

CE

REF BIO66NEPHA
96-hulsplade



ARGUTUS MEDICAL

Nephkit[®] Alpha GST

Enzym Immunbestemmelse

DANSK

Brugsanvisning

INDHOLDSFORTEGNELSE

BEREGNET ANVENDELSE	4
BAGGRUND	4
BESTEMMELSESPRINCIP	4
KOMPONENTER	5
FORSIGTIGHEDSREGLER	6
STABILITET OG OPBEVARING	7
YDERLIGERE NØDVENDIGE MATERIALER	7
PRÆPARATION AF REAGENSER	8
PRØVETAGNING	9
PRØVEHÅNDTERING OG OPBEVARING	9
PRÆPARATION AF PRØVE	9
BESTEMMELSESPROCEDURE	10
BEREGNING AF RESULTATER	11
QC-KRITERIER	11
BEGRÆNSNINGER I BRUGEN	11
YDELSESKARAKTERISTIKA	12
EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE	14
GARANTI	14

APPENDIKS 1	14
RESUMÉ AF BESTEMMELSESPROCEDUREN	15
FORTOLKNING AF SYMBOLER	16
REFERENCER	16

BEREGNET ANVENDELSE

Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha er en metode til kvantitativbestemmelse af alfa-glutathion S-transferase (α GST) i urin. Til bestemmelse af α GST indenfor forskningsområder/ikke-kliniske områder eller bestemmelsen af andre GST klasser, kan man kontakte Argutus Medical for yderligereinformation.

BAGGRUND

Alfa-glutathion S-transferase (α GST) findes i nyrenes proksimale tubulus region, medens Pi-glutathion S-transferase (π GST) er begrænset til hovedsagelig de distale tubuli¹. α GST frigøres til urinen hos normale personer, hvilket er påvist ved immunoassay og western blot analyse². Enhver hændelse, der fremskynder proksimal, tubulær beskadigelse, kan medføre øget frigivelse af α GST til urinen, og forhøjet α GST niveau i urinen er blevet påvist at være forbundet med proksimal tubulær beskadigelse. Det er fundet, at α GST i urinen er et værdifuldt værktøj til at undersøge proksimal, tubulær skade ved nefrotoksicitet³⁻⁵, miljømæssig toksicitet⁶, kirurgi⁷, akut nyresvigt⁸ og transplantation⁹⁻¹².

Frigørelsen af π GST har vist sig at være forbundet med distal tubulær beskadigelse⁶, hvorfor samtidig måling af α og π -GST kan give anledning til skelnen mellem proksimal og distal tubulær beskadigelse^{5, 9-11} eksempelvis ved nefrotoksicitet⁵, akut nyresvigt⁸, afstødning af transplantat⁹⁻¹⁰, ischæmi-perfusionsskade⁹⁻¹¹ og diabetes¹³.

Urin GST'er er følsomme indikatorer af aktuel nyrebeskadigelse og kan vise renale virkninger, medens andre biomarkører, såsom serum kreatinin eller BUN, er uændrede³⁻⁵.

BESTEMMELSESPRINCIP

Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha er et kvantitativt enzyme immunoassay. Testproceduren er baseret på den sekventielle tilsætning af prøve, enzym-konjugat og substrat til Microassay brønde belagt med anti- α GST IgG. Den resulterende farveintensitet er proportional med mængden af α GST, der er tilstede i prøven. Bestemmelsesområdet er 1,25-40 μ g/L.

