . de índice

Tiempo de reacción . . . . . 6-9 minutos

Volumen de la muestra . . . . . 10  $\mu\text{L}$



Volumen de reactivo . . . . . 1.0 mL (R1) + 0.6 mL (R2)  
Volumen total . . . . . 1.610 mL  
Relación muestra/reactivo . . 1:160

0.005 = cambio en la absorbancia por minuto del blanco  
0.061 = cambio en la absorbancia por minuto del estándar de lipasa  
268 U/L = actividad del estándar de lipasa

### Procedimiento

1. En tubos de ensayo separados, pipetee 10 uL de agua desionizada, del estándar de lipasa o del suero a ensayarse.
2. Agregue 1.0 mL de la solución buffer (Reactivo 1)
3. Mezclar e incubar por 5 minutos a 37°C.
4. Agregue 0.6 mL del sustrato (Reactivo 2)
5. mezcle bien y lea después de 60 segundos (A1) después de 90 segundos mas lea otra vez (A2)

### CALIBRACION

El estándar de lipasa se utiliza de acuerdo a las instrucciones para calibrar el procedimiento.

### CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero control con nivel normal y anormal en cada serie de muestras, y los resultados deberán caer dentro de desviaciones estándar  $\pm 2$  del valor establecido.

### CALCULO Y RESULTADOS

#### Resultados

La concentración de lipasa se expresa en U/L.

#### Cálculo

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

$$\text{Lipasa U/L} = \frac{\Delta A/\text{min.} - \Delta A/\text{min.} B}{\Delta A/\text{min.} S - \Delta A/\text{min.} B} \times \text{U/L estándar}$$

$\Delta A/\text{min.}$  = cambio en la absorbancia por minuto de la muestra desconocida

$\Delta A/\text{min.} B$  = cambio en la absorbancia por minuto del blanco

$\Delta A/\text{min.} S$  = cambio en la absorbancia por minuto del estándar de lipasa

U/L estándar = actividad del estándar de lipasa

#### Ejemplo

$$\text{Lipasa U/L} = \frac{0.012 - 0.005}{0.061 - 0.005} \times 268 \text{ U/L}$$

0.012 = cambio en la absorbancia por minuto de la muestra desconocida

### Limitaciones

Una muestra con un nivel de lipasa que exceda el límite de linealidad, deberá diluirse con una solución salina al 0.9% y deberá reensayarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

### VALORES ESPERADOS

5-60 U/L (37°C)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca el rango normal para el área en que está localizado.

### EVALUACION DEL METODO

Estas interpretaciones del método se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos manuales a menos que se indique lo contrario.

### Rango Lineal

La reacción es lineal hasta 300 U/L. Al utilizar procedimientos automáticos, la linealidad dependerá de la proporción muestra-reactivo utilizada.

**Nota:** para convertir las unidades color en unidades turbidimétricas, multiplicar el resultado por 3.2

### REFERENCIAS

1. Tietz, N.W. (Ed.), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Toronto, 635 (1982).
2. Rick, W., (1969), Zeitschrift Clin. Chem. Clin. Biochem., 7, 530.539.
3. Ziegenhorn, J. et al., (1979), Clin. Chem., 25, 1067.
4. Neumann, U., Kaspar, P., Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3<sup>rd</sup> edition), 26-34
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition, 1990.

IN991115 -4  
Enero, 2013