

Lp-PLA₂ FS*

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase
1 7181 99 10 936	R1 1 x 20 mL + R2 1 x 4,75 mL + R3 1 x 0,25 mL
1 7181 99 10 937	R1 1 x 10 mL + R2 1 x 3,8 mL + R3 1 x 0,2 mL

Uso Previsto

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa in vitro de la Lp-PLA₂ (fosfolipasa A₂ asociada a las lipoproteínas) en suero humano o plasma heparinizado en equipos fotométricos automatizados.

Resumen

La fosfolipasa A₂ asociada a las lipoproteínas (Lp-PLA₂), también conocido como factor activador de plaquetas acetil hidrolasa (PAF-AH), es una lipasa serina independiente del calcio y que es liberada por células inflamatorias en placas arterioscleróticas. En circulación, la enzima está asociada predominantemente con partículas de LDL mientras que una pequeña fracción de la enzima se liga también a la HDL. Lp-PLA₂ hidroliza las LDL oxidadas para generar dos compuestos aterogénicos e inflamatorios: lisofosfatidilcolina y los ácidos grasos libres oxidados (oxFFA). Ambas sustancias desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de placas vulnerables de ateroma. La concentración de la Lp-PLA₂ es independiente de la presencia de otros riesgos cardiovasculares, demuestra una biovariabilidad mínima y no es elevada en reacciones inflamatorias sistémicas. La Lp-PLA₂ es indicadora beneficiaria para los riesgos cardiovasculares y podría servir de objetivo terapéutico potencial para reducir o minimizar estos riesgos. [1-4]

Método

UV test utilizando 1-miristilo-2-(4-nitrofenil-succinil)-sn-glicero-3-fosfocolina

La Lp-PLA₂ hidroliza la posición sn del sustrato 1-miristilo-2-(4-nitrofenil-succinil)-sn-glicero-3-fosfocolina produciendo así 4-nitrofenil succinato. Tras una degradación en solución acuosa se forma 4-nitrofenol que puede detectarse fotométricamente. La actividad de la Lp-PLA₂ se determina a base de una alteración en la absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas definidos.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Solución amortiguadora	pH 7,6	< 500 mmol/L
	EDTA		< 50 mmol/L
R2:	Solución amortiguadora	pH 2,7	< 200 mmol/L
R3:	Alcohol		99 %
	1-miristilo-2-(4-nitrofenil-succinil)-sn-glicero-3-fosfocolina		< 200 mmol/L

Almacenamiento y Estabilidad

Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración indicada en el kit, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar el reactivo R3, protegerlo de la luz y de la humedad.

Advertencias y Precauciones

- ⚠ Reactivo 3: Atención. Contiene: Dietilen glicol. H302 Nocivo en caso de ingestión. H373 Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. P260 No respirar la niebla/los vapores/el aerosol. P264 Lavarse las manos y la cara concienzudamente tras la manipulación. P314 Consultar a un médico en caso de malestar.
- En casos muy raros, especímenes de pacientes sufriendo de gammapatías podrían acabar en valores falsificados [5].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para el diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos, así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- Únicamente para el empleo profesional.

Manipulación de Desechos

Remitirse a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Los reactivos 2 y 3 deben de ser pre-mezclados antes de su uso. Debido a componentes higroscópicos, el frasco del reactivo 3 tiene que ser conservado bien cerrado. No dejar abierto por más de 5 minutos. Llevar los reactivos a temperatura ambiente antes de homogeneizarlos. Asegurarse de que no quedan burbujas de aire en el fondo del frasco de reactivo R3 golpeando el frasco dos o tres veces sobre la mesa.

Aspirar lentamente con una pipeta el volumen abajo mencionado del reactivo altamente viscoso R3 y transferirlo al frasco del reactivo R2 del mismo kit:

Nº de pedido	Volumen del reactivo R3
1 7181 99 10 936	0,25 mL
1 7181 99 10 937	0,20 mL

Mezclar cuidadosamente para evitar la formación de espuma. En caso de precipitación, dejar el reactivo hasta que sea completamente homogeneizado.

Estabilidad de los reactivos R2/R3 pre-mezclados: 8 semanas de 2 a 8 °C.

Materiales Requeridos

Equipo general de laboratorio

Espécimen

Suero humano o plasma heparinizado

Estabilidad [6]:

2 días	de	20 a 25 °C
4 semanas	de	2 a 8 °C
3 meses	a	-20 °C

Congelar sólo una vez. Desechar las muestras contaminadas.

Procedimiento del Ensayo

Configuración de base en BioMajesty®JCA-BM6010/C

Longitud de onda	410/505 nm
Temperatura	37 °C
Medición	Cinética
Muestra/Calibrador	1,0 µL
Reactivo 1	100 µL
Reactivo 2	25 µL
Adición del Reactivo 2	Ciclo 19 (286 s)
Absorbancia 1	Ciclo 25 (367 s)
Absorbancia 2	Ciclo 32 (464 s)
Calibración	Lineal

Cálculo

Con calibrador

$$\text{Lp-PLA}_2 \text{ [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Cal}} \times \text{Conc. Cal [U/L]}$$

Calibradores y Controles

Se recomienda TruCal Lípido (TruCal Lipid) de DiaSys para la calibración. Los valores del calibrador TruCal Lípido son trazables al coeficiente de absorbanza molar de 4-nitrofenol. Utilizar TruLab L Nivel 1 y Nivel 2 (TruLab L Level 1/Level 2) de DiaSys para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	N° de pedido	Presentación
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 1 mL

Nota: Para reconstituir TruLab L Nivel 2, se añadirá exactamente 1 mL de agua destilada. Efectuar la reconstitución de TruLab L Nivel 1 según las instrucciones que se encuentran en la técnica del producto. **Para marcar el TruLab L, Nivel 2 con volumen de reconstitución reducido, se incluyen etiquetas de sustitución en el kit del reactivo.**

Características

Datos evaluados en BioMajesty® JCA-BM6010/C

Los datos mencionados a continuación como ejemplos podrían diferir ligeramente en el caso de diferentes condiciones de la medición.

Rango de medición hasta 2000 U/L. Cuando los valores exceden este rango, diluir las muestras 1 + 4 con solución NaCl (9 g/L) y multiplicar el resultado por 5.	
Límite de prueba**	50,0 U/L

Sustancia interferente	Interferencias ≤ 10 % hasta
Ácido ascórbico	60 mg/dL
Bilirrubina (conjugada)	50 mg/dL
Bilirrubina (no conjugada)	50 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Lipemia (Triglicéridos)	1800 mg/dL
NAC (acetilcisteína)	1500 mg/L

Precisión			
En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	293	585	848
CV [%]	0,790	0,666	0,774
Precisión total CLSI (n=80)			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	288	572	834
CV [%]	2,48	2,15	2,46

Comparación de métodos (n=100)	
Test x	Lp-PLA ₂ FS de DiaSys
Test y	Lp-PLA ₂ FS de DiaSys (mejorado)
Pendiente	1,03
Intersección	-7,02
Coefficiente de correlación	0,992

** según CLSI documento EP17-A2, Vol. 32, No. 8

Valores de Referencia [6]

Adultos

Hombres < 639 U/L
Mujeres < 507 U/L

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. 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.
2. Münzel, T.; Gori, T. Lipoprotein-associated phospholipase A2, a marker of vascular inflammation and systemic vulnerability. Eur Hear J 2009; 30:2829-2831.
3. 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.
4. Mannheim, D; Herrmann, J et al. Enhanced expression of Lp PLA2 and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques. Stroke 2008;39:1448-1455.
5. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.
6. Personal communication from Prof. Dr. med. Karl Winkler, Universitaetsklinikum Freiburg, Germany.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Líquido Estable