

CE

REF **BIO85**
96-hulsplade



ARGUTUS **MEDICAL**

Pi GST EIA

Enzym Immunassay

DANSK

Brugsanvisning

INDHOLDSFORTEGNELSE

TILSIGTET BRUG	3
BAGGRUND	3
ASSAY PRINCIP	3
INDHOLD	4
SIKKERHEDSFORSKRIFTER	5
STABILITET OG OPBEVARING	6
YDERLIGERE NØDVENDIGE MATERIALER	6
FORBEREDELSE AF REAGENSER	7
PRØVETAGNING	7
PRØVEOPBEVARING	8
FORBEREDELSE AF PRØVEMATERIALE	8
ASSAY PROCEDURE	9
BEREGNING AF RESULTATER	10
KRITERIER FOR KUALITETSSIKRING	10
BEGRÆNSNINGER I BRUGEN	10
ASSAY SPECIFIKATIONER	11
EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE	12
GARANTI	12
APPENDIKS 1	13
RESUME AF ASSAY PROCEDURE	14
SYMBOLTOLKNING	15
LITTERATURLISTE	16

TILSIGTET BRUG

Argutus Medical Pi GST EIA er en metode til kvantitativ bestemmelse af Pi Gluthatione S-transferase (π GST) i human plasma og urin. Kontakt Argutus Medical for vejledning i at måle π GST i andet prøvemateriale og måle andre GST subklasser. Produktet er kun til forskningsbrug i USA.

BAGGRUND

URIN STUDIER

I det humane nefron er π GST lokaliseret i de distale tubuli, hvorimod α GST er begrænset til de proximale tubuli^{1,2}. π GST afgives til urinen i normale individer, hvilket er bekræftet ved enzyme Immuno Assays (EIA)^{3,4}. Enhver begivenhed forårsagende skade på de distale tubuli kan medføre forhøjet frigivelse af π GST i urinen. Forhøjet π GST niveau er således vist at være indikation på skade på de distale tubuli under afstødning ved nyretransplantation^{5, 6}, nyre toksitet⁵⁻⁷, infektion⁸, diabetes⁹ samt kronisk nyreskade¹⁰. Frigivelse af α GST i urinen eller plasma er vist at være associeret med skader på de proximale tubuli, hvorfor samtidig måling af α - og π GST muliggør diskriminering mellem skader på henholdsvis proximale og distale tubuli⁵⁻⁷.

PLASMA STUDIER

Plasma niveauet af π GST er også vist at være forhøjet i kroniske galdeblære lidelser og galdeblære carcinomer¹¹. Forhøjet vævs- og plasma π GST niveau kan findes i et spektrum af maligniteter¹².

ASSAY PRINCIP

Argutus Medical Pi GST EIA er et kvantitativt enzym immun assay. Proceduren er baseret på sekventiel tilsætning af prøvemateriale, enzym-antistof konjugat og substrat til mikrotiter brønde coated med anti- π GST IgG. Den resulterende farveudvikling er proportional med mængden af π GST. Måle-området er 1.25 - 40 μ g/L.

INDHOLD

- | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------|-----|
| 1. Mikrotiter Plade coated med antistof
12 x 8 strips coated med IgG rettet mod π GST. Brønd kan skilles.
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">PLA</td></tr></table> | PLA | | |
| PLA | | | | |
| 2. Kalibrator
Oprænset π GST i 50% (volumen) glycerol (5mg/L, 100 μ L)
Indeholder Thiomerzal.
KONCENTRERET OPLØSNING | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">CAL</td></tr></table> | CAL | | |
| CAL | | | | |
| 3. Fortyndingsbuffer
Opløsning med protein og stabilisatorer (50mL)
Indeholder Natrium Azid
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">DIL</td><td style="padding: 2px 10px;">SPE</td><td style="padding: 2px 10px;">1X</td></tr></table> | DIL | SPE | 1X |
| DIL | SPE | 1X | | |
| 4. Vaskebuffer
20x PBS med Tween 20 (PBST, 55mL).
Indeholder Thiomerzal.
KONCENTRERET OPLØSNING | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><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 | | |
| 5. Positiv kontrol
π GST i protein opløsning med stabilisatorer (4,5mL).
Indeholder Thiomerzal og Natrium Azid (NaN ₃).
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">CONTROL</td><td style="padding: 2px 10px;">+</td></tr></table> | CONTROL | + | |
| CONTROL | + | | | |
| 6. Konjugat
HRP-konjugeret anti- π GST IgG (11mL).
Indeholder Thiomerzal.
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">CONJ</td><td style="padding: 2px 10px;">ENZ</td><td style="padding: 2px 10px;">1X</td></tr></table> | CONJ | ENZ | 1X |
| CONJ | ENZ | 1X | | |
| 7. Substrat
Stabiliseret flydende TMB-opløsning (11mL).
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">SUBS</td><td style="padding: 2px 10px;">TMB</td></tr></table> | SUBS | TMB | |
| SUBS | TMB | | | |
| 8. Stop opløsning
0.5M svovlsyre (H ₂ SO ₄ , 11mL).
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">SOLN</td><td style="padding: 2px 10px;">STP</td></tr></table> | SOLN | STP | |
| SOLN | STP | | | |
| 9. NEPHKIT® Urin stabiliseringsbuffer (10mL)
Indeholder Thiomerzal og Natrium Azid (NaN ₃)
KLAR TIL BRUG | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">BUF</td><td style="padding: 2px 10px;">NEPH</td></tr></table> | BUF | NEPH | |
| BUF | NEPH | | | |
| 10. Brugsanvisning | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"><tr><td style="padding: 2px 10px;">INS</td></tr></table> | INS | | |
| INS | | | | |

FORSIGTIGHEDSREGLER SILLERHED

- Argutus Medical Pi GST kit er kun til *in-vitro* diagnostisk brug.
- Argutus Medical Pi GST kit må kun anvendes af kvalificeret laboratoriepersonale.
- Kittet indeholder materiale af human oprindelse, der er belvet 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.

PROCEDUREN

- 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 pipettespiden.
- 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.
- Hold altid den øvre overflade af brøndene fri for dråber. Dråber bør forsigtigt suges op med trækpapir ved fuldførelse af det proceduremæssige trin.
- 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. 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. 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

1. Mikropipetter: 5-50µL, 50-200µL og 200-1000µL. Derudover vil en 50-200µL multidispenser være hensigtsmæssig.
2. Vaskeautomat (Optionelt).
3. ELISA plade spektrofotometer, der kan male en bølgelængde på 450nm med referencemåling på 630nm, hvis muligt.
4. 1L målebæger.
5. Tidtager.
6. Tragt.
7. Destilleret vand.
8. Pladeryster.
9. Målecylinder.
10. Reagensrør.
11. Inkubator.

FORBEREDELSE AF REAGENSER

1. VASKEBUFFER (PBST)

Fortynd koncentrat 20 x. Eksempel: tilsæt 10mL koncentrat 190mL destilleret vand. Forbered kun det nødvendige volumen, afhængig af antal prøver, der skal analyseres. **Sørg for, der ingen udfældninger er i koncentratet inden opløsningen forberedes.** Forsigtig opvarmning til 37°C i 15-30 minutter vil hjælpe til at opløse eventuelle udfældninger (krystaller). Der bruges 25mL vaskebuffer til en strip med 8 brønde.

2. KALIBRATORER

Præparer 40µg/L kalibrator opløsningen fra πGST koncentratet på følgende måde:

Koncentrat:	20µL
Fortyndingsbuffer:	2480µL
Total	2500µL @ 40µg/L (A)

Afmærk reagensrørene og præparer kalibratorefter følgende skema:

Kalibrator koncentration (µg/L)	Volumen Kalibrator (µL)	Volumen Fortyndingsbuffer (µL)
40 (A)	500 (A)	0
20 (B)	500 (A)	500
10 (C)	500 (B)	500
5 (D)	500 (C)	500
2.5 (E)	500 (D)	500
1.25 (F)	500 (E)	500
0 (G)	0	500