KOMPONENTER

- | | | | | |
|--|--|---------|------|-----|
| 1. Microassay plade belagt med antistof
12x8 brønde belagt med IgG rettet mod α GST.
Brøndene kan brækkes fra hinanden.
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">PLA</td></tr></table> | PLA | | |
| PLA | | | | |
| 2. GST kalibrator
Renset α GST i stabiliserende fortynder
(200 μ L).
Indeholder thiomersal og natriumazid.
STAMOPLØSNING | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">CAL</td></tr></table> | CAL | | |
| CAL | | | | |
| 3. Positiv kontrol
α GST i opløsning indeholdende
proteinog stabilisatorer (4,5mL).
Indeholder thiomersal og natriumazid.
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">CONTROL</td><td style="padding: 2px;">+</td></tr></table> | CONTROL | + | |
| CONTROL | + | | | |
| 4. Konjugatkoncentrat
51x Anti- α GST IgG konjugeret til peroxidase fra
peberrod (300 μ L).
Indeholder thiomersal.
KONCENTRAT | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">CONJ</td><td style="padding: 2px;">51X</td></tr></table> | CONJ | 51X | |
| CONJ | 51X | | | |
| 5. Vaskekoncentrat
20x fosfatbuffer /Tween-20 (PBST, 55mL).
Indeholder thiomersal.
KONCENTRAT | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">BUF</td><td style="padding: 2px;">WASH</td><td style="padding: 2px;">20X</td></tr></table> | BUF | WASH | 20X |
| BUF | WASH | 20X | | |
| 6. TMB substrat
Stabiliseret, flydende TMB-opløsning (11mL).
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">SUBS</td><td style="padding: 2px;">TMB</td></tr></table> | SUBS | TMB | |
| SUBS | TMB | | | |
| 7. Stopopløsning
0,5 mol/L svovlsyre (11 mL).
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">SOLN</td><td style="padding: 2px;">STP</td></tr></table> | SOLN | STP | |
| SOLN | STP | | | |
| 8. Prøvefortynder:
Opløsning indeholdende protein (50 mL).
Indeholder natriumazid.
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">DIL</td><td style="padding: 2px;">SPE</td></tr></table> | DIL | SPE | |
| DIL | SPE | | | |
| 9. Urinstabiliserende buffer
Indeholder thiomersal og natriumazid (10 mL).
BRUGSKLAR | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">BUF</td><td style="padding: 2px;">NEPH</td></tr></table> | BUF | NEPH | |
| BUF | NEPH | | | |
| 10. Indlægsseddel
Brugsanvisning | <table border="1"><tr><td style="padding: 2px;">INS</td></tr></table> | INS | | |
| INS | | | | |

FORSIGTIGHEDSREGLER

SIKKERHED

- Argutus Medical NEPHKIT® Alpha kit er kun til *in-vitro* diagnostisk brug.
- Argutus Medical NEPHKIT® Alpha kit må kun anvendes af kvalificeret laboratoriepersonale.
- Kittet indeholder materiale af human oprindelse, der er blevet testet og fundet negativt for Hepatitis B DNA, HCV RNA og HIV RNA. Da ingen test imidlertid kan give fuldstændig sikring, skal alle materialer behandles som potentielt infektiøse.
- Nogle af reagenserne indeholder thiomersal, som kan være toksisk, hvis ved indtagelse.
- Stopopløsningerne indeholder svovlsyre, der er ætsende. Undgå kontakt med hud og øjne. I tilfælde af kontakt, skylles straks med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Substratet indeholder TMB, der kan irritere huden og slimhinder. Al substrat, der kommer i kontakt med huden, bør skylles af med vand.
- Nogle reagenser indeholder natriumazid, der kan danne potentielt eksplosive metalazider med bly- og kobber. Ved bortskafning bør reagenser skylles ud med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid.
- Bortskaf alle kliniske prøver, inficeret eller potentielt inficeret materiale i henhold til god laboratorieskik. Alle sådanne materialer bør håndteres og bortskaffes som potentielt infektiøse.
- Rester af kemikalier, præparater og kitkomponenter betragtes almindeligvis som farligt affald. Alle sådanne materialer bør bortskaffes i henhold til fastlagte sikkerhedsprocedurer.
- Brug beskyttelsesbeklædning, latexhandsker til engangsbrug og øjenbeskyttelse, underprøvehåndtering og udførelse af bestemmelsen. Hænderne vaskes grundigt, når man er færdig.
- Materialer må ikke pipetteres med munden, og man må aldrig spise eller drikke ved laboratoriebordet.

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 kits eller individuelle reagenser udover deres udløbsdato.
- Man må ikke blande eller erstatte reagenser fra forskellige kit lotnumre.
- Afvigelse fra den medfølgende protokol kan medføre fejlagtige resultater.
- Udførelse af bestemmelsen udenfor de opgivne tids- og temperaturområder kan medføre ugyldige resultater. Bestemmelser, der ikke falder indenfor de fastlagte tids- og temperaturområder, skal gentages.
- Reagens bør tilsættes brøndenes midte, i det man passer på ikke at ridse siden med pipettespidser.
- Brøndene må aldrig tørre ud på noget trin under bestemmelsesproceduren.
- Undgå kontaminering af komponenter ved altid at anvende ubrugte pipettespidser til hver prøve og komponent.
- Anvend ikke reagenser, der er uklare, eller hvor opløsningen har givet bundfald.

- 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 bestemmelsen.
- Lad alle reagenser opnå stuetemperatur (20-25°C) og bland godt forud for anvendelsen.
- Undgå at efterlade reagenser i direkte sollys og/eller over 2-8°C i længere perioder.
- Anvend altid rene, fortrinsvis engangsbeholdere til alle reagenspræparationer.
- Kontrollér, at pladens underside er ren og tør inden aflæsning.
- Inden bestemmelsen påbegyndes, bør der fastlægges en identifikations- og fordelingsplan over brøndenes indhold.

STABILITET OG OPBEVARING

1. Alle kit reagenser bør opbevares ved 2-8°C, og er holdbare indtil den angivne udløbsdato.
2. α GST kalibratorer skal anvendes indenfor 30 minutter efter præparation.
3. Klargjort vaskeopløsning (PBST) er stabil ved stuetemperatur i op til to uger og i op til en måned ved 2-8°C
4. Længerevarende opbevaring af fortyndet konjugat ved stuetemperatur bør undgås. Anvend umiddelbart efter præparation.
5. Brønde til pladebestemmelse bør opbevares i forseglede poser med affugter ved 2-8°C, indtil de skal anvendes. Læg ubrugte brønde tilbage i opbevaringsposen sammen med affugter.

YDERLIGERE NØDVENDIGE MATERIALER IKKE LEVERET MED KITTET

1. Mikropipetter (5 μ L til 50 μ L, 50 μ L til 200 μ L og 200 μ L til 1000 μ L) og en multikanal pipette (50 μ L til 200 μ L).
2. Vaskesystem til micro assay strimler.
3. ELISA pladeaflæser, der er i stand til at male ved 450nm med reference ved 630nm om muligt.
4. Bægerglas på 1 liter.
5. Stopur.
6. Væsketrug.
7. Deioniseret/destilleret vand.
8. Pladeryster.
9. Gradinddelt cylinderglas.
10. Reagensglas.

PRÆPARATION AF REAGENSER

1. VASKEOPLØSNING (PBST)

Lav en 1/20 fortynding af vaskekoncentrat ved for eksempel at tilsætte 10mL vaskekoncentrat til 190mL deioniseret vand som påkrævet. Klargør kun den mængde vaskeopløsning, der er nødvendig for bestemmelsen. Kontrollér, at saltkrystaller er opløste forud for fortyndingen. (Forsigtig opvarmning af vaskekoncentrat ved 37 i 30 minutter vil hjælpe til med opløsningen af saltkrystaller.)

2. KALIBRATORER

Klargør kalibrator (A) fra αGST stamopløsningen.

Stamopløsning:	25µL
Prøvefortynder:	<u>2500µL</u>
Totalt:	2525µL (A)

Ved brug af mærkede reagensglas klargøres yderligere følgende kalibrаторer følger:

Ekvivalent kalibrator koncentration	Mængde kalibrator (µL)	Mængde prøvefortynder (µL)
40µg/L (A)	500 (A)	-
20µg/L (B)	500 (A)	500
10µg/L (C)	500 (B)	500
5µg/L (D)	500 (C)	500
2,5µg/L (E)	500 (D)	500
1,25µg/L (F)	500 (E)	500
0µg/L (G)	-	500

3. KONJUGAT

Umiddelbart inden brug fortyndes konjugat-koncentratet 1/51 ved at tilsætte 20µL konjugat til 1mL vaskeopløsning pr. mikroassay strimmel. Hver strimmel kræver 1020µl klargjort konjugat.

PRØVETAGNING

Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha kan anvendes til at måle α GST i en hvilken som helst urinprøve, men, grundet døgnvariationen i proteinuria¹⁴, er det vigtigt for optimale resultater, at tidsbestemte, kvantitative, natten over urinprøver bliver taget, og at indsamlingsperioden og mængden bliver registreret. Dette vil medføre, at frigivelse af α GST i urin kan udtrykkes som en hastighed (ng/min). Se appendiks 1.

For anvendelse af andre prøvetagningsmetoder og perioder, kontakt Argutus Medical for råd og vejledning.

Så snart som muligt efter prøvetagning tilsættes 200 μ L NEPHKIT[®] urinstabiliserende buffer til 800 μ L urin (4/5 fortynding af prøven), også selvom prøverne ikke skal opbevares.

PRØVEHÅNDTERING OG OPBEVARING

Opbevar ikke prøver uden tilsætning af NEPHKIT[®] urinstabiliserende buffer. NEPHKIT[®] urinstabiliserende buffer skal tilsættes indenfor 12 timer efter prøvetagning.

Det anbefales, at prøver bestemmes så hurtigt som muligt efter tapning. Efter tilsætningen af NEPHKIT[®] urinstabiliserende buffer, kan prøver imidlertid opbevares ved 2-8°C i en uge eller ved -20°C i op til 28 dage.

Gentagen frysning og optøning bør undgås. Hvis der ikke er NEPHKIT[®] urinstabiliserende buffer tilstede, kan frysning reducere GST niveauer i urin med op til 70% målt ved EIA. Dette fald i GST i urin skyldes sandsynligvis denaturering under fryse-optøning cyklussen.

PRÆPARATION AF PRØVE

Umiddelbart forud for bestemmelsen fortyndes prøverne 1/2 ved at tilsætte 200 μ L stabiliseret urinopløsning til 200 μ L prøvfortynder. Hvis der skal foretages multiple prøvetilsætninger (>10 duplikatprøver), kan prøverne, for at lette overførsel til assay pladen, fortyndes i en tom microassay plade med passende mængdejustering. Den positive kontrol kræver ikke fortynding.

BESTEMMELSESPROCEDURE BEMÆRK

BEMÆRK: Alle reagenser skal have lov til at få stuetemperatur forud for starten af bestemmelse.

1. PRØVE- / KALIBRATORINKUBATION

1.1 Klargør vaskeopløsning og kalibratorer som beskrevet i "Præparation af reagenser".

1.2 Klargør prøver som beskrevet i "Præparation af prøve".

1.3 Anbring det nødvendige antal mikroassay brønde i assaypladen (14 for kalibratorerne plus two hver for kontrollerne og prøverne). De arrangeres i kolonner på 8 og mellemrummene i kolonnerne fyldes ud med tomme mikroassay brønde. Tilsæt kalibratorer (**G-A; ækvivalent koncentration 0-40µg/L**), positiv kontrol og fortyndede prøver (100µL/brønd) gange to, til mikroassay pladen.

1.4 Tildæk mikroassay pladen og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i **60 +/- 2 minutter** med ensartet rysten.

Bemærk: Et Lab-line instruments Titer-Plate Shaker blev anvendt-hastighed 2-3.

2. KONJUGATINKUBATION

2.1 Efter 55 minutter klargøres konjugatet som beskrevet i "Præparation af reagenser".

2.2 Fjern tildækningen og vask hver strimmel 4 gange med vaskeopløsning (**250µL – 350µL/brønd**). Når det er overstået aftrykkes pladen fast mod et papirhåndklæde for at sikre fuldstændig fjernelse af vaskeopløsning fra brøndene.

Bemærk: Både automatisk og manuel vask er acceptabelt.

2.3 Tilsæt **100µL** konjugat til hver brønd.

2.4 Tildæk igen mikroassay pladen og inkubér ved stuetemperatur (20-25°C) i **30 +/- 2 minutter** med ensartet rysten.

Bemærk: Et Lab-line instruments Titer-Plate Shaker blev anvendt-hastighed 2-3.

2.5 Vask hver strimmel som i trin 2.2.

3. FARVEUDVIKLING

3.1 Tilsæt **100µL** substrat til hver brønd ved brug af en multi-kanal pipette og inkubér ved stuetemperatur i mørke i nøjagtig **15 minutter**.

4. STOP

4.1 Tilsæt **100µL** stopopløsning/brønd ved brug af en multi-kanal pipette. Man skal sikre sig fuldstændig blanding af substrat og stopopløsning.

4.2 Aflæs med det samme ved 450nm med brug af 630nm som reference (hvis den findes).

BEREGNING AF RESULTATER

1. Beregn middelabsorbansen for hver kalibrator, kontrol og prøve.
2. Plot en kalibreringskurve for $A_{450/630\text{nm}}$ 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 middelabsorbansen for prøverne fra kalibreringskurven.
4. Gang den beregnede $[\alpha\text{GST}]$ med den passende fortyndingsfaktor for at få den aktuelle $[\alpha\text{GST}]$. Resultaterne for prøverne bør ganges yderligere med 1,25 for at kompensere for fortynding af prøvens NEPHKIT® urinstabiliserende buffer.
5. Koncentrationen af den positive kontrol aflæses direkte fra kurven.
6. For instruktioner om, hvorledes αGST frigørelse udtrykkes som et forhold (ng/min), se appendiks 1.
7. Prøvekoncentrationer med målinger uden for standardkurven er ugyldige og skal gentages med en højere fortyndingsfaktor. Ekstrapolering af data kan ikke accepteres.

QC-KRITERIER

Den positive kontrol skal altid inkluderes for at vurdere testresultaternes validitet. Resultater anses for gyldige, hvis værdien af den positive kontrol er indenfor området, der er angivet på indersiden af æskens låg. Hvis dette kriterium ikke er opfyldt, skal bestemmelsen anses for at være ugyldig og skal gentages.

BEGRÆNSNINGER I BRUGEN

Resultaterne skal korreleres med patientens kliniske profil og andre kliniske laboratorieresultater.

YDELSESKARAKTERISTIKA REFERENCEOMRÅDE

Tidsbestemte, kvantitative, natten over urinprøver blev taget fra 38 raske personer i området 18-46 år gamle.

Den observerede frigivelse af α GST i urinen var som følger:

Som hastighed (ng/min)	
Middel	3,0ng/min
Middel + 2SA	12,2ng/min
Som koncentration (μ g/L)	
Middel	3,5 μ g/L
Middel + 2SA	11,1 μ g/L

Det anbefales, at hver bruger udvikler et referenceområde, der er relevant for deres undersøgelsesgruppe.

DETEKTIONSGRÆNSE

Prøve detektionsgrænsen for Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha er 0,036 μ g/L i mikroassay brønden; svarende til 0,09 μ g/L i prøven.

MÅLEOMRÅDE

Standardkurven dækker 1,25-40 μ g/L, svarende til 3,25-100 μ g/L i prøver stabiliseret 4/5 i stabiliseringsbuffer og fortyndet 1/2 i prøvefortynder. Dette område kan udvides ved at øge prøvefortyndingen.

SPECIFICITET

Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha er yderst specifik for detektionen af α GST. Der er ikke observeret nogen signifikant krydsreaktivitet med hverken mu eller pi isoformer af GST.

INTERFERENSER

Ingen signifikant interferens er blevet observeret i denne bestemmelse med hæmolytiske og ikteriske prøver. Hæmolytiske prøver: Mindre end 14% interferens med op til 1,17g/L hæmoglobin i prøven. Ikteriske prøver: Mindre end 11% interferens med op til 5mg/mL bilirubin i prøven. Undersøgelser indenfor firmaet har vist, at urinprøver med pH i området 4-9 ikke påvirker bestemmelsesydelsen. Kontakt Argutus Medical for yderligere information.

REPRODUCERBARHED

Tabel 1 Intra-assay variation af Argutus Medical NEPHKIT® Alpha.

Prøve	[αGST] µg/L	SA	%CV	n
Lav	9,03	0,65	7,18	20
Middel	33,4	2,48	7,43	20
Høj	59,1	5,47	9,24	20

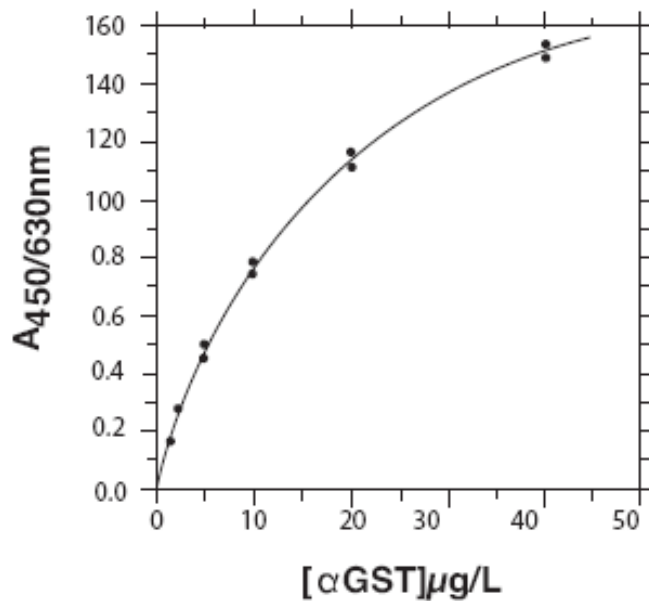
Tabel 2 Inter-assay variation af Argutus Medical NEPHKIT® Alpha.

Prøve	[αGST] µg/L	SA	%CV	n
Lav	8,4	0,49	5,81	10
Middel	37,9	3,07	8,11	10
Høj	68,7	9,24	13,46	10
PC	10,8	1,35	12,53	10

Tabell 3 Inter-batch variation af Argutus Medical NEPHKIT® Alpha beregnet tre batches kits.

Prøve	[αGST] µg/L	SA	%CV	n
Lav	8,28	1,01	12,16	30
Middel	34,7	3,79	10,92	30
Høj	61,6	8,84	14,36	30

EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE



Figur 1: Typisk kalibreringskurve fundet ved brug af Argutus Medical NEPHKIT® Alpha. Plot af A450/630nm versus [αGST]μg/L. Bestemmelsesområde er 1,25-40μg/L αGST. Detektionsgrænse for bestemmelsen er 0,036μg/L i mikroassay brønden.

GARANTI

Ydelsesdata præsenteret her blev fundet 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 fralægger sig alle garantier, udtrykte, underforståede eller lovbestemt, inklusive underforstået handelsmæssighed og brugsanvendelighed. I tilfælde af en sådan hændelse, vil Argutus Medical ikke være ansvarlig for skader, direkte eller efterfølgende.

APPENDIKS 1

UDTRYKKELSE AF αGST FRIGØRELSE I URIN SOM EN HASTIGHED

Frigørelsen af αGST er konstant med tiden, ikke urinmængden. Dette betyder, at det kan være mere relevant at udtrykke αGST frigørelse som en hastighed (ng/min) hellere end en koncentration. Dette kan være vigtigt i situationer med usædvanlig diurese, som ved oligo- eller polyuri. Hastigheden for frigørelse fås som følger:

URININDSAMLING

Urinprøver indsamles som beskrevet i "Prøvetagning og håndtering". Notér tidspunktet for vandladning (T2), tidspunktet for den foregående vandladning (T1) og totale urinmængde (V).

BEREGNING AF HASTIGHEDEN FOR α GST FRIGØRELSE

1. Bestem α GST niveauer i urin ved anvendelse af Argutus Medical NEPHKIT[®] Alpha (μ g/L).
2. Beregn tidsrummet over hvilket urinen blev opsamlet $T = T_2 - T_1$ i minutter.
3. Notér urinmængden i mL (V).
4. Beregn frigørelses hastigheden som følger:

$$\text{ng } \alpha\text{GST/min} = \frac{[\alpha\text{GST}] \mu\text{g/L} \times V}{T}$$

RESUMÉ AF BESTEMMELSESPROCEDUREN

1. PRØVE-KALIBRATORINKUBATION

- 1.1 Klargør vaskeopløsning og kalibratorer.
- 1.2 Klargør prøver.
- 1.3 Anbring mikro assay brøndene i assaypladerne. Tilsæt kalibratorer, positiv kontrol og fortyndede prøver (100 μ L/brønd), gange to, til mikro assay pladen.
- 1.4 Tildæk mikroassay pladen 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 "Præparation af reagenser"
- 2.2 Fjern tildækningen og vask hver strimmel 4 gange med vaskeopløsning (250 μ L-350 μ L/brønd).
- 2.3 Tilsæt 100 μ L konjugat/brønd.
- 2.4 Tildæk igen mikro assay 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 100 μ L substrat/brønd og inkubér ved stuetemperatur i mørke i nøjagtig 15 minutter.

