

**Cobre. Color 3,5-DiBr-PAESA**

Ref.: COP-033

Determinación cuantitativa de Cobre  
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico  
Conservar a 2-8°C

5 x 10 mL

**COBRE****PRINCIPIO DEL METODO**

Ensayo colorimétrico directo sin desproteinización de la muestra. Incrementos de absorbancia a punto final. En medio ácido pH 4,7, el cobre es liberado de la ceruloplasmina reduciéndose a cobre cuproso por medio del ácido ascórbico. El ion cuproso reacciona con el colorante 3-5 Di-Br-PAESA dando un compuesto coloreado estable.

La intensidad del color es proporcional al total de cobre presente en la muestra.

**SIGNIFICADO CLINICO**

Hay una gran variedad de enfermedades específicas de deficiencias del cobre que incluye enfermedades cardíacas, de los huesos, artritis y osteoporosis y el síndrome de Menkes, enfermedad de Wilson y otras. Niveles elevados de cobre pueden ser tóxicos<sup>1,2</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	Acetato. pH 4,7	≥ 1 mol/L
Tampón		
<b>R 2</b>	3,5-DiBr-PAESA	0,4 mmol/L
Color		
<b>R 3</b>	Ácido Ascórbico (polvo)	
Ácido reductor		
<b>COPPER CAL</b>	Patrón primario de Cobre 100 µg/dL	

**CALIBRACION**

El valor del COPPER CAL es trazable al material de referencia del NIST (National Institute of Standards and Technology).

**PREPARACION Y ESTABILIDAD**

- Reactivo de trabajo (RT): Añadir (→) una dosis de R3 (medir usando la cuchara que se incluye) a un vial de R1. Mezclar, hasta su completa disolución. Estabilidad: 15 días a 2-8°C, si se mantienen los viales bien cerrados y se evita su contaminación. No usar si aparece turbidez.
- R2: Listo para su uso. Una vez abierto, es estable 90 días si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación.
- COPPER CAL: Listo para su uso. Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 582 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma<sup>1</sup>: Sin hemolizar. Usar solo heparina como anticoagulante. Estabilidad 24 horas a 2-8°C o 15 días -20°C.

**PROCEDIMIENTO**

1. Atemperar los reactivos antes de su uso. Un cambio proporcional en los volúmenes indicados no varía el resultado.
2. Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 582 nm (570-590)  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura ..... 37°C
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Agua destilada (µL)	50	-	-
Patrón <sup>(Nota 2)</sup> (µL)	--	50	--
Muestra (µL)	--	--	50

5. Mezclar y leer la absorbancia (A<sub>1</sub>) de la muestra frente al Blanco de reactivo. Añadir:

	Blanco	Patrón	Muestra
R2 (µL)	50	50	50

6. Mezclar e incubar 4-5 minutos a 37°C
7. Leer la absorbancia (A<sub>2</sub>) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 1 hora.

**CALCULOS**

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Muestra}}{(A_2 - A_1) \text{ Patrón}} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \mu\text{g/dL de cobre en la muestra}$$

Factor de conversión: µg/dL x 0,1573 = µmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados. Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Hombres 70 - 140 µg/dL ≅ 11,0 - 22,0 µmol/L  
Mujeres 80 - 155 µg/dL ≅ 12,6 - 24,4 µmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

Rango de medida: Desde el límite de detección de 3 µg/dL hasta el límite de linealidad de 500 µg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/10 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

Media (g/dL)	Intraserie (n= 20)			Interserie (n= 20)		
	71,8	120	170	72,6	121	170
SD	2,19	2,64	2,68	2,41	2,98	1,97
CV (%)	3,05	2,19	1,57	3,32	2,46	1,16

Exactitud: Los reactivos BSM (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 60 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,96.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9774x + 2,5776.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 15 mg/dL, hemoglobina hasta 0,5 g/dL y triglicéridos hasta 1000 mg/dL.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del cobre<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

1. Se recomienda utilizar material de plástico de un solo. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con Ácido clorhídrico 1N, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. BSM dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co.1984.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Eliminado: Calibrado

Eliminado: r

Eliminado: (Nota1)

Eliminado: ¶

¶

