



OPTIMISED PROTEIN SYSTEM

Kit Ceruloplasmina Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de Producto: NK045.OPT

Producto fabricado por:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, Reino Unido

www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España

Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona, España

Teléfono 902027750

Fax: 902027752

e-mail: info@bindingsite.es

web: www.bindingsite.es

Optilite es una marca registrada de The Binding Site Group Limited (Birmingham, Reino Unido) en ciertos países. El resto de marcas y nombres de productos pueden ser marcas comerciales de sus respectivos propietarios..



1 APLICACIÓN

El kit ceruloplasmina Optilite tiene como objetivo la cuantificación *in vitro* de la ceruloplasmina en suero y heparina-litio en plasma usando el analizador Optilite de Binding Site como ayuda en el diagnóstico de trastornos en el metabolismo del cobre. Este test se debe usar junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La ceruloplasmina se sintetiza en el hígado y tiene una función importante en el metabolismo del cobre, ya que transporta aproximadamente el 95% del total del cobre en suero. La disminución de los niveles de ceruloplasmina puede deberse a trastornos hereditarios del metabolismo del cobre, por ejemplo: la incapacidad para transportar cobre oxidado (Cu²⁺) del epitelio gastrointestinal a la circulación como en la enfermedad de Menkes (Ref.1), o la incapacidad para insertar Cu²⁺ en la molécula de ceruloplasmina en formación como en la enfermedad de Wilson (Ref. 1). La insuficiencia de cobre en la dieta, incluyendo la malabsorción, también reduce las concentraciones de ceruloplasmina en suero. Las concentraciones de ceruloplasmina en suero pueden aumentar como resultado de reacciones en fase aguda, embarazo o uso de anticonceptivos orales. (Ref. 2).

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por turbidimetría supone la reacción con un antisuero específico para formar complejos insolubles. Al pasar la luz a través de la suspensión formada, se transmite y focaliza una porción de esta luz a un fotodiodo mediante un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra analizada. Las concentraciones se calculan automáticamente en referencia a una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

- 4.1 **Antisuero:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,1% de EDTA y 0,01% de benzamida.
- 4.2 **Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma liofilizada estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01% de benzamida. La concentración indicada en el certificado de control de calidad se ha obtenido mediante comparación con un patrón de calibración interno.
- 4.3 **Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), de los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o aprobadas para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II); sin embargo dichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica y debe ser manipulado con precaución; se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especialmente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit no abierto debe conservarse a 2-8°C y se puede usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo puede conservarse refrigerado a 2-8°C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. Una vez reconstituida, la solución se debe conservar a 2-8°C y debe usarse durante los siguientes 7 días en el caso del conjunto de calibradores y 30 días en el caso de los controles. Después de este período de tiempo, se debe desechar la solución que no se haya usado.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de sangre deben proceder de extracciones venosas, y en el caso del plasma separarlo lo antes posible. La sangre se ha de dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. El suero se conserva a 2-8°C hasta 3 días antes del ensayo. Para períodos más largos, sera se deben conservar a -20°C o a temperatura inferior hasta un máximo de 4 semanas inferior siempre y cuando se hayan congelado durante las 24 horas siguientes a su obtención (Ref. 3). No congelar y descongelar los sueros más de una vez. No deben utilizarse muestras hemolizadas, lipémicas, con contaminación microbiana o muestras que contengan partículas. Es responsabilidad de cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio.

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 50 Tests *Optilite Cp Reagent* (reactivo *Cp Optilite*)
- 8.1.2 2 x *Optilite Cp Calibrator* (calibrador *Cp Optilite*)
- 8.1.3 2 x *Optilite Cp High Control* (control elevado *Cp Optilite*)
- 8.1.4 2 x *Optilite Cp Low Control* (control bajo *Cp Optilite*)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras, como tubos para la recolección de la sangre, centrifuga, etc.
- 8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado.
- 8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT
- 8.2.4 Diluyente 1Optilite, código de producto IK709
- 8.2.5 Agua destilada.

8.3 Preparación de los reactivos, controles y conjunto de calibradores

- 8.3.1 El conjunto de calibradores y los controles se suministran en forma liofilizada. Cada vial se debe reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el certificado de control de calidad (QCcert045.OPT) y en la etiqueta del vial. Retire el tapón y golpee suavemente el material liofilizado hacia el fondo del vial. Añada el volumen requerido de agua destilada y déjelo reposar durante 20 minutos. Invierta el vial y deje que el fluido cubra el tapón durante 20-30 segundos agitando con cuidado. Vuelva a poner el vial en vertical y déjelo reposar durante 10 minutos. Agite con cuidado antes de usar.
- 8.3.2 Antes de cargar el reactivo, mezclar suavemente por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Actualización de la información de lote del calibrador y del control de calidad usando el certificado de control de calidad (QCcert045.OPT) Vaya a F4 - 4 Cal/Ctrl definition y seleccione Cp Cal.

- 8.4.2 Haga click en
- 8.4.3 Escanee el código de barras 1 del QCcert045.OPT
- 8.4.4 Haga click en **Save**.
- 8.4.5 Haga click en el icono del lápiz.
- 8.4.6 Asegúrese de que el nuevo lote esté marcado como **Current lot**.
- 8.4.7 Haga click en **Save**.
- 8.4.8 En la pestaña de **Lot concentrations**, haga click en y seleccione la prueba de ceruloplasmina (**Cp**).
- 8.4.9 Haga click en el campo **[Concentration]**.
- 8.4.10 Escanee el código de barras 2 del QCcert045.OPT.
- 8.4.11 Haga click en **Save**.
- 8.4.12 Vuelva a **F4 - 4 Cal/Ctrl definition** y seleccione el control de calidad que corresponda.
- 8.4.13 Haga click en
- 8.4.14 Escanee el código de barras 3 del QCcert045.OPT
- 8.4.15 Haga click en **Save**.
- 8.4.16 Haga click en el icono del lápiz.
- 8.4.17 Asegúrese de que el nuevo lote esté **marcado como Current lot**.
- 8.4.18 Haga click en **Save**.
- 8.4.19 En la pestaña de **Lot concentrations**, haga click en y seleccione la prueba de ceruloplasmina (**Cp**).
- 8.4.20 Haga click en el campo **[Concentration]**.
- 8.4.21 Escanee el código de barras 4 del QCcert045.OPT para el control de calidad que corresponda.
- 8.4.22 Haga click en **Save**.
- 8.4.23 Repita los pasos 8.4.12 - 8.4.22 para el otro control de calidad.

8.5 Carga de calibradores y controles

- 8.5.1 Transfiera 300µL de calibrador y 200µL de cada control de calidad en dos pocillos de muestra (de 0,5mL) y cárguelos como se detalla en el Manual de funcionamiento Optilite (INS700.OPT).

8.6 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (g/L)
1+9	0,04 – 0,82
1+19	0,08 – 1,64

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el manual de funcionamiento Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles suministrados están indicadas en el certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCert045.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 15\%$ de las concentraciones indicadas.

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el test. Si aún después de la nueva calibración estuviera fuera de rango, deberá verificarse el instrumento y los parámetros programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de ceruloplasmina. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.
- No se ha validado el uso de muestras pediátricas en este ensayo.
- Si una medida de control queda fuera de rango cuando se ensaya con una curva de calibración guardada se debe recalibrar el ensayo. Si tras la recalibración los valores de control medidos con la nueva curva quedan todavía fuera de rango, se debe revisar el instrumento y los parámetros de ensayo antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, contacte con su proveedor.
- Las variaciones en la temperatura del reactivo puede afectar a los resultados. Asegúrese de que los reactivos se transfieran directamente desde el refrigerador al compartimento refrigerador para reactivos del analizador: no deje que pasen a temperatura ambiente.

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras y son únicamente orientativos. Los valores esperados pueden variar en función de la edad, sexo, tipo de muestra, dieta y localización geográfica. Cada laboratorio debe verificar la transmisibilidad de los valores esperados a la población a analizar y, si es necesario, establecer su propio rango de referencia.

Rangos en suero de adultos

El intervalo de referencia de ceruloplasmina en suero según la bibliografía es 0,2–0,6 g/L (ref. 4). Esto se verificó con 50 sueros de donantes de sangre.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 5 muestras diferentes usando 1 lote de reactivo en 3 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (g/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Nivel 1	0,0616	0,001	1,5	0,003	5,5	0,005	7,4	0,006	9,4
Nivel 2	0,1562	0,003	1,6	0,005	3,4	0,010	6,6	0,012	7,6
Nivel 3	0,2475	0,004	1,7	0,006	2,3	0,012	4,8	0,014	5,6
Nivel 4	0,4421	0,008	1,7	0,009	2,1	0,022	5,0	0,025	5,7
Nivel 5	0,8671	0,017	2,0	0,016	1,8	0,051	5,9	0,056	6,4

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 116 muestras (50 muestras clínicas, 66 muestras normales sera) con el kit ceruloplasmina Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1,07x - 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador predicho})$$

coeficiente de correlación $r = 0,986$ (calculado por regresión lineal)

Se realizó un estudio comparativo mediante el análisis de 54 muestras emparejadas de suero y plasma con heparina de litio usando el ensayo de Optilite ceruloplasmina. El análisis de regresión de Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,97x + 0,00 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma heparina de litio}; x = \text{suero})$$

coeficiente de correlación $r = 0,979$ (calculado por regresión lineal)

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 0,04 g/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

Se llevó a cabo un estudio siguiendo la CLSI Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (EP6-A). La linealidad de este ensayo se confirmó analizando una serie de diluciones de muestras de suero sobre el rango de 0,04 – 0,82 g/L para la dilución 1+9 del analizador Optilite con una desviación de linealidad de $<10\%$.

12.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio siguiendo CLSI EP7-A2: Estudio de Interferencias en Química Clínica, Aprobadas en las directrices (CLSI documento EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, una muestra de suero con valor cercano al punto de decisión médica y una muestra de suero anormal. No se observaron interferencias significativa en los ensayos con intralípide (250mg/dL), triglicérides (250mg/dL), bilirubina (200mg/L) o hemoglobina (5g/L).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 3 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar 1+9. Esto equivale a 3 g/L.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kodama, F, Fujisawa, C, Bhadhrasit, W. (2012) Inherited Copper Transport Disorders: Biochemical Mechanisms, Diagnosis and Treatment, *Current Drug Metabolism*, 13(3), 237-250.
- Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry 6th edn. (2008). Ed. C.A. Burtis and E.R. Ashwood, Publ. WB Saunders Company, Philadelphia, US, 300.
- Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th edn. (2006). Ed. AHB Wu. Publ. WB Saunders Company, Philadelphia, US, 230.
- Dati, F *et al.* (1996). Consensus of a Group of Professional Societies and Diagnostic Companies on Guidelines for Interim Reference Ranges for 14 Proteins in Serum based on the Standardization against IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federations of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. Eur J Clin Chem Clin Biochem; 34:517-20.