

MAGLUMI[®] LP-PLA2 (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de la fosfolipasa A2 asociada con lipoproteína (Lp-PLA2) en suero humano con el analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La Lp-PLA2 (fosfolipasa A2 asociada con lipoproteína), también conocida como acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas, es una enzima inflamatoria específica vascular, predominantemente expresada por macrófagos, linfocitos y células espumosas en placas ateroscleróticas^{1,2}. La Lp-PLA2 circulante está principalmente asociada con las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B; por lo tanto, está estrechamente asociada con la lipoproteína de baja densidad (LDL)^{3,4}. La enzima hidroliza los fosfolípidos oxidados en partículas de LDL dentro de la íntima arterial, lo que genera dos mediadores altamente inflamatorios, lisofosfatidilcolina y ácidos grasos no esterificados oxidados, con efectos proinflamatorios y de proaterosclerosis⁵⁻⁷. Por lo tanto, la liberación de Lp-PLA2 también puede interpretarse como un indicador excelente de la respuesta proinflamatoria^{8,9}. Detectar el nivel de Lp-PLA2 en el sistema circulatorio puede ser un predictor independiente de enfermedad cardiovascular¹⁰.

Muchos importantes estudios confirman una fuerte asociación entre los niveles de Lp-PLA2 y el riesgo cardiovascular entre diferentes poblaciones^{11,12}. Debido a que la Lp-PLA2 está implicada en la vía causal de la inflamación de placa y la ruptura de placa, las pruebas de detección de Lp-PLA2 representan una valiosa herramienta coadyuvante que va más allá de la evaluación tradicional del riesgo cardiovascular.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de Lp-PLA2 es un inmunoensayo de quimioluminiscencia sándwich.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el búfer, el ABEI marcado con otro anticuerpo monoclonal anti-Lp-PLA2 y las microperlas magnéticas recubiertas con otro anticuerpo monoclonal anti-Lp-PLA2 se mezclan completamente y se incuban, para formar un sándwich de inmunocomplejos. Después de la precipitación en un campo magnético, el sobrenadante se decanta. Luego, se realiza un ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades de luz relativas (RLU), que es proporcional a la concentración de Lp-PLA2 presente en las muestras (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componente	Contenido	100 pruebas (REF: 130206015M)	50 pruebas (REF: 130606015M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-Lp-PLA2, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Lp-PLA2, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Lp-PLA2, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Búfer	Con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Marca de ABEI	Anticuerpo monoclonal anti-Lp-PLA2 marcado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	7,5 ml	4,5 ml
Control 1	Lp-PLA2, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml
Control 2	Lp-PLA2, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.: 130299005M
Comprobación de luz	REF.: 130299006M
Vaso de reacción	REF.: 130105000101

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método se estandarizó de acuerdo con la sustancia de referencia interna de SNIBE.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos (10 calibraciones) y una curva principal proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID) del reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada intercambio de lotes (reactivo o reactivos iniciadores).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.

- Si los controles están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI. Para obtener instrucciones de uso y el valor objetivo, consulte **Información de control de calidad de Lp-PLA2 (CLIA)**. El usuario necesita evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de analito obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con su distribuidor o proveedor de soporte técnico local para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándar o tubos que contengan gel de separación. Extraiga la sangre de manera aséptica siguiendo las precauciones universales para la venopunción.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras de suero haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina puede producir resultados erróneos. Las muestras deben estar libres de fibrina y otras partículas.
- No use muestras hemolizadas o con una marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite repetir los ciclos de congelación y descongelación. La muestra puede congelarse y descongelarse una sola vez. Las muestras se deben mezclar bien después de descongelarse.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben trasladarse a un vaso de muestra o un tubo secundario. Se debe tener cuidado para transferir solo la muestra clarificada sin el material lipídico.
- Todas las muestras (muestras de pacientes y controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener un análisis más detallado sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras retiradas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo pueden almacenarse hasta 72 horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Las muestras pueden almacenarse hasta 60 días congeladas a -20 °C o menos. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex).
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador de suero, los glóbulos rojos o el coágulo. Al enviarse, las muestras deben embalarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas. Las muestras deben enviarse congeladas.
- El volumen de muestra necesario para una única determinación de Lp-PLA2 es de 20 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS



- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben desecharse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y una muestra.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo. Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía. Es posible seguir utilizando el kit después del período de apertura o en el sistema si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

La dilución de la muestra mediante el analizador no está disponible en este kit de reactivos.

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición pueden diluirse manualmente. La dilución recomendada es 1:9. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Elija diluyentes aplicables o pida asesoramiento a SNIBE antes de la dilución manual.

Efecto prozona de dosis alta

En el caso del ensayo de Lp-PLA2, no se observó un efecto prozona de dosis alta cuando las muestras contenían hasta 10 000 ng/ml de Lp-PLA2.

LIMITACIÓN

- Se requiere una técnica hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables.
- La contaminación bacteriana o la inactivación por calor de las muestras pueden afectar los resultados del examen.
- Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de la enfermedad, y debe interpretarse junto con el cuadro clínico del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
- Los resultados de la prueba se notifican cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de una sola prueba, sino que debe determinarse en función de los hallazgos clínicos combinados con el criterio médico.
- Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
- Las muestras de los pacientes humanos con anticuerpos antiirritón (HAMA) pueden mostrar un falso aumento o una falsa disminución de valores. Aunque se incorporan agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones de HAMA en suero extremadamente altas, en ocasiones, pueden influir en los resultados.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de Lp-PLA2 de cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se expresan en ng/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de Lp-PLA2 se obtuvo de 256 personas aparentemente sanas en China, y dio el siguiente valor de referencia: < 200 ng/ml (percentil 90) < 250 ng/ml (percentil 95).

Puesto que no existe ningún material estándar internacional para Lp-PLA2, cada fabricante de diagnósticos *in vitro* tiene una cadena de trazabilidad diferente. Por lo tanto, los resultados de los ensayos de otros fabricantes no pueden utilizarse indistintamente. Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Si es necesario, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de Lp-PLA2 se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por su sigla en inglés). Se probaron tres grupos de suero humano y dos controles con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. El resultado se resume en la siguiente tabla:

Muestra	Media (ng/ml) (N=80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV
Grupo de suero 1	17,917	1,046	5,84	0,811	4,53	1,324	7,39
Grupo de suero 2	279,796	10,130	3,62	9,836	3,52	14,119	5,05
Grupo de suero 3	559,874	8,841	1,58	16,203	2,89	18,458	3,30
Control 1	252,046	12,986	5,15	0,000	0,00	12,986	5,15
Control 2	469,512	14,059	2,99	13,915	2,96	19,780	4,21

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de Lp-PLA2 es de 1,0 ng/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de Lp-PLA2 es de 2,0 ng/ml.

Rango de medición

1,0 a 1000 ng/ml (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 1,0 ng/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 1000 ng/ml.

Linealidad

El ensayo es lineal entre 2,0 ng/ml y 1000 ng/ml, sobre la base de un estudio realizado con la orientación del documento EP6-A del CLSI. Se prepararon nueve niveles de muestras distribuidos uniformemente por adición de una muestra de suero que contenía 1050 ng/ml de Lp-PLA2, con una muestra de suero libre de Lp-PLA2 (0,0 ng/ml). La media de recuperación de la muestra osciló entre el 90 % y el 110 %.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 1139 muestras en el rango de 11,34 a 993 pg/ml mediante el ensayo de Lp-PLA2 y un inmunoensayo disponible comercialmente. Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y=0,9809x+5,3336$, $r^2=0,9887$.

Especificidad analítica

Se realizaron estudios para comparar suero que contenga los siguientes compuestos en las concentraciones indicadas con muestras de suero. En la siguiente tabla se enumeran las sustancias probadas y la concentración a la que no se observó interferencia significativa:

Reactantes cruzados	Concentración
Atorvastatina	140 µmol/l
Sulfato de clopidogrel	140 µmol/l
Aspirina	3300 µmol/l
Fenofibrato	125 µmol/l
Pravastatina	10 µmol/l
Vitamina C	227 µmol/l
Lisinopril	0,74 µmol/l

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 40 mg/dl
- Triglicérido 1000 mg/dl
- Hemoglobina 2000 mg/dl
- HSA 70 mg/ml
- RF 1500 IU/ml
- HAMA 30 ng/ml
- ANA +++ (muestra con resultado positivo alto)

REFERENCIAS

1. Hakkinen T, Luoma JS, et al. (1999). Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 2909-17.
2. Kudo I and Murakami M. (2002). Prostaglandins Other Lipid Mediat 68-69: 3-58.
3. Caslake MJ, Packard CJ, et al. (2000). Atherosclerosis 150: 413-9.
4. Witztum JL. (1994). Lancet 344: 793-5.
5. Chisolm GM and Steinberg D. (2000). Free Radical Biol Med 28: 1815-26.
6. Kolodgie FD, Burke AP, et al. (2006). Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 2523-9.
7. Macphee CH and Suckling KE. (2002). Expert Opin Ther Targets 6: 309-14.
8. Macphee CH. (2001). Curr Opin Pharmacol 1: 121-5.
9. Macphee CH, Moores KE, et al. (1999). Biochem J 338: 479-87.
10. Packard CJ, O'Reilly DS, et al. (2000). N Engl J Med 343: 1148-55. 309.
11. Lerman A and McConnell JP (2008). Am J Cardiol 101 (Suppl): 11F-22F.
12. Wolfert RL, Kim NW, et al. (2004). Circulation 110: Suppl 3:



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel: +86-755-21536601

Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel: +49-40-2513175

Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener alejado de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote