

Order information:

Catalog No.	Contents						
9721	R1	2 x	20 ml	R2	2 x	15 ml	
H8401	Hit I (ILab*)	R1	6 x	47 ml	R2	6 x	30 ml
H8403	Hit 917 (AU*)	R1	6 x	20 ml	R2	6 x	13 ml
AU8404	AU	R1	6 x	60 ml	R2	6 x	40 ml

(*) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi systems

System information:

Hitachi 911/917: ACN 731
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

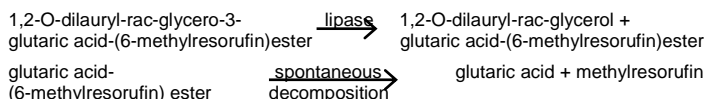
Enzymatic assay for the in vitro quantitative determination of Lipase in human serum and plasma.

Summary:

Lipases are glycoproteins with a molecular weight of 47000 Daltons. They are defined as triglyceride hydrolases which catalyze the cleavage of triglycerides to diglycerides with subsequent formation of monoglycerides and fatty acids. In addition to a-amylase, pancreatic lipases have for many years been undeniably the most important clinical chemistry parameters for the differential diagnosis of diseases of the pancreas. The lipase activity determination has gained increasing international recognition because of its high specificity and rapid response. After acute pancreatitis the lipase activity increases within 4-8 hours, reaches a peak after 24 hours and decreases after 8 to 14 days. However, there is no correlation between the lipase activity determined in serum and the extent of damage to the pancreas. Numerous methods have been described for the determination of lipase which determine the decrease in substrate turbidimetrically or nephelometrically or determine degradation products. This method is based on the cleavage of a specific chromogenic lipase substrate 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester emulsified with bile acids. The pancreatic enzyme activity is determined specifically by the combination of bile acid and colipase used in this assay. Virtually no lipase activity is detected in the absence of co-lipase. Colipase only activates pancreatic lipase, but not other lipolytic enzymes found in serum. The high amount of cholates ensure that the esterases present in the serum do not react with the chromogenic substrate due to the highly negative surface charge.

Test principle:

Enzymatic colorimetric assay
• Sample and addition of R1 (buffer/colipase/cholate)
• Addition of R2 (emulsion/chromogenic substrate/cholate) and start of reaction:



The chromogenic lipase substrate 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester is cleaved by the catalytic action of alkaline lipase solution to form 1,2-O-dilauryl-rac-glycerol and an unstable intermediate, glutaric acid-(6-methylresorufin) ester. This decomposes spontaneously in alkaline solution to form glutaric acid and methylresorufin. The colour intensity of the red dye formed is directly proportional to the lipase activity and can be determined photometrically.

Reagent concentration:

R1:	
Buffer/colipase/cholate BICIN buffer*: pH 8.0	50 mmol/l
colipase (porcine pancreas)	1 mg/l
Na-deoxycholate	1.6 mmol/l
calcium chloride	10 mmol/l
detergent	
preservative	
R2:	
Emulsion/chromogenic substrate/cholate	
Tartrate buffer pH 4.0	10 mmol/l
1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3 glutaric acid-(6-methylresorufin) ester	0.27 mmol/l
taurodeoxycholate	8.8 mmol/l
detergent	
preservative	
*BICIN = N,N-bis(2-hydroxyethyl)-glycine	

Preparation and Stability:

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.
Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C
Onboard stability:
R1: 28 days opened and refrigerated on the Hitachi-analyser
R2: 28 days opened and refrigerated on the Hitachi-analyser
Store protected from light after opening.

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes
Li-, Na- or NH₄- heparin plasma.
Stability: 7 days at +20°C to +25°C
7 days at +4°C to +8°C
1 year at -20°C

EDTA-, oxalate-, fluoride- or citrated plasma lead to decreased results (inhibition of lipase activity). Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial values.
(Only Hitachi): Use the evasion software with SMS for the individual assays in order to avoid cuvette carry-over of triglycerides, cholesterol, HDL cholesterol plus and LDL-cholesterol plus to lipase and probe carry-over of triglycerides and cholesterol to lipase as well as from lipase to calcium.
Icterus: No significant interference up to an index I of 60 (approximate bilirubin concentration: 60 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 500 (approximate haemoglobin concentration: 500 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1000 (approximate triglycerides concentration: 2000 mg/dl).
There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration. The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above
- Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Procedure:	
Wavelength:	570 nm
Temperature:	+37°C
Cuvette:	1 cm
Zero adjustment:	against air
Sample/Calibrator	12 µl
R1	750 µl
Mix and incubate for 5 min. Then add:	
R2	450 µl
Mix and read initial absorbance A ₁ . After 2 minutes read absorbance A ₂ .	
Calculation:	
$\frac{A_2 \text{ sample} - A_1 \text{ sample}}{A_2 \text{ calibrator} - A_1 \text{ calibrator}} \times \text{calibrator conc.} = \text{Lipase conc.}$	

Measuring /reportable range:

Roche/Hitachi 911/917:
Measuring range: 3 - 300 U/l (0.05-5.00 µkat/l)
Determine samples with lipase activity > 300 U/l via the rerun function. Manually dilute the original samples having activities > 3300 U/l (55.00 µkat/l) with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 50). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 51).

Provisional expected values:

Adults: < 60 U/l (<1.00 µkat/l)
In order to relate findings to the lipase reference range obtained using the turbidimetric method, multiply the results (U/l or µkat/l) by the factor 3.2 to obtain an approximate comparison.
Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 3 U/l (0.05 µkat/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable lipase activity that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol. The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control serum 1	34	0.39	1.16
Control serum 2	71	0.51	0.72
Control serum 3	58	0.39	0.67

Sample	day/day		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control serum 1	35	0.23	0.65
Control serum 2	63	0.55	0.87
Control serum 3	72	0.90	1.26

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest LIP Col. (y) with a turbidimetric assay gives the following result:

$$y = 0.304x + 6.563; \quad r = 0.986$$

Quality control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Standardization: The method was standardized against a nephelometric method.

Calibration frequency:

Full recalibration is recommended

- after lot change
 - as required following quality control procedures
- Calibration verification: Not necessary.

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Borgström B. The action of bile salts and other detergents on pancreatic lipase and the interaction with colipase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1977;488:381-391.
2. Gargouri Y, Julien R, Bois A et al. Studies on the detergent inhibition of pancreatic lipase activity. *J of Lipid Research* 1983;24: 1336-1342.
3. Greiling H., Gressner A.M., eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
4. Guder W., Fonseca-Wollheim W., Heil O. et al. Maximum permissible transport and storage times for analysis of blood (serum, plasma), urine and cerebrospinal fluid. *DG Klinische Chemische Mitteilungen* 1995;26:207-224.
5. Kazmierczak S., Catrou P., Van Lente F. Diagnostic accuracy of pancreatic enzymes evaluated by use of multivariate data analysis. *Clin Chem* 1993;39:1960-1965.
6. Keller H., ed. *Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis* 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag, 1991 :354-361
7. Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. *Adv clin Enzymol* 1986;4:60-67.
8. Neumann U. et al. New substrates for the optical determination of lipase. *EP* 207252 (1987).
9. Panteghini M. et al. Diagnostic value of four assays for lipase determination in serum: A comparative reevaluation. *Clin Biochem* 1991 ;24:497-503.
10. Steinberg W.M., Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. *Ann Intern Med* 1985; 102:57fr 580.
11. Tietz N.W. et al. Lipase in serum-the elusive enzyme: An overview. *Clin Chem* 1993;39:746-756.
12. Tietz N.W.. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:865.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
9721	R1 2 x 20 ml R2 2 x 15 ml
H8401 Hit I (ILab*)	R1 6 x 47 ml R2 6 x 30 ml
H8403 Hit 917 (AU*)	R1 6 x 20 ml R2 6 x 13 ml
AU8404 AU	R1 6 x 60 ml R2 6 x 40 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 731
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Enzymatischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Lipase in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

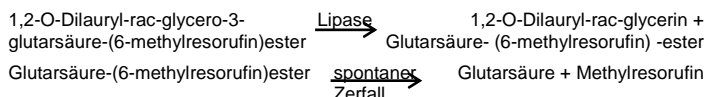
Lipasen sind Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von 47000 Dalton. Sie sind definiert als Triglycerid-Hydrolasen, die die Spaltung von Triglyceriden zu Diglyceriden mit nachfolgender Bildung von Monoglyceriden und Fettsäuren katalysieren. Die Pankreaslipase gehört neben der α -Amylase seit langem unbestritten zu den differentialdiagnostisch wertvollsten klinisch-chemischen Parametern bei Pankreaserkrankungen. Dabei findet die Bestimmung der Lipaseaktivität aufgrund der größeren Spezifität und der schnelleren Freisetzung bei akuten Erkrankungen weltweit immer mehr Anerkennung. Nach einer akuten Pankreatitis steigt die Lipaseaktivität innerhalb von 4 bis 8 Stunden an, erreicht nach 24 Stunden ihren Höchststand und fällt innerhalb von 8 bis 14 Tagen wieder ab. Eine Korrelation zwischen der gemessenen Lipaseaktivität im Serum und dem Ausmaß der Pankreasschädigung besteht jedoch nicht.

Zahlreiche Methoden wurden für die Lipasebestimmung beschrieben, welche die Substratabnahme turbidimetrisch und nephelometrisch messen oder gebildete Spaltprodukte erfassen. Diese Methode beruht auf der Spaltung eines mit Gallensäuren emulgierten spezifischen Lipasefarbsubstrats, dem 1,2-O-Dilauryl-rac-glycero-3-glutarsäure-(6-methylresorufin)-ester. Mit der eingesetzten Kombination aus Gallensäuren und Colipase wird das Pankreasenzym spezifisch erfasst. Bei Abwesenheit von Colipase wird praktisch keine Lipaseaktivität nachgewiesen. Die Colipase aktiviert nur die Pankreaslipase, nicht andere im Serum vorkommende lipolytische Enzyme. Durch den hohen Anteil an Cholesterin ist sichergestellt, dass im Serum vorkommende Esterasen aufgrund der hohen negativen Grenzflächenladung nicht mit dem Farbsubstrat reagieren können.

Testprinzip:

Enzymatischer colorimetrischer Test

- Probe und Addition von R1 (Puffer/Colipase/Cholat)
- Addition von R2 (Emulsion/Chromogenes Substrate/Cholat) und Start der Reaktion:



Das Lipasefarbsubstrat 1,2-O-Dilauryl-rac-glycero-3-glutarsäure-(6-methylresorufin) ester wird unter katalytischer Einwirkung von Lipase in alkalischer Lösung zu 1,2-O-Dilauryl-rac-glycerol und einem instabilen Zwischenprodukt, dem Glutarsäure-(6-methylresorufin) ester, gespalten. Dieser zerfällt in alkalischer Lösung spontan in Glutarsäure und Methylresorufin. Die Farbintensität des gebildeten roten Farbstoffes, direkt proportional zur Lipaseaktivität, wird photometrisch gemessen.

Konzentrationen der Reagenzien:

R1:	
Puffer/Colipase/Cholat BICIN Puffer*: pH 8.0	50 mmol/l
Colipase (Schweinepankreas)	1 mg/l
Natriumdeoxycholat	1,6 mmol/l
Calciumchlorid	10 mmol/l
Detergenzien, Konservierungsmittel	

R2:	
Emulsion/Farbsubstrat/Cholat Tartrat Puffer pH 4.0	10 mmol/l
1,2-O-Dilauryl-rac-glycero	
3 Glutarsäure-(6-methylresorufin) ester	0,27 mmol/l
Taurodesoxycholat	8,8 mmol/l
Detergenzien, Konservierungsmittel	

*BICIN = N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-glycin

Herstellung und Haltbarkeit:

- R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
- R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnete Packungsbestandteile bei +2°C bis +8°C: bis zum angegebenen Verfallsdatum. Nach dem Öffnen lichtgeschützt lagern.

- R1: offen im Kühlfach des Gerätes (Hitachi) 28 Tage.
- R2: offen im Kühlfach des Gerätes (Hitachi) 28 Tage

Probenentnahme und Vorbereitung:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen Li-, Na- oder NH₄-Heparinat-Plasma.

Haltbarkeit:	7 Tage	bei +20°C bis +25°C
	7 Tage	bei +4°C bis +8°C
	1 Jahr	bei -20°C

EDTA-, Oxalat-, Fluorid- und Citrat-Plasma führen zu erniedrigten Wiederfindungen (Hemmung der Lipaseaktivität).

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise:

In vitro Diagnostikum. Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

(Nur für Hitachi:) Um eine Küvettenverschleppung von Triglyceride, Cholesterin, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin auf Lipase sowie eine Nadelverschleppung von Triglyceride und Cholesterin auf Lipase und von Lipase auf Calcium zu vermeiden, ist bei den einzelnen Bestimmungen die Evasion-Software mit SMS einzusetzen.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index 1 von 60 (ca. 60 mg/dl Bilirubin)

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 500 (ca. 500 mg/dl Hämoglobin)

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1 000 (ca. 2000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Testdurchführung:

Anleitungen zur Testdurchführung finden Sie in den gerätespezifischen Anweisungen des entsprechenden Handbuchs und/oder unter den Geräteeinstellungen dieser Packungsbeilage.

Durchführung:	
Wellenlänge:	570 nm
Temperatur:	+37°C
Küvette:	1 cm
Messung:	gegen Luft
Probe/Kalibrator	12 μ l
R1	750 μ l
Mischen und 5 Minuten bei +37°C inkubieren. Dann hinzufügen:	
R2	450 μ l
Mischen und Anfangsabsorption A ₁ messen, nach 2 Minuten Absorption A ₂ .	
Berechnung:	
$\frac{A_2 \text{ Probe} - A_1 \text{ Probe}}{A_2 \text{ Kalibrator} - A_1 \text{ Kalibrator}} \times \text{Kalibrator-Konzentration} = \text{Lipase-Konzentration}$	

Messbereich:

Hitachi 911/917:

Messbereich: 3 - 300 U/l bzw. 0,05 - 5,00 μ kat/l

Proben mit höheren Aktivitäten (>300U/l) werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Aktivitäten > 3300 U/l bzw. 55,00 μ kat/l werden die Originalproben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) oder dest. bzw. entionisiertem Wasser verdünnt (z. B. 1+50). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. Faktor 51).

Vorläufiger Referenzbereich:

Erwachsene: <60 U/l bzw. < 1,00 μ kat/l

Um auf den Referenzbereich von Lipase nach der turbidimetrischen Methode zu beziehen, können die Ergebnisse (U/l bzw. μ kat/l) näherungsweise mit dem Faktor 3,2 multipliziert werden.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Lipaseergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

3 U/l bzw. 0,05 µkat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Lipaseaktivität, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	%VK
Kontrollserum 1	34	0,39	1,16
Kontrollserum 2	71	0,51	0,72
Kontrollserum 3	58	0,39	0,67

Probe	Tag/Tag		
	MW U/l	SD U/l	%VK
Kontrollserum 1	35	0,23	0,65
Kontrollserum 2	63	0,55	0,87
Kontrollserum 3	72	0,90	1,26

Methodenvergleich:

Ein Vergleich der Analyticon Fluitest LIP col (y) mit einem turbidimetrischen Test gab die folgenden Ergebnisse:

$$y = 0,304 x + 6,563; \quad r = 0,986$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
ControPath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibrierung:

S1: Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Kalibrationsverifikation: Nicht erforderlich

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften

Literatur:

1. Borgström B. The action of bile salts and other detergents on pancreatic lipase and the interaction with colipase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1977;488:381-391.y
2. Greiling H, Gressner AM, eds. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
3. Guder W, Fonseca-Wollheim W, Heil O et al. Maximum permissible transport and storage times for analysis of blood (serum, plasma), urine and cerebrospinal fluid. *DG Klinische Chemische Mitteilungen* 1995;26:207-224.y
4. Kazmierczak S, Catrou P, Van Lente F Diagnostic accuracy of pancreatic enzymes evaluated by use of multivariate data analysis. *Clin Chem* 1993;39:1960-1965.
5. Keller H, ed. *Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis* 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag, 1991 :354-361
6. Leybold A, Junge W. Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. *Adv clin Enzymol* 1986;4:60-67y
7. Neumann U et al. New substrates for the optical determination of lipase. *EP* 207252 (1987).y
8. Panteghini M et al. Diagnostic value of four assays for lipase determination in serum: A comparative reevaluation. *Clin Biochem* 1991 ;24:497-503.
9. Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. *Ann Intern Med* 1985; 102:57fr 580.
10. Tietz NW et al. Lipase in serum-the elusive enzyme: An overview. *Clin Chem* 1993;39:746-yy
11. Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:865.