

Determinación cuantitativa de Ceruloplasmina IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO PREVISTO

El reactivo Ceruloplasmina es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de Ceruloplasmina en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los anticuerpos Ceruloplasmina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la Ceruloplasmina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de Ceruloplasmina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de Ceruloplasmina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Ceruloplasmina es una α_2 -globulina que contiene aproximadamente el 95% del total del cobre en suero. Cada molécula de Ceruloplasmina contiene de 6 a 8 átomos de Cobre. El elevado contenido de iones Cobre confiere a la molécula el color azul que presenta. La Ceruloplasmina también se puede unir, y probablemente transportar, otros cationes como el magnesio. La molécula de ceruloplasmina es una cadena simple polipeptídica con carbohidratos, y tiene un peso molecular de 132KD. Ceruloplasmina es sintetizada principalmente por células hepáticas, y en pequeñas cantidades por macrófagos y linfocitos.

El test de Ceruloplasmina se utiliza muy frecuentemente como método de screening para la detección de la enfermedad de Wilson. Sin embargo, es importante tener en cuenta que muchos factores pueden influir en los niveles de plasma, incluida la dieta, los niveles de hormonas, y otros desórdenes genéticos.

La síntesis de ceruloplasmina se ve ligeramente incrementada en la respuesta de fase aguda. Su síntesis también se ve estimulada por la presencia de estrógenos, y durante el embarazo.

Niveles bajos de Ceruloplasmina en plasma se deben a la pérdida de la incorporación de Cu^{+2} durante la síntesis de la molécula. Las causas son la insuficiencia dietética (incluyendo malabsorción), dificultad para liberar Cu^{+2} del epitelio gastrointestinal a la circulación, o dificultad para insertar Cu^{+2} en el desarrollo de la molécula de Ceruloplasmina. Los niveles también serán bajos en síndromes gastrointestinales o que impliquen pérdida de sangre o pérdida de proteínas renales.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8.3. Azida sódica 0.95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-ceruloplasmina humana, pH 7.5. Azida sódica 0.95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado frente a un Material de Referencia CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Se recomienda el uso del Calibrador PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada tres semanas, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia. En el caso de monoreactivo debe correrse un blanco de reactivo antes de las muestras.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Ceruloplasmina, multiplicar la concentración de Ceruloplasmina del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (μL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: La presencia de partículas y turbidez.

No congelar, la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben centrifugarse.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (μL)	800
Muestra o Calibrador (μL)	7

5. Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (μL)	200
-------------------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de Ceruloplasmina de cada dilución del Calibrador. La concentración de Ceruloplasmina en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de SPINREACT PROT CONTROL (Ref.: 1102004).

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Entre 15 - 60 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: hasta 91 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.

Límite de detección: valores por debajo de 1,12 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	28.96 mg/dL	55.47 mg/dL	76.54 mg/dL
Total	4%	2.3%	2%
Within Run	2.2%	1.5%	1%
Between Run	3.1%	1.1%	1.5%
Between Day	1.1%	1.3%	0.8%

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el obtenido usando el método turbidimétrico de Bayer. 45 muestras de concentraciones de Ceruloplasmina entre 20 y 80 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0.96 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0.896x + 10.57$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (16 g/L), Lípidos (< 2.5 g/L) y factores reumatoides (800 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.

BIBLIOGRAFÍA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
3. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1966; 14: 401-406.
4. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1102064

Cont.

R1. Diluyente: 1 x 40 mL
R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL