

## D<sup>h</sup>MĚĎ

### Přímé kolorimetrické stanovení koncentrace mědi bez deproteinace v séru nebo plazmě.

#### Katalogové číslo:

12651

53 ml

(5 x 10 ml + 1 x 3 ml)

#### Shrnutí:

Měďnaté ionty ( $\text{Cu}^{2+}$ ) tvoří komplexy s proteiny. Hlavní funkcí metaloproteinů obsahujících měď je oxidačně-redukční proces; nejznámější enzymy obsahující měď vážou a reagují přímo s molekulárním kyslíkem. Asi 95% mědi v plazmě je vázáno na  $\alpha$ 2-globulin ceruloplazmin, oxidázu s feroxidázovou aktivitou. Je zřejmé, že mezní nedostatek mědi je spojován se srdečním onemocněním, osteoartritidou, osteoporózou kostí a kloubů. Také snížená antioxidační ochrana je výsledkem snížených hladin mědi.

#### Princip:

Měď, uvolněná z ceruloplazminu v pufovacím systému pH 4,7, tvoří se specifickým komplexačním činidlem 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-dibromo-2-pyridylazo)-N-ethyl-N-(3-sulfopropyl) anilin] stabilní barevný komplex. Intenzita jeho zabarvení je úměrná množství mědi ve vzorku.

#### Reagencie:

Diagnostické použití in vitro. Reagencie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní dle deklarovaných data na balení. **Reagencie musí být čiré, nepoužívejte je pokud jsou zakalené.**

#### Složení soupravy:

*Složení soupravy a počáteční koncentrace reaktivních složek.*

<b>Reagent A</b>	<b>5 x 10 ml</b>
Acetátový pufr pH 4,7	$\geq 1\text{ mol/l}$
<b>Reagent B</b>	<b>1 x 3 ml</b>
Komplexační činidlo 3,5-DiBr-PAESA	0,4 mmol/l
<b>Reagent C</b>	<b>prášek</b>
Redukující složka:	prášková kyselina askorbová
<b>Malá lžička</b>	
<b>Standard</b>	<b>1 x 10 ml</b>
Měď – standard	15,73 $\mu\text{mol/l}$

#### Příprava reagenčních roztoků:

**Roztok AC:** Přidat 1 malou lžičku (součást kitu) Reagentu C do 1 lahvičky Reagentu A. Promíchat do úplného rozpuštění. Stabilita: 15 dní při teplotě 2-8°C, nesmí dojít ke kontaminaci a lahvička musí být ihned po použití uzavřena.

**Reagent B:** Je připraven k přímému použití. Stabilní do data expirace při 2-8°C. Po otevření je stabilní 90 dní při 2-8°C, nesmí dojít ke kontaminaci a lahvička musí být ihned po použití uzavřena.

**Standard:** Je připraven k přímému použití. Stabilní do data expirace při 2-8°C. Po otevření je stabilní 120 dní při 2-8°C, nesmí dojít ke kontaminaci a lahvička musí být ihned po použití uzavřena.

#### Vzorek:

Nehemolytické sérum, plazma (používat pouze heparinové soli jako antikoagulanty). Odběr vzorku je třeba provádět v souladu s doporučením NCCLS popsané v literatuře<sup>1</sup>.

Stabilita: 24 hodin při 2-8°C nebo 15 dní při -20°C.

#### Pracovní postup:

*Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.*

Vlnová délka: 582 nm (570 – 590 nm)

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Reakce: end point

Před použitím musí mít roztoky pracovní teplotu.

Proporcionální změny reakčních objemů uvedených v pracovním postupu nemají vliv na výsledek stanovení.

	Blank	Vzorek	Standard
Dest. voda	0,05 ml	-	-
Vzorek	-	0,05 ml	-
Standard	-	-	0,05 ml
Roztok AC	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Promíchat a změřit absorbanci vzorku ( $A_s$ ), standardu ( $A_{st}$ ) a blanku ( $A_{bl}$ ).

Reagent B	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml
-----------	---------	---------	---------

Promíchat, nechat 4 - 5 min inkubovat při 37°C a změřit absorbanci vzorku ( $A_s$ ), standardu ( $A_{st}$ ) a blanku ( $A_{bl}$ ). Konečné zabarvení je stabilní 1 hodinu.

#### Výpočet:

$$C_{Cu} = c_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [\mu\text{mol/l}]$$

$c_{st}$  .....koncentrace standardu  $[\mu\text{mol/l}]$

$A_s$  ..... absorbance vzorku

$A_{st}$  ..... absorbance standardu

$A_{bl}$  ..... absorbance blanku

Výsledek se vydá v  $\mu\text{mol/l}$  na 1 platné desetinné místo.

#### Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor-standard (součást soupravy). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na NIST, koncentrace byla stanovena s rozšířenou nejistotou ( $k=2$ )  $U_{cal} = 2,6\%$ .

#### Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s lidskou matricí a deklarovanou hodnotou mědi.

Clin Chem Control 1 kat. č. 16150 6x5 ml  
Clin Chem Control 2 kat. č. 16250 6x5 ml

### Referenční hodnoty:

Muži: 11,0 – 22,0 μmol/l

Ženy: 12,6 – 24,4 μmol/l

Je doporučeno, aby si každá laboratoř vytvořila svoje vlastní referenční rozmezí.

### Měřicí rozsah:

0,47 - 78,6 μmol/l

### Linearita:

0,47 - 78,6 μmol/l

### Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,47 μmol/l

### Analytická senzitivita/citlivost:

0,24 μmol/l

### Bias:

2,3% ( pro 15,7 μmol/l )

### Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota (k=2)

$$u_{st} = 2\sqrt{U_{cal}^2 + U_{method}^2} = 2\sqrt{1,3^2 + 2,6^2} = 5,8\%$$

### Analytická selektivita:

Bilirubin do 257 μmol/l, triacylglyceroly do 11 mmol/l a hemoglobin do 5 g/l neruší stanovení.

### Přesnost:

Přesnost v sérii:

Vzorek (n=20)	Průměr μmol/l	SD μmol/l	CV %
vzorek 1	11,3	0,34	3,05
vzorek 2	19,0	0,41	2,19
vzorek 3	26,8	0,42	1,57

Přesnost mezi sériemi:

Vzorek (n=20)	Průměr μmol/l	SD celkem μmol/l	CV celkem %
vzorek 1	11,4	0,41	3,57
vzorek 2	19,1	0,50	2,61
vzorek 3	26,7	0,42	1,56

### Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor<sup>®</sup> Měď (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 60 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar  $y = 0,977 x + 0,405$  μmol/l;  $r = 0,9624$ .

### Upozornění:

1. Používat zkumavky a sklo umyté v 1 mol/l HCl a v destilované vodě.

2. Při koncentraci mědi vyšší než 78,6 μmol/l, naředit vzorek 1+9 fyziologickým roztokem a výsledek násobit 10x.

3. Proporcionální změna reakčních objemů nemá vliv na výsledek stanovení.

4. Reagent A obsahuje močovinu jako aditivum, proto nesmí být na automatickém analyzátoru následně ve vzorku stanovována močovina.

5. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření.

6. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

7. Mimo samotného rizika, které přinášejí reaktivní komponenty, mohou reagentie obsahovat nereaktivní součásti jako jsou konzervační složky (azid sodný a jiné) a detergenty. Tento výrobek neobsahuje žádné nebezpečné složky v množstvím větším než jsou prahové hodnoty uvedené v nařízeních 67/548/EEC a 88/379/EEC a dodatků týkajících se modifikace, úpravy, klasifikace, značení a balení nebezpečných látek. (reagentů). Přesto se doporučuje zacházet s reagentiemi opatrně, zabránit požití, kontaktu s kůží, sliznicemi, očními spojivkami a rohovkou. S reagentiemi zacházejte v souladu s dobrou laboratorní praxí.

### Literatura:

1. NCCLS Document: "Procedures for the Collection of Arterial Blood Specimens; Approved Standard – Third Edition (1999)"

2. Kaplan L.A., Pesce A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

3. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.

4. Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: „Laboratory Test Handbook“, Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition – 1990).

5. Abe, A., Yamashita, S., Noma, A.: „Sensitive, direct colorimetric assay for copper in serum“. Clin. Chem.,35/4, 552-554 (1989).

### Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika