

Lp-PLA₂ FS*

Présentation

Référence

1 7181 99 10 922

Composition du kit

50 (1 x 50)

Emploi Prévu

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de la Lp-PLA₂ (phospholipase A2 associée aux lipoprotéines) dans le sérum humain ou le plasma recueilli sur héparine sur système DiaSys respons[®]910 automatisé.

Intérêt Clinique

La phospholipase A₂ associée aux lipoprotéines (Lp-PLA₂), aussi connue comme facteur d'activation plaquettaire acétylhydrolase (PAF-AH), est une phospholipase indépendante du calcium libérée par des cellules inflammatoires dans la plaque d'athérome. La Lp-PLA₂ est véhiculée dans la circulation associée de manière prédominante avec les particules LDL ; dans une mesure inférieure, l'enzyme se lie aussi à la HDL. Par l'hydrolyse des particules LDL oxydées, la Lp-PLA₂ génère deux composants, qui non seulement ont un effet vasculaire athérogène mais aussi agissent de manière inflammatoire : la lysophosphatidylcholine (lyso-PC) et les acides gras libres (oxFFA). Les deux substances jouent un rôle fondamental lors du développement des plaquettes vulnérables d'athérome. La concentration de la Lp-PLA₂ est indépendante de la présence d'autres facteurs de risque cardiovasculaires, elle montre une biovariabilité minime et n'est pas élevée dans des réactions inflammatoires systémiques. La détermination de Lp-PLA₂ est un indicateur bénéficiaire pour des risques cardiovasculaires et peut même représenter un objectif thérapeutique potentiel pour réduire ces risques. [1-4]

Méthode

Méthode à l'ultraviolet utilisant de la 1-myristoyl-2-(4-nitrophényl-succinyl)-sn-glycéro-3-phosphocoline

Lp-PLA₂ hydrolyse la position sn du substrat 1-myristoyl-2-(4-nitrophényl-succinyl)-sn-glycéro-3-phosphocoline produisant ainsi du 4-nitrophényl-succinate. Après la dégradation en solution aqueuse, du 4-nitrophénol se forme qui peut être détecté photométriquement. L'activité de la Lp-PLA₂ est déterminée par un changement d'absorbance aux longueurs d'onde définies.

Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	Tampon EDTA	pH 7,6	< 500 mmol/L < 50 mmol/L
R2 :	Tampon	pH 2,7	< 200 mmol/L
R3 :	Alcool 1-myristoyl-2-(4-nitrophényl-succinyl)-sn-glycéro-3-phosphocoline		99 % < 200 mmol/L

Conservation et Stabilité

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler le réactif R3, le conserver à l'abri de la lumière et protéger de l'humidité.

Avertissements et Précautions d'Emploi

- ⚠ Réactif 3 : Attention. Contient : Diéthylène glycol. H302 Nocif en cas d'ingestion. H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée. P260 Ne pas respirer les brouillards/vapeurs/aérosols. P264 Se laver les mains et le visage soigneusement après manipulation. P314 Consulter un médecin en cas de malaise.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs fausses [5].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel.

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation du Réactif

Les réactifs 2 y 3 doivent être pré-mélangés avant l'utilisation. Dû à des composants hygroscopiques, le flacon du réactif 3 doit être conservé hermétiquement fermés et ne pas être laissé ouvert plus long que 5 minutes. Laisser revenir les réactifs à température ambiante avant l'homogénéisation. Vérifiez qu'il n'y reste pas de bulles d'air au fond du flacon de réactif R3 en tapant le flacon deux à trois fois sur la table.

Transférer 250 µL du réactif 3 dans le récipient prévu pour le réactif 2 du flacon duo par pipetage.

Agiter légèrement pour éviter la formation de mousse. En cas de précipitation, laisser le réactif jusqu'à ce qu'il soit complètement homogénéisé.

Stabilité des réactifs R2/R3 pré-mélangés : 8 semaines entre +2 °C et +8 °C.

Matériels Nécessaires

Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum humain ou plasma recueilli sur héparine

Stabilité [6] :

2 jours	entre	+20 °C et +25 °C
4 semaines	entre	+2 °C et +8 °C
3 mois	à	-20 °C

Une seule congélation. Éliminer les échantillons contaminés.

