



## Instructions for Use

# ImAnOx (TAS/TAC) Kit

IVD



REF ENZ-5814

$\Sigma$  96



**DRG**

**DRG Instruments GmbH**, Germany  
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg  
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50  
Website: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)

Distributed by:

**DRG**

**DRG International, Inc.**, USA  
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081  
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556  
Website: [www.drg-international.com](http://www.drg-international.com)  
E-mail: [corp@drg-international.com](mailto:corp@drg-international.com)

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.  
 Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.  
 Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.  
 Por favor, use sólo la versión válida de las instrucciones de uso que se suministran con el kit.  
 Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

<b>Introduced modifications / Durchgeführte Änderungen / Modifiche introdotte / Modificaciones introducidas / Modifications apportées</b>	
The following changes have been made in comparison to the previous version: Im Vergleich zur Vorgängerversion wurden folgende Änderungen vorgenommen: Rispetto alla versione precedente, sono state apportate le seguenti modifiche: Se han introducido los siguientes cambios en comparación con la versión anterior: Les modifications suivantes ont été apportées par rapport à la version précédente :	
	Changed wording in several chapters.
3 MATERIAL SUPPLIED:	Volume for Reaction buffer A changed from 105 ml to 100 mL.
5 STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS - Calibrators and controls:	The exact concentration is stated in the respective product specifications and no longer on the label.

**Table of Contents / Inhaltsverzeichnis**

1	INTENDED USE.....	2
2	INTRODUCTION.....	2
3	MATERIAL SUPPLIED.....	2
4	MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED .....	2
5	STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS .....	2
6	STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES.....	3
7	ASSAY PROCEDURE .....	4
8	RESULTS.....	5
9	LIMITATIONS.....	5
10	QUALITY CONTROL .....	5
11	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	6
12	PRECAUTIONS .....	6
13	GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE.....	6
1	VERWENDUNGSZWECK.....	7
2	EINLEITUNG.....	7
3	INHALT DER TESTPACKUNG .....	7
4	ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL .....	7
5	LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEEN .....	7
6	PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG.....	8
7	TESTDURCHFÜHRUNG .....	9
8	ERGEBNISSE .....	10
9	EINSCHRÄNKUNGEN.....	10
10	QUALITÄTSKONTROLLE.....	10
11	TESTCHARAKTERISTIKA.....	10
12	VORSICHTSMASSNAHMEN.....	11
13	ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST.....	11
	SYMBOLS USED.....	12

## 1 INTENDED USE

The photometric assay is intended for the quantitative determination of the **total antioxidative status/capacity (TAS/TAC)** in EDTA-plasma and serum.

For *in vitro* diagnostic only.

## 2 INTRODUCTION

The human body is constantly under attack from free radicals that occur as part of normal cell metabolism, and by exposure to environmental factors such as UV light, cigarette smoke, environmental pollutants and gamma radiation. The resulting „Reactive Oxygen Species“ (ROS) circulates freely in the body with access to all organs and tissues, which can have serious repercussions throughout the body. The body possesses a number of mechanisms both to control the production of ROS and to cope with free radicals in order to limit or repair the damage to tissues

Overproductions of ROS or insufficient defense mechanisms lead to a dangerous disbalance in the organism. Thereby several pathomechanisms implicated in over 100 human diseases, e.g. cardiovascular disease, cancer, diabetes mellitus, inflammatory disease, aging, etc., were induced.

Determination of the antioxidative capacity becomes of fundamental importance in medical diagnosis and in research. The ImAnOx-Assay is fast, reliable and easy to perform. The total antioxidative capacity is measured.

## 3 MATERIAL SUPPLIED

Content	Kit Components	Quantity
RECSOL	Reconstitution solution	15 mL
PLATE	Microtiter plate	2 x
CAL	Calibrator, lyophilised (see specification data sheet for concentration)	4 x
CTRL1	Control 1; lyophilised	4 x
CTRL2	Control 2; lyophilised	4 x
PER	Peroxide solution	250 µL
REABUF A	Reaction buffer A	100 mL
REABUF B	Reaction buffer B	1.5 mL
ENZ	Enzyme solution	50 µL
STOP	Stop solution	15 mL

## 4 MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Vortex mixer
- Various pipettes
- Incubation chamber for 37 °C
- Microtiter plate reader

## 5 STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

### **Calibrators and controls**

The **lyophilised calibrator** (CAL) and the **lyophilised controls 1 and 2** (CTRL1 and CTRL2) are stable at **-20 °C** until the expiry date stated on the label.

Before use, they have to be reconstituted each with **250 µL reconstitution solution** (RECSOL). Allow the vial content to dissolve for 5 min and then mix thoroughly by vortexing.

Aliquots of the **calibrator** (reconstituted CAL) and the **controls 1 and 2** (reconstituted CTRL1 and CTRL2) can be stored at **-20 °C** for **4 weeks**. **Avoid repeated thawing and freezing.**

The concentration of calibrator and controls slightly changes from lot to lot. The exact concentration is stated in the respective product specifications.

### **Storage of the other reagents**

Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2 °C - 8 °C**.

### **Preparation of Reagent 1**

**In order to ensure the functionality of reagent 1, it is important to use light-protected containers (e.g. brown glass) during preparation.**

Reagent 1 has to be prepared directly before use.

Peroxide solution (PER) is diluted in reaction buffer (REABUF).

For example:

5 mL reaction buffer A (REABUF A) + 10 µL peroxide solution (PER) = dilution 1

100 µL of dilution 1 + 4.9 mL reaction buffer A (REABUF A) = reagent 1

**Please note: Reagent 1 is not stable and cannot be stored.**

**Important:** The amounts are sufficient for 50 tests (25 duplicates). For varying sample numbers, the buffer volumes must be adjusted accordingly.

### **Preparation of Reagent 2**

**In order to ensure the functionality of reagent 2, it is important to use light-protected containers (e.g. brown glass) during preparation.**

During the incubation, hydrogen peroxide generates reaction products which absorb at 450 nm. Due to this effect and self-absorption, it is important to measure **with and without addition of enzyme**.

Reagent 2 has to be prepared directly before use.

Reaction buffer A (REABUF A) and reaction buffer B (REABUF B) are mixed with and without addition of enzyme solution (ENZ).

For example:

Reagent 2a: 5 mL reaction buffer A (REABUF A) + 100 µL reaction buffer B (REABUF B) + 5 µL enzyme solution (ENZ)  
= reagent 2a **with** enzyme solution

Reagent 2b: 5 mL reaction buffer A (REABUF A) + 100 µL reaction buffer B (REABUF B)  
= reagent 2b **without** enzyme solution

**Please note: Reagent 2a with and reagent 2b without addition of enzyme solution (ENZ) is not stable and cannot be stored.**

**Important:** To avoid losses, the enzyme solution (ENZ) should be centrifuged prior to use so as not to lose any liquid possibly adhering to the lid. After use, the vial should be immediately and correctly closed to avoid contamination or evaporation (e. g. parafilm).

**Important:** The amounts are sufficient for 50 tests (25 duplicates). For varying sample numbers, the buffer volumes must be adjusted accordingly.

## **6 STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES**

Serum and EDTA-plasma derived from venous fasting blood is suitable for this test system.

Lipemic and hemolytic samples affect the test results. Such samples should not be measured.

### **Sample storage**

The blood sample can be shipped as whole blood at 2 °C - 8 °C within 24 hours.

Serum and EDTA-plasma should be stored at -20 °C until the measurement takes place. They are stable at -20 °C for 4 weeks.

### **Preparation**

Samples with visible amounts of precipitates should be centrifuged (5 min at 10 000 g) prior to measurement, and the resulting supernatant is used in the test.

For testing in duplicates, pipette **4 x 10 µL** of each prepared sample per well.

## 7 ASSAY PROCEDURE

### 7.1 Principle of the test

The determination of the antioxidative capacity is performed by the reaction of antioxidants in the sample with a defined amount of exogenously provided hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). The antioxidants in the sample eliminate a certain amount of the provided hydrogen peroxide. The residual  $H_2O_2$  is determined photometrically by an enzymatic reaction which involves the conversion of TMB to a colored product.

After addition of a stop solution, the samples are measured at 450 nm in a microtiter plate reader. The quantification is performed by the delivered calibrator.

The difference between applied and measured peroxide concentration in a defined time period is proportional to the reactivity of the antioxidants of the sample (antioxidative capacity). Quantification is performed with the enclosed calibrator.

**Please note:** As the reaction speed of the distinct antioxidants in the sample is different, the measured concentrations of antioxidants are equivalent to the reactivity of the distinct antioxidants and not to their total amount in the sample. Therefore, we use in our test system hydrogen-peroxide equivalents as unit for the antioxidative capacity.

The concentration of total antioxidative status/capacity (TAS/TAC) can be quantified by referring the optical density of the calibrator.

### 7.2 Test procedure

Bring all reagents and samples to room temperature and mix well.

Mark the positions of CAL /SAMPLE /CTRL (calibrator/sample/controls) on a protocol sheet.

#### Example

	with enzyme		without enzyme		with enzyme		without enzyme		with enzyme		without enzyme	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P1	P1	P1	P1	P9	P9	P9	P9	P14	P14	P14	P14
B	P2	P2	P2	P2	Ctrl1	Ctrl1	Ctrl1	Ctrl1	P15	P15	P15	P15
C	P3	P3	P3	P3	P10	P10	P10	P10	P16	P16	P16	P16
D	P4	P4	P4	P4	Cal	Cal	Cal	Cal	P17	P17	P17	P17
E	P5	P5	P5	P5	P11	P11	P11	P11	P18	P18	P18	P18
F	P6	P6	P6	P6	Ctrl2	Ctrl2	Ctrl2	Ctrl2	P19	P19	P19	P19
G	P7	P7	P7	P7	P12	P12	P12	P12	P20	P20	P20	P20
H	P8	P8	P8	P8	P13	P13	P13	P13	P21	P21	P21	P21

Px = patient sample, Cal = calibrator, Ctrl = control

Take as many microtiter strips as needed from kit. Store unused strips covered at 2 °C - 8 °C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1. Add **10 µL of calibrator** (reconstituted CAL), **sample or control 1 or 2** (reconstituted CTRL1 or CTRL2) into the respective wells.  
**Please note:** Always pipet samples, controls and calibrator in 4 wells, 2 wells for enzyme treatment and 2 without enzyme treatment.
2. Add **100 µL** freshly prepared **reagent 1** in each well.
3. Incubate for **10 min** at **37 °C**
4. Add **100 µL** freshly prepared **reagent 2a** (with enzyme), respectively **reagent 2b** (without enzyme) in the corresponding wells.
5. Incubate for **5 min** at **room temperature**.
6. Add **50 µL** stop solution (STOP) and mix well.
7. Determine **absorption immediately** with a microtiter plate reader at **450 nm**.

## 8 RESULTS

### 8.1 Calculation

The difference of the sample values with and without enzyme is inversely proportional to the antioxidative capacity: To get the  $\Delta OD$ , subtract the OD-values of samples without enzyme from the OD-values of samples with enzyme. The antioxidative capacity is calculated according to the following formula:

$$\text{antioxidative capacity of a sample } [\mu\text{mol/L}] = 392 - (392 - \text{calibrator concentration}) \times \frac{\Delta OD_{\text{sample}}}{\Delta OD_{\text{calibrator}}}$$

## 9 LIMITATIONS

The use of heparin plasma results in clouding of the starting solution and thus to incorrect measurement results. Strong haemolytic and lipaemic samples often show pathological antioxidant capacity. We therefore do not recommend the measurement of such samples. Whole blood is not suitable for the measurement.

## 10 QUALITY CONTROL

DRG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

### 10.1 Reference range

Based on studies of EDTA-plasma and serum of apparently healthy persons (n = 69), the following reference values have been estimated:

low antioxidative capacity	< 280 $\mu\text{mol/L}$
middle antioxidative capacity	280 - 320 $\mu\text{mol/L}$
high antioxidative capacity	> 320 $\mu\text{mol/L}$
Mean value	305 $\mu\text{mol/L}$

We recommend each laboratory to establish its own reference range. The values mentioned above are only for orientation and can deviate from other published data.

## 11 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 11.1 Precision and reproducibility

#### Intra-Assay (n = 12)

Sample	ImAnOx [ $\mu\text{mol/L}$ ]	CV [%]
1	213	3.99
2	308	2.04

#### Inter-Assay (n = 12)

Sample	ImAnOx [ $\mu\text{mol/L}$ ]	CV [%]
1	217	2.65
2	285	3.89

### 11.2 Analytical Sensitivity

Limit of detection 130  $\mu\text{mol/L}$

## 12 PRECAUTIONS

- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- The stop solution consists of diluted sulphuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water.
- The test components contain organic solvents. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide and ProClin are harmful to health and the environment. Substrates for enzymatic color reactions can also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances should be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available on request.
- As a precaution, it is recommended that the human material used is always considered potentially infectious.

