

A plazma totál gyökfogó kapacitásának meghatározására szolgáló reagenskészlet.

A szervezetben reaktív oxigén intermedierek keletkezése természetes folyamat. Ezen ún. szabad gyökök romboló hatását a szervezet antioxidáns mechanizmusokkal egy bizonyos mértékig ki tudja védeni, azonban, ha az egyensúly a szabadgyökök irányába tolódik el, oxidatív stressz lép fel.

A szabad gyököknek jelentős szerepe van az öregedésben, az atherosclerosisban, gyulladásokban, carcinogenesisben, májbetegségekben.

A módszer alkalmas szűrővizsgálatokra, mert a plazma totál gyökfogó kapacitása csökkenhet például vitaminhiánykor, gyulladásokban, immunfolyamatok károsodása, tumor stb. esetén és alkalmazható a kezelések hatékonyságának követésére is.

A módszer elve

A H_2O_2/OH^- mikroperoxidáz rendszer lúgos pH-n fényt bocsát ki, mert a komplex vas hatására a H_2O_2 -ből OH^- gyök keletkezik - Fenton-típusú reakcióban - és a gyök a luminolt gerjeszt. A luminol stabil aminosav anionná alakul át és hv kvantum (420 nm) távozik. Ha a rendszerhez bármilyen szöveti mintát, szuszpenziót adunk, akkor ez a kémiai (kemilumineszcencia) reakciót gátolja. A gátlás mértéke és a vizsgált biológiai anyag redox tulajdonsága között kapcsolat van.

Referencia-értéktartomány

$$\frac{RLU_{\min ta}}{RLU_{vak}} < 0,1$$

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normál tartományát meghatározni.

Reagens

- R1/1. Reagens (mikroperoxidáz liofilizátum)
 Tris
 Mikroperoxidáz
- R1/2. Reagens (luminol oldat)
 Tris
 Luminol
- R2/1. Reagens (hidrogén-peroxid oldat)
 H_2O_2
- R2/2. Reagens (puffer a hidrogén-peroxid oldathoz)
 Tris HCl

Biztonsági információk:

Reagens 1/1:

Figyelem. 2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3-propándiol tartalmaz. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Légúti irritációt okozhat. Kerülje a por belélegzését. SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Minta

Citrátos plazma.
 A vizsgálatot a minta levétele után a leghamarabb el kell végezni. A mintát 2-8°C-on kell tárolni.

Megjegyzés

Ügyeljünk az edényzet tisztaságára! Nehézfémek, különösen a vas jelenléte zavarja a reakciót!
 Csak in vitro diagnosztikai használatra!

A vizsgálat kivitelezése

A munkareagens elkészítése és stabilitása

1. oldat: oldjunk fel egy ampulla R1/1-t az R1/2 reagensben.
 Az oldat 2-8°C-on tárolva minimum két hétig felhasználható.

2. oldat: keverjük össze 1:15 arányban az R2/1 és az R2/2 reagenst.
 Az oldat 2-8°C-on tárolva minimum két hétig felhasználható.
 Az ideális beütésszám 5-8 millió között van.
 A mérés során a teljes RLU értékével kell számolni, nem a maximálissal.










Bemérés

	vak	minta
1. oldat	300 µl	300 µl
2. oldat	300 µl	300 µl
minta	-	20 µl

Módszer

Mérési mód: kinetikus
 A mérés ideje: 30 sec
 Injektálás: A+B
 A mérés ideje alatt a reagenseket 37 °C-on kell inkubálni.

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejáratási idő (év/hónap)		

Irodalom

- A. Blázovics, Á. Kovács, A. Lugasi, K. Hagymási, L. Bíró, J. Fehér: *Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Chron's disease and ulcerative colitis: A chemiluminescence study*, *Clinical Chemistry*, 45,6, 895-896, 1999
- K. Hagymási, Blázovics, G. Lengyel, I. Kocsis, J. Fehér: *Oxidative damage in alcoholic liver disease*, *Eur. J. Gastroenterol, Hepatol.*, 12, 1-5, 2000
- A. Blázovics, Á. Kovács, A. Lugasi, K. Hagymási, L. Bíró, J. Fehér: *Total scavenger capacity of erythrocytes and plasma is a good predictive factor in inflammatory bowel diseases*, *Current Topics in Biophysics*, 24,2,19-28, 2000.
- Á. Szilvási, A. Blázovics, Gy. Székely, E. Dinya, J. Fehér, Gy. Mózsik: *Comparative study between the free radicals and tumor markers in patients with gastrointestinal tumors*, *J. of Physiology*, 95, 247-252, 2001

Verzió: 85-DL-2015-09
 Felülvizsgálat dátuma: 2016-03

Reagent kit for the determination of total scavenger capacity of plasma.

The formation of reactive oxygen intermediers in the human body is a natural progress. The damaging effect of the free radicals can be avoided in the human body by the antioxidant mechanisms to some extent however if the balance is shifted into a greater number of free radicals oxidative stress may occur.

Free radicals have significant role in ageing, inflammations, carcinogenesis and liver diseases.

The determination of total scavenger capacity is suitable for screening tests because the total scavenger capacity of the plasma can decrease in case of lack of vitamins, inflammations, tumors and damage of immuno-processes and also for monitoring the efficiency of treatments.

Method

The microperoxidase system H_2O_2/OH^{\cdot} emits light at alkaline pH, the effect of complex iron creates OH^{\cdot} radical from H_2O_2 - in *Fenton*-type reaction - and the radical generates luminol.

Luminol is transformed into stable aminophthalate anion and $h\nu$ quantum (420 nm) is released.

If tissue sample or suspension is added to the system then this blocks the chemical (chemiluminescence) reaction. There is a connection between the rate of blocking and the redox status of the examined biological material.

Reference value

$$\frac{RLU_{sample}}{RLU_{blank}} < 0,1$$

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

R1/1 Reagent (microperoxidase freeze dried reagent)

-Microperoxidase

R1/2 Reagent (luminol solution)

- Tris

- Luminol

R2/1 Reagent (hydrogen peroxide solution)

- H_2O_2

R2/2 Reagent (buffer for the hydrogen peroxide solution)

-Tris HCl

Safety instructions:

Reagent 1.1:

Warning. Contains 2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. May cause respiratory irritation. Avoid breathing dust. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do – continue rinsing.

For in vitro diagnostic use only.

Sample

Citrate plasma.

The measurement has to be done in the shortest time after sampling. The sample has to be stored at 2-8°C.

Preparation and stability of working reagent

1. Solution: Dissolve R1/1 reagent in R1/2 reagent.

When the solution is stored at 2-8°C it is stable for min. 2 weeks.

2. Solution: Mix the R2/1 reagent and R2/2 reagent in the ratio of 1:15.

When the solution is stored at 2-8°C it is stable for min. 2 weeks.

The ideal RLU of the sample blank is between 5-8 million.

Assay conditions

Method: kinetic

Measurement time: 30 sec

Injection: A+B

You need to use the total RLU during the measurement period, not the maximum value.

During the measurement the reagents have to be incubated at 37 °C.

Pipette into

	blank	sample
1. solution	300 µl	300 µl
2. solution	300 µl	300 µl
sample	-	20 µl

Note

Heavy metals especially iron interfere with the reaction. Dishes have to be clean.

The following symbols can be used on the labels



In vitro diagnostic device



Batch code



Manufacturer



Catalogue number



CE-marking



This way up



Temperature limitations



Biological risk



Use by (year/month)

Bibliography

1. A. Blázovics, Á. Kovács, A. Lugasi, K. Hagymási, L. Bíró, J. Fehér: *Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Chron's disease and ulcerative colitis: A chemiluminescence study*, *Clinical Chemistry*, 45,6, 895-896, 1999
2. K. Hagymási, Blázovics, G. Lengyel, I. Kocsis, J. Fehér: *Oxidative damage in alcoholic liver disease*, *Eur. J. Gastroenterol, Hepatol.*, 12, 1-5, 2000
3. A. Blázovics, Á. Kovács, A. Lugasi, K. Hagymási, L. Bíró, J. Fehér: *Total scavenger capacity of erythrocytes and plasma is a good predicative factor in inflammatory bowel diseases*, *Current Topics in Biophysics*, 24,2,19-28, 2000.
4. Á. Szilvási, A. Blázovics, Gy. Székely, E. Dinya, J. Fehér, Gy. Mózsik: *Comparative study between the free radicals and tumor markers in patients with gastrointestinal tumors*, *J. of Physiology*, 95, 247-252, 2001

Version: 85-DL-2015-09

Date of revision: 2016-03