

DE

Liquid N-geneous™ Lipase Reagent

ANWENDUNGSGEBIET

Zur quantitativen Bestimmung der Lipaseaktivität im Serum oder Plasma.

ZUSAMMENFASSUNG

Lipase ist ein Glykoprotein pankreatischen Ursprungs, das eine entscheidende Rolle bei der Verdauung von Lipiden spielt.¹ Erhöhte Serumlipasekonzentrationen stehen in engem Zusammenhang mit Pankreaserkrankungen. Die akute Pankreatitis ist ein Krankheitszustand, der bei der Differenzialdiagnose von akuten Abdominalschmerzen in Betracht gezogen werden muss. Labortests können den klinischen Eindruck einer Pankreatitis stützen, einschließlich Tests der Serumlipase, die bei akuten Krankheitsmanifestationen stark erhöhte Konzentrationen erreichen kann.²

Der Liquid N-geneous™ Lipasetest verwendet 1,2-O-Dilaurylraglycerol-3-glutarsäure-(6'-Methylresorufin)-ester als Substrat und stellt eine Anpassung der von Neumann entwickelten kolorimetrischen Methode dar.³

Da dieses Reagenz völlig flüssig ist, ist es sowohl praktisch für die Verwendung auf als auch kompatibel mit einer Vielzahl von automatischen Analysengeräten der klinischen Chemie.

PRINZIP

Serumlipase hydrolysiert das Substrat 1,2-O-Dilaurylraglycerol-3-glutarsäure-(6'-Methylresorufin)-ester, wobei Glutarsäure-6'-Methylresorufin freigesetzt wird, das wiederum zu Glutarsäure und Methylresorufin reduziert wird. Die Methylresorufin-Bildungsrate wird spektralphotometrisch bei einer Absorption von 570 nm und bei 37°C gemessen. Die Farbänderungsrate ist proportional zur Lipaseaktivität in der Probe.

Reaktionssequenz

1,2-O-Dilaurylraglycerol-3-glutarsäure-(6'-Methylresorufin)-ester

Pankreas-
lipase →

1,2-O-Dilaurylraglycerol + Glutarsäure-6'-Methylresorufin)-ester (nicht stabil)

H₂O →

Glutarsäure + Methylresorufin

REAGENZIEN

Zusammensetzung

Bestandteil	Inhaltsstoffe	Konzentration
Reagenz 1	Puffer	
	Natriumdeoxycholat	1,41%
	Natriumazid	0,09%
	Detergens	
	Calciumacetat	0,00081%
Reagenz 2	Puffer	
	Colipase	23,2 U/ml
	Methylresorufinester	0,03%
	Detergens	
	Propanol	10%
Stabilisator	1,00%	

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

1. In-vitro-Diagnostikum.
2. Die Reagenzien dürfen nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum nicht mehr verwendet werden.
3. **Warnhinweis:** Alle in diesem Test verwendeten Proben sollten als potenziell infektiös betrachtet werden. Bei der Handhabung und Entsorgung von Materialien während und nach dem Test sollten die generellen und auf Ihre Einrichtung zutreffenden Vorsichtsmaßnahmen befolgt werden.⁴

4. Liquid N-geneous™ Lipase Reagents müssen mit dem Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator verwendet werden.
5. **Achtung:** Nicht unter 2°C lagern.
6. **Achtung:** Reagenzien vor Licht schützen.
7. **Achtung:** Reagenz 1 enthält 0,09% Natriumazid als antimikrobielles Mittel. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren, wobei hochexplosive Metallazide entstehen. Beim Entsorgen von Material daher stets mit reichlich Wasser nachspülen, um eine Azidansammlung zu vermeiden.
8. Reagenz 2 enthält Propanol. Für diese in der Europäischen Union als ‚Reizend‘ klassifizierte Substanz gelten die folgenden Risiko- und Sicherheitssätze.

- R41 Gefahr ernster Augenschäden.
S23 Dampf nicht einatmen.
S24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
S26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/ Gesichtsschutz tragen.

Vorbereitung

Reagenz 1: Flüssigreagenz, gebrauchsfertig.

Reagenz 2: Flüssigreagenz, gebrauchsfertig.

Lagerung und Stabilität

Das ungeöffnete Reagenz ist bei Lagerung bei 2 - 8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum stabil.

Nach dem Öffnen ist das Reagenz bis zu 60 Tage lang bei 2 - 8°C oder 7 Tage lang bei 25°C stabil.

NICHT EINFRIEREN.

VOR LICHT SCHÜTZEN.

Stabilität im Gerät

Die Reagenzien bleiben auf dem Roche/Hitachi 912 Analysengerät 60 Tage lang bei 10 bis 15°C stabil.

Anzeichen auf Beeinträchtigung des Produkts

Das Vorliegen von Trübheit bei R1 oder von übermäßiger Trübheit bei R2 kann auf eine Beeinträchtigung des Produkts oder auf eine Besiedlung durch Erreger hindeuten.

Unfähigkeit zur Erzielung der Kontrollwerte.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Serum und lithium- oder natriumheparinisertes Plasma sind die empfohlenen Entnahmemethoden. Standardprobenentnahme- und -vorbereitungsmethoden verwenden.⁵

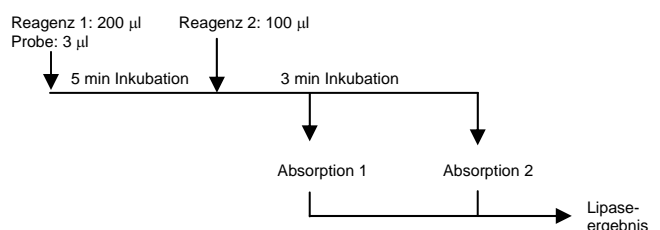
Werden Serum- oder Plasmaproben nicht sofort analysiert, können sie 28 Tage lang bei 2-8°C oder 7 Tage lang bei 20-25°C gelagert werden. Müssen Proben länger als 7 Tage lang gelagert werden, können sie bis zu 3 Monate lang bei -20°C oder darunter eingefroren werden.

Proben können zweimal eingefroren und aufgetaut werden.

VERFAHREN

Test

Die folgenden Angaben sind ein allgemeines Beispiel des Liquid N-geneous™ Lipasetestverfahrens für ein automatisches Analysengerät. Alle Anwendungen auf Analysengeräten sollten validiert werden.



Wenn Sie Unterstützung bei Anwendungen auf automatischen Analysengeräten innerhalb der USA benötigen, wenden Sie sich bitte an Genzyme Diagnostics Technical Marketing unter (800) 332-1042.

Außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Händler.

Gelieferte Materialien

Liquid N-geneous™ Lipase Reagents 1 und 2 sind zur Bestimmung der Lipase erforderlich. Die Liquid N-geneous™ Lipase Reagents sind separat verpackt und werden separat verkauft. Die vorliegende Packung enthält einen der folgenden Artikel.

Beschreibung	Konfiguration	Katalognummer
Reagenz 1	5 x 26 ml	80-6687-00
Reagenz 2	5 x 13 ml	80-6688-00

Erforderliche, aber nicht gelieferte Materialien

Beschreibung	Konfiguration	Katalognummer
Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator	3 x 3 ml	80-6691-00

- Qualitätskontrollmaterialien.
- Analysengerät zur Durchführung von chemischen Analysen mit zwei Reagenzien.

Kalibration

Zur Kalibration des Liquid N-geneous™ Lipasetests darf ausschließlich der Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator verwendet werden.

Angaben zu den spezifischen Kalibrationsverfahren für das verwendete Analysengerät und zur Bestimmung der Kalibrationshäufigkeit sind dem entsprechenden Bedienungshandbuch zu entnehmen.

Die Qualitätskontrollwerte sollten innerhalb der Referenzbereiche liegen.

Qualitätskontrolle

Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse sollte routinemäßig mit Qualitätskontrollmaterialien oder Serumpools überwacht werden, die eine angemessene Entsprechung der Leistung beim Verarbeiten von Patientenproben bieten. Die vorschriftsmäßige Funktion der Reagenzien und die Befolgung der korrekten Verfahren sollte anhand von Kontrollen oder Serumpools überwacht werden. Das Labor sollte einen akzeptablen Bereich für jede Kontrollmaterialcharge festlegen. Liegen die Kontrollwerte nicht im Referenzbereich, sind die üblichen Fehlerbehebungsverfahren zu befolgen. Wenn Sie Unterstützung innerhalb der USA benötigen, wenden Sie sich bitte an Genzyme Technical Marketing unter (800) 332-1042. Außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Händler.

Die Qualitätskontrollanforderungen sollten gemäß den lokalen, Landes- oder Bundesvorschriften oder in Übereinstimmung mit Akkreditierungsanforderungen festgelegt werden.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden in U/l angegeben. Eine Einheit ist definiert als die Enzymmenge, die bei 37°C 1 µmol Methylresorufin pro Minute freisetzt.

Verfahrensgrenzen/Interferierende Substanzen

Alle Interferenzuntersuchungen wurden gemäß NCCLS-Richtlinie EP7 durchgeführt.⁶

Bei einer Hämoglobinkonzentration von bis zu 500 mg/dl ergab sich keine Interferenz (Bias < 10%) für Proben mit einer Lipaseaktivität von 47 U/l. Bei einer Hämoglobinkonzentration von über 200 mg/dl ergab sich ein negativer Bias von bis zu 31% für Proben mit einer Lipaseaktivität von 120 U/l.

Bei Intralipid® Konzentrationen von mehr als 1,2% (entspricht 3600 mg/dl Triglyceride) ergab sich ein positiver Bias von mehr als 10% für Proben mit einer Lipaseaktivität von 47 U/l.

Eine Übersicht über die Auswirkungen von Arzneimitteln auf klinische Labortests ist Young et al.⁷ zu entnehmen.

Wurden zuvor Triglycerid- oder Cholesteroltests durchgeführt, ist eine gründliche Reinigung der Sonden und Küvetten oder Röhrchen sicherzustellen, um eine Kontamination durch Lipase oder Cholesterolesterase zu verhindern.

Referenzbereich

Proben von gesunden Erwachsenen im Alter von 20 bis 70 Jahren (72 Männer und 78 Frauen) wurden mit dem Liquid N-geneous™ Lipasetest analysiert.⁸ Das durch die 2,5. und 97,5. Perzentile festgelegte Referenzintervall lag zwischen 11,7 und 48,5 U/l.

Jedes Labor sollte das Referenzintervall für die eigene Patientenpopulation bestätigen.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSDATEN

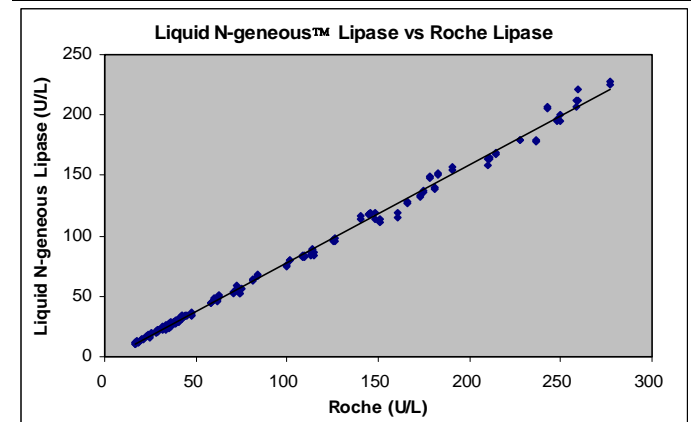
Richtigkeit

Vergleichende Leistungsuntersuchungen wurden unter Verwendung des Liquid N-geneous™ Lipase Reagent auf dem Roche/Hitachi 912 klinischen Analysengerät mit zwei Methoden durchgeführt, und zwar mit der Roche Diagnostics Lipasetestmethode und der Genzyme Diagnostics Lipase Color (LCK) Testmethode (enzymatisch/kolorimetrisch).

Für den Vergleich von Liquid N-geneous™ Lipase und Roche wurden 91 Serumproben mit Lipasekonzentrationen zwischen 16,6 und 276,8 U/l über 2 Tage getestet. Das Protokoll folgte den Empfehlungen von NCCLS EP9.⁹

Die Regressionsanalyse ist unten angegeben:

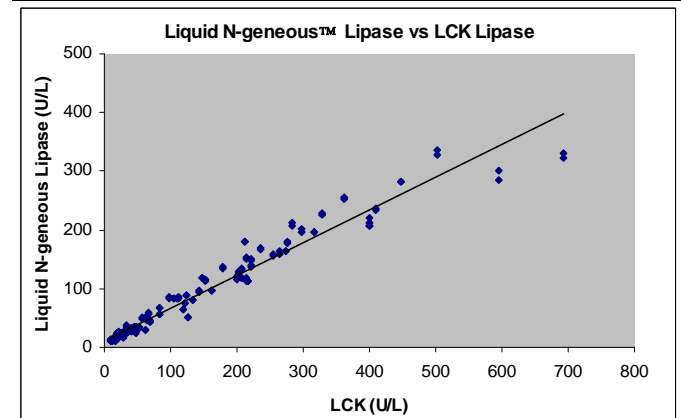
Liquid N-geneous™ Lipase vs. Roche (n = 91)	
Steigung	0,808
Achsenabschnitt (U/l)	-2,69
Korrelationskoeffizient (r)	0,998



Für den Vergleich von Liquid N-geneous™ Lipase und LCK wurden 97 Serumproben mit Lipasekonzentrationen zwischen 9,2 und 691,9 U/l über 2 Tage getestet. Das Protokoll folgte den Empfehlungen von NCCLS EP9.⁹

Die Regressionsanalyse ist unten angegeben:

Liquid N-geneous™ Lipase vs. LCK (n = 97)	
Steigung	0,558
Achsenabschnitt (U/l)	11,48
Korrelationskoeffizient (r)	0,978



Präzision

Die Präzision des Liquid N-geneous™ Lipase Reagent wurde durch die Analyse von Proben in doppelter Ausführung zweimal täglich über einen Zeitraum von 20 Tagen auf dem Roche/Hitachi 912 Analysengerät über 20 Kalibrationen und 4 Reagenzchargen unter Verwendung von frischem gepooltem Humanserum in 3 Konzentrationen unter Zusatz von humaner Pankreaslipase gemäß NCCLS EP5¹⁰ getestet. Die folgenden Daten sind einer repräsentativen Charge entnommen.

Präzision innerhalb des Durchlaufs

Serumpool	Mittlere Ausbeute (U/l)	Standardabweichung (U/l)	CV
Konzentration 1	24	0,29	1,2%
Konzentration 2	56	0,59	1,0%
Konzentration 3	129	0,82	0,6%

Gesamtpräzision

Serumpool	Mittlere Ausbeute (U/l)	Standardabweichung (U/l)	CV
Konzentration 1	24	0,56	2,3%
Konzentration 2	56	1,16	2,1%
Konzentration 3	129	2,47	1,9%

Leerwertgrenze

Die Leerwertgrenze ist die Konzentration, die statistisch nicht von Null unterscheidbar ist. Physiologische Kochsalzlösung wurde zwanzig Mal mit Liquid N-geneous™ Lipase Reagent auf dem Roche/Hitachi 912 klinischen Analysengerät getestet, und die Nachweisgrenze wurde unter Verwendung des Mittelwerts plus zwei Standardabweichungen einer Probe, die 0 U/l Lipase enthielt, ermittelt. Die Nachweisgrenze betrug 0,3 U/l.

Spezifität

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die Leistung (Bias <10%) des Liquid N-geneous™ Lipasetests in einem Serumpool mit ca. 47 U/l Lipase.⁷

Substanz	Getestete Konzentration
Bilirubin, konj. und unkonj.	60 mg/dl
Hämoglobin	500 mg/dl
Ascorbinsäure	125 mg/dl
Intralipid®	1,2% (3600 mg/dl Trig)
Glycerol	600 mg/dl
Acetaminophen	20 mg/dl
Acetylsalicylsäure	50 mg/dl
Ampicillin	5 mg/dl
Coffein	10 mg/dl
Captopril	6 mg/dl
Chlorpheniraminmaleat	0,8 mg/dl
Cimetidin	10 mg/dl
Cyclosporin U	0,8 mg/dl
Doxycylinhyclat	6 mg/dl
Furosemid	2 mg/dl
Ibuprofen	40 mg/dl
Indomethacin	1 mg/dl
Levodopa	160 mg/dl
Lovastatin	1,6 mg/dl
Methotrexat	450 mg/dl
Methyldopa	2,5 mg/dl
Metoprololtartrat	0,3 mg/dl
Metronidazol	1 mg/dl
Nicotinsäure	2 mg/dl
Omeprazol	7,2 mg/dl
Prednison	1,2 mg/dl
Promethazinhydrochlorid	1 mg/dl
Propranololhydrochlorid	0,5 mg/dl
Chinidinsulphat	5 mg/dl
Simvastatin	0,8 mg/dl
Theophyllin	25 mg/dl
Tolbutamid	100 mg/dl

Linearität


Unter Verwendung von NCCLS-Protokoll EP6¹¹ ist die Liquid N-geneous™ Lipasemethode linear von 0,3 U/l bis 400 U/l. Die Proben waren Mischungen von niedrigen und hohen Serumpools.


Proben über 400 U/l können mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden. Proben können zweifach verdünnt werden. Das Ergebnis wird mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert, um die Lipasekonzentration für die Probe zu erhalten.


Literaturstellen


1. Tietz NW, Lipase in Serum – The Elusive Enzyme: an Overview. Clin Chem 1993; Vol. 39, No. 5.
2. Tietz NW, Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed., WB Saunders Co., Philadelphia, PA: 865, 1986.
3. Neumann U, Kaspar P, Ziegenhorn J and Bergmeyer HU, Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed. Vol. 4: 26-34, 1984.
4. Richardson JH and Barkley WE, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, HHS Publication No. (CDC) 84-8395, Washington, DC: 1984.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: Approved Guideline. NCCLS Document H18-A, Villanova, PA: 1990.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline. NCCLS document EP7-A. Villanova, PA: 2002.
7. Young, DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., Washington, D.C.:AACC Press, 1990.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. NCCLS document C28-A, Villanova, PA: 2002.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. NCCLS document EP9-A. Villanova, PA: 2002.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. NCCLS document EP5-A. Villanova, PA: 1999.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. NCCLS document EP6-A. Villanova, PA: 2003.


Definitionen der Symbole


 Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie für In-vitro-Diagnose-Medizingeräte.


 Bestellnummer


 In Vitro diagnostikum


 Temperaturbegrenzung


 Hersteller


 Verwendbar bis

 Chargenbezeichnung

 Gebrauchsanweisung beachten

 Achtung, Begleitdokumente beachten

 Reizend

 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft

Hersteller:

genzyme
Diagnostics

Genzyme Corporation
One Kendall Square
Cambridge, MA 02139-1562
USA
Tel: 1-800-332-1042
Fax: 1-617-252-7759
www.genzymediagnosics.com

Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT ME19 4AF
United Kingdom
Tel: (+44) (0) 1732 220022
Fax: (+44) 1732 220024

April 2005

80-6674-00-01

N-geneous™ ist ein Warenzeichen der Genzyme Corporation.

Intralipid® ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fresenius Kabi Nutrition AB.