

RANSOD

**Superoxido Dismutasa
MANUAL
RX MONZA**

PARA SU USO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de Superoxido Dismutasa en sangre entera. Este producto es adecuado para un uso manual o en el analizador Rx Monza.

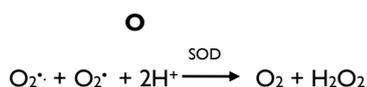
No. Cat.

SD 125	R1a. Sustrato Mixto	5 x 20 ml
5 x 20 ml	R1b. Tampón	1 x 105 ml
	R2. Xantin Oxidasa	3 x 10 ml
	CAL Patrón	5 x 10 ml

GTIN: 05055273206159

PRINCIPIO

La función de la superóxido dismutasa (SOD) es acelerar la dismutación de un radical tóxico, el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), producido durante un proceso oxidativo energético, en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. Este método emplea Xantina y Xantin oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (I.N.T) para formar un colorante formazán rojo. Se mide la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de esta reacción. Una unidad de SOD es la que causa un 50% de inhibición del valor de reducción de INT bajo las condiciones del análisis.



PREPARACION DE LA MUESTRA

Utilizar muestras de sangre entera heparinizada o con EDTA. Se recomienda lavar los eritrocitos 4 veces con una solución de NaCl al 0,9%.

Centrifugar **0,5 ml** de sangre entera durante 10 min a 3000 rpm. Después aspirar el plasma. Después lavar los eritrocitos 4 veces con 3 ml de solución de NaCl al 0,9 %, centrifugando durante 10 min a 3000 rpm después de cada lavado.

El centrifugado lavado de eritrocitos deberá completarse con **2,0 ml** de agua bidestilada fría. Mezclar y dejar reposar durante 15 min a 4°C. El lisado se diluye con 0,01 mol/l de Tampón Fosfato pH 7,0, de forma que el porcentaje de inhibición caiga entre el 30 y el 60%.

Para muestras humanas se recomienda 25 partes de dilución de lisado (Factor de dilución final = 100) y para muestras de bovinos 50 partes (Factor de dilución final = 200).

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Componentes	Concentraciones iniciales de las Soluciones
R1a. Sustrato mixto	
Xantina	0,05 mmol/l
I.N.T.	0,025 mmol/l
R1b. Tampón	
CAPS	40 mmol/l, pH 10,2
EDTA	0,94 mmol/l
R2. Xantín Oxidasa	80 U/l
CAL Patrón	Vedi inserto lotto específico

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Únicamente para diagnóstico *in vitro*. No pipetear con la boca. Respetar las precauciones normales necesarias, que se requieren al manejar reactivos de laboratorio.

Hojas informativas sobre Salud y Seguridad están disponibles si se desean.

Los reactivos deben ser utilizados solo para los propósitos indicados por personal adecuado cualificado de laboratorio bajo condiciones apropiadas de laboratorio

ESTABILIDAD Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

R1a. Sustrato Mixto
Reconstituir un vial de Sustrato Mixto R1a con **20 ml** de Tampón R1b. Es estable durante 10 días cuando se conserva entre +2 y +8°C.

R1b. Tampón
Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

R2. Xantín Oxidasa
Reconstituir el contenido de un vial de Xantín Oxidasa R2 con **10 ml** de agua bidestilada. Estable durante 2 semanas cuando se conserva entre +2 y +8°C.

CAL Patrones
Reconstituir el contenido de un vial de Patrón (CAL) con **10 ml** de agua bidestilada. Posteriormente las diluciones de este patrón deben ser preparadas con muestra diluyente Ransod. Se recomienda hacer las siguientes diluciones del patrón CAL (o S6) para construir la curva patrón:

RI = Sustrato Mixto
R2 = Xantin Oxidasa

Tenga en cuenta que los pasos de preparación de reactivos pueden cambiar si Ransod se usa en un sistema automatizado. Una gama de aplicaciones específicas para instrumentos está disponible en applications@randox.com.

Es recomendable que todos los reactivos y muestras estén equilibrados a temperatura ambiente antes de su uso.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Sustrato mixto
Tampón
Xantín Oxidasa
Patrones

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Diluyente Ransod (No. Cat. SD 124) (0,01 mol/l Tampón Fosfato, pH 7,0).
Control de RANSOD No. Cat. SD 126.

PROCEDIMIENTO

Seleccionar SOD en la pantalla Run Test (Realizar análisis), y llevar a cabo un blanco de agua de la forma indicada.

Pipetear en la Cubeta:

	Patrón SI	Patrón S2 TO S6	Pruebas	Control
Diluyente Prueba Ransod	15 µl	-	-	-
Patrón	-	15 µl	-	-
Diluir la prueba	-	-	15 µl	-
Diluir el control	-	-	-	15 µl
Sustrato Mixto (R1)	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

Mezclar bien y añadir

Xantin Oxidasa (R2)	75 µl	75 µl	75 µl	75 µl
---------------------	-------	-------	-------	-------

Mezclar bien, introducir la cubeta en el soporte de la celda de la Rx Monza y pulsar Read (leer).

CALIBRACIÓN

Calibrar esta prueba usando el patrón proporcionado con el Kit. Se recomienda que las siguientes diluciones estén realizadas con el patrón Cal (ó S6) para producir una curva estándar:-

Patrón	Volumen de solución patrón	Diluyente Prueba
S6	Patrón no diluido	-
S5	5 ml of S6	5 ml
S4	5 ml of S5	5 ml
S3	5 ml of S4	5 ml
S2	3 ml of S3	6 ml

SI = Diluyente Prueba (0,01 mol fosfato tampón pH 7,0)
Todos los patrones diluidos se mantienen estables durante dos semanas entre +2 y +8°C.
Se requiere una nueva calibración para cada análisis.

PARA USO MANUAL

Longitud de onda:	505 nm
Cubeta:	1 cm de espesor
Temperatura:	37°C
Medición:	frente al aire

Pipetear en la cubeta:

	Muestra Diluyente	Patrones S2 - S6	Muestra diluida
Muestra diluida	---	---	0,05 ml
Patrón	---	0,05 ml	---
Diluyente de Muestra Ransod	0,05 ml	---	---
Sustrato Mixto (R1)	1,7 ml	1,7 ml	1,7 ml

Mezclar bien

Xantina Oxidasa (R2)	0,25 ml	0,25 ml	0,25 ml
----------------------	---------	---------	---------

Mezclar y leer la absorbancia inicial A₁ al cabo de 30 segundos y empezar a cronometrar el tiempo simultáneamente. Leer la absorbancia final A₂ al cabo de 3 minutos.

CALCULOS

$$\frac{A_2 - A_1}{3} = \Delta A/\text{min de patrón o de muestra}$$

Indice de muestra diluyente (Indice SI) = Índice de reacción sin inhibir = 100%

Todos los índices tanto de los patrones como de las muestras diluidas deben ser convertidos en porcentajes del índice del diluyente de muestra y sustraídos del 100% para obtener un porcentaje de inhibición:

$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{patrón/min}} \times 100)}{(\Delta A_{\text{SI/min}})} = \% \text{ inhibición}$$

$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{muestra/min}} \times 100)}{(\Delta A_{\text{SI/min}})} = \% \text{ inhibición}$$

Representar el porcentaje de inhibición para cada patrón frente a Log₁₀ (concentración de patrón en unidades SOD/ml).

Utilizar el porcentaje de inhibición de la muestra para obtener las unidades de SOD de la curva patrón.

Unidades de SOD/ml de sangre entera =
Unidades de SOD en la curva patrón/ml x factor de dilución

Conversión a unidades de SOD/g de Hemoglobina

$$\frac{\text{Unid.SOD/ml}}{\text{g Hemoglobina/ml}} = \text{Unidades de SOD/g de Hemoglobina}$$

ILUSTRACION

(a) Una muestra de bovino diluida 1 en 300 veces con diluyente de muestra Ransod produjo una inhibición del 33%. Desde la curva patrón:

$$\text{Nº de unidades SOD en la muestra} = 0,575$$

(b) Conversión en unidades de SOD/ml de sangre entera

$$0,575 \times 300 = 172,5 \text{ unidades de SOD/ml}$$

(c) Conversión en unidades de SOD/g hemoglobina

Valor de muestra de hemoglobina = 0,118 g/ml

$$(\text{Unid. SOD/ml})/(\text{g hemoglobina/ml}) = \frac{172,5}{0,118} = 1461,9$$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomiendan un control Ransod, para el control de calidad diario. Analizar el control al menos una vez al día. Los valores obtenidos deberán encontrarse dentro del rango especificado. Si los valores se encuentran fuera del rango y su repetición excluye error, se deberán seguir los siguientes pasos:

1. Comprobar programación del instrumento y la lámpara.
2. Comprobar que todo material está limpio.
3. Comprobar el agua, contaminación ej. el crecimiento bacteriano puede contribuir a la inexactitud de los resultados.
4. Comprobar la temperatura de reacción.
5. Comprobar la fecha de caducidad del kit y sus componentes.
6. Ponerse en contacto con el servicio técnico de Randox Laboratories, Irlanda del Norte +44 (0) 28 94451070.

VALORES NORMALES

1102 - 1601 U/g Hb
164 - 240 U/ml

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia que refleje la edad, sexo, dieta y localidad geográfica de la población.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO DE LA TÉCNICA

Se obtuvieron los siguientes datos de rendimiento mediante un analizador Rx Monza en funcionamiento a 37°C.

LINEALIDAD

Las muestras deben ser diluidas para conseguir una inhibición entre el 30% y el 60% del porcentaje del diluyente de la muestra (por ej. la reacción no inhibida).

SENSIBILIDAD

La concentración mínima detectable de SOD inferior a la estándar debe ser relatada como <S1 valor estándar.

PRECISION

Precisión Dentro del Análisis

	Nivel 1	Nivel 2
Media	101.0	131.5
DE	4.88	4.30
CV(%)	4.64	3.58
n	20	20

Precisión Entre Análisis

	Nivel 1	Nivel 2
Media	101.0	131.5
DE	6.27	8.50
CV(%)	5.96	7.07
n	20	20

CORRELACIÓN

Este método (Y) se comparó con otro método comercial disponible (X) y se obtuvo la siguiente ecuación de regresión lineal:

$$Y = 0.9417 X + 0.1004$$

y un coeficiente de correlación $r = 0,965$

Se analizaron 41 muestras de pacientes con valores de entre 23-318 U/ml.

REFERENCIAS

1. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH Research in Veterinary Science 1983, **34**: 253-256.
2. Suttle NF, The Veterinary Record 1986, **119**: 519-522.
3. Suttle NF, McMurray CH Research in Veterinary Science 1983; **35**: 47-52.
4. Arthur JR, Boyne R Life Sciences 1985 **36**: 1569-1575.

Revisado 26 May 16 bm
Rev. 002