

脂蛋白相关磷脂酶 A2（Lp-PLA2）测定试剂盒（酶联免疫吸附法）说明书

【产品名称】

通用名称：脂蛋白相关磷脂酶A2（Lp-PLA2）测定试剂盒（酶联免疫吸附法）

英文名称：Lipoprotein-associated Phospholipase A2(Lp-PLA2) Determination Kit (ELISA)

【包装规格】

24 人份/盒；48 人份/盒；96 人份/盒；

【预期用途】

用于体外定量测定人血浆中脂蛋白相关磷脂酶 A2（Lp-PLA2）的浓度。

Lp-PLA2 属于磷脂酶 A2 超家族，是由 441 个氨基酸残基组成的一种丝氨酸脂酶，相对分子量为 45kD。Lp-PLA2 不需要钙离子维持其催化活性^[1]，其具有降解血小板活化因子的活性。血液中 Lp-PLA2 主要由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞合成和分泌，以与脂蛋白颗粒结合的形式存在，并在动脉粥样硬化部位大量存在，可被炎症介质调节，参与粥样斑块形成的开始、过程和最终破裂^[2]。具有活性的 Lp-PLA2 能通过水解氧化低密度脂蛋白分子中的氧化磷脂，使其产生促炎症物质溶血卵磷脂和氧化型游离脂肪酸而引起促动脉粥样硬化作用，与冠状动脉粥样硬化的发生、发展密切相关^[3]。

Lp-PLA2 还是一种与脑血管病有关的炎性标志物，具有促进颈动脉粥样硬化（AS）的作用，能增加缺血性脑卒中风险^{[4] [5]}。Lp-PLA2 能够反映动脉粥样硬化炎症水平，是独立的心脑血管疾病预测指标，与心脑血管疾病呈线性相关^[6]。检测人体循环内 Lp-PLA2 的浓度，可以作为预测未来冠心病、缺血性脑卒中等心脑血管疾病的一个新的、独立的检测指标^[7]。

【检验原理】

本试剂盒采用双抗体夹心法测定样本中 Lp-PLA2 的浓度：微孔板包被抗 Lp-PLA2 抗体，与被分析物和标准品/质控品中的 Lp-PLA2 抗原结合，辣根过氧化物酶（HRP）标记的抗 Lp-PLA2 抗体与抗原的其他位点结合，形成“三明治”的抗体-抗原-抗体复合物。HRP 催化底物四甲基联苯胺（TMB）转化成蓝色的物质，终止后呈黄色，在波长 450nm 处有吸收峰，颜色的深浅与样品中 Lp-PLA2 抗原的浓度相关。通过酶标仪检测标准品和样本吸光度（OD 值），根据 OD 值和标准曲线计算出 Lp-PLA2 的浓度值。

【主要组成成分】

组成	规格			主要组成成分
	24 人份/盒	48 人份/盒	96 人份/盒	
酶结合物	3ml/瓶	5ml/瓶	10ml/瓶	辣根过氧化物酶标记的兔抗人 Lp-PLA2 多克隆抗体，磷酸盐缓冲液（20mM、PH7.4），0.25%牛血清白蛋白
终止液	3ml/瓶	5ml/瓶	10ml/瓶	1M 硫酸
样品缓冲液	3ml/瓶	4ml/瓶	8ml/瓶	三羟甲基氨基甲烷（Tris）缓冲液（50mM、PH7.8），0.1%牛血清白蛋白
浓缩洗液（20×）	15ml/瓶	25ml/瓶	50ml/瓶	磷酸盐缓冲液（20mM、PH7.4），1%吐温 20

底物 A	2ml/瓶	3ml/瓶	5ml/瓶	柠檬酸盐缓冲液（0.1M，pH3.9）
底物 B	2ml/瓶	3ml/瓶	5ml/瓶	20mg/ml 四甲基联苯胺
微孔包被板	24 孔/板×1	48 孔/板×1	96 孔/板×1	包被鼠抗人 Lp-PLA2 单克隆抗体
校准品 A～F	0.5ml/瓶×6	0.5ml/瓶×6	0.5ml/瓶×6	Lp-PLA2 抗原、20mM 磷酸盐缓冲液 PH7.4、3%牛血清白蛋白、每套含 A～F 校准品冻干粉各一瓶，其复溶后目标浓度分别为 0、25、50、100、250、500ng/ml
质控品 C1、C2	0.5ml/瓶×2	0.5ml/瓶×2	0.5ml/瓶×2	Lp-PLA2 抗原、20mM 磷酸盐缓冲液 PH7.4、3%牛血清白蛋白、每套目标浓度范围 C1（45-120ng/ml）和 C2（200-500ng/ml）冻干粉各一瓶
盖膜	1 张	1 张	2 张	白色不干胶纸

注：校准品靶值批特异，详见瓶签；质控品质控范围靶值批特异，详见瓶签，不同批号试剂盒中各组分不可以互换使用。

【储存条件及有效期】

2℃～8℃保存，防止冷冻，有效期为 12 个月。

试剂盒打开包装后请尽快一次性用完，各试剂组分不可重复使用。

生产日期及使用期限见标签。

【适用仪器】

本试剂盒需要用酶标仪进行检测，酶标仪的检测波长为 450nm。

【样本要求】

- 利用无菌静脉穿刺方法采集血液样本 3～5ml 于 EDTA 抗凝管中，并在两个小时之内分离血浆。
- 血浆分离后保存于 2℃～8℃，24 小时内测定；超过 24 小时，则应将分离的血浆分装后置-20℃保存 90 天，并应避免受试样本反复冻融。

【检验方法】

1、试验步骤

- 将试剂盒取出放在（20℃～26℃）平衡，时间不少于 15 分钟；
- 浓缩洗液(20×)用纯化水 20 倍稀释备用；
- 将标准品、质控品冻干粉每瓶加入 0.5ml 的纯化水，轻轻震荡混匀 5 分钟（溶解后的标准品、质控品一次性用完，不可长时间保存重复使用）；
- 在包被板上每孔中加入 100μl 的 Lp-PLA2 标准品，20μl 质控品或待测样本，质控或待测样本孔中再加入 80 μl 样品缓冲液，盖膜后在 10℃~30℃下 600～800rpm/min 振荡反应 45 分钟；
- 弃去包被板中的液体混合物，在吸水纸上拍干，每孔加 400μl 洗液洗板 4 次，洗完后再在吸水纸上拍干；

- (6) 每孔加酶结合物 100μl，盖膜后在 10℃~30℃下 600~800rpm/min 振荡 45 分钟；
- (7) 弃去包被板中的液体混合物，在吸水纸上拍干，每孔加 400μl 洗液洗板 4 次，洗完后在吸水纸上拍干；
- (8) 每孔加底物混合液 100μl（底物 A 和底物 B 使用前 15~60 分钟等体积混合在一起，避光待用），盖膜后 37℃孵育 20 分钟；
- (9) 每孔加终止液 100μl 混匀，终止反应；在 15 分钟内读取 OD 值，酶标仪检测波长为 450nm。

2、试验结果计算

- (1) 建立标准曲线：以标准品各点的浓度为横轴（X 轴）、标准品各点的 OD 值为纵轴（Y 轴）绘制标准曲线。
- (2) 利用酶标仪所带的软件或 ELISA 相关数学拟合软件，将质控或待测样本 OD 值代入标准曲线，计算质控或待测样品浓度值。
- (3) 定量结果计算方法：二次曲线数学模型拟合

【参考区间】

经过对 397 例正常人群实验，被分析物浓度在研究水平上经采用统计方法呈规则的正态分布，取单侧 95%的正常人 EDTA 抗凝血浆建立该试剂盒的正常参考值范围为：≤167ng/ml。

建议每个实验室应考虑参考区间的适用性，自行确定本实验室的参考值。

【检验结果的解释】

1. 质控品的检测结果必须在质控范围之内，否则实验结果不符合可接受范围，视为无效，需重复进行试验。
2. 检测结果在正常人参考值范围内，则视为正常；检测结果高于正常人参考值范围，则提示体内可能存在动脉粥样硬化炎症反应以及脑卒中的风险。
3. 若检测结果低于 20ng/ml，不能说明样本中 Lp-PLA2 含量一定低于本试剂的有效检测下限，不排除样本中存在高水平的干扰物质，如溶血样本、高血脂样本等。该情况应结合样本状况及患者的病史、症状等做出正确判断。
4. 若检测结果异常偏高，可能为样本中而存在某些干扰物质，产生交叉反应。该情况应采用其他检测试剂或实验方法进行检测。

【检验方法的局限性】

1. 检测结果在线性范围（20，450）ng/ml 之外为非线性的，因此无法得到精确的检测结果。
2. 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，不能单独作为确认或排除病例的依据，此检测结果需与临床检查、病史和其它检测手段结合使用。

【产品性能指标】

1.外观

试剂盒各组分齐全、完整，液体组分无渗漏，标识清晰易识别。

2.空白限

不大于 20ng/ml。

3.准确度

回收率为 85%~115%。

4.线性

试剂盒的线性范围为（20,450）ng/ml，相关系数 r 不小于 0.9900。

5.重复性

用高低两个浓度水平的样本各重复检测 10 次，其变异系数（CV）不大于 15%。

6.特异性

与白蛋白（ALB）50g/L、髓过氧化物酶（MPO）800ng/ml 做交叉反应，Lp-PLA2 检测浓度应不大于 20ng/ml。

7.校准品溯源性

根据 GB/T21415-2008 及有关规定提供所用校准品的来源、赋值过程以及不确定度等内容,溯源至企业工作校准品,并与已上市产品比对赋值。

8.质控品赋值有效性

分别取高、低两个浓度质控品，检测其浓度值，每个测试值均应在所示的质控范围内。

9.批间差

用 3 个批号试剂盒检测同一份样本，变异系数（CV）不大于 15%。

【注意事项】

- 1.仅用于体外诊断。一次性使用产品，供专业人员使用。
- 2.按照检测程序加样，不可颠倒顺序，否则会导致试验失败。
- 3.避免直接接触终止液(1M H₂SO₄)，以免皮肤腐蚀和烧伤。
- 4.操作人员应标注清楚样本号，以免混淆。
- 5.样本制备或保存应严格按照【样本要求】项执行，操作不当，会导致分析结果有误。
- 6.自备实验材料：酶标仪、纯化水、移液器、吸头、吸水纸、一次性手套等。
- 7.试剂盒内各试剂组均不具有生物学危害性，但仍应被视为有潜在的生物危害而加以防护。
- 8.不同批号的试剂不可混用；超出有效期的试剂不可使用。

【标识的解释】



:体外诊断医疗器械

【参考文献】

[1]. Tjoelker LW, Stafforini DM. Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease. Biochim Biophys Acta. 2000; 1488:102-123

[2]. 刘甲兴，郑兴. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志，2006，14（3）：274-276

[3]. 刘建辉，张春妮. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志，2008，16（7）：569-571

[4]. Chris J. Packard, D.Sc., Denis S.J. O'Reilly, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 as an Independent Predictor of Coronary Heart Disease. The New England Journal of Medicine. 2000; 343:1148-1155

[5]. Ballantyne CM, Hoogveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipaseA2, high-sensitivity C-reactiveprotein,and risk for incident ischemicstroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Circulation. 2004; 109 (7):837-842.

[6]. Thompson A, Gao P, Orfei L, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies [J]. Lancet, 2010, 375(9725):1536-1544

[7]. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. Atherosclerosis, 2000,150(2):413-419

【基本信息】

注册人/生产企业名称：北京协和洛克生物技术有限责任公司

住所：北京市北京经济技术开发区科创十四街 11 号院 2 号楼 217 室

联系方式：010-51295656-8006

售后服务单位名称：北京协和洛克生物技术有限责任公司

联系方式：010-51295656-8076

生产地址：北京市北京经济技术开发区科创十四街 11 号院 2 号楼 3~4 层、5 层北侧及 536 室、4 号楼 404 室

邮政编码：100176

销售电话：010-51295656-8076

E-mail: unionluck@163.com, unionluck@unionluck.com

网 址：www.unionluck.com

生产许可证编号：京药监械生产许 20040085 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

京城注册 20182400202

【说明书核准日期及修改日期】

2018.06.07