Calibrants et Contrôles

TruCal Lipid de DiaSys est recommandé pour la calibration. Les valeurs du calibrant TruCal Lipid sont établies par rapport au coefficient d'extinction molaire de 4-nitrophénol. Utiliser TruLab L Niveau 1 et Niveau 2 (TruLab L Level 1/Level 2) de DiaSys pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Présentation
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

Note : Pour reconstituer TruLab L niveau 2, ajouter exactement 1 mL d'eau distillée. Effectuer la reconstitution de TruLab L Niveau 1 selon les instructions données dans la notice du produit. **Pour labelliser le Niveau 2 du TruLab L avec un volume de reconstitution réduit, des étiquettes de remplacement sont inclus dans le coffret du réactif.**

Performances

Les données exemplaires citées en bas peuvent varier légèrement en cas de conditions de mesure déviantes.

Domaine de mesure jusqu'à 2000 U/L. En cas d'activité plus élevées, mesurer les spécimens une seconde fois après une dilution manuelle avec du NaCl (9 g/L) ou avec la fonction rerun.	
Limite de détection**	50 U/L
Stabilité à bord de l'analyseur	10 jours
Stabilité de calibration	10 jours

Substance interférente	Interférences ≤ 10% jusqu'à	Concentration de l'analyte [U/L]
Acide ascorbique	60 mg/dL	455
	60 mg/dL	907
Bilirubine (conjuguée)	50 mg/dL	446
	50 mg/dL	884
Bilirubine (non conjuguée)	50 mg/dL	414
	50 mg/dL	860
Hémoglobine	1000 mg/dL	425
	1000 mg/dL	904
NAC (N-acétylcystéine)	1500 mg/L	445
	1500 mg/L	898
Lipémie (Triglycérides)	1800 mg/dL	415
	1800 mg/dL	932

Précision			
Intra série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [U/L]	287	577	842
CV [%]	2,29	1,41	1,80
Précision totale CLSI (n=80)			
	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [U/L]	273	539	778
CV [%]	3,70	3,86	3,56

Comparaison de méthodes (n=100)	
Test x	Lp-PLA ₂ FS de DiaSys
Test y	Lp-PLA ₂ FS de DiaSys (amélioré)
Pente	0,958
Ordonnée à l'origine	4,21
Coefficient de corrélation	0,995

** selon CLSI document EP17-A, Vol. 24, No. 34

Facteur de Conversion

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

Valeurs Usuelles [6]

Adultes

Hommes < 639 U/L

Femmes < 507 U/L

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références Bibliographiques

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 Allemagne
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Liquide & Stable

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:	

Technic	
Type:	Linear kinetic
First reagent:[μ L]	200
Blank reagent	Yes
Sensitive to light	
Second reagent:[μ L]	50
Blank reagent	Yes
Sensitive to light	
Main wavelength:[nm]	405
Secondary wavelength:[nm]	508
Polychromatic factor:	1.000
1 st reading time [min:sec]	6:00
Last reading time [min:sec]	8:12
Reaction way:	Increasing
Linear Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	1.50
Linearity: Maximum deviation [%]	
Fixed Time Kinetics	
Substrate depletion: Absorbance limit	
Endpoint	
Stability: Largest remaining slope	
Prozone Limit [%]	

Reagents	
Decimals	
Units	

Sample	
Diluent	System water
Hemolysis:	
Agent [μ L]	0 (no hemolysis)
Cleaner	
Sample [μ L]	0
Technical limits	
Concentration technical limits-Lower	50
Concentration technical limits-Upper	2000
SERUM	
Normal volume [μ L]	2
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	10
Below normal dilution (factor)	1
Above normal volume [μ L]	2
Above normal dilution (factor)	6
URIN	
Normal volume [μ L]	2
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	10
Below normal dilution (factor)	1
Above normal volume [μ L]	2
Above normal dilution (factor)	6
PLASMA	
Normal volume [μ L]	2
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	10
Below normal dilution (factor)	1
Above normal volume [μ L]	2
Above normal dilution (factor)	6
CSF	
Normal volume [μ L]	2
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	10
Below normal dilution (factor)	1
Above normal volume [μ L]	2
Above normal dilution (factor)	6
Whole blood	
Normal volume [μ L]	2
Normal dilution (factor)	1
Below normal volume [μ L]	10
Below normal dilution (factor)	1
Above normal volume [μ L]	2
Above normal dilution (factor)	6

Results	
Decimals	2
Units	U/L
Correlation factor-Offset	0.000
Correlation factor-Slope	1.000

Range	
Gender	Male
Age	
SERUM	<=639
URINE	
PLASMA	<=639
CSF	
Whole blood	
Gender	Female
Age	
SERUM	<=507
URINE	
PLASMA	<=507
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 [%]	0.8

Calculations	
Model	X
Degree	1

* Enter calibrator value