



C1-Esterase Inhibitor

Método inmunturbidimétrico para la determinación de inhibidor de C1-esterasa en suero

SIGNIFICACION CLINICA

El inhibidor de C1 esterasa (C1-INH) es una α_2 -globulina, sintetizada en los hepatocitos. Es un miembro de la familia de inhibidores de las serinproteasas. Su función fisiológica es la inhibición de las subunidades catalíticas del primer componente de la vía clásica de activación del complemento (C1r y C1s). La deficiencia de este inhibidor resulta en una activación inapropiada de la fracción C1 y la generación de productos que llevan a un aumento de la permeabilidad vascular. Se estima que es el mediador del angioedema observado en pacientes con deficiencias de C1-INH. Este edema involucra los tejidos subcutáneo, gastrointestinal y del tracto respiratorio.

Existen dos formas de deficiencia de C1-INH: la forma hereditaria y la forma adquirida.

La forma hereditaria se detecta normalmente en la primera o segunda década de vida. Se asocia con una disminución cualitativa o cuantitativa de la síntesis del inhibidor. La forma más común de esta anomalía es el edema angioneurótico. La forma adquirida, se manifiesta a una edad mayor o avanzada, y se caracteriza por la formación de inmunocomplejos que resultan en una disminución cuantitativa y funcional del inhibidor.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El C1-INH reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de C1-INH en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** buffer fosfato, pH 7,4.
B. Reactivo B: anticuerpos policlonales anti-C1-INH humana (cabra) en buffer fosfato, pH 7,4.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Suero

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.
b) Aditivos: no se requieren.
c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas. Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

No se observan interferencias por hemoglobina hasta 1000 mg/dl, triglicéridos hasta 2500 mg/dl, bilirrubina hasta 20 mg/dl, heparina hasta 50 mg/dl, ni citrato de sodio hasta 1000 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no es realizado en el día, la muestra puede ser conservada 48 horas a 2-10°C o por períodos más prolongados de tiempo a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 15 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen final de reacción: 1810 ul

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Calibrador Proteínas nivel alto**: 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador Proteínas diluido	10 ul
-------------------------------------	-------

Reactivo A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/dl del Calibrador Proteínas.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Muestra	10 ul
----------------	-------

Reactivo A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando a cero con agua destilada.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: realizando replicados de una misma muestra conteniendo C1-INH, se calculó la precisión intraensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
38,6 mg/dl	$\pm 0,8$ mg/dl	2,2%

b) Límite de detección: 5 mg/dl.

c) Rango de medición: 5 - 106 mg/dl.

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 530 mg/dl de C1-INH.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009353)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009642)

BIBLIOGRAFIA

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del **Calibrador Proteínas nivel alto** deben ser diluidas con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de **Control Inmunológico nivel 1** o **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

15 - 35 mg/dl (0,15 - 0,35 g/l)

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-62



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina