

Finalidad . Sistema enzimático para la determinación cuantitativa de la lipasa pancreática en suero y plasma.

Uso profesional.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . El sustrato cromogénico 1-2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico(6-metilresorufina)-éster es clivado en medio alcalino por la acción catalítica de la lipasa y forma el 1-2-o-dilauril-rac-glicerol y el intermediario inestable ácido glutárico-(6-metilresorufina)éster que se descompone espontáneamente en el medio alcalino para formar ácido glutárico y metilresorufina (color rojo). La intensidad del color rojo formado es directamente proporcional a la actividad de la lipasa en la muestra.

sustrato cromogénico $\xrightarrow{\text{Lipasa}}$ 1-2-o-dilauril-rac-glicerol + ácido glutárico-(6-metilresorufina) éster.

Ácido glutárico-(6-metilresorufina) éster $\xrightarrow[\text{espontánea}]{\text{descomposición}}$ ácido glutárico + metilresorufina

Características del sistema^{1,2} . El sistema Lipasa Liquiform de Labtest utiliza un sustrato cromogénico sintético similar a los triglicéridos con ácidos grasos de cadenas anchas, que es clivado por la acción de la lipasa pancreática activada enzimáticamente por la colipasa en presencia de tensioactivos.

El ensayo enzimático utiliza una microemulsión homogénea estable que proporciona una interface con calidad constante entre las fases lipóide (sustrato) y acuosa (medio de reacción que contiene la lipasa). En consecuencia, se consigue la optimización del desempeño del ensayo con elevada especificidad analítica y excelente reproducibilidad metodológica.

Varias esterases comúnmente presentes en las muestras de sangre, capaces de producir interferencias en otros métodos para determinación de la lipasa, incluyendo el método turbidimétrico, no producirán interferencia en este método.

El método es cinco veces más sensible que el método turbidimétrico y no presenta los inconvenientes de resultados negativos cuando la lipasa se encuentra con actividad disminuida o próxima al límite inferior del intervalo de referencia.

Concentraciones de triglicéridos de hasta 2000 mg/dL, bilirrubina hasta 60 mg/dL y hemoglobina hasta 500 mg/dL no interfieren significativamente en la reacción.

El método puede ser utilizado tanto en procedimiento manual como en procedimientos semi-automáticos y totalmente automatizados que permitan la aplicación del sistema bi-reactivo.

Metodología . Enzimática colorimétrica.

Reactivos

1. [R1] - Reactivo 1 - Almacenar entre 2-8°C.

Contiene tampón 50 mmol/L pH 8,0; colipasa $\geq 1,0$ mg/L; activador; tensioactivo y azida sódica $< 0,095\%$.

2. [R2] - Reactivo 2 - Almacenar entre 2-8°C.

Contiene tampón 10 mmol/L pH 4,0; 1-2-o-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico(6-metilresorufina)éster 270 $\mu\text{mol/L}$; tensioactivo y azida sódica $< 0,095\%$.

Los reactivos almacenados en las condiciones indicadas son estables hasta la fecha de expiración impresa en el rótulo. Durante la manipulación, los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar reducción de la estabilidad.

Los reactivos deben ser protegidos de la luz.

Precauciones y cuidados especiales

Los cuidados habituales de seguridad deben ser aplicados en la manipulación de los reactivos, los que no deben ser pipeteados con la boca.

Los Reactivos 1 y 2 contienen azida sódica que es tóxica. No ingerir y, en caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y procurar auxilio médico. La azida sódica puede formar compuestos altamente explosivos con las cañerías de plomo y cobre. Por lo tanto, utilizar grandes volúmenes de agua para descartar los reactivos.

Materiales necesarios y no provistos

1. Fotómetro con cubeta termostatazada a 37°C capaz de medir con exactitud absorbancias a 570 nm (550 a 600).
2. Pipetas para medir muestras y reactivos.
3. Cronómetro.

Muestra

Usar suero o plasma (heparina). Muestras con EDTA, citrato o fluoruro producen resultados disminuidos por inhibición de la actividad de la lipasa.

La actividad de la lipasa en la muestra es estable 7 días entre 2-25°C y 1 año a 20°C negativos. Congelar el material en un recipiente herméticamente cerrado ("criotubos") para evitar la evaporación. Evitar congelamientos y descongelamientos repetidos. Las muestras descongeladas deben ser bien homogeneizadas antes de su utilización. No usar vórtex o similar. No usar muestras con señales de contaminación microbiana.

Como ningún test conocido puede asegurar que las muestras de sangre no transmiten infecciones, todas deben ser consideradas como potencialmente infecciosas. Por lo tanto, al manipularlas se deben seguir las normas establecidas para bioseguridad.

Para descartar los reactivos y el material biológico sugerimos aplicar las normas locales, estatales o federales de protección ambiental.

Interferencias

Concentraciones de bilirrubina total de hasta 60 mg/dL, hemoglobina hasta 500 mg/dL y triglicéridos hasta 2000 mg/dL no interfieren significativamente en la reacción.

Muestras con bilirrubina, hemoglobina y triglicéridos con concentraciones mayores a las arriba referidas deben ser diluidas en NaCl 150 mmol/L (0,85%) antes de realizar los ensayos. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas y medicamentosas de interferencia en los resultados y en la metodología, se sugiere consultar: www.fxol.org/aaccweb/

Procedimiento

La metodología debe ser necesariamente realizada en formato bi-reactivo y la orden de adición: reactivo 1, muestra e reactivo 2 no debe ser alterada.

Los reactivos deben permanecer abiertos y fuera de la temperatura de almacenamiento solamente el tiempo necesario para obtener el volumen a ser utilizado en el test.

1. Ajustar la temperatura del fotómetro a 37°C y la longitud de onda a 570 nm (550-600);
2. Ajustar el cero con agua desionizada;
3. En un tubo rotulado Muestra o Calibrador, pipetear 0,70 mL del Reactivo 1;
4. Adicionar 0,010 mL de muestra o calibrador;
5. Adicionar 0,40 mL del Reactivo 2, homogeneizar, transferir inmediatamente a la cubeta termostatazada y disparar simultáneamente el cronómetro;
6. Medir las absorbancias a los 90 y 180 segundos;

7. Usar la diferencia de absorbancia (ΔA) entre los dos tiempos ($A_{180} - A_{90}$) para calcular los resultados.

Cálculos . Ver Linealidad.

$$\text{Lipasa (U/L)} = \frac{\text{Muestra } (A_{180} - A_{90})}{\text{Calibrador } (A_{180} - A_{90})} \times \text{CC}$$

CC: concentración del calibrador

Ejemplo

$$\begin{array}{l} \text{Muestra: } A_{90} = 0,0334 \quad A_{180} = 0,0864 \\ \text{Calibrador: } A_{90} = 0,0492 \quad A_{180} = 0,1273 \end{array}$$

Concentración del Calibrador: 93,4 U/L

$$\text{Lipasa (U/L)} = \frac{0,0864 - 0,0334}{0,1273 - 0,0492} \times 93,4 = 63,4$$

Debido a la gran reproducibilidad que puede ser obtenida con la metodología, el método del factor puede ser empleado.

$$\text{FACTOR} = \frac{\text{CC}}{\text{Calibrador } (A_{180} - A_{90})}$$

$$\text{Lipasa (U/L)} = \text{Muestra } (A_{180} - A_{90}) \times \text{Factor}$$

Ejemplo

$$\text{Factor} = \frac{93,4}{0,1273 - 0,0492} = 1196$$

$$\text{Lipasa (U/L)} = (0,0864 - 0,0334) \times 1196 = 63,4$$

Calibración . La absortividad molar de la metilresorufina, producto de la reacción, es utilizada como sistema de referencia para la calibración del ensayo.

Calibraciones manuales

Obtener el factor de calibración al usar un nuevo lote de reactivos o cuando el control interno de la calidad lo indique.

Sistemas automáticos

Blanco de reactivos: agua o solución de cloruro de sodio 150 mmol/L (0,85%);

Calibrador: Línea Calibra de Labtest.

Intervalos de calibración;

Calibración en 2 puntos al cambiar de lote;

Calibración en 2 puntos cuando el control de calidad lo indique.

Linealidad

La reacción es lineal entre 3,0 y 300 U/L. Para concentraciones mayores a 300 U/L diluir la muestra con NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar una nueva determinación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Control interno de la calidad . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad las normas aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de actividades. Deben ser utilizados materiales de control para monitorear la imprecisión de la medición y los desvíos de la calibración.

Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación y el error total sean basadas en los componentes de la variación biológica (VB)³⁻⁵.

Se sugiere utilizar los productos de la línea Qualitrol - Labtest para el control interno de la calidad en ensayos de química clínica.

Intervalo de referencia^{6,7} . Estos valores deben ser usados sólo como orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca, en la población atendida, su propio intervalo de valores de referencia.

Edad	Intervalo de referencia (U/L)
< 1 año	0 - 29
1 a 12 años	10 - 37
13 a 18 años	11 - 46
> 18 años	13 - 60

Conversión: Unidades convencionales (U/L) x 0,0167 = Unidades SI (μ kat/L)

Características de desempeño⁸

Estudios de recuperación . En dos muestras con concentraciones de Lipasa iguales a 48,7 U/L y 90,3 U/L se adicionaron cantidades diferentes del analito, obteniéndose los siguientes resultados:

Actividad (U/L)

Inicial	Adicional	Esperada	Encontrada	Porcentaje de recuperación (%)
48,7	48,7	97,4	90,3	92,7
90,3	90,3	180,6	164,2	91,2

El error sistemático proporcional medio estimado es igual a -2,4 U/L para el nivel de 30 U/L y -7,2 U/L para el nivel de 90 U/L.

Estudios de comparación de métodos . La exactitud del método fue verificada por comparación con el método turbidimétrico, obteniéndose los siguientes resultados:

	Método Comparativo (MC)	Lipase Liquiform
Número de muestras	88	88
Intervalo (U/L)	-388 a 756	10 a 374
Ecuación de regresión	Lipase Liquiform = 0,914*(MC)-0,581 U/L	
Coefficiente de correlación	0,985	

Utilizando la ecuación de regresión el error sistemático (bias) estimado es igual a -10,5% para el nivel de 30 U/L y -9,2% para el nivel de 90 U/L. La media de los errores es menor que el error sistemático analítico de la especificación deseable basada en los componentes de la VB que es $\leq \pm 10,1\%$.

Estudios de precisión . Los estudios de precisión fueron realizados utilizando dos muestras.

Repetitividad - Imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	21	30,0	0,204	0,68
Muestra 2	21	90,0	0,585	0,65

Reproducibilidad - Imprecisión Total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	21	30,0	0,390	1,30
Muestra 2	21	90,0	1,125	1,25

La imprecisión encontrada cumple con la especificación deseable para la imprecisión total basada en los componentes de la VB que es $\leq 11,6\%$.

El error total (error aleatorio + error sistemático) estimado es igual a 12,6% para el nivel de 30 U/L y a 11,3% para el nivel de 90 U/L. Los resultados indican que el método cumple con la especificación deseable para el error total ($\leq 29,1\%$) basada en los componentes de la VB.

Sensibilidad metodológica . Una muestra que no contenía Lipasa fue utilizada para calcular el límite de detección del ensayo, encontrándose un valor igual a 1,0 U/L, equivalente a la media de 10 réplicas más tres desviaciones estándar.

Efectos de la dilución de la matriz . Una muestra con una concentración igual 298 U/L fue utilizada para evaluar la respuesta del sistema a las diluciones de la matriz con solución de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando un factor de dilución igual a 2 se encontró una recuperación media de 110,2% que corresponde a un error sistemático promedio igual a 10,2%.

Significancia clínica . La lipasa pancreática es una enzima digestiva producida principalmente por las células acinarias del páncreas exócrino. Tiene el papel fisiológico de hidrolisar triglicéridos con ácidos grasos de cadenas anchas en el intestino delgado (lipólisis).

Su evaluación es esencial en el diagnóstico de las patologías pancreáticas. Ella se eleva en las primeras 8 horas después del inicio de la agresión pancreática, alcanzando valores más altos a las 24 horas y manteniéndose elevada en torno de 7 a 14 días. Sus niveles generalmente no permanecen elevados por más de 2 semanas. Cuando eso sucede, sugiere complicaciones como abscesos y pseudoquistes. Normalmente sus niveles se elevan casi paralelamente a los de la amilasa, un poco más tarde, manteniéndose elevados por un período mas prolongado. Su aumento no necesariamente se correlaciona con la gravedad de la enfermedad.

El uso combinado de la evaluación sérica de la lipasa y de la amilasa permite un mejor diagnóstico. Cerca del 20% de los casos de pancreatitis aguda cursan con niveles de amilasa normales y con la lipasa aisladamente elevada. En las parotiditis agudas, en las que la amilasa puede presentarse elevada, los niveles séricos de lipasa no se alteran, auxiliando en el diagnóstico diferencial.

La lipasa es, por lo tanto un marcador más específico de enfermedad pancreática aguda que la amilasa. Sus niveles están aumentados en pacientes con pancreatitis aguda y recurrente, abscesos o pseudoquiste pancreático, trauma, carcinoma de páncreas, obstrucción de los conductos pancreáticos y en el uso de fármacos (opiáceos). Está también aumentada en la mayor parte de las condiciones inflamatorias de la cavidad abdominal, dolencias del tracto biliar, abscesos abdominales e insuficiencia renal aguda y crónica (con menor frecuencia que la amilasa).

La lipasa es filtrada por los glomérulos, debido a su bajo peso molecular. En condiciones usuales, es totalmente reabsorbida por los túbulos proximales, estando ausente de la orina de pacientes normales. En los disturbios renales que cursan con alteración de la capacidad de reabsorción tubular, la lipasa puede ser detectada en la orina, en una relación inversa con el clearance (aclaramiento o depuración) de la creatinina.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidrería, debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm o conductividad ≤ 1 microsiemens/cm y concentración de silicatos $< 0,1$ mg/L. Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua alcalina con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Por lo cual es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

Referencias

- Neumann U, Junius M, Maier B. A Sensitive Colorimetric Assay for the Kinetic Lipase Determination in Serum. Boehringer Mannheim GmbH, Biochemical Research Center, 1986.
- Prinzling U, Zielenski L, Schellong L, Klein G, Meier G, Hammer B. Kinetic colorimetric assay for pancreatic lipase (PL) based on a chromogenic substrate. Poster No 122, 50th Annual Meeting of the American Association for Clinical Chemistry, 1998.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponible en: <http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170> > (acceso desde 04/2006).
- Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
- Junge W, Abicht K, Goldman J, Luthe H, Niederau Ch, Parker J, Watanabe S, Prinzling U, Klein G. Evaluation of the Colorimetric Liquid Assay for Pancreatic Lipase on Hitachi Analyzers in 7 Clinical Centers in Europe, Japan and USA. Clin Chem Lab, 1999, 37 (Special Suppl): 49-63.
- Abicht K, Heiduk M, Körn S, Klein G. Lipase, p-amylase, CRP-hs and creatinine: reference intervals from infancy to childhood. Poster presented at the 15th IFCC-FESCC EUROPEAN Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2003.
- Labtest: Datos de Archivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Lipasa Liquiform	107-3/16	[R1] 3 X 10 mL
		[R2] 3 X 6 mL
Lipasa Liquiform Labmax 560/400	107-2/26	[R1] 2 X 17 mL
		[R2] 2 X 9 mL

Están disponibles aplicaciones para **sistemas automáticos que permiten la utilización de metodologías bi-reactivo**.

*El número de ensayos en aplicaciones automáticas **depende de los parámetros de la programación**.

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto, dentro de las especificaciones, hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones, sean seguidos correctamente.



 **Labtest Diagnóstica S.A.**

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000

Lagoa Santa . Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Customer Service | e-mail: customerservice@labtest.com.br

Revisión: Abril, 2014
Ref.: 260117

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reproducción bajo previa autorización

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinário Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |