

ImAnOx (TAS) Kit

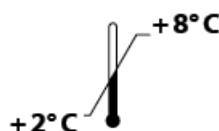
Photometrisches Testsystem zur Bestimmung des gesamten antioxidativen Status(TAS) in Serum und EDTA-Plasma

Photometric test system for the determination of the total antioxidative status (TAS) in serum and EDTA-plasma

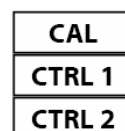
Gültig ab / Valid from 02.08.2006



KC 5200



+8°C



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Info@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. VERWENDUNGSZWECK	3
2. EINLEITUNG	3
3. TESTPRINZIP	3
4. INHALT DER TESTPACKUNG	4
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	5
7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN	6
8. PROBENVORBEREITUNG	6
9. TESTDURCHFÜHRUNG	6
HINWEISE	6
ARBEITSSCHEMA	7
PIPETTIERSCHEMA (BEISPIEL)	7
10. AUSWERTUNG	8
11. EINSCHRÄNKUNGEN	8
12. ASSAY-CHARAKTERISTIKA	8
NORMBEREICH	8
KONTROLLEN	9
13. TESTCHARAKTERISTIKA	9
PRÄZISION UND REPRODUZIERBARKEIT	9
NACHWEISGRENZE	9
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	10

1. INTENDED USE	12
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST	12
3. PRINCIPLE OF THE TEST	12
4. MATERIAL SUPPLIED	13
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	13
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	14
PREPARATION OF REAGENTS	14
RECONSTITUTION OF CALIBRATORS AND CONTROLS	14
7. PRECAUTIONS	15
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	15
9. ASSAY PROCEDURE	15
PROCEDURAL NOTES	15
SAMPLE AND STANDARD PREPARATION	16
PIPETTING SCHEME (EXAMPLE)	16
10. RESULTS	17
CALCULATION	17
11. LIMITATIONS	17
12. QUALITY CONTROL	17
EXPECTED VALUES	17
CONTROLS	18
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	18
PRECISION AND REPRODUCIBILITY	18
DETECTION LIMIT	18
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	19

1. VERWENDUNGSZWECK

Dieser photometrische Test ist für die Bestimmung des **gesamten antioxidativen Status (TAS, total antioxidative status)** 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 kardiovasikulären Erkrankungen und die Arteriosklerose. Aber auch die Beteiligung an Entzündungsvorgängen, Sepsis, Karzinogenese und neurodegenerativen Prozessen ist augenscheinlich und causativ.

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 aufwendig (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. TESTPRINZIP

Die Bestimmung der Antioxidantien erfolgt über eine Reaktion von exogenem Peroxid mit den in der Probe vorliegenden Antioxidantien über einen bestimmten Zeitraum. Nicht umgesetztes Peroxid wird in einer peroxidasekatalysierten Reaktion quantifiziert.

Nach Zugabe der Stopplösung wird die chromogene Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 450 nm photometrisch gemessen. Die Quantifizierung erfolgt über einen mitgelieferten Kalibrator. Das antioxidative Potential wird in Wasserstoffperoxid-Äquivalenten angegeben.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Inhalt	Kit Komponenten	Menge
KC5200KA	CAL	Kalibrator (lyoph. 250 µl)	3 Fläschchen
KC5200KO	CTRL1 CTRL2	Kontrolle 1 und 2 (lyoph. 250 µl)	je 3 Fläschchen
KC5200MTP	PLATE	Mikrotiterplatte	2 Stück
KC5200PL	PER	Peroxidlösung	0,25 ml
KC5200RA	REABUF A	Reaktionspuffer A	105 ml
KC5200RB	REABUF B	Reaktionspuffer B	1,5 ml
KC5200EL	ENZ	Enzymlösung	35 µl
KC5200SL	STOP	Stopplösung (Vorsicht: ätzend)	11 ml
KC5200RL	RECSOL	Rekonstitutionslösung	5 ml

Neben den kompletten Kits können auch alle Komponenten einzeln bestellt werden. Bitte fordern Sie unsere Einzelkomponentenpreisliste an.

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Vortex-Wirbelmischer
- diverse Pipetten
- ELISA-Reader
- Temperiereinheit für 37 °C

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Die Testreagenzien sind bei 2-8 °C, die **Kalibratoren** (CAL) und die **Kontrollen** (CTRL1, CTRL2) bei -20 °C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

Herstellung der Reagenzien

- Das **Reagenz 1** wird wie folgt unmittelbar vor Testansatz hergestellt:
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 kann **nicht** aufbewahrt werden.
- Das **Reagenz 2** wird wie folgt unmittelbar vor Testansatz hergestellt:
Aufgrund der Eigenabsorption der Probe 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.
 - a) 5 ml Reaktionspuffer A (REABUF A) + 100 µl Reaktionspuffer B (REABUF B) + 5 µl Enzymlösung (ENZ)
 - b) 5 ml Reaktionspuffer A (REABUF A) + 100 µl Reaktionspuffer B (REABUF B)

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

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.

Rekonstitution von Kalibrator und Kontrollen

- Der **Kalibrator** (CAL) und die **Kontrollen** (CTRL1, CTRL2) werden mit 250 µl Rekonstitutionslösung (RECSOL) resuspendiert.
Nach ca. 5 min werden der **Kalibrator** (CAL) und die **Kontrollen** (CTRL1, CTRL2) mittels Vortex-Wirbelmischer homogenisiert, anschließend aliquotiert und bei -20 °C gelagert. Die so behandelten **Kalibrator** (CAL) und **Kontrollen** (CTRL1, CTRL2) sind 4 Wochen bei -20°C stabil.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Kalibrator (CAL) und Kontrollen (CTRL) sind auf Humanplasma aufgebaut. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Stopplösung (STOP) besteht aus verdünnte H_2SO_4 . H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch im verdünnten Zustand mit Vorsicht behandelt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

- Als Probe eignet sich Serum und EDTA-Plasma aus venösem Nüchternblut. Die Probe kann als Vollblut bei 2-8 °C innerhalb von 24 Stunden versendet werden. Anschließend müssen die Seren bzw. Plasmen bei -20 °C bis zur Messung gelagert werden. Sie sind über einen Zeitraum von 4 Wochen stabil.
- Lipämische und hämolytische Proben beeinflussen das Testergebnis und sollten nicht verwendet werden.
- Proben, welche 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.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.
- Der Assay ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung abzuarbeiten.

Arbeitsschema

Die Mikrotiterplatte ist gebrauchsfertig.

1. **10 µl** Probe bzw. Kalibrator (CAL) und Kontrolle (CTRL1, CTRL2) in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. **Bitte beachten:** Proben und Kalibrator (CAL) immer in vier Vertiefungen vorlegen, da eine Doppel-Messung mit Enzym und eine ohne erfolgt.
2. **100 µl** Reagenz 1 hinzugeben.
3. **10 min** bei 37 °C inkubieren.
4. **100 µl** Reagenz 2 mit Enzym bzw. b ohne Enzym hinzugeben.
5. **5 min** bei Raumtemperatur inkubieren.
6. **50 µl** Stopplösung (STOP) hinzugeben.
7. **Messung:** erfolgt sofort nach Zugabe der Stopplösung (STOP) bei 450 nm im ELISA Reader.

Pipettierschema (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	K1	K1	K1	K1	P15	P15	P15	P15
C	P3	P3	P3	P3	P10	P10	P10	P10	P16	P16	P16	P16
D	P4	P4	P4	P4	Kal	Kal	Kal	Kal	P17	P17	P17	P17
E	P5	P5	P5	P5	P11	P11	P11	P11	P18	P18	P18	P18
F	P6	P6	P6	P6	K2	K2	K2	K2	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

Kal: Kalibrator (CAL)

K1: Kontrolle 1 (CTRL1)

K2: Kontrolle 2 (CTRL2)

Px: Patientenprobe

10. AUSWERTUNG

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

Zur Auswertung werden von den gemessenen Proben bzw. Kontrollen (CTRL1, CTRL2) und dem Kalibrator (CAL) die erhaltenen OD-Werte der Messung „ohne Enzym“ von den OD-Werten der Messung „mit Enzym“ subtrahiert.

An den so erhaltenen Differenzen werden dann die Proben kalibriert.

$$\text{Antioxidative Kapazität einer Probe } (\mu\text{mol/l}) = 392 - (392 - \text{Konz. Kalibrator}) * \frac{\Delta\text{OD Probe}}{\Delta\text{OD Kalibrator}}$$

11. 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.

12. ASSAY-CHARAKTERISTIKA

Normbereich

(vorläufig)

EDTA-Plasma und Serum:

< 280 $\mu\text{mol/l}$	niedrige antioxidative Kapazität
280-320 $\mu\text{mol/l}$	mittlere antioxidative Kapazität
>320 $\mu\text{mol/l}$	hohe antioxidative Kapazität

Der Mittelwert eines augenscheinlich gesunden Kontrollkollektivs wurde bei 305 $\mu\text{mol/l}$ gefunden (n=69).

Wir empfehlen jedem Labor seinen eigenen Normalwerte-Bereich zu erstellen, da Referenzbereiche stark von der Auswahl des Probandenkollektivs abhängig sind. Die Angabe des Normalbereichs dient lediglich der Orientierung.

Kontrollen

Zur Überwachung der Qualität der Analyse sollten bei jedem Lauf Kontrollen mitgeführt werden. Wenn eine oder mehrere Kontrollen eines Laufs außerhalb ihres Bereichs liegen ist es möglich, dass auch die Patientenproben falsch ermittelt wurden.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Intra-Assay VK:	0,93 % (181 µmol/l)	[n = 12]
	2,33 % (217 µmol/l)	[n = 12]
Inter-Assay VK:	1,63 % (185 µmol/l)	[n = 12]
	2,43 % (217 µmol/l)	[n = 12]

Nachweisgrenze

130 µmol/l

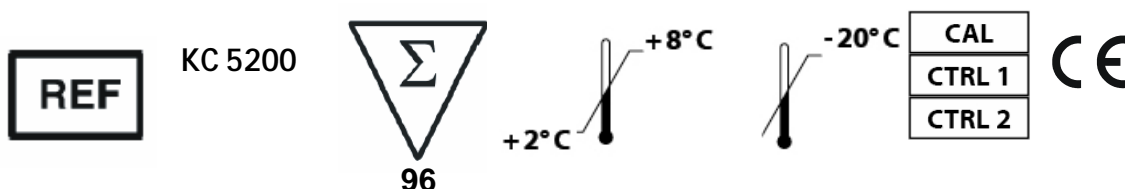
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.
- Sämtliche in der Testpackung enthaltene Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in vitro* Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien sollten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden (Verfallsdatum siehe Testpackung).
- Einzelkomponenten mit unterschiedlichen Lot-Nummern aus verschiedenen Testpackungen sollten nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die dafür erstellten Richtlinien für medizinische Laboratorien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten und der Aufbereitung der Proben wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für direkt daraus resultierende Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

ImAnOx (TAS) Kit

Photometric test system for the determination of the total antioxidative status (TAS) in serum and EDTA-plasma

Valid from 02.08.2006



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Info@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com

1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of the **total antioxidative status (TAS)** in EDTA-plasma and serum. This Assay is designed for *in vitro* diagnostic use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

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) circulate 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. 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 (H₂O₂). The antioxidants in the sample eliminate a certain amount of the provided hydrogen peroxide. The residual H₂O₂ 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.

4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No	Content	Kit Components	Quantity
KC5200KA	CAL	Calibrator (lyoph. 250 µl)	3 vials
KC5200KO	CTRL1 CTRL2	Control 1 and 2 (lyoph. 250 µl)	3 vials each
KC5200MTP	PLATE	Microtiter plate	2 pieces
KC5200PL	PER	Peroxide solution	0.25 ml
KC5200RA	REABUF A	Reaction buffer A	105 ml
KC5200RB	REABUF B	Reaction buffer B	1.5 ml
KC5200EL	ENZ	Enzyme solution	35 µl
KC5200SL	STOP	ELISA stop solution, ready to use	11 ml
KC5200RL	RECSOL	Reconstitution solution (aqua bidistilled)	5 ml

Individual components can be ordered separately from Immundiagnostik. Please ask for the price list of the individual components.

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Vortex mixer
- Precision pipettors calibrated to deliver 10-100 µl
- ELISA-reader
- Incubation chamber for 37 °C

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

All reagents are stable at 2-8 °C; **calibrator** (CAL) and **controls** (CTRL1, CTRL2) at -20 °C up to the expiry date stated on of the label.

Preparation of reagents

- **Reagent 1** must be prepared directly before use:

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 can not be stored.

- **Reagent 2** must be prepared directly before use:

To eliminate the effects of self-absorption at 450 nm of sample and reaction products generated by the addition of hydrogen peroxide, it is important to assay the sample **with** and **without** any addition of enzyme.

a) 5 ml reaction buffer A (REABUF A) + 100 µl reaction buffer B (REABUF B) +
5 µl enzyme solution (ENZ)

b) 5 ml reaction buffer A (REABUF A) + 100 µl reaction buffer B (REABUF B)

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

Important: To avoid losses, the enzyme solution (ENZ) should be centrifuged prior to use. After use, the vial should be immediately and correctly closed to avoid contamination or evaporation (e.g. parafilm).

Reconstitution of calibrator and controls

The **calibrator** (CAL) and **controls** (CTRL1, CTRL2) must be reconstituted in 250 µl reconstitution solution (RECSOL).

After 5 minutes, homogenize reconstituted calibrators (CAL) and controls (CTRL1, CTRL2) on a vortex mixer. Take aliquots and store them at -20°C. Reconstituted calibrator (CAL) and controls (CTRL1, CTRL2) are stable for at least 4 weeks at -20°C. Avoid repeated freeze-thaw circles. The concentration might have minor changes from lot to lot.

7. PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- This product contains human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2, and anti-HCV. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2, HVC or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- The stop solution (STOP) contains acid. It 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 out immediately with copious quantities of water. Do not breathe vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

EDTA-plasma and serum

- Venous fasting blood is suitable for this test system. The blood sample can be shipped at 2-8 °C within 24 hours. Serum and EDTA-plasma should be stored at -20 °C up to the measurement. They are stable at -20 °C for 4 weeks.
- Lipaemia and haemolysis interfere with the test system. Such samples should not be measured.
- Samples with visible amounts of precipitates should be centrifuged (5 min at 10000 g) prior to measurement, and the resulting supernatant is used in the test.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.
- The assay should always be performed due to the manual which is given in the kit.

Sample and standard preparation

The microtiter plate is ready to use.

Pipette **10 µl** of sample, calibrator (CAL) or control (CTRL1, CTRL2) in duplicates in appropriate wells. **Please note:** Pipette always samples and calibrator (CAL) in 4 wells, 2 wells for enzyme treatment and 2 without any enzyme treatment.

Add **100 µl** of reagent 1

Incubate for **10 min** at **37°C**

Add **100 µl** of reagent 2a, respectively reagent 2b

Incubate for **5 min** at **room temperature**

Add **50 µl** of stop solution (STOP)

Measurement: Perform immediately after addition of the stop solution (STOP) at 450 nm in the ELISA reader

Pipetting scheme (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	C1	C1	C1	C1	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	C2	C2	C2	C2	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

Cal: Calibrator (CAL)

C1: Control 1 (CTRL1)

C2: Control 2 (CTRL2)

Px: Patient sample

10. RESULTS

Calculation

The difference of the sample values „with enzyme“ and „without enzyme“ is inverse proportional to the antioxidative capacity:

To get the ΔOD , 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:

$$\text{Antiox. capacity of the sample } (\mu\text{mol/l}) = 392 - (392 - \text{Conc. Calibrator}) * \frac{\Delta OD \text{ sample}}{\Delta OD \text{ Calibrator}}$$

11. LIMITATIONS

Whole blood or heparin-plasma can not be used.

Strong haemolytic and lipaemic samples often show pathological concentrations. We don't recommend analysis of such samples.

12. QUALITY CONTROL

Expected values

Normal values (preliminary):

EDTA-plasma and serum:

< 280 $\mu\text{mol/l}$	low antioxidative capacity
280-320 $\mu\text{mol/l}$	middle antioxidative capacity
> 320 $\mu\text{mol/l}$	high antioxidative capacity

The mean value of an apparently healthy group of people were found at 305 $\mu\text{mol/l}$ (n=69).

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

Controls

Control samples should be analyzed 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.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision and reproducibility

Intra-Assay CV:	0.9 % (181 $\mu\text{mol/l}$)	[n = 12]
	2.3 % (217 $\mu\text{mol/l}$)	[n = 12]
Inter-Assay CV:	1.63 % (185 $\mu\text{mol/l}$)	[n = 12]
	2.43 % (217 $\mu\text{mol/l}$)	[n = 12]

Detection limit

130 $\mu\text{mol/l}$

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components contain organic solvents. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are to be used for research only.
- The reagents should not be used after the date of expiry stated on the label.
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure that are not coordinated with the producer may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can, therefore, not be held reliable for any damage resulting from this.

N:\WINWORD.DAT\2-HPLC\ANL-ZUS\IMANOX.DOC