



Lipase

(Kinetic Method)

REF

LP50

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Lipase موجود در سرم و پلاسما به روش Enzymatic calorimetry استفاده می شود.

اهمیت بالینی

لیپاز یک آنزیم پانکراتیک ضروری برای جذب و هضم مواد غذایی است. این آنزیم به عنوان کاتالیزور در فرآیند هیدرولیز گلیسرول استرهای اسیدهای چرب عمل می کند. اندازه گیری لیپاز برای تشخیص بیماریهای پانکراس مانند انسداد مجاری پانکراس و پانکراتیت حاد و مزمن استفاده می شود.

اساس اندازه گیری

لیپاز در حضور colipase, desoxycholate و یونهای کلسیم ترکیب 1-2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6'-methylresorufin)-ester هیدرولیز می کند. سرعت افزایش جذب حاصل از تشکیل methylresorufin اندازه گیری می شود. که متناسب با غلظت لیپاز موجود در نمونه است.

معرف ها

R1	Good Buffer Colipase Sodium Azide	50 mmol/l 10 mmol/l 0.05 %
R2	Good Buffer DGGR CaCl ₂	50 mmol/l 5 mmol/l 10 mmol/l

* معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای °C 2-8 نگهداری شود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.
- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیمیت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم، پلاسما
- پایداری آنالیت در نمونه: دما: 2-8 درجه سانتیگراد 4 روز دما: 20- درجه سانتیگراد 1 ماه

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترلهای های نرمال و پاتوزن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر اتوآنالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

580 nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
Kinetic	نحوه خوانش

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
200µL	200µL	200µL	معرف 1 (R1)
-	-	4µL	آب مقطر
4µL	-	-	نمونه
-	4µL	-	استاندارد

مقادیر بالا مخلوط شده و 5 دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
50µL	50µL	50µL	معرف 2 (R2)
مقادیر بالا مخلوط شده و در دمای 37°C به مدت 1 دقیقه انکوبه شود.			
جذب نمونه (AS) و استاندارد (AC) نسبت به جذب بلانک در فاصله زمانی 70 تا 160 ثانیه اندازه گیری شود.			

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

محاسبات

$$\text{Lipase (U/L)} = \frac{\Delta AS / \text{min Sample}}{\Delta AC / \text{min calibrator}} * \text{Con. Of calibrator}$$

$$\text{Conversion factor: LPS [U/L] x 0.01667 = LPS [\mu\text{kat/L}]}$$



Hemoglobin ≤50 mg/dl

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

منابع

1. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, DC 5th ed. 2000
2. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Friedrich Lottspeich, Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

مقادیر مرجع

Serum-Plasma 13-60 (U/l)

-هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج Lipase باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

-1 دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

5-300 U/L

در نمونه های با غلظت بالاتر، نمونه با محلول 0.9 % NaCl با نسبت 1:10 رقیق شود.

-2 حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 5U/l

-3 دقت (Precision)

-اینتر اسی -تکرار پذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و 20 بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
2.82	1.19	42.31	Level 1
1.68	1.41	83.53	Level 2

- اینتر اسی -دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز 20 بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
2.15	0.88	41.16	Level 1
0.1	0.11	83.91	Level 2

-4 صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی 60 نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R²): 0.97

$$Y = 1.0058x + 0.0387$$

-5 بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر در مقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 20mg/dl
Triglycerides	≤ 1000mg/dl