

# Ceruloplasmin

## Turbidimetry

### Quantitative determination of Ceruloplasmin IVD

Store at 2-8°C.

#### INTENDED USE

The Ceruloplasmin reagent is a quantitative turbidimetric test for the measurement of Ceruloplasmin in human serum or plasma.

#### PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-human Ceruloplasmin antibodies when mixed with samples containing Ceruloplasmin, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the Ceruloplasmin concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known Ceruloplasmin concentration.

#### CLINICAL SIGNIFICANCE

Caeruloplasmin is an  $\alpha_2$ -globulin that contains approximately 95% of total serum copper. Each molecule of caeruloplasmin contain six to eight copper atoms. The high content of copper ions gives caeruloplasmin a blue color. Caeruloplasmin can also bind, and possible transport, other cations such as magnesium. The molecule of caeruloplasmin has a single polypeptide chain and carbohydrate, and results a molecular mass of 132 kD. Caeruloplasmin is synthesized primarily by the hepatic cells and small quantities by macrophages and lymphocytes.

Caeruloplasmin is most often quantified as a screening test for Wilson's disease. However, it is important to realize that several other factors, including diet, hormone levels, and other genetic disorders, can influence plasma levels.

Synthesis of caeruloplasmin is increased modestly in the acute-phase response, peaking at 4 to 20 days after a single, acute insult. Synthesis is also stimulated by estrogens, and during pregnancy.

Low plasma caeruloplasmin levels are due to lack of incorporation of  $Cu^{2+}$  into the molecule during synthesis. The causes are, the dietary insufficiency (including malabsorption), inability to release  $Cu^{2+}$  from gastrointestinal epithelium into circulation, or inability to insert  $Cu^{2+}$  into developing caeruloplasmin molecule. Levels may also be low in blood loss or gastrointestinal or renal proteinlosing syndromes.

#### REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Preservative.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human Ceruloplasmin, pH 7.5. Preservative.
Optional	Cod: 1102003 PROT CAL.

#### CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements). It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent.

#### PREPARATION

**Reagents:** Ready to use.

**Calibration Curve:** Prepare the following PROT CAL dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the Ceruloplasmin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the Ceruloplasmin concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator ( $\mu$ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L ( $\mu$ L)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

#### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity. Do not use. Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

#### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Laboratory equipment.
- Spintech 240 autoanalyzer

#### SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

#### REFERENCE VALUES

Between 15 – 60 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

#### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Cod.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

Spinreact has instructions sheets available for several automatic analyzers.

### SPINTECH 240 APPLICATION

Item Name CERUL			
<u>DATA INFORMATION</u>		<u>CALIBRATION</u>	
Units	mg/dL	TYPE	Spline
Decimals	0		
<u>ANALYSIS</u>		STANDARD	
Type	END	#1	0.10 x Cal. Val.
		#2	0.25 x Cal. Val.
		#3	0.50 x Cal. Val.
		#4	0.75 x Cal. Val.
		#5	1.00 x Cal. Val.
		#6	
W.Length 1	340	<u>NORMAL RANGE</u>	
			LOW HIGH
Method	Turbidimetry	SERUM	MALE FEMALE
		URINE	
<u>CORR</u>			
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
Item Name CERUL			
<u>ASPIRATION</u>		<u>DATA PROCESS</u>	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	<u>READ</u>	<u>ABSORBANCE LIMIT</u>
		START	END
		MAIN	40 41
		SUB	28 29
VOLUME**			
SAMPLE	3 $\mu$ L		
REAGENT 1	240 $\mu$ L		
REAGENT 2	60		
			ENDPOINT LIMIT 3
			LINEAR CHECK (%)
		<u>FACTOR</u>	
		Blank Correction	1.000
		<u>PROZONE CHECK</u>	
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B		
<u>MONITOR</u>			
0 LEVEL POINT	1		
SPAN	3.000		
		START	END
		FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

\*\* Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio.

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. This parameter calibration is stable for 30 days

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measurement range:** Up to 91 mg/dL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.

**Detection Limit:** Values less than 1,12 mg/dL give non-reproducible results.

**Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	28.96mg/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%

**Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained with a Bayer immunoturbidimetric method. 45 samples ranging from 20 to 80 mg/dL of Ceruloplasmin were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.96 and the regression equation  $y = 0.896x + 10.57$ .

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

#### INTERFERENCES

Hemoglobin (16 g/L), bilirubin (40 mg/dL), lipemia (< 2.5 g/L), and rheumatoid factor (800 IU/mL) do not interfere. Other substances may interfere.

#### BIBLIOGRAPHY

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.

#### PACKAGING

Ref.: TK1102064

Cont.
-------

R1. Diluent: 2 x 24 mL  
R2. Antibody: 2 x 6 mL

### 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  $\alpha_2$ -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  $\text{Cu}^{+2}$  durante la síntesis de la molécula. Las causas son la insuficiencia dietética (incluyendo malabsorción), dificultad para liberar  $\text{Cu}^{+2}$  del epitelio gastrointestinal a la circulación, o dificultad para insertar  $\text{Cu}^{+2}$  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

<b>Diluyente (R1)</b>	Tampón tris 20 mmol/L, g/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	Suero de cabra, anti-ceruloplasmina humana, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	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.

#### 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 ( $\mu\text{L}$ )	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L ( $\mu\text{L}$ )	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

- Autoanalizador Spintech 240
- Equipamiento habitual de laboratorio.

#### 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.

#### VALORES DE REFERENCIA

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

#### 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.

### APLICACIÓN AL SPINTECH 240

Item Name CERUL		CALIBRATION	
<b>DATA INFORMATION</b>		TYPE Spline	
Units	mg/dL		
Decimals	0		
<b>ANALYSIS</b>		STANDARD	
Type	END	#1 0.10 x Cal. Val	#4 0.75 x Cal. Val
W.Length 1	340	#2 0.25 x Cal. Val	#5 1.00 x Cal. Val
W.Length 2		#3 0.50 x Cal. Val	#6
Method	Turbidimetría	NORMAL RANGE	
		SERUM	LOW HIGH
		MALE	
		FEMALE	
		URINE	
<b>CORR SLOPE</b>			
1.000 x +	0		
Item Name CERUL		DATA PROCESS	
<b>ASPIRATION</b>		<b>ABSORBANCE LIMIT</b>	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	READ	LOW -3.000
		START END	HIGH 3.000
	VOLUME**	MAIN 40 41	
SAMPLE	3 $\mu\text{L}$	SUB 28 29	
REAGENT 1	240 $\mu\text{L}$		ENDPOINT LIMIT 3
REAGENT 2	60		LINEAR CHECK (%)
		FACTOR	Blank Correction 1.000
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B		
<b>MONITOR</b>		<b>PROZONE CHECK</b>	
0 LEVEL POINT	1	START END LIMIT (%)	
SPAN	3.000		
		FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

\*\* Modificar los volúmenes de reactivos y muestra en función de los rangos aceptados, pero manteniendo siempre la ratio descrita anteriormente.

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración de este parámetro es estable hasta 30 días.

#### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**1. 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.

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

**3. 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%

**3. 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.: TK1102064

R1 Diluyente: 2 x 24 mL

R2 Anticuerpo: 2 x 6 mL

## Détermination quantitative de céruleplasmine IVD

Conserver à 2 - 8°C.

### UTILISATION PRÉVUE

Le réactif Céruleplasmine est un essai turbidimétrique pour quantifier la céruleplasmine en sérum ou plasma humain.

### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps céruleplasmine forment des composés insolubles quand ils sont associés avec la céruleplasmine de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorption proportionnel à la concentration de céruleplasmine dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre de céruleplasmine de concentration connue.

### SIGNIFICATION CLINIQUE

La céruleplasmine est une  $\alpha_2$ -globuline qui contient environ 95% du total du cuivre dans le sérum. Chaque molécule de céruleplasmine contient de 6 à 8 atomes de cuivre. Le contenu élevé de ions cuivre confère à la molécule la couleur bleue qu'elle présente. La céruleplasmine peut également s'unir, et sans doute transporter, d'autres cations comme le magnésium. La molécule de céruleplasmine est une chaîne simple polypeptidique avec glucides, et elle a un poids moléculaire de 132KD. La céruleplasmine est essentiellement synthétisée par les cellules hépatiques, et en petites quantités par les macrophages et les lymphocytes.

Le test de céruleplasmine est très fréquemment utilisé comme méthode de screening pour détecter la maladie de Wilson. Toutefois, il est important de tenir compte que de nombreux facteurs peuvent avoir une influence sur les niveaux de plasma, y compris la diète, les niveaux d'hormones, et d'autres dérèglements génétiques.

La synthèse de céruleplasmine augmente légèrement dans la réponse de la phase aiguë. Sa synthèse est également stimulée par la présence d'oestrogènes, et pendant la grossesse.

Les faibles niveaux de céruleplasmine dans le plasma sont dus à la perte de l'incorporation de  $\text{Cu}^{+2}$  pendant la synthèse de la molécule. Les causes en sont la suffisance diététique (notamment la malabsorption), difficulté à libérer du  $\text{Cu}^{+2}$  de l'épithélium gastro-intestinal dans la circulation, ou difficulté pour insérer le  $\text{Cu}^{+2}$  dans le développement de la molécule de céruleplasmine. Les niveaux seront également faibles dans les syndromes gastro-intestinaux ou qui impliquent la perte de sang ou la perte de protéines rénales.

### RÉACTIFS

<b>Diluant (R1)</b>	Tampon tris 20 mmol/L, g/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservateur.
<b>Anticorps (R2)</b>	Sérum de chèvre, anti-céruleplasmine humaine, pH 7,5. Conservateur.
<b>En option :</b>	Réf : 1102003 PROT CAL

### ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport à un matériel de référence CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Il est recommandé d'utiliser le calibre PROT CAL pour l'étalonnage.

### PRÉPARATION

**Réactifs :** Prêts à l'usage.

**Courbe d'étalonnage:** Préparer les dilutions suivantes du PROT CAL dans NaCl 9 g/L. Pour la concentration de chaque dilution de céruleplasmine, multiplier le concentration du calibre par le facteur correspondant indiqué dans le tableau:

Dilution calibre	1	2	3	4	5	6
Calibre (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration. Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

**Indicateurs de détérioration :** La présence de particules et de turbidité.

### MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Auto-analyseur SPINTECH 240.
- Equipement classique de laboratoire.

### ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

### VALEURS DE RÉFÉRENCE

Entre 15 – 60 mg/dL. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

### INTERFÉRENCES

Bilirubine (40 mg/dL), hémoglobine (16 g/L), Lipides (2,5 g/L) et facteurs rhumatoïdes (800 UI/mL), n'interfèrent pas. D'autres substances peuvent interférer.

## APPLICATION AU SPINTECH 240

Item Name CERUL			
<u>DATA INFORMATION</u>			
Units	mg/dL		
Decimals	0		
<u>ANALYSIS</u>			
Type	END		
W.Length 1	340		
Method	Turbidimetry		
<u>CORR</u>			
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
Item Name CERUL			
<u>ASPIRATION</u>			
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double		
<u>VOLUME**</u>			
SAMPLE	3	µL	
REAGENT 1	240	µL	
REAGENT 2	60		
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF	ON	
R1 Blank	Water	<input checked="" type="checkbox"/> R1-B	
<u>MONITOR</u>			
0 LEVEL POINT	1		
SPAN	3.000		
		<u>DATA PROCESS</u>	
		<u>ABSORBANCE LIMIT</u>	
		READ	LOW -3.000
		START END	HIGH 3.000
		MAIN 40 41	
		SUB 28 29	
		<u>ENDPOINT LIMIT 3</u>	
		LINEAR CHECK (%)	
		<u>FACTOR</u>	
		Blank Correction	1.000
		<u>PROZONE CHECK</u>	
		START END LIMIT (%)	
		FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

\*\* Modifier les réactifs et les volumes d'échantillons selon la gamme acceptée mais en gardant toujours le ratio mentionné.

*The L'étalonnage est stable jusqu'à 30 jours. Passé ce délai, doit étalonner de nouveau pour obtenir de bons résultats.*

### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est conseillé d'utiliser des sérums de contrôle pour contrôler les essais aussi bien en procédure manuel qu'automatique. Il faut utiliser le contrôle de SPINREACT PROT CONTROL (Réf. : 1102004).

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées

### CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE.

**1. Gamme de mesure:** jusqu'à 91 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.

**2. Limites de détection:** les valeurs en dessous de 1,12 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.

**3. Précision :** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	28,96 mg/dL	55,47 mg/dL	76,54 mg/dL
Total	4%	2,3%	2%
Pendant l'exécution	2,2%	1,5%	1%
Entre l'exécution	3,1%	1,1%	1,5%
Entre jours	1,1%	1,3%	0,8%

**4. Exactitude :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec celui obtenu en utilisant la méthode turbidimétrique de Bayer. 45 échantillons de concentrations de Céruleplasmine entre 20 et 80 mg/dL ont été analysés avec chacune des méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,96 et l'équation de la droite de régression  $y = 0,896x - 10,57$ . Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

### BIBLIOGRAPHIE

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

### PRÉSENTATION

Ref.: TK1102064

Cont.

R1. Diluant: 2 x 24 mL  
R2. Anticorps: 2 x 6 mL

## Determinação quantitativa de Ceruloplasmina IVD

Conservar a 2 - 8°C.

### UTILIZAÇÃO PREVISTA

O reagente Ceruloplasmina é um ensaio turbidimétrico para a quantificação de ceruloplasmina no soro ou plasma humano.

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos ceruloplasmina formam compostos insolúveis quando se combinam com a ceruloplasmina da amostra do doente, provocando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de ceruloplasmina na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de ceruloplasmina de concentração conhecida.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A ceruloplasmina é uma  $\alpha_2$ -globulina que contém aproximadamente 95% do total do cobre no soro. Cada molécula de ceruloplasmina contém entre 6 e 8 átomos de Cobre. O elevado teor de íons Cobre confere à molécula a cor azul que apresenta. A ceruloplasmina também se pode unir, e provavelmente transportar, outros cátions como o magnésio. A molécula de ceruloplasmina é uma cadeia polipeptídica simples com hidrocarbonetos, e tem um peso molecular de 132KD. A ceruloplasmina é sintetizada principalmente pelas células hepáticas, e em pequenas quantidades por macrófagos e linfócitos.

O teste de ceruloplasmina utiliza-se muito frequentemente como método de screening para deteção da doença de Wilson. No entanto, é importante ter em consideração que muitos fatores podem influenciar os níveis de plasma, incluindo a dieta, os níveis de hormonas e outros distúrbios genéticos.

A síntese de ceruloplasmina está ligeiramente aumentada na resposta de fase aguda. A sua síntese também é estimulada pela presença de estrogénios, e durante a gravidez.

Níveis baixos de ceruloplasmina no plasma são devidos à perda da incorporação de  $\text{Cu}^{+2}$  durante a síntese da molécula. As causas são a insuficiência dietética (incluindo má absorção), dificuldade para libertar  $\text{Cu}^{+2}$  do epitélio gastrointestinal para a circulação, ou dificuldade para inserir  $\text{Cu}^{+2}$  no desenvolvimento da molécula de ceruloplasmina. Os níveis também serão baixos em síndromes gastrointestinais ou que impliquem perda de sangue ou perda de proteínas renais.

### REAGENTES

<b>Solvente (R1)</b>	Tampão tris 20 mmol/l, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante.
<b>Anticorpo (R2)</b>	Soro de cabra, anti-ceruloplasmina humana, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	Ref: 1102003 PROT CAL.

### CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado comparativamente a um Material de Referência CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). É recomendável utilizar o Calibrador PROT CAL para a Calibração.

### PREPARAÇÃO

**Reagentes:** prontos para utilizar.

**Curva de Calibração:** Preparar as seguintes soluções PROT CAL Calibrador em NaCl 9 g/L como diluente. Para as concentrações de cada diluição de ceruloplasmina, multiplicar a concentração de ceruloplasmina calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador ( $\mu\text{L}$ )	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L ( $\mu\text{L}$ )	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

**Indicadores de degradação:** Presença de partículas e turvação

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPINTECH 240.
- Equipamento habitual de laboratório.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável durante 7 dias a 2 - 8 °C ou durante 3 meses a -20 °C.

As amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas. Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

### VALORES DE REFERÊNCIA

Entre 15 - 60 mg/dL. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

### INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (16 g/L), lípidos (< 2,5 g/L) e fatores reumatóides (800 UI/mL), não interferem. Outras substâncias podem interferir.

### APLICAÇÃO AO SPINTECH 240

Item Name CERUL		CALIBRATION			
<b>DATA INFORMATION</b>		TYPE Spline			
Units	mg/dL				
Decimals	0				
<b>ANALYSIS</b>		STANDARD			
Type	END	#1	0.10 x Cal. Val. #4 0.75 x Cal. Val.		
W.Length 1	340	#2	0.25 x Cal. Val. #5 1.00 x Cal. Val.		
		#3	0.50 x Cal. Val. #6		
Method Turbidimetry		<b>NORMAL RANGE</b>			
		LOW HIGH			
<b>CORR SLOPE</b>		SERUM MALE FEMALE			
1.000 x +	INTER 0	URINE			
Item Name CERUL		DATA PROCESS		ABSORBANCE LIMIT	
<b>ASPIRATION</b>		<b>READ</b>		LOW -3.000	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	START END		HIGH 3.000	
VOLUME**		MAIN 40 41			
SAMPLE	3 $\mu\text{L}$	SUB 28 29			
REAGENT 1	240 $\mu\text{L}$			ENDPOINT LIMIT 3	
REAGENT 2	60			LINEAR CHECK (%)	
<b>MONITOR</b>		<b>FACTOR</b>			
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON	Blank Correction		1.000	
R1 Blank	Water <input checked="" type="checkbox"/> R1-B				
<b>PROZONE CHECK</b>		START END LIMIT (%)			
0 LEVEL POINT	1	FIRST			
SPAN	3.000	SECOND		<input checked="" type="checkbox"/> Low High	
		THIRD		<input checked="" type="checkbox"/> Low High	

\*\* Modifique os reagentes e os volumes da amostra de acordo com o intervalo aceito, mas mantendo sempre a proporção mencionada.

A Calibração juntamente com o branco de reagente é estável até 30 dias.

### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como automático. Deve utilizar-se o controlo da SPINREACT PROT CONTROL (Ref.: 1102004).

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

**1. Intervalo de medição:** até 91 mg/dL, nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas 1/5 com NaCl 9 g/L e serem ensaiadas novamente. O intervalo de medição depende da proporção amostra/reagente. Diminuindo o volume da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medição, embora se reduza a sensibilidade.

**2. Limite de deteção:** valores inferiores a 1,12 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.

**3. Precisão:** o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas 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%

**4. Exatidão:** o comportamento deste método (y) foi comparado com o obtido utilizando o método turbidimétrico de Bayer. 45 amostras com concentrações de ceruloplasmina entre 20 e 80 mg/dl foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,96 e a equação da reta de regressão  $y = 0,896x + 10,57$ .

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

### BIBLIOGRAFIA

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

### APRESENTAÇÃO

Ref.: TK1102064

Cont.

R1. Solvente: 2 x 24 mL  
R2. Anticorpo: 2 x 6 mL