

LIPÁZA

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení lipázy v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

14481 500 ml (5 x 80 ml + 1 x 100 ml)

14482 125 ml (5 x 20 ml + 1 x 25 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Lipázy jsou enzymy, které hydrolyzují glycerolové estery dlouhých mastných kyselin. Enzym a jeho kofaktor kolipáza se tvoří ve slinivce břišní, přičemž lipáza je rovněž vylučována v malých množstvích slinnými žlázami a také sliznicí žaludku, plic a střev. Žlučové kyseliny a kolipáza vytvářejí micelární komplexy s lipidy a vážou lipázu na substrát/vodní povrch. Stanovení lipázy se používá za účelem vyšetřování poruch slinivky břišní. Při akutní pankreatitidě stoupají koncentrace lipázy na dvojnásobek až padesátinásobek horní referenční hranice v průběhu 4 až 8 hodin po začátku bolesti v břišní krajině a vrcholí po 24 hodinách a klesají během 8 až 14 dní. Zvýšené hodnoty lipázy lze rovněž pozorovat při chronickém zánětu slinivky břišní a kanálku slinivky.

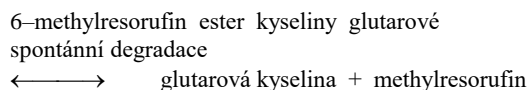
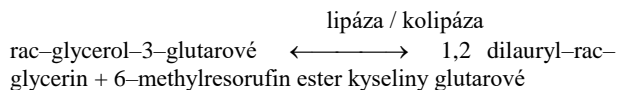
Metoda:

Enzymatický kolorimetrický test. Synthetický substrát (6-methylresorufin ester kyseliny 1, 2-o-dilauryl-rac-glycerol-3-glutarové) je přidán k mikroemulzi kde je specificky štěpen lipázou za přítomnosti kolipázy a žlučových kyselin. Kombinace lipázy a žlučových kyselin zaručuje vysokou specifitu a spolehlivost pro pankreatickou lipázu oproti dalším lipolytickým enzymům nebo esterázám. Složení reakční směsi potlačuje efekt sérové matrice. Vzniklý ester methylresorufinu se spontánně rozkládá na methylresorufin. Vzniklé červené zbarvení je přímo úměrné katalytické koncentraci lipázy ve vzorku.

Princip:

Lipáza katalyzuje následující reakce:

6-methylresorufin ester kyseliny 1,2-o-dilauryl-



Nárůst absorbance je měřen fotometricky.

Reagentie:

Složení a koncentrace

R1:

GOOD pufr pH 8,0 50 mmol/l
Taurodeoxycholát 4,3 mmol/l

Deoxycholát 8 mmol/l
Chlorid vápenatý 15 mmol/l
Kolipáza (vepřová) 2,2 mg/l

R2:

Vínanový pufr pH 4,0 7,5 mmol/l
Taurodeoxycholát 17,2 mmol/l
Barevný substrát ≤ 0,65 mmol/l
Koemulgátor

Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagentie, skladované při teplotě 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného na balení. Zabraňte kontaminaci. Reagentie se nesmí zamrazit a nutno chránit před světlem.

Poznámka: Mírná lehce načervenalá sraženina objevující se v reagentii R2 nemá vliv na provedení testu. Prosím, nepromíchávejte ji před použitím!

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l
Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum nebo heparinizovaná plazma.

Stabilita⁸: 7 dní při 4-8°C
7 dní při 20-25°C
1 rok při -20°C

Nutno zabránit kontaminaci vzorku. Vzorky lze zamrazit pouze jednou.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 580 nm, Hg 578 nm
Kyveta: 1 cm
Teplota: 37°C
Měření: proti reagenčnímu blanku

	Vzorek / ml	Standard / ml	Blank / ml
Vzorek	0,02	-	-
Dest. voda	-	-	0,02
Standard	-	0,02	-
R1	1,00	1,00	1,00

Promíchat (netřepat) a 1 – 5 minut inkubovat (37°C), potom přidat:

R2	0,25	0,25	0,25
----	------	------	------

Promíchat a inkubovat (37°C) 2 minuty. Změřit počáteční absorbanci. Přesně po 1 a 2 minutách změřit znovu absorbanci (A_s, A_{st}, A_{bl}) a vypočítat ΔA/min.

