



## Lipáza, Enzymatický, kolorimetrický

(cz) český

REF	Obsah					
D01441	4 x 50 mL R1	+	1 x 50 mL R2			
D01440	4 x 25 mL R1	+	1 x 25 mL R2			
D01443	4 x 10 mL R1	+	1 x 10 mL R2			
D44911	4 x 50 mL R1	+	2 x 25 mL R2			
D0433917	4 x 50 mL R1	+	1 x 50 mL R2			
DA0837	4 x 20 mL R1	+	1 x 20 mL R2			
DT1037	4 x 20 mL R1	+	1 x 20 mL R2			
DK0735	4 x 50 mL R1	+	1 x 50 mL R2			
DE1837	2 x 50 mL R1	+	2 x 12.5 mL R2			
DB20327	4 x 50 mL R1	+	1 x 12.5 mL R2			

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

### ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická reagenция pro kvantitativní in vitro stanovení lipázy v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

### DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM<sup>1,2</sup>

Lipázy jsou enzymy hydrolyzující estery glycerolu a dlouhých mastných kyselin. Enzym a jeho kofaktor kolipáza jsou produkovány v pankreatu. V malých množstvích je lipáza také vylučována slinivými žlázami jako i žaludeční, plicní a střevní sliznicí. Žlučové kyseliny a kolipáza vytváří micelární komplex s lipidy a vážou lipázu na rozhraní substrát/voda.

Stanovení lipázy se používá při vyšetřování poruch pankreatu. Při akutní pankreatitidě stoupají koncentrace lipázy na 2-50 násobek referenční hodnoty v průběhu 4-8 hodin po propuknutí břišní bolesti a dosahují maxima po 24 hodinách, potom klesají během 8 až 14 dnů. Zvýšené hladiny lipázy můžeme také pozorovat při chronické pankreatitidě a zablokování pankreatického kanálu.

### PRINCIP TESTU

Barevný substrát 6-metylnesorufin-ester 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutarové kyseliny je štěpen pankreatickou lipázou za přítomnosti kolipázy a žlučových kyselin a vznikající ester dikarboxylové kyseliny je za alkalických podmínek testu hydrolyzován za vzniku chromoforu metylresorufinu.

Monitoruje se kinetika vzniku barvy při 580 nm, která je úměrná aktivitě lipázy ve vzorku.

6-metylnesorufin-ester 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutarové kyseliny  $\xrightarrow{\text{lipáza/kolipáza}}$

1,2-o-dilauryl-rac-glycerol + 6-metylnesorufin ester kyseliny glutarové

6-metylnesorufin ester kyseliny glutarové  $\xrightarrow{\text{spontánní degradace}}$  kyselina glutarová + metylresorufin

### SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY	KONCENTRACE
<b>Reagenция 1:</b>	
Goodův pufr	pH 8.0
Kolipáza	≥ 1 mg/L
Dezoxycholát	≥ 1.0 mmol/L
Taurodeoxycholát	≥ 1.0 mmol/L
Vápenaté ionty	≥ 1.0 mmol/L
Detergent	
Konzervant	
<b>Reagenция 2:</b>	
Vinanový pufr	pH 4.0
Lipázový substrát	≥ 0.1 mmol/L
Stabilizátor	
Konzervant	

### POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Standard nebo kalibrátor, např.:

REF	Název	Obsah
D98485	Diacal Auto	5 x 3 mL
D98485SV	Diacal Auto	1 x 3 mL

- Kontroly, např.:

REF	Název	Obsah	Popis
D98481	Diacon N	12 x 5 mL	Kontrola normální
D14481	Diacon N	5 x 5 mL	Kontrola normální
D98481SV	Diacon N	1 x 5 mL	Kontrola abnormální
D98482	Diacon P	12 x 5 mL	Kontrola abnormální
D14482	Diacon P	5 x 5 mL	Kontrola abnormální
D98482SV	Diacon P	1 x 5 mL	Kontrola abnormální

- Roztok NaCl (9 g/L)
- Fotometrický přístroj
- Obecná laboratorní vybavení

### PŘÍPRAVA REAGENCIE

Reagenция jsou určeny k přímému použití. Vyhněte se jejich prudkému třesení!

### SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky:	Skladujte při 2-8 °C. Chraňte před světlem. Po použití okamžitě uzavřete. Zabraňte kontaminaci. Reagenция nezamrazujte!
Stabilita	60 dnů od prvního otevření primární nádoby.

Reagenция 2 je mikroemulzí. Proto může dojít k mírné precipitaci projevující se jemně červenou usazeninou na spodku vialky. Je to normální. Doporučuje se roztok před použitím resuspendovat jemným třesením.

### VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Reagenция 2: Nebezpečí



H318: způsobuje vážné poškození očí.  
P280: Noste ochranné rukavice/ochranný oděv/ochrannou oči  
P305+P351+P338: PO ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou. Odstaňte kontaktní čočky, pokud jsou přítomny a je to možné lehce vykonat. Pokračujte ve vyplachování.  
P310: Okamžitě přivolejte lékaře.

- Reagenция 1 obsahuje azid sodný (0.95 g/L) jako konzervant. Nepolykejte! Zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
- Mnoho jiných klinických reagenция obsahuje lipázu nebo vysoké koncentrace detergentů. Zabraňte kontaminaci a přenosu!
- Zvláštní pozornost je třeba věnovat ve spojitosti s reagenцияmi pro triglyceridy, HDL a LDL obsahujícími mikrobiální lipázy, které mohou přinout na povrch kyvety přístroje. Kyvety a jiné sklo je třeba po použití pro jiné metody důkladně vyčistit. V případě automatických měření viz manuál přístroje pro speciální promývací programy před stanovením lipázy.
- Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagenцияmi.
- Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
- V případě závažné nehody související s produktem nahlaste událost výrobcí a podle potřeby vašemu příslušnému úřadu.
- Pouze pro profesionální použití!

### ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Sérum, heparinovaná plazma.

Stabilita <sup>3</sup> :		
V séru/plazmě	při 2-8 °C	7 dnů
Kontaminované vzorky zlikvidujte		

### POSTUP TESTU

Metoda	Enzymatická kolorimetrická, kinetická, rostoucí reakce
Vlnová délka	580 nm
Optická dráha	1 cm
Teplota	37 °C

Reagenция a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

Pipetujte do zkumavek	Blank	Kalibrátor	Vzorek
Reagenция 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Vzorek	-	-	20 µL
Kalibrátor	-	20 µL	-
Destilovaná voda	20 µL	-	-
Opatrně zamíchejte (netřeste!), inkubujte 5 min. při 37 °C. Potom přidejte:			
Reagenция 2	250 µL	250 µL	250 µL
Zamíchejte, inkubujte 2 min. při 37 °C, změřte absorbanci proti blanku reagenция a spusťte stopky.			
Absorbanci změřte opět po přesně 1 a 2 minutách.			
Vypočtete:			
$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min vzorku nebo kalibrátoru}] - [\Delta A/\text{min blanku}]$			

### Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři mohou být vytvořeny na požádání.

### INTERPRETACE VÝSLEDKŮ [5]

#### Výpočet

#### Sérum/Plazma:

$$\text{Lipáza [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min vzorku}}{\Delta A/\text{min kalibrátoru}} \times \text{Koncentrace kalibrátoru [U/L]}$$

#### Převod jednotek

$$\text{Lipáza [U/L]} \times 0.01667 = \text{Lipáza [\mu\text{katal/L}]}$$

### KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Navrhuje se vykonávat interní kontrolu kvality. Doporučujeme sérové kontroly Dialab Diacon N (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a Diacon P (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu). Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

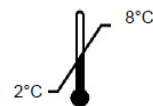
#### Kalibrace

Metoda vyžaduje použití standardu lipázy nebo kalibrátoru. Doporučujeme Dialab multi kalibrační sérum **Diacal Auto**.

## CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

### PRECIZNOST (při 37 °C)

V rámci analýzy (n= 10)	Vzorek 1	Vzorek 2
Průměr [U/L]	49.9	110.5
CV [%]	1.30	1.53
Mezi dny (n= 20)	Vzorek 1	Vzorek 2
Průměr [U/L]	50.0	110.9
CV [%]	2.87	3.53



### Analytická citlivost

Limit detekce: 1 U/L

### Linearita a rozsah měření

Metoda byla vyvinuta pro stanovení lipázy v rozsahu měření 1 - 300 U/L. Když je tato hodnota překročena, je třeba vzorky zředit 1 + 1 roztokem soli (9 g/L) a výsledky vynásobit 2.

### Analytická specifická

Interferující látka	Žádná interference do:
Kyselina askorbová	50 mg/dL
Bilirubin	50 mg/dL
Hemoglobin	400 mg/dL
Lipemie (Triglyceridy)	1000 mg/dL

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS<sup>10</sup>.

### Klinická účinnost

Porovnání metod (n=155)	
Test x	DIALAB Lipáza, enzymatická, kolorimetrická Dřívější formulace
Test y	DIALAB Lipáza, enzymatická, kolorimetrická Současná formulace
Sklon	1.017
Průsečík	-1.452 U/L
Korelační koeficient	0.990

### NÁVAZNOST

Hodnoty přiřazené lipáze v kalibrátoru Dialab Auto jsou návazné k molárnímu extinkčnímu koeficientu  $\epsilon$  podle dostupné metody měření.

### OČEKÁVANÉ HODNOTY

Zdraví jedinci <sup>8</sup>	≤ 60 U/L (≤ 1.00 $\mu$ kat/L)
-----------------------------	-------------------------------

Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsah přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsah.

### OMEZENÍ

- Možný přenos reagentie Lipáza (enzymatická, kolorimetrická) do reagentií vápník (Arsenazo), vápník (CPC), hořčík (xylydiová modrá) a triglyceridy (GPO-PAP). Aktuální přenos (carry-over) závisí na analyzátoru

### NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

### LITERATURA

- Lorenz K. Lipase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 95-7.
- Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 689-708.
- Tietz NW, 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.
- 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.
- Rifai N., Horvath A.R., Wittwer C.T. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics - sixth edition ed. 2017 p. 421-424.
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5<sup>th</sup> ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.