

Desarrollo y validación de un método para cuantificar cobre, selenio y zinc en suero por plasma acoplado inductivamente asociado a detector de masas

Development and validation of a method for quantification of copper, selenium and zinc using inductively coupled plasma mass spectrometry.

Mongelós Gibelli, Diego A.; López Zeballos, Noelia C.; Amor, Carolina S.; Maggi, Liliana.

Introducción

Los elementos químicos, cobre (Cu), selenio (Se) y zinc (Zn) juegan un rol importante en muchas reacciones biológicas, incluyendo la respuesta antioxidante al estrés oxidativo. El organismo mantiene la concentración óptima de estos elementos mediante el proceso de homeostasis. Este proceso puede alterarse resultando en concentraciones tóxicas o deficientes, que pueden producir enfermedad. Es por eso que resulta importante contar con metodología analítica para la cuantificación de estos elementos. En Argentina, la cuantificación de Cu, Se y Zn en muestras biológicas se realiza mediante absorción atómica (AA). A nivel mundial, la tendencia es alcanzar límites de cuantificación (LC) cada vez más bajos y la determinación de cada vez más cantidad de elementos. El plasma acoplado inductivamente asociado a detector de masas (ICP-MS) es el equipamiento que logra cumplir esa demanda analítica, sumando además una mayor rapidez de análisis.

Validación

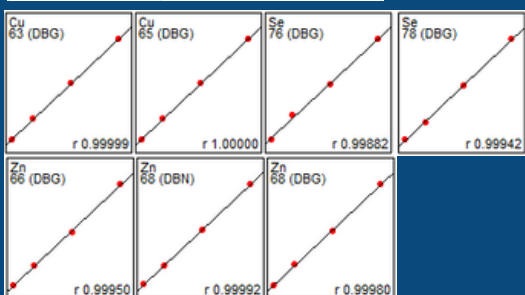
Los parámetros de validación linealidad, precisión intra e interensayo, recuperación, estabilidad y límite de cuantificación fueron evaluados según la guía para validación de métodos Eurachem 2016.

Tanto la precisión intra e interensayo como la estabilidad se evaluaron utilizando el control TMS, mientras que la recuperación se evaluó con pool de suero de pacientes enriquecido.

Resultados

Linealidad y rango lineal

Analito	Rango lineal
Zn	0,1 - 4,5 µg/mL
Cu	0,1 - 4,5 µg/mL
Se	10 - 400 ng/mL



Estabilidad

La muestra procesada fue estable por 72 horas, en heladera entre 3-7 °C.

Objetivo

El objetivo del trabajo fue el desarrollo y validación de un método para cuantificar Cu, Se y Zn en suero mediante ICP-MS.

Reactivos e instrumento

Estándar analíticos: Zinc 1000 µg/mL, Se 1000 µg/mL, Cu 1000 µg/mL, Ytrio (Y) 1000 µg/mL, Cerio (Ce) 1000 µg/mL, Indio (In) 1000 µg/mL (Chemlab ®).

Reactivos químicos: 1-Butanol 99,9%, Tritón X-100, Hidroxido de Amonio 28% ≥99,99% trace metals basis, EDTA 99,995 Trace metal Basis (Merck ®).

Muestras: suero del programa Trace Metals Survey "RA"® (TMS) del College of American Pathologists y pool de suero de pacientes del laboratorio enriquecido en 3 niveles.

Equipo: ICP-MS 2030 LF Shimadzu.

Parámetros del equipo

Se utilizó Argón como gas de plasma y Helio como gas de colisión. Las masas de trabajo fueron 63 y 65 para Cu, 76 y 78 para Se, 66 y 68 para Zn. Como estándar interno (SI) se utilizó la masa 89 para Y, 140 para Ce y 115 de In a concentración 100 µg/L

Procesamiento

La muestra (150 µL) y el SI (100 µL) fueron diluidos 1/50 con una solución de Tritón X-100 0,05%; butanol 0,2%; EDTA 0,125% e hidróxido de amonio 1% en agua, en el mismo tubo de lectura.

Precisión intraensayo e interensayo

Analito	Concentración	Media Intraensayo (n=5)			Media Interensayo (n=15)		
		CV (%)	RE (%)	CV (%)	RE (%)		
Cu - TMS (µg/mL)	1,70	1,68	1,2	1,4	1,71	3,5	0,2
	1,14	1,16	1,1	1,5	1,18	5,0	3,6
	1,26	1,29	2,1	2,1	1,26	3,5	0,5
Se - TMS (ng/mL)	147	142	3,8	3,1	147	4,0	0,2
	182	187	2,6	2,8	181	4,3	0,7
	223	210	2,2	4,8	220	5,0	1,6
Zn - TMS (µg/mL)	1,18	1,16	1,8	2,2	1,14	2,5	3,6
	1,37	1,34	1,2	2,7	1,33	2,5	1,1
	1,60	1,59	2,2	1,0	1,58	2,3	1,4

Recuperación absoluta

Analito	Recuperación en pool de suero de pacientes enriquecido (%)		
	1,0 µg/mL	3,0 µg/mL	4,5 µg/mL
Zn	108%	94%	95%
Cu	101%	107%	106%
Se	40 ng/mL	250 ng/mL	400 ng/mL
	105%	98%	98%

Límite de cuantificación

LQ	Cu	Se	Zn
	0,1 µg/mL	10 ng/mL	0,1 µg/mL
Medido	0,098	9,230	0,104
CV%	1,0	5,2	2,0
Er%	2,0	8,0	4,0
R%	98,0	92,0	104,0

Conclusión

Se describe un método sensible y específico para la cuantificación de Cu, Se y Zn en suero que puede ser utilizado en el campo de la toxicología clínica. El rango lineal permite la evaluación de concentraciones tóxicas (hasta 4 veces el valor normal sin dilución). Los LQ son inferiores en comparación con el método de AA utilizando menor cantidad de muestra.