

## REACTIVO DE LIPASA

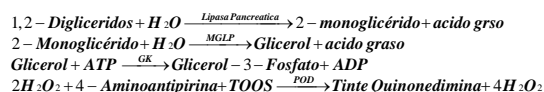
**USO:** Determinación cuantitativa de lipasa pancreática en suero.

## HISTORIA DEL METODO:

La lipasa es un indicador importante en el diagnóstico y monitoreo de enfermedades pancreáticas. Hay muchos métodos para la prueba de actividades lipasa: titulación alcalina de los ácidos grasos liberados de la emulsión goma arábica, medida del descenso en la turbidez de los triglicéridos (aceite de oliva) y un método colorimétrico usando un sustrato sintético con tiol éster de una corta cadena ácida cada uno de estos métodos tiene deficiencias específicas, incluyendo dificultad en el procedimiento, poca especificidad reproducibilidad pobre susceptible a interferencias y poca adaptabilidad a instrumentos automatizados.

El reactivo colorimétrico de lipasa nuevo es una solución clara como sustrato de 1,2 di glicérido, un sustrato de lipasa natural derivada de lecitina de huevo. Es un método altamente específico para la lipasa pancreática usando colipasa y desoxicolato como activadores. La medición colorimétrica de la formación del tinte quinona del toos positivo de una reacción muy sensible con excelente reproducibilidad y estabilidad.

## PRINCIPIOS:



La Lipasa pancreática actúa en un tipo de sustrato natural, 1,2-Diglicérido para liberar 2 Mono glicérido (MGLP) para producir glicerol y ácidos grasos. La glicerol Kinasa (GK) actúa sobre el glicerol para producir Glicerol-3-Fosfato que es convertido a Dihidroxiacetona Fosfato y Peróxido de hidrógeno en la reacción catalizada por Glicerol-3-Fosfato oxidasa (GPO). El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminoantipirina y N-Etil-N (2-hidroxi 3-sulfopropil) M-L Toluidino de Sodio (TOOS) en una reacción catalizada por Peroxidasa (POD) para dar un tinte quinona.

El aumento en la absorbancia a 550 nm es directamente proporcional a la actividad de la Lipasa en la muestra.

## SIGNIFICADO CLINICO:

La lipasa en suero se ha encontrado elevada en Pancreatitis aguda u obstrucción del ducto pancreático. La vida media de la Lipasa

Pancreática es mayor que la Amilasa Pancreática, haciéndola efectiva en enfermedades del Páncreas. Ya que esta Lipasa colorimétrica es específica para Lipasa Pancreática es ideal que se corra como un reactivo de Amilasa Total que mide ambos tipos de Amilasa Pancreática y Salival.

## REACTIVOS:

1. Sustrato de Lipasa 1-2 Diglicéridos 63 mg %, MGLP 87 U/100 ml. GK 133 U/100 ml. GPO 4000 U/100 ml.. Toos 67 mg%. ATP 40mg%, Peroxidasa 133 U/100 ml. Co-Lipasa 4,000 U/100 ml. Buffer.
2. Buffer Sustrato de Lipasa: Buffer, Acido Cólico 217 mg%, PH=6.8±0.1
3. Activador de Lipasa-Desoxicolato 1414 mg% 4-Aminoantipirina 120 mg%, y Buffer PH 8.7±0.1

## PRECAUCIONES:

1. Para determinaciones "In Vitro" únicamente.
2. Evite ingestión.

## PREPARACION DEL REACTIVO:

Almacénalo 2-8°C. antes de reconstituirle los reactivos son estables 12 meses después de reconstituidos la solución de sustrato es estable 4 días a 25°C. y 21 días a 2-8°C.

## DETERIORO:

No use los reactivos si están turbios o muestran evidencia de contaminación o deterioración.

## COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

1. Se recomienda suero no hemolizado y con ayuno del paciente.
2. Separe el suero del coágulo inmediatamente y mida la actividad de la Lipasa prontamente. Si la prueba no se realiza inmediatamente el suero debe ser congelado hasta su uso. Nunca repita la congelación ya que se puede desactivar la Lipasa.
3. La Lipasa se reporta estable en suero al menos 3 días a 2-8°C.

## INTERFERENCIAS:

1. El Glicerol libre no interfiere con la prueba si las concentraciones son 100 mg/dl o menores. Si el suero contiene glicerol sobre 100 mg/dl diluya con salina para bajar el nivel antes de la prueba.
2. La Lipasa Microbial y Colesterol Esterasa puede no afectar la prueba.
3. Vea Young para obtener lista de sustancias de interferencias.

**MATERIALES PROVISTOS:**

1. Substrato de Lipasa y reactivos Buffer.
2. Activador de Lipasa.

**MATERIALES REQUERIDOS:**

1. Standard de Lipasa
2. Pipetas precisas
3. Tubos de ensaye
4. Reloj
5. Block Térmico o baño María
6. Espectrofotómetro con cubeta térmica.

**PROCEDIMIENTO AUTOMATICO**

Vea las instrucciones específicas.

**PROCEDIMIENTO MANUAL:**

1. Etiquete los tubos Blanco, Standard, Control, Paciente, etc.
2. Pipetee 300ul de substrato de Lipasa a todos los tubos.
3. Pipetee 5 ul de agua destilada al tubo Blanco y 5 ul de muestra a los tubos apropiados .
4. Mezcle e incube 3-5 minutos a 37°C.
5. Agregue 100 ul de activador de Lipasa al Blanco. Mezcle e incube por 3 minutos a 37°C. Mida el aumento de absorbancia por minuto a 550 nm (540-560 nm).
6. Repita el paso 5 para todos los tubos.
7. Vea cálculos para obtener resultados.

**NOTA DEL PROCESO**

Los volúmenes se pueden multiplicar por el factor apropiado si necesita un mayor volumen para lectura.

**CALIBRACION:**

Use Standard de Lipasa Pancreática.

**CONTROL DE CALIDAD:**

La integridad de la reacción debe ser monitoreada con el valor de sueros control normal y anormal.

**LIMITANTES:**

Las muestras con actividad de Lipasa arriba de 600 u/l se deben diluir con una cantidad apropiada de salina correr de nuevo y multiplicar por el factor de dilución apropiado.

**CALCULOS:**

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra} - \Delta A \text{ Blanco} \times \text{Conoc. de Std.}}{\Delta A \text{ Standard} - \Delta A \text{ Blanco}} (U / L) = \text{Actividad de Lipasa}(U / L)$$

**VALORES ESPERADOS:**

0-62 ul.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango normal de valores.

**DESEMPEÑO:**

Linealidad: 60 ul.

Comparación: Un estudio realizado contra un método similar (clorimétrico) dando una correlación de 0.956 con una ecuación de  $y=0.48x+19.1$

Precisión: Se midió la actividad de tres muestras diez veces dando los siguientes resultados:

Conc.	D.E.	C.V.%
46.7	1.70	3.64
254.0	1.70	1.47
516.5	4.65	0.90

**REFERENCIAS:**

1. Imamura, S. and Misaki II, Selected Topics in Clinical Enzymology, 2:73, 1984.
2. Imamura, S. et al, Japan Society of Clinical Chemistry, P=H.-31. 1986.
3. Hayashi, C., et al, Clinical Examination, Instrument and reagent. 2.25, 1986
4. Kikura, S, et al Japanese Biochemical Society. 848. 1988.
5. Imamura, S., et al chin., chem. abstract issue in the 41 st. National Meeting 1120, 1989.
- 6 Young D.S. et al, Clinical Chem 21:1D, 1975.

REV.9/90



**DISTRIBUIDOR:**  
**MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.**  
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14  
 San Diego CA. 92154  
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297  
 www.mymssupply.com  
 email: mail@mymssupply.com