## 13 GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- All reagents in the kit package are for in vitro diagnostic use only.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which has not been consulted with the producer, may influence the results of the test. DRG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Control samples should be analyzed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.
- Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

## 1 VERWENDUNGSZWECK

Dieser photometrische Test ist für die quantitative Bestimmung des gesamten antioxidativen Status/Kapazität (TAS, total antioxidative status bzw. TAC, total antioxidative capacity) in Serum und EDTA-Plasma geeignet.

Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

## 2 EINLEITUNG

Eine Überproduktion von Sauerstoffradikalen oder unzureichende antioxidative Abwehrmechanismen führen im Organismus zu einem gefährlichen Ungleichgewicht. Durch dieses Ungleichgewicht werden Pathomechanismen in Gang gesetzt, die mittel- oder unmittelbar Verursacher für eine Vielzahl von Krankheiten sind. Zu nennen wären hier an erster Stelle die kardiovaskulären Erkrankungen und die Arteriosklerose. Aber auch die Beteiligung an Entzündungsvorgängen, Sepsis, Karzinogenese und neurodegenerativen Prozessen ist augenscheinlich und kausativ.

Diese Befunde sind mit ein Grund, weshalb die Bestimmung des oxidativen Status/ oxidativen Stress für die heutige medizinische Diagnostik und Forschung von grundlegender Bedeutung ist. Die bisher eingesetzten Methoden, um die radikalvermittelten Effekte wie z. B. Lipidperoxidation zu erfassen, sind zum Teil sehr aufwändig (HPLC) oder weisen nur Abbauprodukte mehrfach ungesättigter Fettsäuren nach (z. B. TBARS).

Der Antioxidative-Kapazitäts-Assay hingegen ist schnell und einfach abzuarbeiten und erfasst die gesamte antioxidative Kapazität einer Probe.

## 3 INHALT DER TESTPACKUNG

Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
RECSOL	Rekonstitutionslösung	15 mL
PLATE	Mikrotitermodul	2x
CAL	Kalibrator, lyophilisiert (Konzentration siehe Spezifikationsdatenblatt)	4x
CTRL1	Kontrolle 1; lyophilisiert	4x
CTRL2	Kontrolle2; lyophilisiert	4x
PER	Peroxidlösung	250 µL
REABUF A	Reaktionspuffer A	100 mL
REABUF B	Reaktionspuffer B	1.5 mL
ENZ	Enzymlösung	50 µL
STOP	Stopplösung	15 mL

## 4 ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Vortex-Wirbelmischer
- diverse Pipetten
- Mikrotiterplattenphotometer
- Temperiereinheit für 37 °C

## 5 LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

### **Kalibrator und Kontrollen**

Der **lyophilisierte Kalibrator** (CAL) und die **lyophilisierten Kontrollen 1 und 2** (CTRL1 und CTRL2) sind bei **-20 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch werden sie mit je **250 µL Rekonstitutionslösung** (RECSOL) resuspendiert, zum Lösen 5 min stehengelassen und dann mittels Vortex-Wirbelmischer homogenisiert. Aliquots des **Kalibrators** (resuspendierter CAL) und der **Kontrollen 1 und 2** (resuspendierte CTRL1 und CTRL2) sind bei **-20 °C** für **4 Wochen** stabil. **Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.**

Die Konzentration des Kalibrators und der Kontrollen ändert sich geringfügig von Charge zu Charge. Der genaue Gehalt ist den entsprechenden Produktspezifikationen zu entnehmen.

### **Lagerung der übrigen Reagenzien**

Alle anderen Testreagenzien sind bei **2 °C - 8 °C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

### **Vorbereitung von Reagenz 1**

**Um die Funktionalität von Reagenz 1 zu gewährleisten, ist bei der Herstellung auf die Verwendung von lichtgeschützten Behältern (beispielsweise Braunglas) zu achten.**

Zur Herstellung des Reagenz 1 wird **unmittelbar vor Gebrauch** Peroxidlösung (PER) in Reaktionspuffer A (REABUF A) verdünnt.

Zum Beispiel:

5 mL Reaktionspuffer A (REABUF A) + 10 µL Peroxidlösung (PER) = Vorverdünnung

100 µL Vorverdünnung + 4,9 mL Reaktionspuffer A (REABUF A) = **Reagenz 1**

**Reagenz 1 ist nicht stabil und kann nicht gelagert werden.**

**Wichtig:** Die Angaben sind ausreichend für die Durchführung von 50 Bestimmungen (25 Duplikate) und dienen als Richtwerte, die an die jeweilige Probenanzahl anzupassen sind.

### **Vorbereitung von Reagenz 2**

**Um die Funktionalität von Reagenz 2 zu gewährleisten, ist bei der Herstellung auf die Verwendung von lichtgeschützten Behältern (beispielsweise Braunglas) zu achten.**

Aufgrund von Eigenabsorption und der während der Inkubation durch Wasserstoffperoxid gebildeten, bei 450 nm absorbierenden Reaktionsprodukte ist es notwendig, die Messung **mit und ohne Zugabe von Enzym** durchzuführen.

Zur Herstellung des **Reagenz 2** werden **unmittelbar vor Gebrauch** Reaktionspuffer A (REABUF A) und Reaktionspuffer B (REABUF B) gemischt, einmal mit und einmal ohne Zugabe von Enzymlösung (ENZ).

Zum Beispiel:

Reagenz 2a: 5 mL Reaktionspuffer A (REABUF A) + 100 µL Reaktionspuffer B (REABUF B) + 5 µL Enzymlösung (ENZ) = **Reagenz 2a mit Enzymlösung**

Reagenz 2b: 5 mL Reaktionspuffer A (REABUF A) + 100 µL Reaktionspuffer B (REABUF B)  
= **Reagenz 2b ohne Enzymlösung**

**Reagenz 2a mit und Reagenz 2b ohne Zugabe von Enzymlösung sind nicht stabil und können nicht gelagert werden.**

**Wichtig:** Die Enzymlösung (ENZ) sollte vor Benutzung kurz zentrifugiert werden, um evtl. am Deckel haftende Flüssigkeit nicht zu verlieren. Die Enzymlösung (ENZ) muss nach Gebrauch wieder mit Dichtfilm (z. B. Parafilm) verschlossen werden.

**Wichtig:** Die Angaben sind ausreichend für die Durchführung von 50 Bestimmungen und dienen als Richtwerte, die an die jeweilige Probenanzahl anzupassen sind.

## **6 PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG**

Als Probe eignen sich Serum und EDTA-Plasma aus venösem Nüchternblut.

Lipämische und hämolytische Proben beeinflussen das Testergebnis und sollten nicht verwendet werden.

### **Lagerung**

Die Probe kann als Vollblut bei 2 °C - 8 °C innerhalb von 24 Stunden versendet werden. Anschließend müssen die Seren bzw. Plasmen bei -20 °C bis zur Messung gelagert werden.

Die Proben können bis zu 4 Wochen bei -20 °C gelagert werden.

### **Vorbereitung**

Proben, die sichtbare Mengen an Feststoff (meist Kryoproteine) enthalten, sollten vor Einsatz im Assay zentrifugiert werden (mind. 5 min bei 10 000 g) und der resultierende Überstand im Test eingesetzt werden.

Für eine Bestimmung in Doppelwerten werden **4 x je 10 µL** jeder vorbereiteten Probe im Test eingesetzt.

## 7 TESTDURCHFÜHRUNG

### 7.1 Testprinzip

Dieser photometrische Test dient zur quantitativen Bestimmung vom gesamten antioxidativen Status/Kapazität (TAS/TAC) in Serum und EDTA-Plasma.

Die Bestimmung der Antioxidantien erfolgt über eine Reaktion einer definierten Menge exogenen Peroxids ( $H_2O_2$ ) mit den in der Probe vorliegenden Antioxidantien über einen bestimmten Zeitraum. Nicht umgesetztes Peroxid wird in einer peroxidasekatalysierten Reaktion quantifiziert.

Nach Zugabe der Stopplösung (STOP) wird die chromogene Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 450 nm photometrisch gemessen. Anhand eines mitgeführten Kalibrators lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln. Das antioxidative Potential wird in Wasserstoffperoxid-Äquivalenten angegeben.

#### Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Kalibrator/Proben/Kontrollen (CAL /SAMPLE /CTRL) im Protokollblatt.

