**TAS ÇALIŞMA YÖNTEMİ:**

TAS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey)

**Test çalışma prensibi:** Numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. 660nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla alakalıdır. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapılır.

**Bileşenler:**

Tüm reaktifler ve standartlar kullanıma hazırdır.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Reagent 1 | | Buffer Solution | |
| Acetate Buffer | | 0.4 mol/L pH5.8 | |
| Reagent 2 | | Prochromogen Solution | |
| ABTS | | 30 mmol/L | |
| Standard | Trolox | | 1 mmol / L |
| QC Level 1 | Trolox | | 0.5 mmol / L |
| QC Level 2 | Trolox | | 2.0 mmol / L |

**Numune Çalışması:** Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 300 μl alındı, numuneden 18 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660nm yapıldı ardından reaktif 2’den 45 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660nm yapıldı.

**TOS ÇALIŞMA YÖNTEMİ:**

TOS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey)

**Çalışma prensibi:**Numunedeki oksidanlar ferrik iyonla tümleşik ferröz iyon-kıskacını oksitler. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan çoğaltan moleküller ile prolonje edilir. Ferrik iyon asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturur. Spektrofotometrede ölçülen rengin koyuluğu numunedeki oksidan moleküllerinin toplam miktarını verir. Kitin kalibrasyonu hidrojen peroxit ile yapılır, sonuçlar litre başına düşen mikromol hidrojen peroksit olarak verilir. (μmol H2O2 Equiv./L)

**Bileşenler**

Tüm reaktifler ve standartlar kullanıma hazırdır.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Reagent 1 | | Buffer Solution | |
| H2SO4 | | 25mM pH1.75 | |
| Reagent 2 | | Substrate Solution | |
| H2SO4  Ferrous ion  O-dianisidine | | 25mM pH1.75  5 mM  10nM | |
| Standard | H202 | | 10 μmol/L |
| QC Level 1 | H202 | | 5 μmol/L |
| QC Level 2 | H202 | | 20 μmol/L |

**Numune Çalışması:** Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 300 μl alındı, numuneden 45 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530nm yapıldı ardından reaktif 2’den 15 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530nm yapıldı.

Numune tüpü: Tas ve Tos testleri için önerilen kanalma tüpleri; kırmızı kapaklı boş biyokimya tüpü veya sarı kapaklı jelli biyokimya tüpüdür.

Numunenin toplanması: Kan alındıktan sonra ortalama 30-45 dk bekletilmelidir (bu kan materyallerinin çökmesi özellikle eritrositlerin santrifüj sırasında parçalanıp hemoliz oluşturmaması konusunda önemlidir) ardından 3.000rpm de 5dk çevrilmelidir (çökme gerçekleşmedi ise işlem tekrarlanır)

Numune saklanması: Sanrifüj işlemi ile kandan ayrılan serum tercihen eppendorf tüplerine alnıp kapağı kapatılır ve -80 °C de 6 ay boyunca saklanabilir.

Numune çalışma pratikliği: eppendorf tüplerine 1 den başlayarak toplanılacak numune sayısına kadar numaralandırılır.

**PARAOXONASE-1 (PON-1) ÇALIŞMA YÖNTEMİ:**

Paraoxonase-1 ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey)

Test çalışma prensibi: Örnekteki paraoksonaz enzimi reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder ve açığa çıkan ürünün absorbans artışı, absorbans spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlenir. Nonenzimatik hidroliz değeri, örnek değerinden çıkarılarak enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplanır. Sonuçlar dakikada bir mikromolar substratın hidrolizine eşit olan Ünite/Litre cinsinden ifade edilir.

Bileşenler:

• Reagent:1

• Reagent:2

• Standard

• Kontrol düşük

• Kontrol yüksek

Numune Çalışması: Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS300 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Çalışma adımları:

Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 300 μl alındı, numuneden 15 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 412nm yapıldı ardından reaktif 2’den 15 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 412nm yapıldı.