

ES

Liquid N-geneous™ Lipase Reagent

USO PREVISTO

Para la medición cuantitativa de la actividad de la lipasa en suero o plasma.

RESUMEN

La lipasa es una glucoproteína de origen pancreático que desempeña un papel fundamental en la digestión de los lípidos.¹ Las concentraciones séricas elevadas de lipasa están estrechamente relacionadas con las enfermedades pancreáticas. La pancreatitis aguda es un estado de enfermedad que debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial del dolor abdominal agudo. Las pruebas de laboratorio puede respaldar la impresión clínica de pancreatitis, incluyendo la lipasa sérica, que puede alcanzar concentraciones muy elevadas en casos de enfermedades agudas.²

La prueba Liquid N-geneous™ Lipase usa 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico (6'-metilresorufina)-éster como sustrato, y es una adaptación del método colorimétrico desarrollado por Neumann.³

Su naturaleza totalmente líquida lo convierte además en un reactivo cómodo y compatible para el uso con una gran variedad de analizadores de química clínica automáticos.

PRINCIPIO

La lipasa sérica hidroliza el sustrato 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico (6'-metilresorufina)-éster, liberando ácido glutárico-6'-metilresorufina que, a su vez, queda reducido a ácido glutárico y metilresorufina. La velocidad de formación de la metilresorufina se mide mediante espectrofotómetro con una absorbencia de 570 nm y a 37°C. La velocidad del cambio de color es proporcional a la actividad de la lipasa de la muestra.

Secuencia de reacción

1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico (6'-metilresorufina)-éster

Lipasa
pancreática →

1,2-O-dilauril-rac-glicerol + ácido glutárico-6'-metilresorufina-éster (no estable)

H₂O →
ácido glutárico + metilresorufina

REACTIVOS

Composición

Componente	Ingredientes	Concentración
Reactivo 1	Tampón	
	Deoxicolato sódico	1,41%
	Azida sódica	0,09%
	Detergente	
Reactivo 2	Acetato de calcio	0,00081%
	Tampón	
	Colipasa	23,2 U/ml
	Metilresorufina-éster	0,03%
	Detergente	
Propanol		10%
	Estabilizante	1,00%

Precauciones y advertencias

- Para uso diagnóstico in vitro.
- No use los reactivos una vez vencida la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.
- Advertencia:** Todas las muestras usadas en la prueba se deben considerar como potencialmente infecciosas. Se deberán seguir las precauciones universales correspondientes a su centro para la manipulación y eliminación de los materiales durante y después de las pruebas.⁴
- Los reactivos Liquid N-geneous™ Lipase Reagents se deben usar con el calibrador Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator.

- Precaución:** No conservar a menos de 2°C.
- Precaución:** Proteja los reactivos de la luz.
- Precaución:** El reactivo 1 contiene azida sódica al 0,09% como antimicrobiano. La azida sódica podría reaccionar con tuberías de plomo y cobre y derivar en una acumulación de azida metálica que puede ser explosiva. Cuando se deshaga del material, vierta cantidades de agua abundantes.
- El reactivo 2 contiene propanol. En la Unión Europea está clasificado como irritante con las siguientes declaraciones sobre riesgos y seguridad.

R41	Riesgo de lesiones oculares graves.
S23	No respirar los vapores.
S24/25	Evítese el contacto con los ojos y la piel.
S26	En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
S36/37/39	Úsese indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Preparación

Reactivo 1: Líquido, listo para usar.

Reactivo 2: Líquido, listo para usar.

Conservación y estabilidad

Conservado a 2-8°C, el reactivo sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Una vez abierto, el reactivo es estable hasta 60 días a 2-8°C ó 7 días a 25°C.

NO CONGELAR.

PROTEGER DE LA LUZ.

Estabilidad en el analizador

Los reactivos abiertos son estables en el analizador Hitachi 912 de Roche durante 60 días entre 10 y 15°C.

Signos de deterioro

La presencia de turbidez en el reactivo 1 o extrema turbidez en el reactivo 2 podría ser indicativo de deterioro o de proliferación microbiana.

Incapacidad de recuperar los valores de referencia.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El suero y el plasma heparinizado con sodio o litio son los medios de obtención recomendados. Emplee los métodos normales de obtención y preparación de muestras.⁵

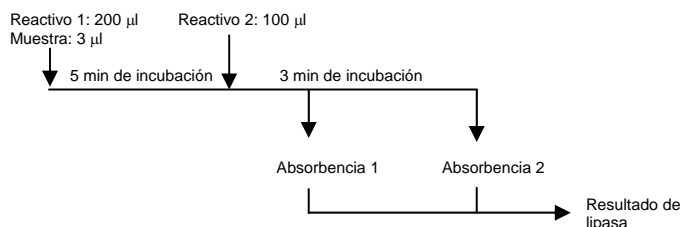
Si no se analizan de forma inmediata, las muestras de suero o plasma se pueden conservar a 2-8°C durante 28 días o a 20-25°C durante 7 días. Si es preciso almacenarlas durante más de 7 días, se podrán conservar a -20°C o menos durante un máximo de 3 meses.

Las muestras se pueden congelar y descongelar dos veces.

PROCEDIMIENTO

Prueba

A continuación se ofrece un ejemplo general del procedimiento de la prueba de Liquid N-geneous™ Lipase en el caso de un analizador automático. Todas las aplicaciones del analizador deberán validarse.



Para obtener ayuda sobre las aplicaciones de los analizadores automáticos en EE.UU., póngase en contacto con Genzyme Diagnostics Technical Marketing en el (800) 332-1042. Fuera de EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local.

Materiales proporcionados

Se necesitan los reactivos 1 y 2 Liquid N-geneous™ Lipase Reagents para medir la lipasa. Los reactivos Liquid N-geneous™ Lipase

Reagents se empaquetan y venden por separado. El paquete que usted reciba podrá contener cualquiera de los artículos siguientes.

Descripción	Configuración	Nº de catálogo
Reactivo 1	5 x 26 ml	80-6687-00
Reactivo 2	5 x 13 ml	80-6688-00

Materiales necesarios pero no proporcionados

Descripción	Configuración	Nº de catálogo
Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator	3 x 3 ml	80-6691-00

- Materiales de control de calidad.
- Analizador con capacidad para analizar dos reactivos.

Calibración

Sólo se debe usar el calibrador Liquid N-geneous™ Lipase Calibrator para calibrar la prueba Liquid N-geneous™ Lipase.

Consulte el manual del operador del instrumento para conocer los procedimientos de calibración concretos del analizador y obtener orientación para determinar la frecuencia de calibración.

Los valores del control de calidad deben estar dentro de los intervalos esperados.

Control de calidad

Se deberá realizar una supervisión sistemática de la fiabilidad de los resultados de la prueba con materiales de control de calidad o mezclas de suero que representen de forma razonable el rendimiento con muestras de pacientes. Del mismo modo, se deberán usar controles o mezclas de suero para determinar si los reactivos funcionan debidamente y si se siguen los procedimientos correctos. El laboratorio deberá establecer un intervalo aceptable para cada lote de material de control. Si los valores de control no están dentro del intervalo esperado, siga los métodos habituales de solución de problemas. Si se requiere ayuda en EE.UU., llame a Genzyme Technical Marketing al (800) 332-1042. Fuera de EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local.

Los requisitos de control de calidad se deberán establecer de acuerdo a las normativas locales, estatales y/o federales o los requisitos para la acreditación.

RESULTADOS

Los resultados se indican en U/l. Una unidad se define como la cantidad de enzima que libera 1 µmol de metilresorufina por minuto a 37°C.

Limitaciones/sustancias que interfieren

Todos los estudios de interferencia se realizaron conforme a la directriz EP7 del NCCLS.⁶

Una concentración de hemoglobina de hasta 500 mg/dl no causó interferencia alguna (sesgo < 10%) en las muestras con una actividad de lipasa de 47 U/l, mientras que una concentración de hemoglobina superior a 200 mg/dl mostró un sesgo negativo de hasta el 31% con una actividad de lipasa de 120 U/l.

Las concentraciones de Intralipid® superiores al 1,2% (equivalente a 3.600 mg/dl de triglicéridos) demostraron tener un sesgo positivo superior al 10% con una actividad de lipasa de 47 U/l.

Consulte la obra de Young et al.⁷ para revisar los efectos de los fármacos en pruebas clínicas de laboratorio.

En caso de haber llevado a cabo pruebas de triglicéridos o colesterol previamente, asegúrese de que las sondas, cubetas o tubos estén bien lavados para evitar contaminación por lipasa o colesterol esterasa.

Valores esperados

Las muestras de adultos aparentemente sanos (72 hombres y 78 mujeres) de edades comprendidas entre 20 y 70 años se analizaron con la prueba Liquid N-geneous™ Lipase.⁸ Se observó que

el intervalo de referencia definido en los percentiles de 2,5 y 97,5 fue de 11,7 a 48,5 U/l.

Cada laboratorio deberá confirmar el intervalo de referencia correspondiente a la población de pacientes con la que trabaja.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CONCRETAS

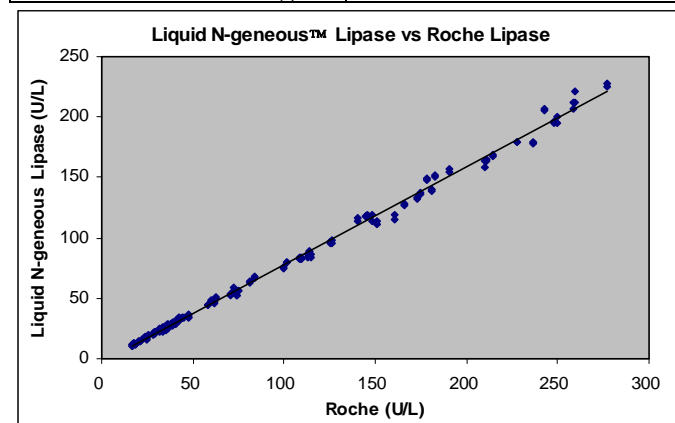
Exactitud

Se llevaron a cabo estudios comparativos con el reactivo Liquid N-geneous™ Lipase Reagent en el analizador clínico Hitachi 912 de Roche y los métodos de prueba de lipasa de Roche Diagnostics y del Lipase Color de Genzyme Diagnostics (LCK) (enzimático/colorimétrico).

En cuanto a la comparación del reactivo de Liquid N-geneous™ Lipase vs Roche, se analizaron 91 muestras de suero, con concentraciones de lipasa comprendidas entre 16,6 y 276,8 U/l durante 2 días. El protocolo seguía las recomendaciones EP9 del NCCLS.⁹

A continuación se ofrece el análisis de regresión:

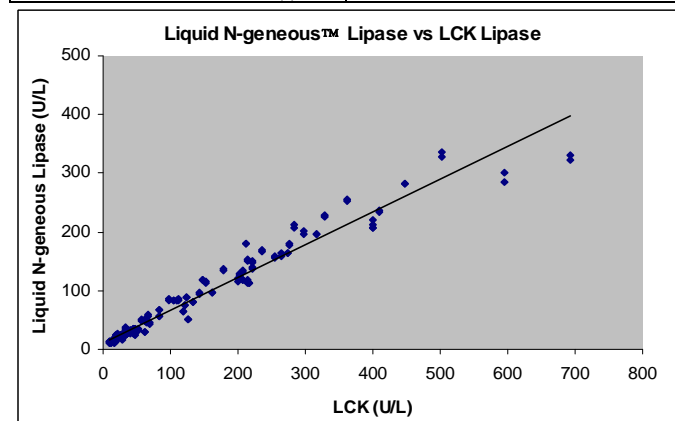
Liquid N-geneous™ Lipase vs Roche (n = 91)	
Pendiente	0,808
Intersección (U/l)	-2,69
Coefficiente de correlación (r)	0,998



Para la Liquid N-geneous™ Lipase vs LCK, se analizaron 97 muestras de suero, con concentraciones de lipasa comprendidas entre 9,2 y 691,9 U/l durante 2 días. El protocolo seguía las recomendaciones EP9 del NCCLS.⁹

A continuación se ofrece el análisis de regresión:

Liquid N-geneous™ Lipase vs LCK (n = 97)	
Pendiente	0,558
Intersección (U/l)	11,48
Coefficiente de correlación (r)	0,978



Precisión

La precisión del reactivo Liquid N-geneous™ Lipase Reagent se determinó analizando las muestras por duplicado, dos veces al día, durante 20 días en el analizador Hitachi 912 de Roche con 20 calibraciones y 4 lotes de reactivos, usando 3 niveles de suero

humano mezclado fresco complementado con lipasa pancreática humana según las recomendaciones EP5 del NCCLS¹⁰. Los siguientes datos se han extraído de un lote representativo.

Precisión intraserial

Mezcla de suero	Recuperación media (U/l)	Desviación estándar (U/l)	CV
Nivel 1	24	0,29	1,2%
Nivel 2	56	0,59	1,0%
Nivel 3	129	0,82	0,6%

Precisión total

Mezcla de suero	Recuperación media (U/l)	Desviación estándar (U/l)	CV
Nivel 1	24	0,56	2,3%
Nivel 2	56	1,16	2,1%
Nivel 3	129	2,47	1,9%

Límite del blanco

El límite del blanco es la concentración que no es posible distinguir de cero mediante estadísticas. Se analizó una solución salina veinte veces con el reactivo Liquid N-geneous™ Lipase Reagent en el analizador Hitachi 912 de Roche y la media más dos desviaciones estándar de una muestra que contenía 0 U/l de lipasa se utilizó para definir el límite de detección: 0,3 U/l

Especificidad

Las siguientes sustancias, con las concentraciones indicadas, no incidieron en el rendimiento (sesgo < 10%) de la prueba Liquid N-geneous™ Lipase en una mezcla de suero con unas 47 U/l de lipasa.⁷

Sustancia	Concentración analizada
Bilirrubina conjugada y no conjugada	60 mg/dl
Hemoglobina	500 mg/dl
Ácido ascórbico	125 mg/dl
Intralipid®	1,2% (3,600 mg/dl trig.)
Glicerol	600 mg/dl
Acetaminofeno (paracetamol)	20 mg/dl
Ácido acetilsalicílico	50 mg/dl
Ampicilina	5 mg/dl
Cafeína	10 mg/dl
Captoprilo	6 mg/dl
Maleato de clorfenamina	0,8 mg/dl
Cimetidina	10 mg/dl
Ciclosporina U	0,8 mg/dl
Hiclato de doxiciclina	6 mg/dl
Furosemida	2 mg/dl
Ibuprofeno	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
Tartrato de metopropol	0,3 mg/dl
Metronidazol	1 mg/dl
Ácido nicotínico	2 mg/dl
Omeprazol	7,2 mg/dl
Prednisona	1,2 mg/dl
Clorhidrato de prometazina	1 mg/dl
Clorhidrato de propranolol	0,5 mg/dl
Sulfato de quinidina	5 mg/dl
Simvastatina	0,8 mg/dl
Teofilina	25 mg/dl
Tolbutamida	100 mg/dl

Linealidad


Con el protocolo EP6¹¹ del NCCLS, el método Liquid N-geneous™ Lipase es lineal de 0,3 a 400 U/l. Las muestras consistieron en mezclas con niveles de mezcla de suero bajas y altas.











Las muestras superiores a 400 U/l se pueden diluir con solución salina fisiológica. Las muestras se pueden diluir dos veces. Multiplique el resultado del factor de dilución para obtener la concentración de lipasa correspondiente a la muestra.

Bibliografía

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.

Definiciones de símbolos

 Este producto cumple los requisitos de la Directiva Europea para productos sanitarios de diagnóstico in vitro

<p> Número de catálogo</p> <p> Producto sanitario para diagnóstico in vitro</p> <p> Límite de temperatura</p> <p> Fabricante</p> <p> Fecha de caducidad</p> <p> Código de lote</p> <p> Consultar las instrucciones de uso</p> <p> Atención, ver instrucciones de uso</p> <p> Irritante</p> <p> Representante autorizado en la Comunidad Europea</p>	
---	--

Fabricante:

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

Abril 2005
80-6674-00-01

N-geneous™ es una marca comercial de Genzyme Corporation.
Intralipid® es una marca comercial registrada de Fresenius Kabi Nutrition AB.