

Determinazione quantitativa di Rame nel siero o nel plasma. Metodo colorimetrico.

**REF** CC1170 R1: 4x30 mL + R2: 1x3 mL (standard)

## METODO E PRINCIPIO

A pH 4,7 (tampono acido), il Rame, che è legato alla Ceruloplasmina, viene rilasciato da un agente riducente. Quindi reagisce con un reagente di colore specifico, 3,5-Di-Br-PAESA, per formare un chelato stabile e colorato. L'intensità del colore, misurabile fotometricamente a 570 nm, è direttamente proporzionale alla quantità di Rame presente nel campione

## SIGNIFICATO CLINICO

Nel siero di persone normali e sane, più del 95% del rame è incorporato nella Ceruloplasmina; il rame rimanente è legato all'albumina. Il basso contenuto di rame sierico, spesso dovuto all'assunzione di ferro o zinco in eccesso e raramente a causa di un vero deficit di rame alimentare, provoca gravi alterazioni della crescita e alterazione della eritropoiesi. Valori bassi del rame sierico vengono osservati anche nella degenerazione epatolenticolare (malattia di Wilson) a causa di una diminuzione della sintesi del ceruloplasmina. Nella malattia di Wilson, il rame legato all'albumina può risultare effettivamente aumentato, ma il rame ceruloplasminico è basso, con conseguente basso valore del rame nel siero. Tuttavia, durante la fase acuta della malattia di Wilson (insufficienza epatica fulminante), ceruloplasmina e rame possono essere anche normali poichè in questa circostanza, l'infiammazione epatica provoca una maggiore liberazione della ceruloplasmina. Altri disturbi associati a ridotte concentrazioni di rame sierico includono la malnutrizione, l'ipoproteinemia, il malassorbimento, la sindrome nefrotica, la malattia di Menkes, la tossicità del rame e la presenza di vitamine contenenti zinco (lo zinco interferisce con l'assorbimento normale del rame dal tratto gastrointestinale).

L'ipercupremia si trova nella cirrosi biliare primaria, nella colangite sclerosante primaria, nell'emocromatosi, nelle malattie maligne (compresa la leucemia), nella tireotossicosi e nelle infezioni. Le concentrazioni di rame del siero sono elevate anche nei pazienti che assumono contraccettivi o estrogeni e durante la gravidanza.

## COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

### Reagente R1

Di-Br-PAESA	0.4 mmol/L
Acetate buffer pH 4.7	2 mmol/L
Detergent	1 %

### Reagente R2

Standard (Rame)	valore in etichetta
-----------------	---------------------

## PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

## CAMPIONI

Siero o plasma non emolizzati. Non utilizzare EDTA come anticoagulante ma utilizzare solo sali di eparina

Raccogliere i campioni secondo la procedura NCCLS. Utilizzare tubi di prova in plastica monouso o vetro lavato in acido.

Stabilità del campione: 1 settimana a 2 - 8° C; 1 mese a -20° C

## PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	570 nm
Temperatura	37° C
Misurazione	Contro Bianco Reagente

### Pipettare come segue:

Reagente R1	1000 µL
Campione, Std / Cal	50 µL

Mescolare, incubare per 5 minuti, leggere l'assorbanza entro 30 minuti.

## CALCOLO

### Siero/Plasma:

$$\text{Rame} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Standard}} \times \text{Concentrazione Cal/Std}$$

Fattore Conversione: Rame [µg/dL] x 0.1573= Copper [µmol/L]

## CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard chimico della confezione è possibile utilizzare il calibratore in matrice proteica di MTD Diagnostic:

**Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).**

## CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

**Copper Control L1-L2 - REF OTH1010 2x2 mL + 2x2 mL**

## VALORI ATTESI BIBLIOGRAFICI

Siero / Plasma:	µg/dL	µmol/L
Uomini:	70.0 – 140.0	11.0 – 22.0
Donne:	80.0 – 155.0	12.6 – 24.4

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

## PERFORMANCE

### PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 149; D.S. = 3,68; CV = 2,46%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 398; D.S. = 7,68; CV = 1,92%

**ACCURATEZZA (CORRELAZIONE):** Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.143 x - 18.13 \quad r = 0.96$$

**SENSIBILITA':** 20 µg/dL

**LINEARITA':** 20 - 540 µg/dL

## INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza è stata osservata con Bilirubina fino a 40 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL, Trigliceridi fino a 1.000 mg/dL

## NOTE

- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Ogni applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si raccomanda di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda relativa al metodo dell'applicazione.
- La diagnosi clinica non deve essere effettuata sui risultati di un unico risultato di prova, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

## PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve tenere allorché si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

## SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
<b>REF</b>	Numero di catalogo		Scadenza
<b>LOT</b>	Numero di lotto		Fabbricante

## BIBLIOGRAFIA

National Committee for Clinical Laboratory Standards. User Evaluation of Precision Performance of Clinical chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.

Burtis, C. A., et al, (2012), Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th edition, Elsevier.

Kasper L. D. et al, (2015), HARRISON'S Principles of Internal Medicine, 19th Edition, McGraw-Hill Education.

Goldman L. Et al, (2012), Cecil medicine, 24th Edition, Saunders

McPherson, R. A. and Pincus M. R., (2012), Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 22nd Ed., Elsevier.

Abe A. and et al, (1989), Sensitive, Direct Colorimetric Assay for Copper in Serum, Clin. Chem., 35:4, 552-554