

**ÚČEL POUŽITÍ**

Reagencie pro měření koncentrace mědi v lidském séru, plazmě a moči pro hodnocení její nerovnováhy.

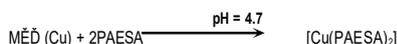
KLINICKÁ PŘÍNOŠ

Nejvýznamnější klinické využití stanovení mědi je její souvislost s hepatolentikulární degenerací nebo Wilsonovou chorobou a poklesem syntézy ceruloplazminu, který vede k nízkým hladinám mědi v séru. Dalšími onemocněními spojenými se sníženým obsahem mědi v séru jsou osteoartritiida kostí a kloubů a osteoporóza nebo Menkesův syndrom¹. Koncentrace mědi v séru může být zvýšená také u akutních a chronických onemocnění, jako je leukémie, hemochromatóza a biliární cirhóza.

Na základě klinických pokynů a učebnic a při použití ve spojení s dalšími diagnostickými technologiemi a možnostmi jsou tyto lékařské informace užitečné pro posouzení nerovnováhy mědi. Klinická diagnóza by neměla být stanovena na základě výsledků jediného testu, ale měla by integrovat jak klinické, tak laboratorní údaje.

PRINCIP TĚTO METODY

Ceruloplazminem vázané měďnaté ionty ve vzorku se uvolňují při pH 4,7. Měďnaté ionty reagují s 4-(3,5-dibromo-2-pyridylazo)-N-ethyl-N-sulfofopropylaminovou monosodnou solí (PAESA) za vzniku barevného komplexu, který lze měřit spektrofotometricky².

**OBSAH A SLOŽENÍ**

A1. Reagencie. 1 x 32 ml. Octan sodný 200 mmol/L, pH = 4,7.

UPOZORNĚNÍ: H317: Může způsobit alergickou kožní reakci. H319: Způsobuje vážné podráždění očí. P261: P280: Vyhněte se vdechování výparů. P333+P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Použijte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje. Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření. P362: Před opětovným použitím svlékněte kontaminovaný oděv a vyperte jej.

A2. Reagencie. 1 x 8 mL. Kyselina askorbová 500 mmol/L.

VAROVÁNÍ: H314: Způsobuje těžké popáleniny kůže a poškození očí. H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci P260: Nedýchejte výpary. P280: Použijte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje. P303+P361+P353: Při zasažení kůže (nebo vlasů): Odstraňte/odložte okamžitě veškerý kontaminovaný oděv. Opláchněte kůži vodou/sprchou. P305+P351+P338: NA POKOŽKU SE NANESOU NEČISTOTY: Při vniknutí do očí: Vyplachujte opatrně vodou po dobu několika minut. Vymějte kontaktní čočky, jsou-li přítomny a lze-li to snadno provést. Pokračujte ve vyplachování.

B. Reagencie. 1 x 10 mL. Octan sodný 200 mmol/L, 4-(3,5-dibromo-2-pyridylazo)-N-ethyl-N-sulfofopropylamin monosodná sůl (PAESA) 0,200 mmol/L.

VAROVÁNÍ: H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Vyhněte se vdechování výparů. P280: P333+P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Použijte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje. Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření. P362: Před opětovným použitím svlékněte kontaminovaný oděv a vyperte jej.

S. Standard Mědi. 1 x 3 mL. Měď 200 µg/dL (31.4 µmol/L). Pro analýzu z moči zředte standard 1:20 s fyziologickým roztokem, měď 10 µg/dL (1.57 µmol/L). Primární vodný standard.

UPOZORNĚNÍ: H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Vyhněte se vdechování výparů.

P280: Použijte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje. P333+P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Skladujte při 2-8°C.

Komponenty jsou po otevření stabilní až do data použitelnosti vyznačeného na etiketě, pokud jsou skladovány při doporučené teplotě, dobře uzavřeny a je dbáno na to, aby nedošlo ke kontaminaci během jejich používání.

Známky zhoršení kvality:

- Přítomnost částic, zákal nebo absorbance slepého vzorku nad 0,200 při 580 nm (1 cm kvety).
- Standard: Přítomnost částic, zákal.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Dodržujte běžná bezpečnostní opatření vyžadovaná při manipulaci se všemi laboratorními činidly. Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list pro profesionálního uživatele. Likvidace veškerého odpadního materiálu by měla být v souladu s místními pokyny. Jakýkoli závažný incident, ke kterému by mohlo dojít v souvislosti s přístrojem, je třeba nahlásit společnosti BioSystems S.A.

DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY (NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ)

- Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr schopný odečítat při 580 nm ± 20 nm.
- Kvetly s dráhov světla 1 cm.
- Biochemický kalibrátor (kód BioSystems 18011) nebo Biochemický kalibrátor Human (kód BioSystems 18044) (Poznámka 1).

PŘÍPRAVA ČINIDLA

Reagencie A: obsah lahvičky s reagentií A2 nalijte do lahvičky s reagentií A1. Jemně promíchejte. Další objemy lze připravit v poměru: Reagencie A1: 4 ml Reagencie A1 + 1 ml Reagencie A2. Stabilní po dobu 2 měsíců při 2-8°C.

Reagencie B a Standard (S): Připraveno k použití.

VZORKY

Sérum, heparinovaná plazma nebo moč odebrané standardními postupy.

Měď v séru nebo heparinované plazmě je stabilní 2 týdny při teplotě 2-8 °C nebo 1 rok při -20 °C. Jako antikoagulant použijte heparin³.

Sbírejte 24hodinovou moč do lahvičky. Před měřením vzorek odstředte nebo přefiltrujte. Stabilní po dobu 1 týdne při teplotě 2-8°C³.

POSTUP (Poznámky 2,3)

1. Pipetujte do zkumavek:

	Slepá reagencie	Slepý vzorek	Standard	Vzorek
Destilovaná voda (Ser/Uri)	50 µL / 950 µL	-	-	-
Měď Standard (S) (Ser/Uri)	-	-	50 µL / 950 µL	-
Sérum/Plazma	-	50 µL	-	50 µL
Moč	-	950 µL	-	950 µL
Reagencie A	800 µL	1000 µL	800 µL	800 µL
Reagencie B	200 µL	-	200 µL	200 µL

2. Důkladně promíchejte a inkubujte 5 minut při pokojové teplotě.

3. Změřte absorbanci (A) slepých vzorků při vlnové délce 580 nm proti destilované vodě.

4. Změřte absorbanci (A) vzorku a kalibrátoru při vlnové délce 580 nm proti slepému vzorku činidla.

VÝPOČTY

Koncentrace mědi ve vzorku se vypočítá podle následujícího obecného vzorce:

$\frac{A_{\text{vzorek}} - A_{\text{slepý vzorek}}}{A_{\text{standard}}}$	Sérum/Plazma	Moč
	x 200 = µg/dL Copper	x 10 = µg/dL Copper
	x 31.4 = µmol/L Copper	x 1.57 = µmol/L Copper

KONTROLA KVALITY

K ověření přesnosti postupu měření se doporučuje použít kontrolní biochemické sérum I (kód 18005, 18009 a 18042) a II (kód 18007, 18010 a 18043).

Každá laboratoř by si měla vytvořit vlastní schéma interní kontroly kvality a postupy pro nápravná opatření, pokud výsledky kontroly nejsou v přijatelných mezích.

REFERENČNÍ HODNOTY⁴

Sérum a plazma: 70 - 140 µg/dL = 10.9 - 21.9 µmol/L

Moč: <60 µg/24-h = < 1.0 µmol/24-h.

Tato rozmezí jsou uvedena pouze pro orientaci; každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí.

METROLOGICKÉ VLASTNOSTI

Níže popsané metrologické charakteristiky vzorku séra byly získány pomocí analyzátoru BA400 a podle pokynů Institutu pro klinické a laboratorní standardy (CLSI). Výsledky se mohou lišit v případě použití jiného přístroje nebo manuálního postupu. Metrologické charakteristiky pro vzorek moči byly získány pomocí spektrofotometru a manuálního postupu.

– Detekční limit: 11.0 µg/dL=1.73 µmol/L (sérum); 2.08 µg/dL=0.33 µmol/L (moč). Kvantifikační limit:

60.6 µg/dL=9.53 µmol/L (sérum); 5.74 µg/dL=0.90 µmol/L (moč).

– Průchodní limit: 500 µg/dL=78.7 µmol/L (sérum), 50 µg/dL=7.87 µmol/L (moč). V případě vyšších hodnot zředte vzorek 1/2 s destilovanou vodou a opakujte měření. Rozsah hodnot: 60.6 - 500 µg/dL= 9.53 - 78.7 µmol/L (sérum), 5.74 - 50.0 µg/dL=0.90 - 7.87 µmol/L (moč).

– Přesnost:

Sérum. Průměrná koncentrace	Opakovatelnost (CV)	V rámci laboratoře (CV)
133 µg/dL = 20.9 µmol/L	1.8 %	2.6 %
219 µg/dL = 34.5 µmol/L	1.2 %	1.7 %
307 µg/dL = 48.3 µmol/L	1.0 %	1.3 %

Moč. Průměrná koncentrace	Opakovatelnost (CV)	V rámci laboratoře (CV)
12.2 µg/dL = 1.91 µmol/L	4.2 %	7.4 %
27.3 µg/dL = 4.30 µmol/L	3.6 %	4.8 %

– Správnost: Výsledky získané s tímto činidlem nevykazují systematické rozdíly ve srovnání s referenčními činidly. Podrobnosti o srovnávacích experimentech jsou k dispozici na vyžádání.

OMEZENÍ TĚTO PROCEDURY

– Interference: bilirubin (do 30 mg/dl=513 µmol/L), hemolýza (hemoglobin do 500 mg/dl) a lipémie (triglyceridy do 363 mg/dl=4,10 mmol/L) neinterferují. Jiné léky a látky mohou interferovat⁵.

POZNÁMKY

- Kalibrace s dodaným vodním standardem může způsobit zkreslení související s matricí, zejména u některých analyzátorů. V těchto případech se doporučuje kalibrace pomocí standardu na bázi séra (Biochemický kalibrátor, kód. 18011 a 18044).
- Tato činidla lze použít v několika automatických analyzátoch. Návody k mnoha z nich jsou k dispozici na vyžádání. Voda z vodovodu může obsahovat větší množství železa nebo mědi. Použití takové vody z vodovodu vnáší do stanovení mědi ve vzorku chyby. Pokud variabilita mezi duplicitními slepými měřeními činidla přesáhne 5 %, je třeba mít podezření na kontaminaci.
- Kontaminace skleněného nádobí mědi ovlivní výsledek testu. Používejte skleněné nádoby vymyté kyselinou nebo plastové zkumavky.

BIBLIOGRAFIE

- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- Abe A, Yamashita S, Noma A. Sensitive, Direct Colorimetric Assay for Copper in Serum. Clin Chem 1989; 35: 552-554.
- World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2: 2002.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 6th ed. Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT, Elsevier, 2018.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 20

