

Lp-PLA₂ FS*

Bestellinformation

Bestellnummer 1 7181 99 10 922
 Packungsgröße  50 (1 x 50)

Verwendungszweck

Diagnostisches Reagenz zur quantitativen in vitro Bestimmung von Lp-PLA₂ (Lipoprotein-assoziierte Phospholipase A₂) in humanem Serum oder Heparinplasma am automatisierten DiaSys respons[®]910.

Zusammenfassung

Lipoprotein-assoziierte Phospholipase A₂ (Lp-PLA₂), auch bekannt als plättchenaktivierender Faktor Acetylhydrolase (PAF-AH), ist eine Calcium-unabhängige Phospholipase, die durch Entzündungszellen in arteriosklerotischen Plaques freigesetzt wird. In der Zirkulation findet sich das Enzym zum überwiegenden Teil mit LDL, im geringen Ausmaß jedoch auch mit HDL assoziiert. Durch Hydrolyse von oxidiertem LDL generiert Lp-PLA₂ zwei Komponenten, die sowohl atherogen, als auch entzündlich wirken: Lysophosphatidylcholin (lyso-PC) und oxidierte freie Fettsäuren (oxFFA). Beide Substanzen spielen eine entscheidende Rolle in der Entstehung von vulnerablen arteriosklerotischen Plaques. Die Lp-PLA₂ Konzentration ist unabhängig vom Auftreten anderer kardiovaskulärer Risikofaktoren, zeigt eine geringe Biovariabilität und ist in systemischen Entzündungsreaktionen nicht erhöht. Lp-PLA₂ ist ein guter Indikator für kardiovaskuläre Risiken und dient als therapeutisches Ziel zur Minimierung dieser Risiken. [1-4]

Methode

UV-Test unter Verwendung von 1-Myristoyl-2-(4-Nitrophenylsuccinyl)-sn-Glycero-3-Phosphocholin

Lp-PLA₂ hydrolysiert die sn-Position des Substrates 1-Myristoyl 2-(4-Nitrophenylsuccinyl)-sn-Glycero-3-Phosphocholin, wodurch 4-Nitrophenylsuccinat entsteht. Nach Abbau in wässriger Lösung entsteht 4-Nitrophenol, welches photometrisch detektiert werden kann. Die Aktivität von Lp-PLA₂ wird durch Änderung der Extinktion bei der definierten Wellenlänge gemessen.

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1: Puffer	pH 7,6	< 500 mmol/L
	EDTA	< 50 mmol/L
R2: Puffer	pH 2,7	< 200 mmol/L
R3: Alkohol		99 %
	1-Myristoyl-2-(4-Nitrophenylsuccinyl)-sn-Glycero-3-Phosphocholin	< 200 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum auf dem Kit angegeben Verfallsdatum verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenz R3 nicht einfrieren und vor Lichteinwirkung und Feuchtigkeit schützen.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- ⚠ Reagenz 3: Achtung. Enthält: Diethylenglykol. H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H373 Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition. P260 Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen. P264 Nach Gebrauch Hände und Gesicht gründlich waschen. P314 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [5].
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung.

Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Reagenz Vorbereitung

Reagenz 2 und Reagenz 3 müssen vorgemischt werden. Aufgrund von hygroskopischen Bestandteilen muss das Reagenz 3 fest verschlossen aufbewahrt werden und sollte nicht länger als 5 min offenstehen. Reagenzien vor dem Mischen auf Raumtemperatur bringen. Stellen Sie sicher, dass sich keine Luftblase auf dem Boden der Reagenzflasche R3 befindet, indem Sie die Flasche zwei bis drei Mal auf den Tisch klopfen.

Pipettieren Sie 250 µL R3 in die R2-Öffnung des Twincontainers.

Vorsichtig mischen, um Schaumbildung zu vermeiden. Im Falle von Ausfällungen vorgemischtes Reagenz bis zur kompletten Homogenisierung stehen lassen.

Stabilität der vorgemischten Reagenzien R2/R3: 8 Wochen bei 2 – 8 °C.

Benötigte Materialien

Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Humanes Serum oder Heparinplasma

Haltbarkeit [6]:

2 Tage	bei	20 – 25 °C
4 Wochen	bei	2 – 8 °C
3 Monate	bei	–20 °C

Nur einmal einfrieren. Kontaminierte Proben verwerfen.

Kalibratoren und Kontrollen

DiaSys TruCal Lipid wird zur Kalibrierung empfohlen. Die Kalibratorwerte für TruCal Lipid sind rückverfolgbar auf den molaren Extinktionskoeffizienten von 4-Nitrophenol. DiaSys TruLab L Level 1 und Level 2 für die interne Qualitätskontrolle messen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestellnummer	Packungsgröße
TruCal Lipid	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL**

****Hinweis:** Zur Rekonstitution von TruLab L Level 2 wird genau 1 mL aqua dest. zugegeben. Bei Analyzern mit Problemen bei der Verarbeitung hochviskoser Lösungen, kann die Rekonstitution alternativ mit genau 1,5 mL destilliertem Wasser durchgeführt werden. **Entsprechende Zielwerte sorgfältig auswählen.** Zur Kennzeichnung von TruLab L Level 2 mit reduziertem Rekonstitutionsvolumen liegen der Reagenzienpackung Ersatzetiketten bei.

TruLab L Level 1 sollte gemäß den Anweisungen rekonstituiert werden, die dem Produkt beiliegen.

Leistungsmerkmale

Die unten genannten exemplarischen Daten können bei unterschiedlichen Messbedingungen leicht abweichen.

Messbereich bis 2000 U/L. Bei höheren Aktivitäten Proben nach manueller Verdünnung mit NaCl-Lösung (9 g/L) oder über Rerun-Funktion nachbestimmen.	
Nachweisgrenze***	50 U/L
Stabilität im Gerät	10 Tage
Kalibrationsstabilität	10 Tage

Störende Substanz	Interferenzen ≤ 10% bis	Analytkonzentration [U/L]
Ascorbinsäure	60 mg/dL	455
	60 mg/dL	907
Bilirubin (konjugiert)	50mg/dL	446
	50 mg/dL	884
Bilirubin (unkonjugiert)	50 mg/dL	414
	50 mg/dL	860
Hämoglobin	1000 mg/dL	425
	1000 mg/dL	904
N-Acetylcystein (NAC)	1500 mg/L	445
	1500 mg/L	898
Lipämie (Triglyceride)	1800 mg/dL	415
	1800 mg/dL	932

Präzision			
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	287	577	842
VK [%]	2,29	1,41	1,80
Totale Präzision CLSI (n=80)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	273	539	778
VK [%]	3,70	3,86	3,56

Methodenvergleich (n=100)	
Test x	DiaSys Lp-PLA ₂ FS
Test y	DiaSys Lp-PLA ₂ FS (verbessert)
Steigung	0,958
Achsenabschnitt	4,21
Korrelationskoeffizient	0,995

*** gemäß CLSI Dokument EP17-A, Vol. 24, No. 34

Umrechnungsfaktor

Lp-PLA₂ [U/L] x 0,0167 = Lp-PLA₂ [µkat/L]

Referenzbereiche [6]

Erwachsene

Männer < 639 U/L

Frauen < 507 U/L

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

- Ridker, P.M.; MacFadyen, J.G.; Wolfert R.L.; Koenig W. Relationship of lipoprotein-associated phospho-lipase A2 mass and activity with incident vascular events among primary prevention patients allocated to placebo or to statin therapy: An analysis from the JUPITER trial. Clin Chem 2012; 58(5):877-886.
- Münzel, T.; Gori, T. Lipoprotein-associated phospholipase A2, a marker of vascular inflammation and systemic vulnerability. Eur Hear J 2009; 30:2829-2831.
- Madjid, M.; Ali, M.; Willerson, J.T. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as a novel risk marker for cardiovascular disease. Tex Heart Inst J 2010; 37(1): 25-39.
- Mannheim, D; Herrmann, J et al. Enhanced expression of Lp PLA2 and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques. Stroke 2008;39:1448-1455.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.
- Personal communication from Prof. Dr. med. Karl Winkler, Universitätsklinikum Freiburg, Germany.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim
Deutschland
www.diasys-diagnostics.com

* Flüssig Stabil

Lp-PLA2 FS

Application for serum and plasma samples

This application was set up and evaluated by DiaSys. It is based on the standard equipment at that time and does not apply to any equipment modifications undertaken by unqualified personnel.

Identification	
This method is usable for analysis:	Yes
Twin reaction:	No
Name:	LpPLA2
Shortcut:	
Reagent barcode reference:	065
Host reference:	065

Technic	
Type:	Linear kinetic
First reagent:[μ L]	200
Blank reagent	Yes
Sensitive to light	
Second reagent:[μ L]	50
Blank reagent	No
Sensitive to light	
Main wavelength:[nm]	405
Secondary wavelength:[nm]	508
Polychromatic factor:	1.0000
1 st reading time [min:sec]	6:00
Last reading time [min:sec]	8:12
Reaction way:	Increasing
Linear Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	1.5000
Linearity: Maximum deviation [%]	
Fixed Time Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	
Endpoint	
Stability: Largest remaining slope	
Prozone Limit [%]	

Reagents	
Decimals	
Units	

Sample	
Diluent	DIL A (NaCl)
Hemolysis:	
Agent [μ L]	0 (no hemolysis)
Cleaner	
Sample [μ L]	0
Technical limits	
Concentration technical limits-Lower	50.0000
Concentration technical limits-Upper	2000.0000
SERUM	
Normal volume [μ L]	2.0
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	2.0
Above normal dilution (factor)	6
URINE	
Normal volume [μ L]	2.0
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	2.0
Above normal dilution (factor)	6
PLASMA	
Normal volume [μ L]	2.0
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	2.0
Above normal dilution (factor)	6
CSF	
Normal volume [μ L]	2.0
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	2.0
Above normal dilution (factor)	6
Whole blood	
Normal volume [μ L]	2.0
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	
Below normal dilution (factor)	
Above normal volume [μ L]	2.0
Above normal dilution (factor)	6

Results	
Decimals	2
Units	U/L
Correlation factor-Offset	0.0000
Correlation factor-Slope	1.0000

Range	
Gender	Male
Age	
SERUM	<=639.00
URINE	
PLASMA	<=639.00
CSF	
Whole blood	
Gender	Female
Age	
SERUM	<=507.00
URINE	
PLASMA	<=507.00
CSF	
Whole blood	

Contaminants	
Please refer to r910 Carryover Pair Table	

Calibrators details	
Calibrator list	Concentration
Cal. 1/Blank	0
Cal. 2	*
Cal. 3	
Cal. 4	
Cal. 5	
Cal. 6	
	Max delta abs.
Cal. 1	0.010
Cal. 2	0.005
Cal. 3	
Cal. 4	
Cal. 5	
Cal. 6	
Drift limit [%]	0.80

Calculations	
Model	X
Degree	1

* Enter calibrator value