

návod k použití



FORD (free oxygen radicals defence)

Souprava pro kvantitativní stanovení celkového antioxidantního stavu in vitro v plné krvi na analyzátoru CR3000.

• KAT. Č. / VEL. BAL.

Kat. č.	Balení obsahuje:
AD12136	30 mikrozkušavek S1, 30 mikrozkušavek S2, 3 blistry po 10 kyvetách, 1 lahvička S3, 50µl kapiláry cca 32ks, špičky
AD12139	10 mikrozkušavek S1, 10 mikrozkušavek S2, 10 kyvet C1, 1 lahvička s S3, 50µl kapiláry cca 12 ks, špičky

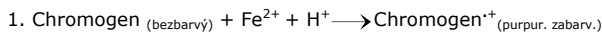
• PRINCIP

FORD používá předem vytvořené a barevné kyslíkové radikály. Měří se pokles absorbance, která je úměrná koncentraci antioxidantů ve vyšetřovaném vzorku krve (Lambert-Beerův zákon).

V přítomnosti kyselého pufru pH=5,2 a vhodného oxidantu (FeCl₃) tvoří chromogen, který obsahuje (4-amino-N,N-dietylanilin sulfát) stabilní a barevný kationtový radikál, který lze detekovat fotometricky při 505nm.

Antioxidanty obsažené ve vzorku redukují tento kationtový radikál, což se projevuje úbytkem intenzity zabarvení.

Naměřená absorbance se porovnává s kalibrační křivkou. Pro kalibraci se používá TROLOX (kyselina 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová) a permeabilní buněčné deriváty vitamínu E jako antioxidant.



• SLOŽENÍ REAGENTŮ

S1 (mikrozkušavka)	S2 (mikrozkušavka s modrou nálepkou)
Hyperosmolární pufr	acetátový pufr pH 5,2
S3 reagent (lahvička s zelenou nálepkou)	C1 reagent
Roztok železa	chromogen

• PŘÍPRAVA REAGENTU

Všechny reagenty jsou připraveny k použití. Pozn: reagent C1 může časem ztmavnout, nemá to však vliv na výsledky stanovení.

• SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENTU

Skladování	15-30°C
Stabilita	kyvety v originálním aluminiovém obalu do data expirace

• VZOREK

Jako vzorek použijte **kapilární krev** nebo **venózní krev** odebranou do **heparinu (50ul)**.

!! PARAMETRY STANOVENÍ

teplota	37 °C
vlnová délka	505nm
typ měření	end point
objem vzorku	50µl
linearita	0,25-3,0 mmol/l Troloxu
reakční čas	6 minut

• ODBĚR KAPILÁRNÍ KRVE

- Před odběrem by měl být vyšetřovaný pacient několik minut v klidu.
- Bříško prstu potřete desinfekčním roztokem - vhodný je např. alkohol.
- Pomocí lancety nebo jehly proveďte vpich.
- První kapku krve otřete, mohla by obsahovat tkáňový mok.
- Uchopte kapiláru do svorky a naberte do ní krev tak, aby byla zcela naplněna.
- Kapiláru držte skloněnou dolů od místa vpichu, aby se snáze naplnila.
- Pokud z místa vpichu neteče dostatek krve, můžete prst jemně stisknout mezi palec a ukazováček.
- Dejte pozor, aby se do kapiláry nedostaly vzduchové bubliny.
- Pokud je kapilára od krve zvenku, otřete ji.

• POSTUP

- 1) Obsah mikrozkušavky S2 (s modrou nálepkou) nalijte do kyvety C1.
- 2) Přidejte pipetou 50ul reagentu S3 (s zelenou nálepkou). Kyvetu uzavřete víčkem a obsah převrácením promíchejte.
- 3) Kyvetu pak dejte do měřicí komůrky. První měření proběhne za 4 minuty.
- 4) Mezitím dejte 50ul krve do mikrozkušavky S1 a jemným převrácením obsah promíchejte.
- 5) Centrifugujte 1 minutu při 3500 rpm. Po skončení centrifugace se přesvědčete, že je supernatant čirý.
- 6) Po skončení měření (viz bod 2), vyndejte kyvetu z přístroje a pipetujte 2x 50ul (tedy celkem 100ul) supernatantu. Vložte kyvetu do stejné měřicí pozice. Počkejte na zobrazení výsledku (cca 2 minuty).

• REFERENČNÍ HODNOTY

1,07-1,53 mmol/l ekvivalentu Troloxu

Doporučujeme, aby si každá laboratoř stanovila vlastní referenční intervaly.

• DALŠÍ ÚDAJE

LINEARITA: 0,25 – 3,0 mmol/l Troloxu

PŘESNOST: CV <8,5%

REPRODUKOVATELNOST: CV <5%

• KONTROLA KVALITY

Kontroly by měly být analyzovány v pravidelných intervalech daných příslušnou laboratoří

• INTERFERENCE

Chelátotvorné látky nebo arteficiální zdroje peroxidu vodíku nebo antioxidanty jako EDTA, citráty, H₂O₂, BHT, BHA, desferal či kyselina askorbová mohou být příčinou falešně nižších výsledků stanovení.

U pacientů, kteří mají hematokrit mimo rozmezí 37-48%, se výsledek může lišit od stanovení v séru. Proto by měl být u pacientů změřen hematokrit.

• UPOZORNĚNÍ

- Přečtěte si pozorně návod k použití.
- Vložte K faktor uvedený na obalu soupravy.
- Nepoužívejte reagenty po datu expirace!
- Při práci používejte ochranné rukavice.
- Během stanovení nejezte, nepijte a nekuřte.
- **Nepoužívejte jako desinficiens H₂O₂**
- Použité kvety likvidujte dle platných předpisů.

• KLINICKÝ VÝZNAM

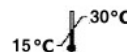
Volné radikály jsou vysoce reaktivní molekuly, které vznikají při oxidoredukčních biochemických reakcích, které jsou součástí normálního buněčného metabolismu. Vznikají také při expozici nepříznivých podmínek životního prostředí jako UV záření, cigaretový kouř, gama záření a při znečištění prostředí.

Oxidativní stress vzniká, když je rovnováha mezi tvorbou kyslíkových radikálů a množství antioxidantů porušena. Oxidativní stres se uplatňuje v patogeneze některých nemocí, např. aterosklerózy, chronických zánětlivých onemocnění, rakoviny, diabetu, neurodegenerativních onemocnění a stárnutí. Tělo má mnoho antioxidantních systémů, aby se oxidativnímu stresu dovedlo bránit. K antioxidantům patří např. vitamíny E a C, kyselina močová, bilirubin, thioly a glutathion.

K prevenci poškození organismu volnými radikály může každý jedinec přispět vhodným životním stylem.

• LITERATURA

- Schlesier K et al. Free Rad Res, 36(2): 177-187, 2002.
- Fogliano V et al J Agric Food Chem, 47: 1035-1040, 1999.
- Miller NJ et al Clin Sci, 84. 407-412, 1993.



Callegari S.p.A.
Via Adamello 2/A
Parma
Italy
www.callegari1930.com

Distributor v ČR: **dot®diagnostics, s.r.o.**
Ruzyňská 519/16
CZ 161 00 Praha
Tel.: +420 235 318 612
Fax: +420 235 318 614
e-mail: dotdiag@dotdiag.cz