

Instruções de UsoSomente para uso diagnóstico *in vitro***Lp-PLA₂ FS*****ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.**PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907 2534 / 0800 015 1414 / sac@biosys.com.br**Reagente de diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de Lp-PLA₂ (Fosfolipase A₂ associada à lipoproteína) em soro e plasma em sistemas fotométricos.****Somente para diagnóstico de uso *in vitro*****Nº de lote data de fabricação e validade:** ver rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
1 7181 99 10 936	R1 1x20mL + R2 1x4,75mL + R3 1x0,25mL

SUMÁRIO [1,4]

A fosfolipase A₂ associada à lipoproteína (Lp-PLA₂), também conhecida como o fator ativador de plaquetas, acetilhidrolase (PAF-AH) é uma fosfolipase, independente de cálcio liberada por células inflamatórias em placas ateroscleróticas. Na circulação, Lp-PLA₂ é predominantemente associada com partículas LDL, enquanto que apenas uma pequena porção da enzima esta associado ao HDL. A Lp-PLA₂ hidrolisa LDL oxidado para gerar dois compostos pró-aterogênicos e pró-inflamatórios: Lisofosfatidilcolina (lyso-PC) e ácidos graxos oxidados livres (oxFFA). Ambas as substâncias exercem um papel importante no desenvolvimento de placas ateroscleróticas vulneráveis. A concentração de Lp-PLA₂ depende da presença de outros fatores de cardiovasculares de risco, exibe uma variabilidade biológica mínima e não é elevada em reações inflamatórias sistêmicas. A Lp-PLA₂ é um indicador benéfico pertinente aos riscos de doenças cardiovasculares (CVD) e poderá representar um alvo terapêutico em potencial para a redução de tais riscos.

MÉTODO

Teste fotométrico utilizando 1-miristoil-2-(4-nitrofenil-succinil)-sn-glicero-3-fosfocolina.

PRINCÍPIO

A Lp-PLA₂ hidrolisa a posição sn do substrato 1-miristoil-2-(4-nitrofenil-succinil)-sn-glicero-3-fosfocolina, produzindo 4-nitrofenil succinato. Após degradação em solução aquosa, o 4-nitrofenol desenvolvido pode ser detectado fotometricamente. A atividade do Lp-PLA₂ é determinada por uma alteração na absorção nos comprimentos de onda definidos.

REAGENTES

Componentes e Concentrações:

R1⇒	Tampão	pH 7.6	< 500 mmol/L
	EDTA		< 50 mmol/L
R2⇒	Tampão	pH 2.7	< 200 mmol/L
R3⇒	Álcool		99%
	1-miristoil-2-(4-nitrofenilsuccinil)-sn-glicero-3-fosfocolina		< 200 mmol/L

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o final do mês indicado na validade se forem armazenados à 2 – 8 °C e evitando-se a contaminação. Não congelar os reagentes.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Reagente 3 é irritante e altamente inflamável.
R11: Altamente inflamável, R41: Risco de causar sérios danos aos olhos. R67: A inalação dos vapores pode causar tontura e vertigem. S7: Manter o recipiente bem fechado. S16: Manter afastado de fontes de ignição. – Não Fumar. S24: Evitar o contato com a pele. S26: Em caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com bastante água e buscar auxílio médico. S39: Usar proteção ocular/facial. P312: Ligue para o centro de envenenamento ou médico, caso tenha um mal estar.
- Em casos muito raros, amostras de pacientes com gamopatias podem apresentar falsos resultados.
- Consulte a ficha de segurança e tome as precauções necessárias

quanto ao uso de reagentes de laboratório. Para finalidades de diagnóstico, os resultados deverão ser sempre avaliados com o histórico médico, exames clínicos e outros achados do paciente.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, revisão em vigor.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O reagente 2 e o reagente 3 deverão ser misturados previamente ao uso. Devido a componentes higroscópicos, o reagente 3 deverá ser armazenado bem fechado, e não deverá ficar aberto por mais de 5 minutos.

Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes da mistura. Transferir 0,25 mL de R3 para dentro do frasco de reagente de R2 (que contém exatamente 4,75 mL) com o uso de uma pipeta. Misturar bem, gentilmente, para evitar espuma. Em caso de precipitação deixar o reagente pré-misturado repousar até que fique totalmente homogêneo.

Estabilidade da pré-mistura R2/R3: 8 semanas armazenado a 2-8°C.

MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS

Solução NaCl 9 g/L. Equipamento geral de laboratório.

AMOSTRA

Soro, Plasma heparinizado ou plasma EDTA.

Estabilidade [5]:	4 semanas	à	2 – 8 °C
	2 dias	à	20 – 25 °C
	3 meses	à	-20 °C

Descartar amostras contaminadas!

Congelar somente uma vez!

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando solicitadas ou em nosso site www.biosys.com.br

Comprimento de onda:	405nm/505nm (bicromático)
Caminho óptico:	1 cm
Temperatura:	37 °C
Medição:	Contra o branco do reagente

Amostra/Calibrador	Branco	Amostra/Calibrador
Amostra/Calibrador	-	10 µL
Água Destilada	10 µL	-
Reagente 1	1000 µL	1000 µL
Misturar, incubar por aproximadamente a 5 minutos e adicionar:		
Reagente 2	250 µL	250 µL
Misturar, ler a absorbância após 2 minutos e disparar o cronômetro. Após exatamente 1, 2 e 3 minutos, lera absorbância novamente.		

CÁLCULOS

Com calibrador

$$Lp - PLA2 \text{ (U/L)} = \frac{\Delta A / \text{min. Amostra}}{\Delta A / \text{Cal. Min}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$$

CALIBRADORES E CONTROLES

Para a calibração de sistemas fotométricos automáticos, o calibrador TruCal Lipid da DiaSys é recomendado. Este método é rastreável ao coeficiente de extinção molar do 4-nitrofenol. Para o controle de qualidade interno, o controle TopKon L deve ser utilizado. Cada laboratório deve estabelecer ação corretiva em casos de variação da recuperação do controle

	Apresentação
TruCal Lipid	3 x 2 mL
TopKon L	1 x 3 mL 2 x 3 mL

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Faixa de Medição

O teste foi desenvolvido para determinar atividades da Lp-PLA₂ de 50 U/L até 2000 U/L.

Especificidades / Interferentes

Nenhuma interferência foi observada por ácido ascórbico até 50 mg/dL, bilirrubina até 50 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/dL e lipemia até 2000 mg/dL de triglicerídeos.

Sensibilidade / Limite de Detecção

O limite mínimo de detecção é de 10 U/L.

Precisão

Precisão intra-ensaio n = 20	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	319	2,02	0,63
Amostra 2	633	4,40	0,69
Amostra 3	1113	7,98	0,72
Precisão total CLSI n = 80	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	314	4,80	1,53
Amostra 2	625	10,0	1,61
Amostra 3	1105	13,3	1,20

Comparação de Métodos

Uma comparação entre Lp-PLA₂ FS DiaSys (y) e um teste de atividade (x) usando 97 amostras, obteve os seguintes resultados:
 $y = 0.909 x - 4.28 \text{ U/L}$; $r = 0.999$

VALORES DE REFERÊNCIA [5]

Homens < 639 U/L

Mulheres < 507 U/L

Cada laboratório deve verificar se os valores de referência estão de acordo com a sua população de pacientes e determinar seus próprios valores de referência, se necessário.

LITERATURA

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. Personal communication from Prof. Dr. med. Karl Winkler, Universitaetsklinikum Freiburg, Germany

Fabricado por: **DiaSys Diagnostic Systems GmbH**

Importado e Distribuído por: **BioSys Ltda**

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

MS – nº 10350840249

SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.biosys.com.br

