

# LIPASA

## METODO COLORIMETRICO

Para la determinación "in vitro" de Lipasa en suero o plasma



### Principio

A pH alcalino, el sustrato de lipasa 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metil resorufina)-éster se desdobra por acción de la lipasa pancreática, formándose 1,2-O-dilauril-rac-glicerol y ácido glutárico-(6-metil-resorufina)-éster, que es un producto inestable. Está en solución alcalina se transforma espontáneamente en ácido glutárico y metilresorufina, cuya intensidad de color es directamente proporcional a la actividad de la lipasa presente en la muestra cuantificada a 578 nm.

### Reactivos

Kit 1 x 80 ml. (Ref. 99 11 15). Contiene:  
A. 1 x 50 ml. Disolución tampón. Ref. 99 11 20  
Listo para su uso.  
B. 1 x 30 ml. Sustrato. Ref. 99 12 15  
Listo para su uso.  
C. 1 x 1 ml. Standard liofilizado. Ref. 99 13 07  
Rehidratar el vial con 1 ml. de agua desionizada.  
La concentración viene indicada en la etiqueta del vial.

### Reactivo de trabajo

Los reactivos de trabajo están listos para su uso.  
Las concentraciones de los reactivos son:  
A. Disolución tampón  
Tampón Bicin pH 8 50 mM  
Colipasa  $\geq 1$  mg/L  
Desoxicolato Na 1,8 mM  
Cloruro cálcico 12 mM  
B. Sustrato  
Tampón Tartrato pH 4 12 mM  
1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina)-éster 0,27 mM  
Taurodesoxicolato 9,0 mM  
Estabilizantes y conservantes

### Conservación y estabilidad

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8° C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.  
El Standard una vez rehidratado es estable 15 días a 2-8°C.

### Muestra

Suero o plasma heparinizado. No emplear plasma con EDTA. Utilizar muestras exentas de hemólisis. La actividad lipásica en suero es estable 4 días a 2°-8° C y 24 h a temperatura ambiente.

### Precauciones

Los reactivos contienen Azida sódica al 0,09%, manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica	BL	PR	ST
	ml	ml	ml
Agua	0,01	--	--
Muestra	--	0,01	--
Standard	--	--	0,01
<b>Reactivo A</b>	1,0	1,0	1,0
Mezclar e incubar 5 min., a 37°C. Adicionar seguidamente el Reactivo B.			
<b>Reactivo B</b>	0,6	0,6	0,6
Mezclar bien, al cabo de 60 segundos leer (E1). Pasados 90 seg. más volver a leer (E2).			

### Lectura

Longitud de onda: 578 nm.  
Blanco: El contenido del tubo BL.

### Cálculos

$$\Delta E = E2 - E1$$

$$\frac{\Delta E \text{ PR} - \Delta E \text{ BL}}{\Delta E \text{ ST} - \Delta E \text{ BL}} \times \text{Conc. STD} = \text{U/L.}$$

Si desea expresar los resultados en  $\mu\text{kat/L}$ , el factor de conversión de unidades es 0,0167.

### Valores normales

Suero, plasma: < 60 U/L.  
No obstante, cada laboratorio debería establecer sus propios valores de referencia.  
Para convertir las unidades color en unidades turbidimétricas, multiplicar el resultado por 3,2.

### Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: La reacción es lineal hasta 300 U/L. Sin embargo para concentraciones superiores diluir la muestra 1/5 con disolución salina y multiplicar el resultado por 5.  
Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 2,28%  
Coefficiente de Variación entre series: 2,64%  
Exactitud: 97,6 de porcentaje de recuperación.

La hemoglobina interfiere a partir de 400 mg/dl, la bilirrubina a partir de 50 mg/dl.  
Se recomienda el uso de material desechable para la realización de dicho ensayo.

### Control de calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

### Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos autoanalizadores, disponibles bajo demanda.

### Bibliografía

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

# LIPASE

## COLORIMETRIC METHOD

For the "in vitro" determination of Lipase in serum or plasma



### Principle

At alkaline pH the lipase dye substrate 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methyl-resorufin) ester is cleaved by the catalytic action of pancreatic lipase to form 1,2-O-dilauryl-rac-glycerol and unstable compound glutaric acid-(6-methyl-resorufin)-ester. In that alkaline solution, this compound degrades to glutaric acid and methyl-resorufin. The color intensity of the red dye formed is directly proportional to the lipase activity. This activity can be measured at 578 nm.

### Reagents

Kit 1 x 80 ml (Ref. 99 11 15). Contains:  
A. 1 x 50 ml. Buffer solution. Ref. 99 11 20  
Ready-to-use.  
B. 1 x 30 ml. Substrate. Ref. 99 12 15  
Ready-to-use.  
C. 1 x 1ml. Freeze-dried Standard. Ref. 99 13 07  
Rehydrate the vial with 1 ml. of deionized water.  
The concentration is stated on the label of the vial.

### Working reagent

The concentrations in the reagents solutions are:  
A. Buffer solution 50 mM  
Bicin buffer pH 8  $\geq 1$  mg/l  
Co-lipase 1,8 mM  
Sodium deoxycholate 12 mM  
Calcium chloride

B. Substrate  
Tartrate buffer pH 4 12 mM  
1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) - ester 0.27 mM  
Taurodeoxy-cholate 9.0 mM  
Surfactants and preservatives

### Storage and stability

When stored at 2° - 8° C, the components of the kit will remain stable until the expiration date stated on the label.  
The standard, once rehydrated, is stable for 15 days at 2-8°C

### Sample

Serum or heparinized plasma. Use samples free from hemolysis. Do not use plasma with EDTA.  
The Lipase activity in serum is stable for 4 days at 2°-8° C and for 24 h at room temperature (20 – 25°C).

### Caution

The reagents contain Sodium azide at 0.09%. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Procedure	BL	PR	ST
	ml	ml	ml
Water	0,01	--	--
Sample	--	0,01	--
Standard	--	--	0,01
<b>Reagent A</b>	1,0	1,0	1,0
Mix well and let stand for 5 min / 37°C. Add Reagent B.			
<b>Reagent B</b>	0,6	0,6	0,6
Mix well. After 60 seconds read (E1). After 90 seconds more, read again (E2).			

### Reading

Wavelength: 578 nm.  
Blank: Contents of BL.

### Calculation

$$\Delta E = E2 - E1$$

$$\frac{\Delta E \text{ PR} - \Delta E \text{ BL}}{\Delta E \text{ ST} - \Delta E \text{ BL}} \times \text{STD Conc.} = \text{U/L.}$$

To express the results in  $\mu\text{kat/L}$ , multiply the U/L by the factor 0.0167.

### Normal values

Serum, plasma: < 60 U/L.  
Nevertheless each laboratory should investigate its own reference values.  
To convert the color units in turbidimetric units, multiply the final result by 3.2.

### Performance Characteristics

Linearity: Up to 300 U/L. For higher concentrations, dilute the sample 1/5 with saline (NaCl 0.9 %) and assay once again. Multiply the final result by 5.  
The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseres Variation Coefficient: 2.28%  
Interseries Variation Coefficient: 2.64%  
Recovery: 97.6 %.

Hemolysis interferes with the assay.  
Concentrations of Hemoglobin higher than 400 mg/dl and of Bilirubin higher than 60 mg/dl can interfere with the assay.  
To perform this test, the use of disposable labware is highly recommended.

### Quality control

Seriscann Normal (Normal control serum) (Ref.99 41 48) and Seriscann Anormal (Abnormal control serum) (Ref. 99 46 85).

### Autoanalyzers

Technical bulletins for different automatic analyzers are available upon request.

### References

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



# LIPASE

## MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE

Pour la détermination in vitro de la lipase dans le sérum ou le plasma

### Principe

À un pH alcalin, le substrat de lipase 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-acide glutarique-(6-méthyl-résorufine) ester se scinde sous l'action de la lipase pancréatique en 1,2-O-dilauryl-rac-glycérol et en acide glutarique-(6-méthyl-résorufine) ester, qui est un produit instable. Dans une solution alcaline, ce dernier se transforme spontanément en acide glutarique et en méthyl-résorufine, dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à l'activité de la lipase présente dans l'échantillon quantifié à 578 nm.

### Réactifs

Kit 1 x 80 ml (Réf. 99 11 15). Contenu:

A. 1 x 50 ml Solution tampon.	Réf. 99 11 20
Prêt à l'emploi.	
B. 1 x 30 ml Substrat.	Réf. 99 12 15
Prêt à l'emploi.	
C. 1 x 1 ml Étalon lyophilisé.	Réf. 99 13 07

Réhydrater le contenu de la fiole avec 1 ml d'eau déionisée.  
La concentration est indiquée sur l'étiquette de la fiole.

### Réactif de travail

Les réactifs de travail sont prêts à l'emploi.  
Les concentrations des réactifs sont les suivantes:

A. Solution tampon	50 mM
Tampon Bicin pH 8	≥ 1 mg/l
Colipase	1,8 mM
Désoxycholate Na	12 mM
Chlorure de calcium	

B. Substrat	
Tampon tartrate pH 4	12 mM
1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-acide glutarique-(6-méthyl-résorufine) ester	0,27 mM
Taurodésoxycholate	9,0 mM
Stabilisants et conservateurs	

### Conservation et stabilité

Conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.  
Après réhydratation, l'étalon est stable pendant 15 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.

### Échantillon

Sérum ou plasma hépariné. Ne pas utiliser de plasma sur EDTA. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. L'activité lipasique est stable dans le sérum pendant 4 jours entre 2 et 8 °C et 24 heures à température ambiante.

### Précautions d'emploi

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

Technique	BL	ESSAI	ÉTALON
	ml	ml	ml
Eau	0,01	--	--
Échantillon	--	0,01	--
Étalon	--	--	0,01
<b>Réactif A</b>	1,0	1,0	1,0
Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37 °C. Ajouter ensuite le réactif B.			
<b>Réactif B</b>	0,6	0,6	0,6
Bien mélanger puis lire (E1) au bout de 60 secondes. Effectuer une nouvelle lecture (E2) au bout de 90 secondes.			

### Lecture

Longueur d'onde: 578 nm  
Blanc: le contenu du tube BL.

### Calculs

$$\Delta E = E2 - E1$$

$$\frac{\Delta E \text{ ESSAI} - \Delta E \text{ BL}}{\Delta E \text{ ÉTALON} - \Delta E \text{ BL}} \times \text{Conc. ÉTALON} = \text{U/L.}$$

Pour exprimer les résultats en  $\mu\text{kat/l}$ , le facteur de conversion des unités est 0,0167.

### Valeurs Normales

Sérum, plasma: < 60 U/l  
Cependant, chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.  
Pour convertir les unités couleur en unités turbidimétriques, multiplier le résultat par 3,2

### Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif.

Linéarité: la réaction est linéaire jusqu'à 300 U/l. Cependant, pour des concentrations supérieures, diluer l'échantillon au 1/5 avec une solution saline et multiplier le résultat par 5.  
Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 2,28 %  
Coefficient de variation entre les séries: 2,64 %  
Exactitude: le pourcentage de récupération est de 97,6 %.

L'hémoglobine et la bilirubine interfèrent à partir de 400 mg/dl et de 50 mg/dl respectivement.  
L'utilisation de matériel jetable est recommandée pour la réalisation de cet essai.

### Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

### Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

### Bibliographie

Rick, W., (1969), Zeitschrift Clin. Chem. Clin. Biochem., 7, 530 – 536.  
Ziegenhorn, J. et al., (1979), Clin. Chem., 25, 1067.  
Neumann, U., Kaspar, P., Ziegenhorn, J., (1984) Meth. Enz. Anal (3e édition), 26 – 34.  
Lott, J. A. et al., (1986). Clin. Chem., 32, 1290 – 1302.