Výpočet:

$$C_{\text{Lipázy}} = c_{\text{st}} \cdot (\Delta A_{\text{s}} - \Delta A_{\text{bl}}) / (\Delta A_{\text{st}} - \Delta A_{\text{bl}}) \quad [\mu\text{kat/l}]$$

c_{st} ...katalytická koncentrace standardu uvedená v atestu
[$\mu\text{kat/l}$]

A_{s} absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v $\mu\text{kat/l}$ na 2 platná desetinná místa.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor Biocal (k.č. C00.003).

Přímá návaznost kalibrátoru je na výpočet pomocí molárního absorbního koeficientu, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{\text{cal}} = 3,05\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s deklarovanou hodnotou katalytické aktivity lipázy:

Bionorm U kat.č C 00.001 20 x 5 ml

Biopath U kat.č C 00.002 20 x 5 ml

Referenční hodnoty¹⁰:

$\leq 1 \mu\text{kat/l}$

Každá laboratoř by si měla ověřit, zda může použít referenční rozmezí pro svoje pacienty a pokud je to nutné, měla by si vytvořit svoje vlastní.

Charakteristiky metody:

Data byla vyhodnocena na analyzátoru BioMajesty® JCA-BM6010/C

Níže uvedená data se mohou nepatrně lišit v případě použití odlišných podmínek měření.

Měřicí rozsah/linearita:

0,08 - 5,0 $\mu\text{kat/l}$

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,08 $\mu\text{kat/l}$

V souladu s CLSI dokumentem EP17-A2, Vol. 32, No. 8

Analytická senzitivita/citlivost:

0,04 $\mu\text{kat/l}$

Bias:

4,8% (pro 5,93 $\mu\text{kat/l}$)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{\text{st}} = 2\sqrt{(U_{\text{cal}}^2 + U_{\text{method}}^2)} = 2\sqrt{(3,05^2 + 1,39^2)} = 6,70\%$$

Analytická selektivita:

Interferující látka	Interference < 10%
Kyselina askorbová	3,405 mmol/l
Bilirubin	1197 $\mu\text{mol/l}$
Ditaurobilirubin	711,8 $\mu\text{mol/l}$
Hemoglobin	6 g/l
Lipémie (triglyceridů)	22 mmol/l
N-acetylcystein (NAC)	2000 mg/l

Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS⁹.

Přesnost:

Přesnost v sérii: (n=20)

	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	0,516	1,017	4,776
CV (%)	1,26	0,611	0,263

Celková přesnost: (n=80),

	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	0,504	1,000	4,743
CV (%)	2,01	1,20	1,10

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor¹ Lipáza (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 107 vzorcích. Rovnice přímky má tvar $y = 0,982x - 0,003 \mu\text{kat/l}$; $r = 0,999$.

Upozornění:

1. Při katalytické aktivitě lipázy nad 5 $\mu\text{kat/l}$ je nutné vzorek ředit fyziologickým roztokem 1 + 1 a výsledek násobit 2x.
2. Reagencie 2: Varování. H319 způsobuje vážné podráždění očí. P280 - použijte ochranné rukavice / ochranný oděv/ ochranné brýle / ochranu obličeje. P305 + P351 + P338 v případě zasažení očí: opatrně proplachujte vodou po dobu několika minut. V případě, že máte kontaktní čočky, vyjměte je. Pokračujte ve vyplachování. P337 + P313 – pokud přetrvává podráždění očí: Vyhleďte lékařskou pomoc / ošetření.
3. Reagencie 1 obsahuje biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s ní jako s potenciálně infekčním materiálem, dodržujte základní bezpečnostní opatření a pracujte s ní podle správné laboratorní praxe.
4. Některé diagnostické reagencie obsahují lipázu (zvláštní pozornost věnujte kombinaci s reagenty na stanovení triacylglycerolů, HDL a LDL cholesterolu), proto je třeba zabránit carry over. Kyvety a laboratorní sklo musí být před začátkem analýzy důkladně umyty.
5. Při práci s touto reagentou dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu.
6. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.
7. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.
8. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky [11].
9. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.

Literatura:

1. Lorentz K. Lipase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 95-7.
2. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of

- Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 689-708.
3. Tietz N, Shuey DF. Lipase in serum – the elusive enzyme: an overview. Clin Chem 1993;39:746-56.
 4. Lott J, Patel ST, Sawhney AK, Kazmierczak SC, Love JE. Assays of serum lipase: analytical and clinical considerations. Clin Chem 1986;32:1290-1302.
 5. Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. Adv Clin Enzymol 1986;4:60-7.
 6. 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.
 7. 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.
 8. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 36-7.
 9. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
 10. 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.
 11. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika