

CE

**REF** BIO60HEPA  
**96-Hulsplade**



**ARGUTUS** MEDICAL

**HEPKIT®-Alpha**  
**Human Alpha GST**

**Enzyme Immunbestemmelse**

**DANSK**

**Brugsanvisning**

# **INDHOLDSFORTEGNELSE**

BEREGNET ANVENDELSE	4
BAGGRUND	4
BESTEMMELSESPRINCIP	4
KOMPONENTER	5
FORSIGTIGHEDSREGLER	6
STABILITET OG OPBEVARING	7
YDERLIGERE PÅKRÆVEDE MATERIALER	7
KLARGØRING AF REAGENSER	8
PRØVEHÅNDBLÆNDING OG OPBEVARING	9
PRØVEKLARGØRING	9
FULD BESTEMMELSESPROCEDURE (1)	10
BEREGNING AF RESULTATER (1)	11
MULTI-BRUG FORMAT	11
FORKORTET BESTEMMELSESPROCEDURE (2)	12
BEREGNING AF RESULTATER (2)	13
QC-KRITERIER	13
BEGRÆNSNINGER I BRUGEN	13

YDELSESKARAKTERISTIKA	14
EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE	15
GARANTI	16
RESUMÉ AF ASSAY PROCEDURE	16
FORTOLK AF SYMBOLER	17
REFERENCER	17

## **BEREGNET ANVENDELSE**

Argutus Medical HEPKIT®-Alpha kit sørger for en metode til kvantitativ bestemmelse af alfa glutathion S-transferase ( $\alpha$ GST) i serum og natriumhepariniseret plasma. For bestemmelsen af  $\alpha$ GST inden for forskningsområder/ikke-kliniske områder eller bestemmelsen af andre GST klasser, bedes man kontakte Argutus Medical for yderligere information.

## **BAGGRUND**

I leveren er alfa glutathion S-transferase lokaliseret i hepatocytterne, medens pi GST ( $\pi$ GST) er begrænset til de intrahepatiske galdegangsceller<sup>1,2,3</sup>. Denne heterogene fordeling af GST underklasse antyder, at isoenzymerne har unikke *in vivo* funktioner i forskellige hepatiske regioner, og at detektionen af GST underklasseniveauer i biologiske væsker ville være af signifikant brug ved monitorering af integriteten af specifikke hepatiske regioner. For øjeblikket analyseres leverfunktionen ved en måling af leverenzymet såsom alanin aminotransferase (ALT) og aspartat aminotransferase (AST). En skavank ved disse markører er, at de ikke er fordelt ensartet udover leveren, med den periportale koncentration værende større end den centrilobulære<sup>4</sup>. Modsat har man fundet  $\alpha$ GST værende ligeligt fordelt i både de centrilobulære og periportale regioner<sup>2,3</sup>. Da de centrilobulære hepatocytter er meget følsomme overfor beskadigelse ved en lang række kliniske tilstande, inklusive afstødning af allograft<sup>5,6,7</sup>, viral hepatitis<sup>8</sup>, kronisk aktive hepatitis<sup>9</sup> og hepatotoksitet<sup>10</sup>, vil  $\alpha$ GST være en mere følsom indikator for den hepatiske status i disse og andre kliniske situationer.

HEPKIT®-Alpha er et specifikt, nøjagtigt immunoassay for  $\alpha$ GST<sup>11,12</sup> og er, værende et EIA, upåvirket af modulatorer af enzymaktivitet (f.eks. galdesalte og bilirubin)<sup>11</sup>. Det er derfor nu muligt at anvende  $\alpha$ GST kvantificering til at bestemme den hepatocellulære status for individer med risiko for leverskade.

## **BESTEMMELSESPRINCIP**

Argutus Medical HEPKIT®-Alpha er et kvantitativt enzym immunoassay. Testproceduren er baseret på den sekventielle tilsætning af prøve, enzym-konjugat og substrat til Microassay-brønde belagt med anti- $\alpha$ GST IgG. Den resulterende farveintensitet er proportional med mængden af  $\alpha$ GST tilstede i prøven. Bestemmelsesområdet er 1,25-40 $\mu$ g/L.

## **KOMPONENTER**

- |  |  |         |      |     |
|--|--|---------|------|-----|
| <p>1. Antistofbelagt Microassayplade:<br/>12x8 brøndstrimler belagt med IgG rettet mod <math>\alpha</math>GST.<br/>Brøndene kan brækkes af.<br/>KLAR TIL BRUG</p>                        | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">PLA</td> </tr> </table>  | PLA     |      |     |
| PLA  |  |         |      |     |
| <p>2. GST kalibrator:<br/>Renset <math>\alpha</math>GST i stabiliserende opløsningsmiddel (200<math>\mu</math>L).<br/>Indeholder Thiomersal og natriumazid.<br/>STAMOPLØSNING</p>        | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">CLA</td> </tr> </table>  | CLA     |      |     |
| CLA  |  |         |      |     |
| <p>3. Positiv kontrol:<br/><math>\alpha</math>GST (i opløsning indeholdende protein med tilsatte stabilisatorer (4,5mL).<br/>Indeholder Thiomersal og natriumazid.<br/>KLAR TIL BRUG</p> | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">CONTROL</td> <td style="padding: 2px 10px;">+</td> </tr> </table>  | CONTROL | +    |     |
| CONTROL  | +  |         |      |     |
| <p>4. Konjugatkoncentrat:<br/>51x Anti-<math>\alpha</math>GST IgG konjugeret til peberrodsperoxidase (300<math>\mu</math>L).<br/>Indeholder Thiomersal.<br/>KONCENTRAT</p>               | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">CONJ</td> <td style="padding: 2px 10px;">51X</td> </tr> </table>   | CONJ    | 51X  |     |
| CONJ   | 51X  |         |      |     |
| <p>5. Vaskekoncentrat:<br/>20xfosfatbufferet saltvand/Tween-20 (PBST 55mL).<br/>Indeholder Thiomersal.<br/>KONCENTRAT</p>  | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">BUF</td> <td style="padding: 2px 10px;">WASH</td> <td style="padding: 2px 10px;">20X</td> </tr> </table> | BUF     | WASH | 20X |
| BUF  | WASH   | 20X     |      |     |
| <p>6. Substrat:<br/>Stabiliseret flydende TMB opløsning (11mL).<br/>KLAR TIL BRUG</p>  | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">SUBS</td> <td style="padding: 2px 10px;">TMB</td> </tr> </table>   | SUBS    | TMB  |     |
| SUBS   | TMB  |         |      |     |
| <p>7. Stopopløsning:<br/>0,5mol/l svovlsyre (11mL).<br/>KLAR TIL BRUG</p>  | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">SOLN</td> <td style="padding: 2px 10px;">STP</td> </tr> </table>   | SOLN    | STP  |     |
| SOLN   | STP  |         |      |     |
| <p>8. Forsigtighedsregler</p>  | <table border="1" style="margin-left: auto;"> <tr> <td style="padding: 2px 10px;">INS</td> </tr> </table>  | INS     |      |     |
| INS  |  |         |      |     |

## **FORSIGTIGHEDSREGLER**

### **SIKKERHED**

- Argutus Medical HEPKIT® Alpha kit er kun til in vitro diagnostisk brug.
- Argutus Medical HEPKIT® Alpha kit er kun beregnet til anvendelse af uddannet laboratoriepersonale.
- Sættet indeholder materiale af human oprindelse, hvilket er blevet testet og fundet negativt overfor Hepatitis B DNA, HCV RNA og HIV RNA. Da ingen test imidlertid kan give fuldstændig sikkerhed, skal alle materialer behandles som potentielt infektiøse.
- Nogle reagenser indeholder Thiomersal, hvilket kan være toksisk, hvis det indtages.
- Stopopløsningen indeholder også svovlsyre, hvilket er ætsende. Undgå kontakt med huden og øjnene. Hvis der forekommer kontakt, så skyl øjeblikkeligt med vand og søg læge.
- Substratet indeholder TMB, hvilket kan irritere huden og slimhinderne. Ethvert substrat, der kommer i kontakt med huden, bør skylles af med vand.
- Nogle reagenser indeholder natriumazid, som kan danne potentielt eksplosionsfarlige metalazider med bly- eller kobber. Ved bortskafning bør reagenser skylles ud med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid.
- Bortskafning af alle kliniske prøver, inficeret eller potentielt inficeret materiale, skal ske i overensstemmelse med god laboratoriepraksis. Alle sådanne materialer bør håndteres og bortskaffes som værende potentielt infektiøse.
- Rester af kemikalier, præparationer og kitkomponenter betragtes almindeligvis som farligt affald. Alle sådanne materialer bør bortskaffes i overensstemmelse med fastlagte sikkerhedsprocedurer.
- Bær beskyttelsesbeklædning, latexhandsker til engangsbrug og øjenbeskyttelse ved håndtering af prøver og udførelse af bestemmelsen. Vask hænderne grundigt bagefter.
- Materialer må ikke pipetteres med munden, og man må aldrig spise eller drikke ved laboratoriets arbejdsborde.

### **PROCEDUREMÆSSIGT**

- Argutus Medical anbefaler, at brugere analyserer alle prøver med det samme kit-lotnummer for kliniske undersøgelsesprojekter for at sikre optimal overensstemmelse i undersøgelsen.
- Anvend ikke kit eller individuelle reagenser efter deres udløbsdato.
- Bland eller erstat ikke reagenser fra forskellige kit lotnumre.
- Afvigelser fra den medfølgende protokol kan medføre fejlagtige resultater.
- Udførelse af bestemmelsen udenfor de givne tids- og temperaturområder kan frembringe ugyldige resultater. Bestemmelser, der ikke falder indenfor de fastlagte tids- og temperaturområder, skal gentages.
- Levering af reagens bør være rettet mod midtpunktet af siden på brøndene, idet man er forsigtig med ikke at ridse siden med pipettespiden.
- Lad ikke brøndene tørre ind på noget tidspunkt under bestemmelsesproceduren.
- Man skal være forsigtig med ikke at kontaminere komponenter og altid anvende friske pipettespidser til hver prøve og komponent.

- Anvend ikke reagenser, der er slørede, eller hvor der er udfældning i opløsningen.
- Kontrollér, at vaskekoncentratet er grundigt blandet, og at der ikke er nogen krystaller tilbage inden rekonstituering.
- Destilleret eller deioniseret vand af høj kvalitet er påkrævet til vaskeopløsningen. Anvendelsen af vand af dårlig kvalitet eller kontamineret vand kan lede til baggrundsfarvning i assay'et.
- Lad alle reagenser opnå stuetemperatur (20-25°C) og bland godt inden brug.
- Undgå at efterlade reagenser i direkte sollys og/eller over 2-8°C i længere perioder.
- Anvend altid rene, fortrinsvis engangs, glasvarer til klargøring af alle reagenser.
- Hold altid den øverste overflade af brøndene fri for små dråber. Dråber bør forsigtigt suges op ved fuldførelsen af det proceduremæssige trin.
- Kontrollér, at pladens underside er ren og tør inden aflæsning.
- Inden bestemmelsen påbegyndes, bør en plan for identifikation og fordeling være fastlagt.

## **STABILITET OG OPBEVARING**

1. Alle sættets reagenser bør opbevares ved 2- 8°C og er stabile som leveret, indtil den viste udløbsdato.
2. αGST kalibratorer skal anvendes indenfor 30 minutter efter klargøring.
3. Klargjort vaskeopløsning (PBST) er stabil ved stuetemperatur i op til to uger og op til en måned ved 2-8°C.
4. Længerevarende opbevaring af fortyndet konjugat ved stuetemperatur bør undgås. Anvendes indenfor 15 minutter efter klargøring.
5. Pladebestemmelsesbrønde bør opbevares i forseglede poser med tørremidler ved 2-8°C, indtil de skal anvendes. Ubrugte brønde lægges tilbage i opbevaringsposen sammen med tørremidlet.

## **YDERLIGERE PÅKRÆVEDE MATERIALER**

1. Mikropipetter (5µL til 50µL, 50µL til 200µL og 200µL til 1000µL) og en multikanal pipette (50µL til 200µL)
2. Microassay strimmelvaskesystem
3. ELISA pladeaflæser, der er i stand til at måle ved 450nm med reference ved 630nm, hvis tilgængelig
4. 1L bægerglas
5. Minutur
6. Procestrug
7. Deioniseret/destilleret vand
8. Pladeryster
9. Gradinddelt cylinder
10. Reagensglas

## **KLARGØRING AF REAGENSER**

### **1. VASKEOPLØSNING (PBST)**

Lav en 1/20 fortynding af vaskekoncentrat ved f.eks. at tilsætte 10mL vaskekoncentrat til 190mL deioniseret vand som påkrævet. Gør kun den mængde vaskeopløsning klar, der er påkrævet for bestemmelsen. **Kontrollér, at saltkrystaller er opløst forud for fortyndingen.** (Forsigtig opvarmning af vaskekoncentratet ved 37°C i 30 minutter vil lette opløsningen af saltkrystaller.)

### **2. KALIBRATORER**

Klargør kalibrator (A) fra  $\alpha$ GST forrådsopløsningen som følger.

Forråd:	25 $\mu$ L
Vaskeopløsning:	<u>2500<math>\mu</math>L</u>
Totalt:	2525 $\mu$ L (A)

Ved brug af mærkede glas klargøres yderligere kalibratore som følger:

<b>Ækvivalent kalibrator-koncentration</b>	<b>Mængde kalibrator (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Mænde vaskeopløsning (<math>\mu</math>L)</b>
40 $\mu$ g/L (A)	500 (A)	-
20 $\mu$ g/L (B)	500 (A)	500
10 $\mu$ g/L (C)	500 (B)	500
5 $\mu$ g/L (D)	500 (C)	500
2,5 $\mu$ g/L (E)	500 (D)	500
1,25 $\mu$ g/L (F)	500 (E)	500
0 $\mu$ g/L (G)	-	500

### **3. KONJUGAT**

Umiddelbart inden brugen fortyndes konjugatkoncentrat 1/51 ved at tilsætte 20 $\mu$ L konjugat til 1mL vaskeopløsning pr. Hver strimmel kræver 1020 $\mu$ l klargjort konjugat"

## **PRØVEHÅNDTERING OG OPBEVARING**

Serumprøver bør anbringes ved -20°C for længerevarende opbevaring. Der er ikke blevet observeret ændringer i  $\alpha$ GST niveauer i serum, der er blevet opbevaret ved -20°C i op til 15 måneder. Gentagen nedfrysning og optøning af prøver bør undgås for at forhindre tab af  $\alpha$ GST. Ingen signifikante forskelle er blevet observeret mellem genfindingen af  $\alpha$ GST i natriumhepariniseret plasma og serum.

## **PRØVEKLARGØRING**

Umiddelbart forud for bestemmelsen fortyndes prøver 1/5 ved at tilsætte 50 $\mu$ L prøve til 200 $\mu$ L vaskeopløsning. Hvis der skal foretages adskillige prøvetilsætninger (>10 duplikate prøver), så skal, for at lette overførslen til assaypladen, prøverne fortyndes i en tom Microassay plade. Den positive kontrol kræver ikke fortynding.

## **FULD BESTEMMELSESPROCEDURE (1)**

*BEMÆRK:* Alle reagenser skal have lov til at opnå stuetemperatur forud for start af bestemmelse.

### **1. PRØVE-/KALIBRATORINKUBATION**

- 1.1. Klargør vaskeopløsning og kalibratorer som beskrevet i "Klargøring af reagenser".
- 1.2. Klargør prøver som beskrevet i "Prøveklargøring".
- 1.3. Anbring det på krævede antal Microassay brønde i assay-pladen (14 for kalibratorerne og to for hver af kontrollerne og prøverne). Arrangeres i kolonner på 8 og mellemrum i kolonnerne fyldes ud med tomme Microassay brønde. Tilsæt kalibratorer (G-A; ekvivalent koncentration 0-40µg/L), positiv kontrol og fortyndede prøver (100µL/brønd), gange to, til Microassay pladen.
- 1.4. Dæk Microassay pladen til og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 60 ± 2 minutter med ensartet rysten.  
Bemærk: En Lab-line instrumenters Titer Plate Shaker blev anvendt Speed 2-3.

### **2. KONJUGATINKUBATION**

- 2.1. Efter 55 minutter klagøres konjugat som beskrevet i "Klargøring af reagenser".
- 2.2. Fjern overdækket og vask hver strimmel 4 gange med vaskeopløsning (250µL - 350µL/brønd). Når det er færdigt, så tryk pladen fast af mod et papirhåndklæde for at sikre fuldstændig fjernelse af vaskevæske fra brøndene.  
Bemærk: Både automatisk og manuel vasken er acceptabelt.
- 2.3. Tilsæt 100µL konjugat/brønd.
- 2.4. Tildæk igen Microassay pladen og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 30 ± 2 minutter med ensartet rysten.  
Bemærk: En Lab-line Instrumenters Titer Plate Shaker blev anvendt Speed 2-3.
- 2.5. Vask hver strimmel som i trin 2.2.

### **3. FARVEUDVIKLING**

- 3.1. Tilsæt 100µL substrat/brønd ved brug af en multikanal pipette og inkubér ved stuetemperatur i nøjagtig 15 minutter.

### **4. STOP**

- 4.1. Tilsæt 100µL stopopløsning/brønd ved brug af en multikanal pipette. Der skal sikres fuldstændig blanding af substrat og stopopløsning.
- 4.2. Aflæs straks ved 450nm anvendende 630nm som reference (hvis tilgængelig).

## **BEREGNING AF RESULTATER (1)**

1. Beregn middelabsorbanserne for hver kalibrator, prøve og kontrol.
2. Plot en kalibreringskurve for  $A_{450/630nm}$  versus  $[\alpha\text{GST}]$  ( $\mu\text{g/L}$ ). Kurven skulle have en lignende form som i Figur 1.
3. Aflæs  $[\alpha\text{GST}]$  ( $\mu\text{g/L}$ ) indikeret ved middelabsorbanserne for prøverne fra kalibreringskurven.
4. Gang den beregnede  $[\alpha\text{GST}]$  med den passende fortyndingsfaktor for at kunne få den aktuelle  $[\alpha\text{GST}]$ .
5. Koncentrationen af den positive kontrol aflæses direkte fra kurven.
6. Prøvekoncentrationer med målinger uden for standardkurven er ugyldige og skal gentages med en højere fortyndingsfaktor. Ekstrapolering af data kan ikke accepteres.

## **FLERGANGSBRUG FORMAT**

Når først kalibreringskurven er blevet fastlagt ved brug af den fulde assay protokol, er det muligt at udføre efterfølgende prøveanalyse uden at udarbejde en kalibreringskurve ved hver lejlighed (se Forkortet procedure (2) nedenfor) anvendende den samme plade og sætkomponenter. For at kunne sikre optimal inter-assay reproducérbarhed, skal man holde sig til den følgende instruktion:

1. Efterfølgende bestemmelser skal køres med brug af den samme plade og sætkomponenter, som dem der blev anvendt til at generere kalibreringskurven.
2. Efterfølgende bestemmelser skal køres indenfor 21 dage efter genereringen af kalibreringskurven. Ellers skal der udarbejdes en ny kalibreringskurve.
3. Både **TEMPERATUR** og **INKUBATIONSTIDER** for den forkortede procedure skal være identiske med dem, der blev brugt til udarbejdelsen af kalibreringskurven (se "Fuld bestemmelsesprocedure" ovenfor). Brugen af en inkubator til både den indledende fulde bestemmelsesprocedure og efterfølgende bestemmelser anbefales.
4. HEPKIT<sup>®</sup>-Alpha positiv kontrol bør inkluderes i alle bestemmelser for at tillade brugeren at monitorere inter-assay reproducérbarhed.
5. Det anbefales, at alle prøveanalyser udføres dobbelt. Den positive kontrol bør også dobbelt-bestemmes.
6. Når først bestemmelsen er færdig, bør prøven  $[\alpha\text{GST}]$  udregnes som beskrevet i 'Beregning af resultater (2)' nedenfor.

## **FORKORTET BESTEMMELSESPROCEDURE (2)**

*Bemærk: (1) Alle reagenser bør have lov til at nå stuetemperatur forud for start af bestemmelsen. (2) Både **TEMPERATUR** og **INKUBATIONSTIDER** for prøveanalyse skal være identiske med dem, der blev anvendt til udarbejdelsen af kalibreringskurven. (Fuld bestemmelsesprocedure, se ovenfor). **Brugen af en inkubator anbefales.***

### **1. PRØVE-/KALIBRATORINKUBATION**

- 1.1. Klargør vaskeopløsning som beskrevet i "Klargøring af reagenser".
- 1.2. Klargør prøver som beskrevet i "Prøveklargøring".
- 1.3. Anbring det krævede antal Microassay brønde i assay pladen (to af hver for kontrollerne og prøver). Arrangeres i kolonner på 8 og mellemrum i kolonnerne fyldes ud med tomme Microassay. Tilsæt positiv kontrol og fortyndede prøver (**100µL/brønd**), gange to, til Microassay pladen.
- 1.4. Dæk Microassay pladen til og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 60 ± 2 minutter med ensartet rysten.  
Bemærk: En Lab-line instrumenter Titer Plate Shaker blev anvendt-Speed 2-3.

### **2. KONJUGAT INKUBATION**

- 2.1. Efter 55 minutter klagøres konjugat som beskrevet i " Klargøring af reagenser".
- 2.2. Fjern overdækket og vask hver strimmel 4 gange med vaskeopløsning (250µL - 350µL/brønd). Når det er færdigt, så tryk pladen fast af mod et papirhåndklæde for at sikre fuldstændig fjernelse af vaskevæske fra brøndene.  
Bemærk: Både automatisk og manuel vasken er acceptabelt.
- 2.3. Tilsæt 100µL konjugat/brønd.
- 2.4. Tildæk igen Microassay pladen og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 30 ± 2 minutter med ensartet rysten.  
Bemærk: En Lab-line instrumenter Titer Plate Shaker blev anvendt-Speed 2-3.
- 2.5. Vask hver strimmel som i trin 2.2.

### **3. FARVEUDVIKLING**

- 3.1. Tilsæt 100µL substrat/brønd ved brug af en multikanal pipette og inkubér ved stuetemperatur i nøjagtig 15 minutter.

### **4. STOP**

- 4.1. Tilsæt 100µL stopopløsning/brønd. Der skal sikres fuldstændig blanding af substrat og stopopløsning.
- 4.2. Aflæs straks ved 450nm anvendende 630nm som reference (hvis tilgængelig).

## **BEREGNING AF RESULTATER (2)**

1. Beregn middelabsorbansen for hver prøve og kontrol.
2. Aflæs[ $\alpha$ GST] ( $\mu\text{g/L}$ ), ved middelabsorbansen for prøven fra kalibreringskurven, der tidligere blev genereret ved brug af den samme plade sætkomponenter.
3. Gang den beregnede [ $\alpha$ GST] med den passende fortyndingsfaktor for at kunne få den aktuelle [ $\alpha$ GST].
4. Koncentrationen af den positive kontrol aflæses direkte fra kurven.

## **QC-KRITERIER**

Den positive kontrol skal altid være inkluderet for at bedømme gyldigheden af testresultaterne. Resultater anses for gyldige, hvis værdien af den positive kontrol er indenfor området angivet på indersiden af æskens låg. Hvis dette kriterium ikke opfyldes, anses bestemmelsen for ugyldig og skal gentages.

## **BEGRÆNSNINGER I BRUGEN**

Resultater skal være i korrelation med patientens kliniske profil og andre kliniske laboratorieresultater.

## **YDELSESKARAKTERISTIKA**

### **REFERENCEOMRÅDER**

Referenceområder for  $\alpha$ GST hos raske personer er blevet bestemt i mange undersøgelser. Rees G. W *et al*<sup>1</sup> rapporterede, at den øvre grænse for referenceområdet (logaritmisk middelværdi + 2SA) var på 11,4 $\mu$ g/L, baseret på en population på 219 rasle bloddonorer. Argutus Medical anbefaler, at alle laboratorier fastsætter deres egne referenceområder.

### **DETEKTIONSGRÆNSE**

Grænsen for prøvedetektion for Argutus Medical HEPKIT®-Alpha er 0,05 $\mu$ g/L i Microassay brønden, 0,25 $\mu$ g/L i prøven.

### **MÅLEOMRÅDE**

Området for kalibreringskurven dækker 1,25-40 $\mu$ g/L, svarende til 6,25-200 $\mu$ g/L i prøver fortyndet 1/5 i vaskeopløsning. Dette område kan udvides ved at øge prøvefortyndingen.

### **SPECIFICITET**

HEPKIT®-Alpha er yderst specifik for detektionen af  $\alpha$ GST. Ingen signifikant krydsreaktivitet er observeret med hverken mu eller pi isoforme af GST som bestemt ved EIA eller immunblotanalyse.

### **INTERFERENS**

Ingen signifikant interferens er blevet observeret i denne bestemmelse med lipæmiske, hæmolytiske eller ikteriske prøver. Lipæmisk\*: Mindre end 10% interferens op til 1000IU i prøven. Hæmolys Ikteri: Mindre end 10% interferens op til 1,17g/L hæmoglobin i prøven. Ikterisk: Mindre end 11% interferens op til 5mg/ml bilirubin i prøven. Nogen interferens er blevet observeret med plasmaprøver taget i EDTA og lithium heparin glas. Undersøgelser i huset har vist, at prøver med ekstremt høje niveauer af rheumatoid faktor kan medføre interferens med denne bestemmelse. Kontakt Argutus Medical for yderligere information.

\*Udført ved brug af intralipid 20% fra Fresenius.

### **REPRODUCÉRBARHED**

**Tabel 1:** Intra-assay variation af HEPKIT®-Alpha.

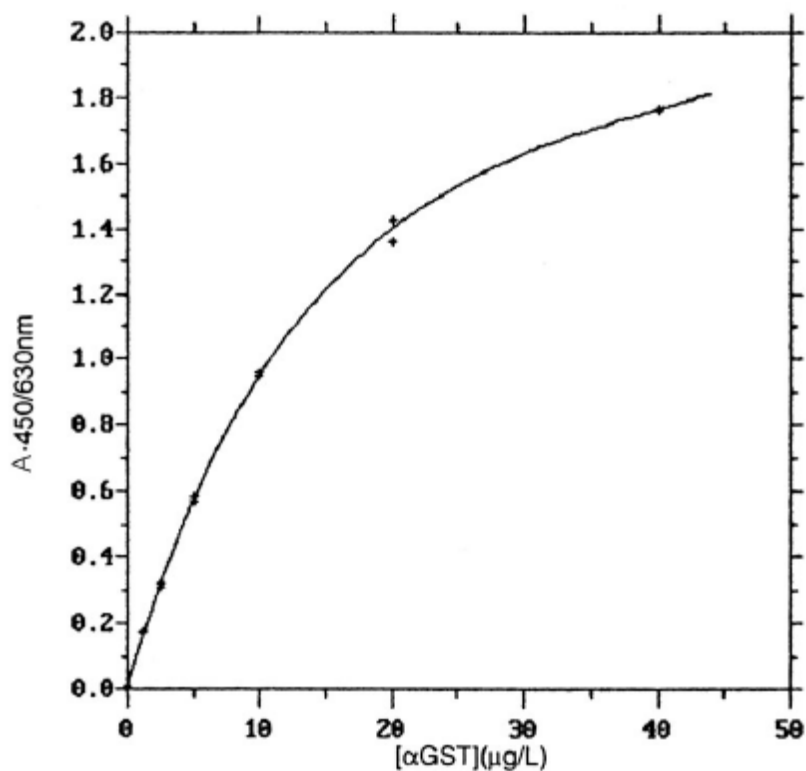
<b>Prøve</b>	<b>[<math>\alpha</math>GST] <math>\mu</math>g/L</b>	<b>SA</b>	<b>%VK</b>	<b>n</b>
Lav	0,79	0,12	15,3	20
Medium	56,05	3,6	6,42	20
Høj	154,72	20,26	13,09	20

**Tabel 2:** Inter-assay variation af HEPKIT®-Alpha anvendende fuld assay-procedure for hver bestemmelse.

Prøve	[αGST] µg/L	SA	%VK	n
Lav	1,03	0,25	24,41	10
Medium	51,54	5,81	11,27	10
Høj	135,41	34,07	25,16	10
PC	12,84	1,12	8,68	10

**Tabel 3:** Inter-batch variation af HEPKIT®-Alpha beregnet henover tre batches af sæt.

Prøve	[αGST] µg/L	SA	%VK	n
Lav	0,94	0,23	24,45	30
Medium	53,63	5,51	10,27	30
Høj	141,81	25,72	18,14	30

**EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE****Figur 1:** Typisk kalibreringskurve lavet ved brug af Argutus Medical HEPKIT®-Alpha. Plot af A<sub>450/630nm</sub> versus [αGST] µg/L.

## **GARANTI**

De her viste ydelsesdata blev opnået ved brug af den beskrevne procedure. Enhver ændring eller modifikation af proceduren, der ikke anbefales af Argutus Medical, kan påvirke resultaterne, i hvilket tilfælde Argutus Medical frasiger sig alle garantier, udtrykte, underforståede eller lovfæstede, inklusive underforstået handelsmæssighed og brugstilpasning. I tilfælde af en sådan hændelse vil Argutus Medical ikke være ansvarlig for skader, direkte eller efterfølgende.

## **RESUMÉ AF ASSAY PROCEDURE**

### **1. PRØVE KALIBRATORINKUBATION**

- 1.1. Klargør vaskeopløsning og kalibratorer.
- 1.2. Klargør prøver
- 1.3. Anbring Microassay brønde i assay-pladen. Tilsæt kalibratorer, positiv kontrol og fortyndede prøver (100µL/brønd), gange to, til Microassay pladen.
- 1.4. Dæk Microassay pladen til og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 60 ± 2 minutter med ensartet rysten.

### **2. KONJUGAT INKUBATION**

- 2.1. Efter 55 minutter klargøres konjugat som beskrevet i "Klargøring af reagenser".
- 2.2. Fjern tildækningen og vask hver strimmel 4 gange med vaskeopløsning (250µL - 350µL/brønd).
- 2.3. Tilsæt 100µL konjugat/brønd.
- 2.4. Tildæk igen Microassay pladen og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i 30 ± 2 minutter med ensartet rysten.
- 2.5. Vask hver strimmel som i trin 2.2.

### **3. FARVEUDVIKLING**

- 3.1. Tilsæt 100µL substrat/brønd og inkubér ved stuetemperatur i nøjagtig 15 minutter.

### **4. STOP**

- 4.1. Tilsæt 100µL stopopløsning/brønd. Man skal sikre fuldstændig blanding af substrat og stopopløsning.
- 4.2. Aflæs med det samme ved 450nm anvendende 630nm som reference (hvis tilgængelig).

### **5. BEREGN RESULTATER**

## FORTOLKNING AF SYMBOLER

Området for positiv kontrol

CONTROL	+	...
---------	---	-----

*In vitro* diagnostisk medicinsk anordning



Batchkode



Katalognummer



Temperaturbegrænsninger



Anvendes inden udgangen af



Producent



Farligt biologisk materiale



## REFERENCES

1. **Campbell, J.A.H. et al.** (1991). Immunohistologic localisation of alpha, mu and pi class glutathione S-transferases in human tissues. *Cancer (Philadelphia)* **67**, 1608 - 1613.
2. **Sundberg, A.G.M. et al.** (1993). Immunohistochemical localisation of alpha and pi class glutathione transferases in normal human tissues. *Pharmacology and Toxicology* **72**, 321-331.
3. **Manning, F. et al.** (1995). Argutus Medical International Internal Research.
4. **Beckett, G. J. and Hayes, J.D.** (1993) Glutathione S-transferases: Biomedical Applications. *Advances in Clinical Chemistry* **30**, 281-380.
5. **Trull, A.K. et al.** (1994). Serum  $\alpha$ -glutathione S-transferase: a sensitive marker of hepatocellular damage associated with acute liver allograft rejection. *Transplantation* **58**, (12), 1345-51.
6. **Platz, K.-P. et al.** (1997) Determination of pi-glutathione-S-transferase will improve monitoring after liver transplantation. *Transplantation Proceedings* **29**, 2827-2829.
7. **Hughes, V.F. et al.** Randomized trial to evaluate the clinical benefits of serum  $\alpha$ -glutathione S-transferase concentration monitoring after liver transplantation. *Transplantation* **64**, 1446-1452.
8. **Nelson D.R. et al.** (1995).  $\alpha$ -glutathione S-transferase as a marker of hepatocellular damage in chronic hepatitis C virus infection. *Am. J. Clin. Pathol.* **104**; 193-198.
9. **Norris, S. et al.** (1994). Serum  $\alpha$ GST as an early indicator of disease relapse following treatment withdrawal in autoimmune CAH. *Hepatology* **20**;4:Pt. 2.
10. **Murray, J. M. et al.** (1992). Indocyanine green clearance and hepatic function during and after prolonged anaesthesia: Comparison of halothane with isoflurane. *Br. J. Anaesth.* **68**, 168-171.
11. **Rees, G.W. et al.** (1995). Validation of an enzyme immunoassay for the detection of  $\alpha$ -glutathione S-transferase in human serum. *Ann. Clin. Biochem.* **32** 575-583.
12. **Doyle, S. et al.** (1994). Detection of serum  $\alpha$  glutathione S-transferase by enzyme immunoassay. International Symposium on Liver and Drugs, Bratislava, Slovakia.



**ARGUTUS MEDICAL**

**Argutus Medical Ltd.,  
Unit 9 Trinity Technology & Enterprise Campus,  
Pearse Street, Dublin 2, Ireland  
Tel: +353 1 670 8576  
Fax: +353 1 670 8575  
[info@argutusmed.com](mailto:info@argutusmed.com)  
<http://www.argutusmed.com>**

USA Patent No. 5217868  
European Patent no. 640145  
Other Patents Pending  
Document Code: HEPA-124-DK-09  
03/09