



СР	9094/2009
	07.11.2014

Погоджено  
Перший заступник  
Голови Державної Служби України  
з лікарських засобів  
О.А. Алексєєва  
07 листопада 2014 р.

## Інструкція з використання набору реагентів для визначення активності ліпази в сироватці або плазмі крові ЛПАЗА-кін. «СпЛ»

### IN VITRO

P1	1 x 25 мл
P2	1 x 5 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 25 визначень з урахуванням холостих, калібрувальних проб.

#### Принцип методу

Панкреатична ліпаза в присутності коліпази, дезоксихолату та іонів кальцію, гідролізує субстрат ефір 1-2-О-ділаурил-рак-гліцерино-3-глутарової кислоти. Послідовність реакцій, що беруть участь в ферментативному визначенні прямої ліпази полягає в наступному:  
ефір 1-2-О-ділаурил-рак-гліцерино-3-глутарової- кислоти  $\xrightarrow{\text{Ліпаза}}$  1-2-О-ділаурилгліцерин +  
ефір глутарової кислоти (6-метилрезорурфин) (нестабільний)  $\xrightarrow{\text{OH}^-}$  Глутарова кислота +  
метилрезорурфин

Швидкість формування метилрезорурину пропорційна каталітичній активності ліпази, присутньої у зразку, і може бути виміряна фотометрично.

#### Клінічне значення

Ліпаза - фермент підшлункової залози необхідним для поглинання та перетравлювання поживних речовин, які каталізують гідроліз гліцеринових складних ефірів жирних кислот. Визначення ліпази використовується для діагностики захворювань підшлункової залози, таких як гострий і хронічний панкреатит, і обструкції підшлункових каналів. Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

#### Склад набору

- Реагент 1.** Буфер. TRIS - 40 ммоль/л, коліпаза >1 мг/л, дезоксихолат - 1,8 ммоль/л, тауродезоксіхолат - 7,2 ммоль/л.
- Реагент 2.** Субстрат. Тартрат рН 4.0 - 15 ммоль/л, ліпаза >0,7 мг/л, хлорид кальцію - 0,1 ммоль/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

E-mail: [spainlab@spainlab.com.ua](mailto:spainlab@spainlab.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



### Додаткові реагенти

Калибратор (ліофілізована людська сироватка) постачається окремо.

### Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 5 - 250 Од/л.

Відхилення від лінійності не перевищує 5%.

Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:9 (в десять разів) NaCl 9 г/л та помножьте результат на 10.

2. Чутливість не менш 5 Од/л.

3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

### Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Стабільність: 2 дні при 2 - 8 °С

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 580 нм.

- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.

- Лазня з термостатом з температурою 37°C ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ ).

- Загальне лабораторне обладнання.

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

**P1** і **P2** реагенти готові до використання. Стабільні після відкриття 90 днів при 2-8°C.

**P2** обережно перемішати перед використанням.

**Калібратор:** додати 1 мл дистильованої води. Закрити та акуратно перемішати вміст.

Стабільний 7 днів при 2-8°C або 3 місяці при -20°C.

### Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 580 нм

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

постійна температура 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Дослідний зразок
P1, мл	1.0	1.0	1.0
P2, мкл	200	200	200
Дист. Вода, мкл	10	--	--
Калібратор (стандарт), мкл	--	10	--
Зразок, мкл	--	--	10

**Прим.** Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

4. Перемішати, інкубувати протягом 1 хв. при температурі 37°C.

5. Виміряти оптичну щільність (E) зразка включити секундомір, виміряти E з інтервалом 1 хв., далі протягом 2-х хвилин.

E-mail: [spainlab@spainlab.com.ua](mailto:spainlab@spainlab.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



б. Розрахуйте різницю між поглинанням і середнім поглинанням з різницею у хвилину ( $\Delta E / \text{хв}$ ).

### **Розрахунок результатів**

$(\Delta E / \text{хв.}) \text{ зразок} - (\Delta E / \text{хв.}) \text{ бланк} = (\Delta E / \text{хв.}) \text{ зразка}$

$(\Delta E / \text{хв.}) \text{ калібратора} - (\Delta E / \text{хв.}) \text{ бланк} = (\Delta E / \text{хв.}) \text{ калібратора}$

$(\Delta E / \text{хв.}) \text{ зразок} / (\Delta E / \text{хв.}) \text{ калібратора} \times \text{активність калібратора} = \text{Од/л ліпази в зразку}$

**Одиниці виміру:** Одна міжнародна одиниця (Од) є кількістю ферментів, що перетворює 1 ммоль субстрату за хвилину, в стандартних умовах. Концентрація виражається в одиницях на літр зразка (Од/л).

### **Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень ліпази в сироватці або плазмі крові становить  $< 38$  Од/л.

### **Контроль якості**

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» (Іспанія), контрольні сироватки «Lyoporm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### **Зберігання та стабільність**

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при  $2-8^{\circ}\text{C}$ , в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

### **Ознаки погіршення реагентів**

- Присутність часток і помутніння.
- Поглинання холостого зразка (E) при  $580 \text{ нм} > 1,0$ .
- P2 являє собою каламутну жовтогарячу мікроемульсію.



СР	9094/2009
	07.11.2014

ТОВ «СпайнЛаб»  
61050, м. Харків,  
вул. Франківська, 14  
тел. (057) 768-07-14

**Паспорт**  
**Набір реагентів для визначення кількості**  
**ліпази в сироватці або плазмі крові**  
**ЛПАЗА-кін. «СпЛ»**

**IN VITRO**

Серія **43-304-1**

Дата виготовлення **08.04.2013**

Термін придатності **08.04.2014** Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
<b>Фізико-хімічні показники</b>			
<b>1. Зовнішній вигляд реагентів</b>			
1.1	P1. Буфер. TRIS - 40 ммоль/л, коліпаза >1 мг/л, дезоксихолат - 1,8 ммоль/л, тауродезоксіхолат - 7,2 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Субстрат. Тартрат - 15 ммоль/л, ліпаза >0,7 мг/л, хлорид кальцію - 0,1 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин помаранчевого кольору	відповідає
<b>2. рН реагентів</b>			
2.1	P1	8.3 ± 0.2	відповідає
2.2	P2	4.0 ± 0.2	відповідає
<b>3. Показники правильності визначення</b>			
3.1	Чутливість не менш, Од/л	5	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, Од/л	5 - 250 ± 5 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	± 5 %	відповідає
<b>4. Комплектація</b>			
4.1	P1	1 фл. х 25 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 5 мл	відповідає

Набір розрахований на 25 визначень з урахуванням холостих, калібрувальних проб.

Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.

E-mail: [spainlab@spainlab.com.ua](mailto:spainlab@spainlab.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)