

# Manuelle Arbeitsanleitung

Geräte-Einstellungen auf Anfrage

**MEDICHEM**<sup>®</sup>  
DIAGNOSTICA · VERFAHRENTWICKLUNG

VK 100 10-P	für 50 Bestimmungen
VK 100 11-P	5 x R1 Leerwertreagenz 10 ml
VK 100 12-P	10 x Reduktionsmittel für 10 ml
VK 100 13-P	5 x R2 Farbreagenz 10 ml
VK 100 14-P	1 x Serumstandard 2,5 ml
VK 100 20-P	für 100 Bestimmungen
VK 100 21-P	5 x R1 Leerwertreagenz 20 ml
VK 100 22-P	10 x Reduktionsmittel für 20 ml
VK 100 23-P	5 x R2 Farbreagenz 20 ml
VK 100 24-P	1 x Serumstandard 2,5 ml

## Kupfer

### 3,5-diBr-PAESA manuell 2R flüssig

Farbtest, Endpunkt, mit Probenleerwert

#### Haltbarkeit/Herstellung der Reaktionslösungen

1a Reagenz R1 flüssig ohne Reduktionsmittel  
Haltbarkeit: 2 Jahre bei +2 bis +25°C

1b Reagenz R2 flüssig ohne Reduktionsmittel  
Haltbarkeit: 2 Jahre bei +2 bis +25°C

1c Reduktionsmittel Pulver  
Haltbarkeit: 2 Jahre bei +2 bis +25°C

#### 2 Reaktionslösung I

Eine Flasche Reagenz R1 mit dem Inhalt eines Fläschchens Reduktionsmittel versetzen und vollständig auflösen. (z.B.: 10 ml Reagenz + Reduktionsmittel für 10 ml)

Haltbarkeit der Lösung: 3 Tage bei +20 bis +25°C  
14 Tage bei +2 bis +8°C

#### 3 Reaktionslösung II

Eine Flasche Reagenz R2 mit dem Inhalt eines Fläschchens Reduktionsmittel versetzen und vollständig auflösen. (z.B.: 10 ml Reagenz + Reduktionsmittel für 10 ml)

Haltbarkeit der Lösung: 3 Tage bei +20 bis +25°C  
14 Tage bei +2 bis +8°C

4 Serumstandard (human) flüssig  
Standard ist gebrauchsfertig

Haltbarkeit: 2 Jahre bei +2 bis +8°C

Jede zur Herstellung dieses Standards verwendete Serum- oder Bluteinheit wurde mit staatlich zugelassenen Methoden auf folgende Antigene und Antikörper geprüft und für negativ befunden: HBsAG, anti-HIV-1, anti-HIV-2, anti-HBc und anti-HCV. Für den Nachweis von Infektionserregern gibt es jedoch keine absoluten Testmethoden. Alle Materialien humanen Ursprungs sind daher grundsätzlich mit derselben Sorgfalt wie potentiell infektiöse Patientenproben zu behandeln.

#### Probenmaterial

Serum oder Heparin-Plasma

Trübe Seren (z.B. ikterische oder lipämische Seren) 1 + 4 mit NaCl-Lsg. (0,9 %) verdünnen (Ergebnis x 5).

Haltbarkeit: 7 Tage bei +2 bis +8°C

#### Probenverdünnungsgrenze

Bis 500 µg/dL (78,7 µmol/L); bei höheren Konzentrationen Probe 1 + 1 mit NaCl-Lsg. (0,9 %) verdünnen und Bestimmung wiederholen (Ergebnis x 2).

#### Normbereich <sup>2)</sup>

	Serum/Plasma	
Frühgeborene	17 - 44 µg/dL	(2,7 - 7,7 µmol/L)
Kinder	9 - 46 µg/dL	(1,4 - 7,2 µmol/L)
0-4 Mon.	25 - 110 µg/dL	(3,9 - 17,3 µmol/L)
4-6 Mon.	50 - 130 µg/dL	(7,9 - 20,5 µmol/L)
7-12 Mon.	80 - 150 µg/dL	(12,6 - 23,6 µmol/L)
1-5 J.	84 - 136 µg/dL	(13,2 - 21,4 µmol/L)
6-9 J.	80 - 121 µg/dL	(12,6 - 19,0 µmol/L)
10-13 J.	64 - 117 µg/dL	(10,1 - 18,4 µmol/L)
14-19 J.		
Frauen ohne Hormon	68 - 169 µg/dL	(10,7 - 26,6 µmol/L)
mit Hormon	100-200 µg/dL	(15,7 - 31,5 µmol/L)
Männer	56 - 111 µg/dL	(11,0 - 22,0 µmol/L)

#### Kalibration

Zur Kalibration sollten matrixgleiche Kalibratoren verwendet werden.

#### Qualitätskontrolle

Es ist der Atomabsorptionswert aus der Sollwerttabelle des eingesetzten Kontrollserums zu verwenden.

#### Anmerkungen

Nur kupferfreie Reaktionsröhrchen und Küvetten benutzen! Der Serumstandard enthält Natriumazid als Konservierungsmittel. Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

#### Testansatz

Wellenlänge	578 nm (570 - 590 nm)
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	<b>37°C</b>
Messung	gegen Probenleerwert (1x pro Serie) Extinktionszunahme

**Pipettierschema**

	Proben-Leerwert		Reagenz-Leerwert	Reaktion
	= E <sub>LW1</sub>	= E <sub>LW2</sub>	= E <sub>LW3</sub>	= E <sub>Probe/Standard</sub>
Probe oder Standard	50 µL	-	-	50 µL
0,9% NaCl-Lösung	-	50 µL	50 µL	-
Reaktionslösung I	1000 µL	1000 µL	-	-
Reaktionslösung II	-	-	1000 µL	1000 µL
Gut mischen, 15 Min. bei 37°C inkubieren. Den Standard bzw. die Probe innerhalb von 60 Min. gegen Proben- und Reagenzleerwert messen (ΔE). $\Delta E = E_{\text{Probe/Standard}} - (E_{\text{LW1}} - E_{\text{LW2}}) - E_{\text{LW3}}$				
<p align="center"><b>Berechnung der Kupfer-Konzentration:</b></p> <p><u>Serum/Plasma:</u></p> $C_{\text{Kupfer}} (\mu\text{g/dL}) = \frac{\Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Serumstandard}} (\mu\text{g/dL})$				

**Hinweis**

Stehenlassen ungemischter Probenansätze beeinträchtigt die Auflösung der Eiweißbestandteile!  
 Daher stets erst das Serum, dann die Reaktionslösung in die Küvette pipettieren und sofort mischen!

**Methode**

Farbtest, 3,5-diBr-PAESA

**Testprinzip**

Kupfer wird bei einem pH-Wert von 5,7 aus seiner Ceruloplasminverbindung freigesetzt und mit Ascorbinsäure zu Cu<sup>+</sup> reduziert. Dieses bildet mit 3,5-diBr-PAESA einen gefärbten Chelatkomplex, dessen Extinktion zur Kupferkonzentration proportional ist.

**Testkonzentrationen**

<b>R1 Puffer-Reagenz</b>	Acetatpuffer	95,0	mmol/L
	Detergenz	2,4	mmol/L
	Aufheller		
<b>Reduktionsmittel</b>	Ascorbinsäure		
<b>R2 Farbreagenz</b>	4-(3,5-Dibrom-2-pyridylazo)-N-sulfo-propylanilin (PAESA)	2,4	mmol/L
	Stabilisator	0,1	%
	<b>Kalibrator (Humanserum)</b>		
	Kupfer Stabilisator: NaN <sub>3</sub>		

**Analytische Sensitivität im Serum**

0,1 mg/L (1,57 µmol/L) <sup>1)</sup>

**Interferenz im Serum <sup>1)</sup>**

Nicht interferierende Substanzen:

Bilirubin	100 mg/L
Glutathion	200 mg/L
Harnsäure	250 mg/L
Heparin Natriumsalz	200 mg/L
Metallionen: Fe <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	5 mg/L
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup>	200 mmol/L
Ca <sup>2+</sup>	5 mmol/L
D-Penicillamin	250 mg/L

Interferierende Substanzen (erhöhte Cu-Werte):

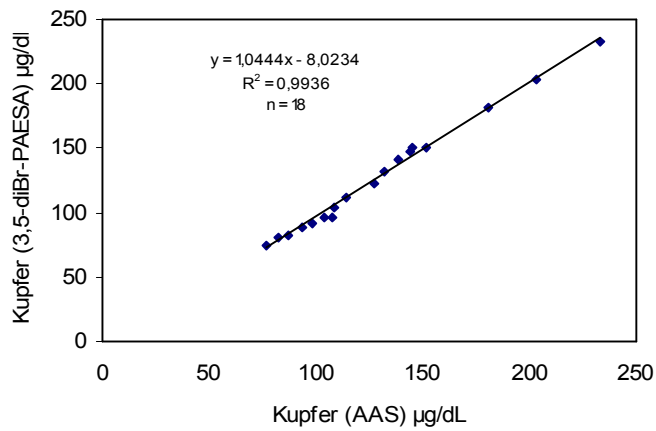
Metallionen (Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> )	5 mg/L
Hämoglobin	100 mg/L
Hochlipämische und ikterische (trübe) Seren	Messung gegen Leerwert schließt Interferenz aus <sup>1)</sup>

**Literatur**

- 1) Sensitive, Direkt Colorimetric Assay for Copper in Serum  
Akira Abe, Sumiko Yamashita and Akio Noma in Clinical Chemistry 35/4, 552-554 (1989)
- 2) Thomas L. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 7. Auflage: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 490 (2008)

## Methodenvergleich

Methodenvergleich AAS - PAESA



## Reproduzierbarkeit

### Unpräzision in der Serie:

Serum Normal (117 µg/dL):

S = 1,8064

VK (%) = 1,54

n = 20

Serum Path (327 µg/dL):

S = 6,1725

VK (%) = 1,49

n = 10

### Unpräzision von Tag zu Tag:

Serum Normal (119 µg/dL):

S = 4,1109

VK (%) = 3,45

n = 10

Serum Path (327 µg/dL):

S = 6,1725

VK (%) = 1,89

n = 10