

IT

Liquid N-geneous™ Lipase Reagent

USO PREVISTO

Per la misurazione quantitativa dell'attività lipasica nel siero o nel plasma.

RIASSUNTO

La lipasi è una glicoproteina di origine pancreatica che gioca un ruolo fondamentale nella digestione dei lipidi.¹ Livelli sierici innalzati di lipasi sono fortemente associati a patologie pancreatiche. La pancreatite acuta è uno stato patologico da tenere in considerazione nella diagnosi differenziale del dolore addominale acuto. Vari test di laboratorio possono confermare l'impressione clinica di pancreatite, tra questi la lipasi sierica, che può raggiungere livelli estremamente innalzati nelle forme acute della patologia.²

Il test Liquid N-geneous™ Lipase utilizza l'acido 1,2-O-dilauril-rac-glicerolo-3-glutarico-6'-metilresorufin estere come substrato ed è un adattamento del metodo colorimetrico sviluppato da Neumann.³

La forma liquida di questo reagente lo rende conveniente e compatibile per l'uso in un'ampia gamma di analizzatori chimici clinici automatici.

PRINCIPIO

La lipasi sierica idrolizza il substrato acido 1,2-O-dilauril-rac-glicerolo-3-glutarico-6'-metilresorufin estere liberando acido glutarico-6'-metilresorufin estere, che a sua volta viene ridotto ad acido glutarico e metilresorufina. Il grado di formazione della metilresorufina è misurato spettrofotometricamente a un'assorbanza di 570 nm e a 37°C. Il grado di cambiamento di colore è proporzionale all'attività lipasica nel campione.

Sequenza di reazioni

acido 1,2-O-dilauril-rac-glicerolo-3-glutarico-6'-metilresorufin estere

Lipasi
pancreatica →

1,2-O-dilauril-rac-glicerolo + acido glutarico-6'-metilresorufin estere
(instabile)

H₂O →

acido glutarico + metilresorufina

REAGENTI

Composizione

Componente	Ingredienti	Concentrazione
Reagente 1:	Tampone	
	Sodio deossicolato	1,41%
	Sodio azide	0,09%
	Detergente	
	Calcio acetato	0,00081%
Reagente 2:	Tampone	
	Colipasi	23,2 U/ml
	Metilresorufin estere	0,03%
	Detergente	
	Propanolo	10%
Stabilizzatore	1,00%	

Precauzioni e avvertenze

1. Per uso diagnostico in vitro.
2. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.
3. **Avvertenza:** Tutti i campioni utilizzati per il test devono essere considerati come potenzialmente infettivi. La manipolazione e lo smaltimento dei materiali durante e dopo il dosaggio devono essere effettuati attenendosi alle precauzioni generali in uso nella propria istituzione.⁴
4. I reagenti Liquid N-geneous™ Reagent devono essere utilizzati con il calibratore Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator.
5. **Attenzione:** Non conservare a temperature inferiori a 2°C.

6. **Attenzione:** Proteggere i reagenti dalla luce.
7. **Attenzione:** Il Reagente 1 contiene sodio azide allo 0,09% come agente antimicrobico. La sodio azide può reagire con il piombo o il rame delle tubature, formando metallo-azidi potenzialmente esplosivi. Sciacquare abbondantemente con acqua quando si elimina il materiale.
8. Il Reagente 2 contiene propanolo. Nell'Unione Europea è classificato come Irritante con le frasi di rischio e di sicurezza seguenti.

R41	Rischio di gravi lesioni oculari.
S23	Non respirare i vapori.
S24/25	Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle.
S26	In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.
S36/37/39	Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

Preparazione

Reagente 1: Liquido, pronto per l'uso.

Reagente 2: Liquido, pronto per l'uso.

Conservazione e stabilità

Se conservato a 2 - 8°C, il reagente chiuso è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Una volta aperto, il reagente è stabile fino a 60 giorni a 2 - 8°C oppure 7 giorni a 25°C.

NON CONGELARE.

PROTEGGERE DALLA LUCE.

Stabilità nella strumentazione

I reagenti sono stabili aperti nell'analizzatore Roche/Hitachi 912 per 60 giorni a 10 - 15°C.

Indicazioni di deterioramento

La presenza di torbidità nel R1 o di torbidità eccessiva nel R2 può indicare deterioramento del reagente o crescita microbica.

Incapacità di riottenere i valori di controllo.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Si consiglia di prelevare i campioni da siero o plasma litio o sodio eparinizzato. Utilizzare metodi standard di raccolta e preparazione del campione.⁵

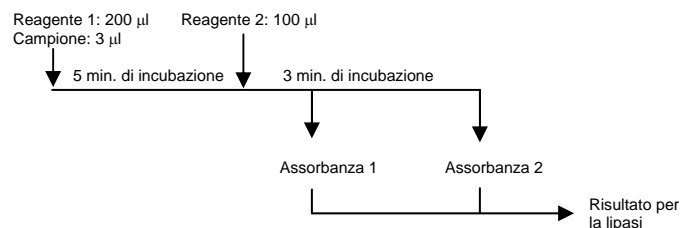
Se non vengono analizzati immediatamente, i campioni di siero o plasma possono essere conservati a 2 - 8°C per 28 giorni o a 20 - 25°C per 7 giorni. Qualora sia necessario conservare i campioni per più di 7 giorni, è possibile preservarli a -20°C o a temperature inferiori per un massimo di 3 mesi.

I campioni possono essere congelati e scongelati due volte.

PROCEDURA

Dosaggio

Di seguito è riportato un esempio generale della procedura per il dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase nel caso di un analizzatore automatico. Tutte le applicazioni dell'analizzatore devono essere convalidate.



Per ricevere assistenza in merito alle applicazioni su analizzatori automatici all'interno degli Stati Uniti, contattare il Marketing Tecnico di Genzyme Diagnostics al numero (800) 332-1042. Al di fuori degli Stati Uniti rivolgersi al proprio distributore locale.

Materiali forniti

I reagenti Liquid N-geneous™ Lipase Reagent 1 e 2 sono necessari per la determinazione della lipasi. I reagenti Liquid N-geneous™ Lipase Reagent 1 e 2 sono confezionati e venduti separatamente. La confezione ricevuta conterrà uno degli articoli seguenti.

Descrizione	Configurazione	Numero di catalogo
Reagente 1	5 x 26 ml	80-6687-00
Reagente 2	5 x 13 ml	80-6688-00

Materiali richiesti ma non in dotazione

Descrizione	Configurazione	Numero di catalogo
Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator	3 x 3 ml	80-6691-00

- Materiali per il controllo di qualità.
- Analizzatore adatto per reazioni a due reagenti.

Calibrazione

Per calibrare il dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase utilizzare solo il calibratore Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator.

Per le procedure di calibrazione specifiche dell'analizzatore e le istruzioni sulla determinazione della frequenza di calibrazione consultare il manuale dell'operatore dello strumento.

I valori di controllo di qualità devono risultare all'interno degli intervalli attesi.

Controllo di qualità

L'affidabilità dei risultati del test deve essere monitorata regolarmente con i materiali per il controllo di qualità o con pool di sieri che simulano in modo affidabile il comportamento dei campioni dei pazienti. I controlli o i pool di sieri devono essere utilizzati per monitorare il funzionamento appropriato dei reagenti e la correttezza delle procedure seguite. L'intervallo accettabile per ogni lotto di materiale di controllo deve essere stabilito dal laboratorio. Se i valori di controllo non rientrano nell'intervallo atteso seguire le normali procedure di risoluzione dei problemi. Se si richiede assistenza all'interno degli Stati Uniti chiamare il Marketing Tecnico di Genzyme al numero (800) 332-1042. Al di fuori degli Stati Uniti rivolgersi al proprio distributore locale.

I requisiti di controllo di qualità devono essere stabiliti in conformità ai regolamenti locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

RISULTATI

I risultati sono indicati in U/l. Un'unità è definita come la quantità di enzima che libera 1 µmole di metilresorufina per minuto a 37°C.

Limitazioni/sostanze interferenti

Tutti gli studi di interferenza sono stati condotti ai sensi delle linee guida EP7 della NCCLS.⁶

In campioni con attività lipasica pari a 47 U/l, concentrazioni di emoglobina di fino a 500 mg/dl non interferiscono (errore sistematico < 10%). Concentrazioni di emoglobina superiori a 200 mg/dl hanno mostrato un errore sistematico negativo fino al 31% ad attività lipasica pari a 120 U/l.

Concentrazioni di Intralipid® superiori all'1,2% (equivalenti a 3.600 mg/dl di trigliceridi) hanno mostrato un errore sistematico positivo superiore al 10% a un'attività lipasica pari a 47 U/l.

Per un'analisi degli effetti dei farmaci sui test di laboratorio consultare l'articolo di Young et al.⁷

Se in precedenza erano stati effettuati dosaggi di trigliceridi o colesterolo, assicurare che le sonde, le cuvette o le provette siano lavate accuratamente per evitare contaminazione da lipasi o colesterolo esterasi.

Risultati attesi

Sono stati analizzati con il dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase campioni provenienti da 72 uomini e 78 donne adulti apparentemente sani, di età compresa tra 20 e 70 anni.⁸ L'intervallo di riferimento definito ai percentili 2,5 e 97,5 risultava compreso tra 11,7 e 48,5 U/l.

Ogni laboratorio deve confermare l'intervallo di riferimento per la propria popolazione di pazienti.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLA PRESTAZIONE

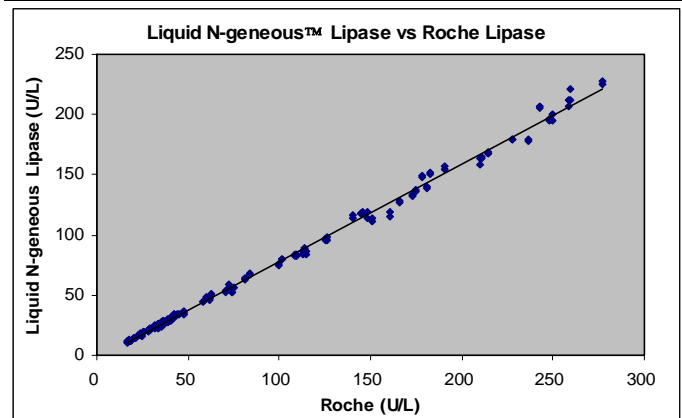
Accuratezza

Studi comparativi sulla prestazione sono stati condotti utilizzando il reagente Liquid N-geneous™ Lipase Reagent sull'analizzatore clinico Roche/Hitachi 912 con entrambi i metodi di dosaggio per lipasi Roche Diagnostics e Lipase Color (LCK) della Genzyme Diagnostics (enzimatico/colorimetrico).

Per il confronto del dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase vs il dosaggio Roche sono stati analizzati 91 campioni di siero, con concentrazioni di lipasi comprese tra 16,6 e 276,8 U/l in 2 giorni. Il protocollo seguiva le raccomandazioni EP9 della NCCLS.⁹

L'analisi della regressione è riportata di seguito:

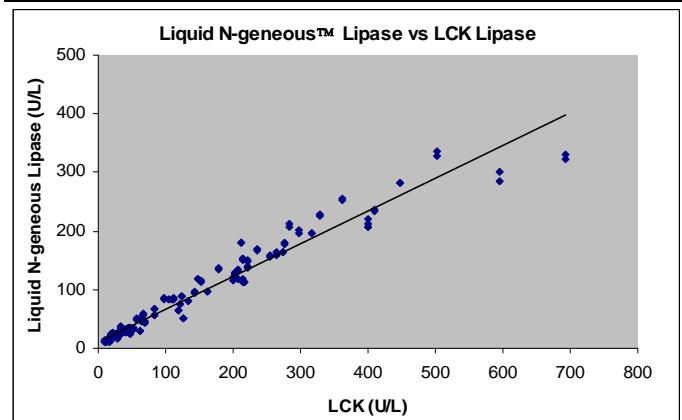
Dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase vs dosaggio Roche (n = 91)	
Pendenza	0,808
Intercetta (U/l)	-2,69
Coefficiente di correlazione (r)	0,998



Per il confronto del dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase vs il dosaggio LCK sono stati analizzati 97 campioni di siero, con concentrazioni di lipasi comprese tra 9,2 e 691,9 U/l in 2 giorni. Il protocollo seguiva le raccomandazioni EP9 della NCCLS.⁹

L'analisi della regressione è riportata di seguito:

Dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase vs dosaggio LCK (n = 97)	
Pendenza	0,558
Intercetta (U/l)	11,48
Coefficiente di correlazione (r)	0,978



Precisione

La precisione del reagente Liquid N-geneous™ Lipase Reagent è stata determinata analizzando campioni in duplicato due volte al giorno per 20 giorni sull'analizzatore Roche/Hitachi 912 mediante 20 calibrazioni e 4 lotti di reagenti, utilizzando 3 livelli di pool di siero umano fresco addizionati di lipasi umana pancreatica ai sensi delle linee guida EP5 della NCCLS¹⁰. I dati seguenti provengono da un lotto rappresentativo.

Precisione intradosaggio

Pool di siero	Media determinata (U/l)	Deviazione standard (U/l)	CV
Livello 1	24	0,29	1,2%
Livello 2	56	0,59	1,0%
Livello 3	129	0,82	0,6%

Precisione totale

Pool di siero	Media determinata (U/l)	Deviazione standard (U/l)	CV
Livello 1	24	0,56	2,3%
Livello 2	56	1,16	2,1%
Livello 3	129	2,47	1,9%

Limite del bianco

Il limite del bianco è la concentrazione non statisticamente distinguibile dallo zero. La soluzione salina è stata analizzata venti volte con il reagente Liquid N-geneous™ Lipase Reagent sull'analizzatore clinico Roche/Hitachi 912 e la media più due deviazioni standard di un campione che conteneva 0 U/l di lipasi è stata utilizzata per definire il limite di rilevazione: 0,3 U/l.

Specificità

Le seguenti sostanze, alle concentrazioni indicate, non avevano effetti sulla prestazione (errore sistematico < 10%) del dosaggio Liquid N-geneous™ Lipase in un pool di siero contenente circa 47 U/l di lipasi.⁷

Sostanza	Concentrazione analizzata
Bilirubina, coniugata e non coniugata	60 mg/dl
Emoglobina	500 mg/dl
Acido ascorbico	125 mg/dl
Intralipid®	1,2% (3.600 mg/dl trigl)
Glicerolo	600 mg/dl
Acetaminofene	20 mg/dl
Acido acetilsalicilico	50 mg/dl
Ampicillina	5 mg/dl
Caffeina	10 mg/dl
Captopril	6 mg/dl
Clorfeniramina maleato	0,8 mg/dl
Cimetidina	10 mg/dl
Ciclosporina U	0,8 mg/dl
Dossiciclina iclato	6 mg/dl
Furosemide	2 mg/dl
Ibuprofen	40 mg/dl
Indometacina	1 mg/dl
Levodopa	160 mg/dl
Lovastatina	1,6 mg/dl
Metotrexato	450 mg/dl
Metildopa	2,5 mg/dl
Metoprololo tartrato	0,3 mg/dl
Metronidazolo	1 mg/dl
Acido nicotinico	2 mg/dl
Omeprazolo	7,2 mg/dl
Prednisone	1,2 mg/dl
Prometazina cloridrato	1 mg/dl
Propranololo cloridrato	0,5 mg/dl
Quinidina solfato	5 mg/dl
Simvastatina	0,8 mg/dl
Teofillina	25 mg/dl
Tolbutamide	100 mg/dl

Linearità

Ai sensi del protocollo EP6 della NCCLS¹¹, il metodo Liquid N-geneous™ Lipase è lineare tra 0,3 e 400 U/l. I campioni erano miscele di pool di siero ad alta e bassa concentrazione.


I campioni con concentrazioni superiori a 400 U/l possono essere diluiti con soluzione salina fisiologica. I campioni possono essere diluiti della metà. Per ottenere la concentrazione di lipasi nel campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.


Bibliografia


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.


Definizione dei simboli


 Questo prodotto è conforme alla Direttiva Europea relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.


 Numero di catalogo


 Dispositivo medico-diagnostico in vitro


 Limiti di temperatura


 Fabbricante


 Utilizzare entro

 Codice del lotto

 Consultare le istruzioni per l'uso

 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso

 Irritante

 Mandatario nella Comunità Europea

Fabbricante:

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™ è un marchio di fabbrica di Genzyme Corporation.
Intralipid® è un marchio registrato di Fresenius Kabi Nutrition AB.