

Determinazione quantitativa della Lipasi nel Siero o Plasma. Metodo cinetico colorimetrico.

REF CC1340 R1: 2 x20 mL + R2: 2x12 mL

PRINCIPIO DEL METODO

A pH alcalino il substrato colorato della lipasi 1,2-O-dilauryl-rac-glicero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) estere è scisso dall'azione catalitica della lipasi pancreatica a formare l'1,2-O-dilauryl-rac-glicerol ed un composto instabile l'acido glutarico-6-metil-resorufin estere. In questa soluzione alcalina questo composto si degrada ad acido glutarico e metilresorufin. L'intensità del composto colorato che si forma è direttamente proporzionale all'attività della lipasi misurata a 578 nm.

SIGNIFICATO CLINICO

La lipasi è un enzima utilizzato per digerire i grassi nel cibo attraverso un processo chiamato lipolisi, letteralmente "scissione di grassi". La lipasi trasforma i trigliceridi in glicerolo e acidi grassi. La lipasi è prodotta principalmente dalle ghiandole salivari e dal pancreas. Una parte molto piccola della lipasi è prodotta anche dalla mucosa gastrica, dalla mucosa intestinale e dalla mucosa polmonare, nonché dal tessuto adiposo e dai leucociti. Quando la lipasi non viene prodotta in quantità sufficiente, si verifica una condizione chiamata steatorrea: in questo caso, i lipidi non vengono scissi dalla lipasi, rimangono in una forma complessa e impossibile da digerire per il nostro corpo e quindi vengono espulsi con le feci, risultanti pastose, lucide e grasse. Invece, quando le cellule pancreatiche sono danneggiate (pancreatite) o quando il dotto pancreatico è ostruito (calcolo o, in rari casi, cancro) aumenta la concentrazione di lipasi nel sangue. In ogni caso, per la diagnosi di pancreatite acuta la lipasi è uno strumento diagnostico più affidabile rispetto all'amilasi perché rilevabile per periodi più lunghi (fino a 8-14 giorni) e perché aumenta la sensibilità nei pazienti affetti da pancreatite acuta alcolica. L'aumento della lipasi non specifica è quasi sempre contemporaneo con l'aumento di amilasi. I livelli di lipasi sono diminuiti in associazione con interferenze metodologiche (presenza di emoglobina, chinino, metalli pesanti, ioni calcio). I livelli di lipasi sono normali negli individui con parotite e in quelli con macroamilasemia. I valori sono più bassi nei neonati.

COMPOSIZIONE REAGENTI

Reagente R1

Tampone Bicine pH 8.0	20 mmol/L
Colipas	>1 mg/L
Sodio-Desossicolato	1.8 mmol/L
Calcio Cloruro	12 mmol/L

Reagente R2

Tampone Tartrato pH 4	12 mmol/L
1,2-O-dilauryl-rac-glicero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin) estere	0.27 mmo/L
Tauro-Desossicolato	9 mmol/L

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero o plasma con eparina. Non usare plasma in EDTA. Non utilizzare campioni emolisati.

L'attività della lipasi nel siero è stabile per 4 giorni a 2-8°C o 8 ore a temperatura ambiente, 3 mesi a 2-8°C.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	578 nm
Temperatura:	37° C
Azzeramento:	Contro Acqua

Pipettare come segue:

Reagente R1	625 µL
Campione /Calibratore	6 µL

Miscelare, incubare, attendere 300 secondi e quindi aggiungere:

Reagente R2	375 µL
-------------	--------

Attendere 60 secondi, leggere l'Assorbanza iniziale (Abs 1). Dopo altri 90 secondi leggere l'Assorbanza finale (Abs 2).

Calcolare il Δ Abs (Abs 2 – Abs 1) per campioni e calibratore.

CALCOLO

$$\text{Lipasi (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs (Abs 2 - Abs 1) Campione}}{\Delta \text{ Abs (Abs 2 - Abs 1) Calibratore}} \times \text{Conc. Calibratore}$$

Fattore di conversione: $\text{U/L} \times 0,0167 = \mu\text{Kat/L} = \mu\text{mol/sec/L}$

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Multicalibratore **MTD Diagnostics**

Chemistry Multicalibrator: REF CAL1010 (10 x 3 mL)

CONTROLLO DI QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il Materiale di Controllo di Qualità della **MTD Diagnostics**:

Chemistry Control N (Normal) REF: CNN1010 (10 x 5 mL)

Chemistry Control P (Pathologic) REF: CNP1020 (10 x 5 mL)

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero e plasma < 60 U/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI**PRECISIONE:**

Livello basso: Campioni= 20; Media = 30,2; D.S. = 0,45; CV = 1,51%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 152; D.S. = 1,65; CV = 1,08%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,01x-3,39 \text{ con } r=0,999$$

SENSIBILITA': 4 U/L**LINEARITA':** 4 -300 U/L**INTERFERENZA E SPECIFICITA'**

Valori di Emoglobina fino a 400 mg/dL, di Bilirubina fino a 20 mg/dL, di Trigliceridi fino a 1000 mg/dL non hanno influenzato i risultati ottenuti.

NOTE

1. Il reagente può essere utilizzato con differenti strumenti. Ogni applicazione su strumenti dovrebbe essere validate per dimostrare che i risultati coincidano con le caratteristiche e prestazioni del metodo. Si raccomanda di controllare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio fornitore per ogni problema relativo alla metodica applicativa.
2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere effettuata sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere integrata con dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.








S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

1. Rick, W.,(1969), ZeitschriftClin. Chem. Clin.Biochem.,7, 530-536.Ziegenhorn, J.et al., (1979), Clin. Chem.,25, 1067
2. Neumann,U., Kaspar, P.,Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3rd edition), 26-34.
3. Lott, J.A. et al., (1986). Clin Chem., 32, 1290-1302.