4. STOP

- 4.1 Tilsæt 100 μ L stopopløsning/brønd. Vær sikker på fuldstændig blanding af substrat og stopopløsning.
- 4.2 Aflæs med det samme ved 450nm anvendende 630nm som reference (hvis den findes).

5. BEREGN RESULTATER

FORTOLKNING AF SYMBOLER

Området for positiv kontrol

CONTROL + ...

In vitro diagnostisk medicinsk anordning

IVD

Batchkode

LOT

Katalognummer

REF

Temperaturbegrænsninger



Anvendes inden udgangen af



Producent



REFERENCES

1. **Campbell, J.A.H. et al.** (1991). Immunohistologic localisation of alpha, mu and pi class glutathione S-transferase in human tissues. *Cancer (Philadelphia)* **67**, 1608-1613.
2. **Hassett, B. and Doyle, S.** (1995). Argutus Medical International internal research.
3. **Goldberg, M.E. et al.** (1999). Dose of compound A, not Sevoflurane, determines changes in the biochemical markers of renal injury in healthy volunteers. *Anesthesia and Analgesia* **88**, 437-445.
4. **Eger II, E.I. et al.** (1996). Nephrotoxicity of Sevoflurane versus Desflurane in volunteers. *Anesthesia and Analgesia* **84**, 160-168.
5. **Kirby K.B. et al.** (1997). Urinary glutathione transferase as an early marker of renal impairment in psoriasis patients treated with Cyclosporin A (CsA). Paper presented at the XIVth International Congress of Nephrology 25-29 May 1997, Sydney, Australia.
6. **Sundberg, A.G.M. et al.** (1995). Glutathione transferases in the urine. Sensitive methods for detection of kidney damage induced by nephrotoxic agents in humans. *Environmental Health Perspectives* **102 (Suppl 3)**, 293-296.
7. **Cressey G et al.** (2002). Renal tubular injury after infrarenal aortic aneurysm repair. *J Cardiothorac. Vasc. Anesth.* ;**16(3)**:290-3.
8. **Cakalaroski, K. et al.** (1999). γ and α -glutathione S-transferases as markers of tubular cell dysfunction in acute renal failure patients. Abstract from the Third Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis and Artificial Organs (BANTAO) Belgrade, Yugoslavia, 1998. *Nephrol. Dial. Transplant*; **14**: 2978.
9. **Sundberg, A.G.M. et al.** (1994). Quantitation of glutathione S-transferase pi in the urine by radioimmunoassay. *Nephron* **66**, 162-169.
10. **Stegeman, C.A. et al.** (1996). Differential diagnosis of early graft dysfunction by urinary excretion of γ and π glutathione S-transferases in renal transplantation. *JASN* **7(9)**, 1986.
11. **Kievit, J.K. et al.** (1997). Release of α -glutathione S-transferase (α GST) and π - Glutathione S-transferase (π GST) from ischaemic damaged kidneys into the machine perfusate - relevance to viability assessment *Transplantation Proceedings* **29**, 3591-3593.
12. **Daeman, J.W.H.C. et al.** (1997). Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine preserved non-heart beating donor kidneys. *Transplantation* **63**, 89-93.
13. **Maxwell, P.R. and Gordon D.** (2002). Concentration of glutathione-S-transferase isoenzymes in urine in patients with diabetes: A pilot study. *Proceedings of the ACB National meeting, Glasgow UK 21-24 May 2002*, 73-74
14. **Jung, K.** (1994). Urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. *Kidney International* **46 (Suppl 47)**, 29-33.



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

<http://www.argutusmed.com>

European Patent no. 787300
US Patent No.: 6,071,706
Document Code: NEPA-127-DK-08
03/09