ЛИПАЗА (lipase) 1001275

Для кинетического определения липазы в сыворотке или плазме. Жидкий реагент.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001275 R1 4x10 мл, R2 1x8мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Панкреатическая липаза в присутствии колипазы, дезоксихолата и ионов кальция гидролизует субстрат 1-2-O-дилаурил-рак-глицеро-3-глутаровой кислоты-(6'-метилрезоруфин)-эфир. Активность липазы в сыворотке определяется в соответствии с прямой ферментативной реакцией:

1-2-O-дилаурил-рак-глицеро-3-глутаровой кислоты-(6'-метилрезоруфин)-эфир $\xrightarrow{\text{Липаза}}$

1-2-O-дилаурил-рак-глицерол + глутаровой кислоты-6'-метилрезоруфин-эфир (не стабильный) $\xrightarrow{OH^-}$

глутаровая кислота + Метилрезоруфин

Скорость образования метилрезоруфина, измеряемая фотометрически при 580 нм, пропорциональна каталитической активности (концентрации) липазы, присутствующей в пробе.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Липаза – это панкреатический фермент, необходимый для абсорбции и переваривания питательных веществ, который катализирует гидролиз глицероловых эфиров жирных кислот. Определение липазы используется в диагностике заболеваний поджелудочной железы, таких как острый и хронический панкреатиты и обструкция панкреатического протока[1,7,8]. Клинический диагноз не может быть поставлен по результату одного теста, он должен определяться по совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 **R1** буфер	ТРИС буфер pH 8,3	40 ммоль/л
	Колипаза	≥1 мг/л
	Дезоксихолат	1,8 ммоль/л
	Тауродезоксихолат	7.2 ммоль/л
Реагент 2 **R2** Субстрат	Тартрат буфер pH 4,0	15 ммоль/л
	Липаза	≥0,7 ммоль/л
	Кальция хлорид ($CaCl_2$)	0,1 ммоль/л
Lipase Cal	Стандарт липазы. Лиофилизированная сыворотка человека. Концентрация (активность липазы в Е/л для метилрезоруфина при 37°C) указана на флаконе.	

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Стандарт липазы **LIPASE CAL**. Компоненты человеческого происхождения были протестированы и показали себя как отрицательные на присутствие HBsAg, HCV и антител к ВИЧ (HIV-1/2). Однако, с ними следует обращаться как с потенциально инфекционными.

ПОДГОТОВКА

- **Реагенты R1 и R2** готовы к использованию. Стабильность после открытия: 90 дней при 2-8°C.
- **R2** – тщательно перемешайте перед использованием (Примечание 1).
- **LIPASE CAL**. Растворите 1 мл дистиллированной воды. Закройте крышкой и перемешайте осторожно до полного растворения. Стабильность: 7 дней при 2-8°C или 3 месяца при -20°C. Разлейте калибратор на небольшие порции и заморозьте.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) в плотно закрытом флаконе при 2-8°C, в защищенном от света месте и с соблюдением правил, предотвращающих контаминацию при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов:

- присутствие частиц или мутности.
- абсорбция бланка (A) при 580 нм ≥1,000.
- R2 представляет собой мутную оранжевую микроэмульсию, выбросьте реагент, если он стал красным.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Спектрофотометр и колориметр с фильтром 580 нм (или биохимический анализатор).
- Термостат с температурой 37°C (± 0,1°C) (или биохимический анализатор).
- Соответствующие кюветы с оптическим путем 1,0 см.
- Общее лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка или плазма (цитрат, ЭДТА или гепарин)[1]. Избегать повторной заморозки / разморозки. Стабильность 2 дня при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны : 580 нм
   Оптический путь : 1 см
   Температура : 37°C (Температура должна быть стабильной (±0,5°C))
   Измерение : против бланка по дистиллированной воде или воздуху.
   Метод : кинетика по стандарту (...), время задержки 60с, время реакции 120с
2. Настройте прибор на ноль по дистиллированной воде или воздуху.
3. Подогреть рабочий реагент и кюветы до нужной температуры (37°C). Пипетируйте в кювету непосредственно перед измерением:

	Полумикротест			Микротест		
	Бланк	Стандарт	Проба	Бланк	Стандарт	Проба
Дистил. вода	10 мкл			5 мкл		
Стандарт		10 мкл			5 мкл	
Проба			10 мкл			5 мкл
Реагент 1	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Реагент 2	200 мкл	200 мкл	200 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл

4. Перемешать, инкубировать при 37°C в течение 1 мин.
5. Измерить начальную оптическую плотность (A), затем измерять оптическую плотность каждую минуту в течение 2-х мин.
6. Вычислить среднее изменение оптической плотности для стандарта и пробы за минуту: ΔA/мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

$$\text{Липаза (Е/л)} = \frac{\Delta A/\text{мин пробы}}{\Delta A/\text{мин стандарта}} \times \text{С стандарта}$$

Единицы: 1 международная единица (Е/л или U/L) – это количество фермента, которое трансформирует 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях. Концентрация выражается в единицах на литр пробы (Е/л).

Фактор для перевода международных единиц (Е/л) в единицы СИ (кат/л):

1 Е/л = 16.67×10^{-9} кат/л = 16.67×10^{-3} мккат/л; 1 мккат/л = 60 Е/л

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную сыворотку с каждой серией тестов. Мы рекомендуем контрольные сыворотки SPINTROL Normal и Pathological (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей выходят за указанный диапазон, проверьте прибор, реагенты и технику выполнения. Каждая лаборатория должна разработать собственную систему контроля качества и соответствующие действия, если контроли не показывают приемлемых результатов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[1]

Липаза (при 37°C метилрезоруфин): **≤38 Е/л**

Это значение приведено для ориентационных целей; каждая лаборатория должна представить свои собственные значения референтного диапазона.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: от определяемого уровня в 5 Е/л до предела линейности 250 Е/л.

Если полученные результаты превышают предел линейности, пробы следует разбавить 1:10 физраствором (9 г/л NaCl) и повторить исследование, полученный результат умножить на 10.

Воспроизводимость:

	Внутри серии (n=20)	
Среднее (U/L)	119	215
SD	4,13	5,97
CV (%)	3,34	2,78

Между сериями (n=20)	
119	215
5,43	10,7
4,54	5,02

Правильность: Результаты, полученные с помощью реагентов SPINREACT (y) не показали систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).

Результаты, полученные при обследовании 100 пациентов, были следующие:

Коэффициент корреляции (r): 0,997. Уравнение регрессии. y=0.50054x + 3.9443.

Результаты оценки характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Триглицериды 300 мг/дл влияют на определение, уменьшая активность липазы на 6%. Не оказывают влияния гемоглобин до 150 мг/дл и билирубин до 20 мг/дл. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение ЩФ, представлен Young et. al[2,3].

ПРИМЕЧАНИЕ

1. При определенных условиях хранения (например, хранение при температуре ниже, чем указано) во флаконе могут образовываться преципитаты, не влияющие на характеристики реагента, однако, рекомендуется перемешать продукт осторожным переворачиванием.

2. Для предотвращения контаминации рекомендуется использовать одноразовые материалы.
3. **У Spinreact есть адаптации для некоторых автоматических анализаторов, которые доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА:

1. McNeely M. Lipase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1130-1134, 892.
2. Neumann U et al. Comptes Rend. 4 colloque de Pont-a-Musson, Masson 627-634 (1979)
3. Junge W et al. J.Clin.Chem.Clin.Biochem., 21 445-451 (1983). 4. Neumann U et al. Methods of Enzymatics Analysis, 3rd ed. Vol.4, 26-34 (1984) 5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.