#### Beispiel

	mit Enzym		ohne Enzym		mit Enzym		ohne Enzym		mit Enzym		ohne Enzym	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P1	P1	P1	P1	P9	P9	P9	P9	P14	P14	P14	P14
B	P2	P2	P2	P2	Ctrl1	Ctrl1	Ctrl1	Ctrl1	P15	P15	P15	P15
C	P3	P3	P3	P3	P10	P10	P10	P10	P16	P16	P16	P16
D	P4	P4	P4	P4	Cal	Cal	Cal	Cal	P17	P17	P17	P17
E	P5	P5	P5	P5	P11	P11	P11	P11	P18	P18	P18	P18
F	P6	P6	P6	P6	Ctrl2	Ctrl2	Ctrl2	Ctrl2	P19	P19	P19	P19
G	P7	P7	P7	P7	P12	P12	P12	P12	P20	P20	P20	P20
H	P8	P8	P8	P8	P13	P13	P13	P13	P21	P21	P21	P21

Px = Probe, Cal = Kalibrator, Ctrl = Kontrolle

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können abgeklebt bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

- 10 µL Kalibrator** (rekonstituierter CAL), **Kontrolle 1 oder 2** (rekonstituierte CTRL1 oder CTRL2) **oder Probe** in die Mikrotiterstreifen pipettieren.  
**Bitte beachten:** Proben und Kalibrator immer in **vier Vertiefungen** vorlegen, da eine Doppelbestimmung mit Enzym und eine ohne erfolgt.
- 100 µL** frisch angesetztes **Reagenz 1** in alle Vertiefungen pipettieren.
- 10 min bei 37 °C** inkubieren.
- 100 µL** frisch angesetztes **Reagenz 2a** mit Enzym und **Reagenz 2b** ohne Enzym in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren.
- 5 min bei Raumtemperatur** inkubieren.
- 50 µL Stopplösung** (STOP) in alle Vertiefungen pipettieren, gut mischen.
- Extinktion sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** messen.

## 8 ERGEBNISSE

### Berechnung

Die Differenz aus der Messung mit Enzym und der ohne Enzym ist umgekehrt proportional dem Antioxidantiengehalt der Probe:

Zur Auswertung werden die OD-Werte der gemessenen Proben bzw. Kontrollen und des Kalibrators aus der Messung ohne Enzym von den OD-Werten der Messung mit Enzym subtrahiert.

An den so erhaltenen Differenzen werden dann die Proben kalibriert.

$$\text{Antioxidative Kapazität einer Probe } [\mu\text{mol/L}] = 392 - (392 - \text{Kalibratorkonzentration}) \times \frac{\Delta\text{OD}_{\text{Probe}}}{\Delta\text{OD}_{\text{Kalibrator}}}$$

## 9 EINSCHRÄNKUNGEN

Die Verwendung von Heparin-Plasma führt zu Eintrübungen des Ansatzes und damit zu falschen Messergebnissen. Stark hämolytische sowie lipämische Proben zeigen vielfach pathologische antioxidative Kapazitäten. Wir raten daher von der Messung solcher Proben ab.

Vollblut ist nicht für die Messung geeignet.

## 10 QUALITÄTSKONTROLLE

DRG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des auf der Spezifikation angegebenen Bereiches, kann DRG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

### 10.1 Referenzwerte

Anhand einer laborinternen Studie mit EDTA-Plasmen und Seren von augenscheinlich Gesunden (n = 69) wurden folgende Referenzwerte für EDTA-Plasma und Serum ermittelt:

niedrige antioxidative Kapazität	< 280 µmol/L
mittlere antioxidative Kapazität	280 - 320 µmol/L
hohe antioxidative Kapazität	> 320 µmol/L
Mittelwert	305 µmol/L

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren, da Referenzbereiche stark von der Auswahl des Probandenkollektivs abhängig sind. Die Angabe des Referenzbereichs dient lediglich der Orientierung.

## 11 TESTCHARAKTERISTIKA

### 11.1 Präzision und Reproduzierbarkeit

#### Intra-Assay (n = 12)

Probe	ImAnOx [µmol/L]	VK [%]
1	213	3,99
2	308	2,04

#### Inter-Assay (n = 12)

Probe	ImAnOx [µmol/L]	VK [%]
1	217	2,65
2	285	3,89

### 11.2 Analytische Sensitivität

Nachweisgrenze 130 µmol/L

## 12 VORSICHTSMASSNAHMEN

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei DRG erhalten.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.
- Als Vorsichtsmaßnahme wird empfohlen, das verwendete Humanmaterial immer als potentiell infektiös zu betrachten.

## 13 ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*- Diagnostik verwendet werden.
- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Der Assay ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettierolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma DRG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Jedes schwerwiegende Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

## SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Diagnostica in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostic in vitro
<b>REF</b>	Catalogue number *	Artikelnummer *	No. di Cat.	No de catálogo	Référence
<b>LOT</b>	Batch code *	Chargencode *	Lotto no	Número de lote	No. de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Caution *	Achtung *			
<b>RUO</b>	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité