



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

LIPASE Méthode cinétique

Réactif pour le dosage quantitatif de la Lipase pancréatique
[EC 3.1.1.3] dans le sérum ou le plasma humain.

REF 99881 R1 3 x 10 mL R2 3 x 10 mL R3 1 x 12 mL R4 1 x 3 mL R5 1 x 5 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

support@biolabo.fr

Dernière version : www.biolabo.fr



Made in France

I : correspond aux modifications significatives

I USAGE PREVU

Ce réactif est réservé à un usage professionnel en laboratoire. (technique manuelle ou automatisée)
Il permet la détermination quantitative de la lipase pancréatique dans le sérum ou le plasma humain pour en évaluer la concentration.

GENERALITES (1)

L'activité Lipase mesurée dans le sang est étroitement associée aux maladies pancréatiques. La mesure de l'activité lipase pancréatique est donc un marqueur de choix des maladies pancréatiques et du suivi des effets thérapeutiques des traitements proposés.

PRINCIPE (4) (5)

Méthode enzymatique décrite par Imamura S. et Al. La lipase agit sur le 1,2-diglycéride pour former du 2-monoglycéride hydrolysé en glycérol et acides gras libres par la monoglycéride lipase.
La glycérol kinase transforme le glycérol en glycérol-3-phosphate qui génère ensuite du peroxyde d'hydrogène sous l'action de la glycérol-3-phosphate oxydase. Sous l'action de la peroxydase, H₂O₂, 4-AAP et TOOS participent à la formation d'un complexe coloré quinonéimique.
La vitesse de formation de ce complexe, directement proportionnelle à l'activité lipase dans le spécimen, est mesurée à 550 nm.

REACTIFS

R1 LIPASE	Enzymes-Substrat
1,2-Diglycérides (oeuf)	1,1 mmol/L
Monoglycéride lipase (Bacillus sp.)	880 IU/L
Glycerol Kinase (S. Canus)	1340 IU/L
Glycerol-3-phosphate oxydase (Streptococcus sp.)	40 KU/L
TOOS (N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidine)	0,07 %
ATP	0,66 mmol/L
Péroxydase (Radis noir)	1340 IU/L
Colipase (porc)	40 IU/L
Tampon pH 6,8	
Ascorbate oxydase (concombre, courgette)	2,6 IU/L
Conservateurs	

DANGER : Acute tox.4: H312+H332-Nocif en cas de contact cutané ou inhalation. Eye dam.1 : H318 – Provoque des lésions oculaires graves.
P280 : porter des gants/vêtements/équipement de protection des yeux/du visage. P305+P351+P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Trade secret. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

R2 LIPASE	Tampon
Acide Cholique (Boeuf ou mouton)	5,3 mmol/L
Tampon pH 6,8	
Azide de sodium	< 0,1 %

R3 LIPASE	Réactif déclenchant
Désoxycholate (Boeuf ou mouton)	36 mmol/L
4-Aminoantipyrine (4-AAP)	0,12 %
Azide de sodium	< 0,1 %

R4 LIPASE	Calibrant
Lipase pancréatique	(origine humaine)
Albumine bovine et conservateur.	

La concentration en Lipase est indiquée sur l'étiquette du flacon.

R5 LIPASE	Calibrant (diluant)
Les réactifs R2, R3, R4, R5 ne sont pas classés comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE	

PRECAUTIONS (7)

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

I Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'Etat membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

Ajouter sans délai au contenu du flacon R1 la quantité de tampon R2 indiquée sur l'étiquette.
Agiter doucement jusqu'à complète dissolution.
Le contenu du Flacon R3 est prêt à l'emploi.

- Ouvrir le flacon R4 avec précaution sans perdre de lyophilisat.
- Utiliser une pipette de classe A ou équivalent pour mesurer et ajouter précisément 3 mL (3000 µL) du contenu du flacon R5.
- Refermer et laisser reposer 10 minutes à température ambiante.
- Homogénéiser par rotations lentes avant utilisation.
- Ne pas secouer (pour éviter la formation de mousse)

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

- Avant ouverture :
 - jusqu'à la date de péremption indiquée.
- Après ouverture :
 - Reconstituer le réactif R1 immédiatement après ouverture.
- Après reconstitution :
 - Transférer la quantité utile et stocker le flacon à 2-8°C.
 - Le réactif de travail (R1 + R2) est stable au moins 28 jours
 - Le calibrant reconstitué (R4) est stable :
 - ✓ 14 jours à 2-8°C, 4 mois à -20°C (ne pas recongeler)
 - Ne pas utiliser le réactif ou le calibrant s'il est trouble.
 - Ne pas utiliser le réactif de travail ou le calibrant au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1) (2) (6)

Sérum : Recueillir le sang total par ignipuncture et laisser coaguler. Centrifuger et séparer le sérum dans les 3 heures.
Plasmas recueillis sur EDTA ou héparinate de lithium ou de sodium : Collecter les spécimens avec l'anticoagulant recommandé. Centrifuger et séparer le sérum dans les 3 heures.
L'activité Lipase est stable dans le sérum/plasma pendant :
• 1 semaine à température ambiante, 3 semaines à 2-8°C, 3 mois à -20°C (ne pas recongeler).

LIMITES (5)

Une contamination bactérienne du spécimen peut conduire à une augmentation de l'activité lipase mesurée.
Les enzymes contenues dans les réactifs triglycérides et cholestérol risquent de contaminer le réactif Lipase. Pour éviter toute contamination, il faut s'assurer que les aiguilles, cuvettes ou tubes des analyseurs automatiques soient soigneusement rincées entre les tests triglycérides et cholestérol et le test Lipase.
Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie

CONTRÔLE DE QUALITE

- REF 95010 EXATROL-N Taux I
 - REF 95011 EXATROL-P Taux II
 - Programme externe de contrôle de la qualité
- Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :
- Au moins un contrôle par série
 - Au moins un contrôle par 24 heures
 - Changement de flacon de réactif
 - Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Sérum (37°C)	Lipase (UI/L)	Lipase (µKat/L)
	7-59	[0.12-1.00]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres intervalles de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Sur analyseur Roche/Hitachi 911

Limite de détection : environ 2 UI/L (0,03 µKat /L)

La réaction est linéaire jusqu'à 750 UI/L (12,5 µKat/L).

Au-delà de 750 UI/L, diluer le spécimen avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

Précision :

Intra-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé	Inter-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé
Moyenne UI/L	33	118	269	Moyenne UI/L	34	120	275
S.D. UI/L	0,8	1,5	2,1	S.D. UI/L	1,5	2,7	6,3
C.V. %	2,4	1,2	0,8	C.V. %	4,4	2,3	2,3

Etude comparative avec réactif du commerce sur 41 patients entre 5 et 315 UI/L:

$$y = 0,44 x - 62,044 \quad r = 0,9677$$

Interférences :

Hémoglobine	Interférence négative à partir de 15 g/L
Bilirubine libre	Interférence négative à partir de 200 mg/L (342 µmol/L)
Bilirubine conjuguée	pas d'interférence jusqu'à 250 mg/L (428 µmol/L)
Glycérol	Interférence négative à partir de 2,5 g/L
Acide ascorbique	pas d'interférence jusqu'à 500 mg/L
Triglycérides	Interférence négative à partir de 7,5 g/L
Intralipides	pas d'interférence jusqu'à 1 %.

CALIBRATION

- REF 95801 Calibrant Lipase inclus dans ce coffret
- La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.
- Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

MODE OPERATOIRE

Méthode manuelle :

Porter les réactifs et spécimens à température ambiante.

Introduire dans une cuve de 1 cm de trajet optique :	Blanc	Calibrant	Essai
Réactif de travail (flacon R1 + flacon R2)	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Calibrant Lipase (flacon R4)		20 µL	
Spécimen			20 µL
Mélanger vigoureusement, laisser 4 minutes à 37°C. Ajouter :			
Réactif (flacon R3)	350 µL	350 µL	350 µL
Mélanger vigoureusement, incubé 3 minutes à 37°C. Déclencher un chronomètre et enregistrer les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes à 550 (546-550) nm.			

1. Les performances en technique manuelle devront être établies par l'utilisateur.
2. Les applications Kenza et d'autres propositions d'applications sont disponibles sur demande

CALCUL

Méthode manuelle :

$$\text{Activité Lipase} = \frac{(\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Dosage}} - (\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Blanc}}}{(\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Calibrant}} - (\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Blanc}}} \times \text{Concentration du Calibrant}$$

Analyseur automatique de biochimie :

L'analyseur fournit directement le résultat final. Se référer au Manuel utilisateur et à l'application spécifique pour plus de détails sur le mode de calibration et les calculs.

$$\mu\text{kat/L} = \frac{\text{UI/L}}{60}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Curtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.699-700.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 676-677
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p. 3-398 to 3-400
- (4) Imamura S., Misaki H., "A sensitive method for assay of lipase activity by coupling with β -oxidation enzymes of fatty acids." *Selected topics in Clinical Enzymology*; 2 : 73 (1984)
- (5) Imamura S., et al., *Clin. Chem., Abstract issue in the 41st National meeting*; 1120 (1989)
- (6) NCCLS, "Procedures for the collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", approved standard, Third Edition, NCCLS publication H4-A3, Villanova, PA (1991).
- (7) Centers for Diseases control/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988
- (8)

 Fabricant	 Date de péremption	 In vitro diagnostic	 Température de conservation	 Eau déminéralisée	 Risque biologique
 Référence Produit	 Consulter la notice	 Numéro de lot	 Stocker à l'abri de la lumière	 Suffisant pour	 Diluer avec