PRØVETAGNING

URIN

Argutus Medicals Pi GST EIA kan bruges til måling af πGST på en hvilken som helst urinprøve. Men grundet døgnvariationer i proteinuria¹³, er det imidlertid vigtigt for optimale resultater, at periodiske kvantiterede urinprøver opsamles og tidsinterval og mængde registreres. Udskilningen af πGST kan derved udtrykkes som en rate; ng/min. Se i øvrigt Appendiks 1. Opsamling af døgn urin eller mellemsøvnperiode urin prøver anbefales. Kontakt Argutus Medical for vejledning ved brug af andre opsamlings metoder eller perioder. Tilsæt 200µL NEPHKIT® Urin Stabiliserende Buffer til 800µL urin så hurtigt som muligt efter prøvetagning. Tilsæt buffer, uanset hvor længe prøverne skal opbevares. Indeholder prøven ved objektiv inspektion blod, skal den umiddelbart centrifugeres ved 10.000 x G i 5 minutter. Er supernatanten klar (uden tegn på hæmolyse) efter centrifugering, kan en smule af prøven opsamles og testes for πGST.

Hvis der stadig er objektive tegn på blod i prøven, er denne uegnet til πGST målinger.

α GST måling er ikke påvirket af tilstedeværelse af blod. Prøven skal centrifugeres og supernatanten opsamles inden tilsætning af NEPHKIT® Urin Stabiliserende Buffer.

PLASMA

Hold prøvematerialets temperatur på 2-8 °C under hele den følgende procedure. Prøverne opsamles i Li-Hep eller EDTA rør og centrifugeres ved 2500 x G i 10 minutter indenfor 6 timer efter opsamling. Overfør supernatanten til et nyt rør og centrifuge igen ved 6000 x G i 10 minutter. Dette sikrer fuldstændig bortskaffelse af thrombocytter. Supernatanten opsamles forsigtigt uden at resuspendere bundfaldet. PiGST findes i thrombocytter, og det er vigtigt at fjerne dem.

PRØVEOPBEVARING

URIN

Umiddelbart forud for bestemmelsen fortyndes prøvene 1/2 ved at tilsætte 200 μ L stabiliseret urinopløsning till 200 μ L prøvfortynder. Det anbefales, at prøverne analyseres så hurtigt som muligt efter opsamling. Prøverne kan imidlertid opbevares ved 2-8°C i op til en uge og i mindst 1 år ved -20°C efter tilsætning af NEPHKIT® Urin Stabiliserende Buffer. Gentagen indfrysning og optøning bør undgås. Uden NEPHKIT® Urin Stabiliserende Buffer, kan indholdet af π GST i urinprøver falde med op til 70% ved nedfrysning, målt ved EIA. Dette fald skyldes sandsynligvis denaturering af proteinet, under indfrysnings-optøningscyklus.

PLASMA

Prøver bør fryses ved -20°C hurtigst muligt efter opsamling. Der er ikke observeret ændring i π GST koncentrationen i prøver opbevaret ved -20°C i op til 3 måneder. Gentagen indfrysning og optøning bør undgås.

FORBEREDELSE AF PRØVEMATERIALE

URIN

Umiddelbart før brug fortyndes prøverne 1:1; bland lige dele prøvemateriale og fortyndingsbuffer til et slutvolumen >200 μ L.

PLASMA

Umiddelbart før brug fortyndes prøverne 1/5. Tilsæt for eksempel 50 μ L prøvemateriale til 200 μ L fortyndingsbuffer. Det er muligt at fortynde prøvematerialet i mikrotiterpladen. Dette letter selvsagt proceduren, specielt ved mange prøver. **De positive kontroller skal ikke fortyndes.** Fortyndede prøver kan **ikke** opbevares.

ASSAY PROCEDURE

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

1. INKUBERING AF PRØVE OG KALIBRATOR

- 1.1. Forbered vaskebuffer og kalibrators som beskrevet i afsnit "Forberedelse af Reagenser".
- 1.2. Forbered prøver som beskrevet i "Forberedelse af Prøvemateriale"
- 1.3. Anbring det nødvendige antal microassay 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 fås fra Argutus Medical).
Tilsæt kalibrators (**G-A; ækvivalent koncentration 0-40µg/L**), positiv kontrol og fortyndede prøver (**100µL/brønd**) gange to, til mikroassay pladen.
- 1.4. Tildæk mikrotiter pladen og inkuber i **60±2 minutter** ved rumtemperatur 20-25°C under jævn omrystning.
Bemærk: Til validering af testen er brugt en Lab- Line Interments© omryster, hastighed 2-3.
- 1.5. Fjern tildækningen og vask 4 gange med Vaskebuffer (**250-350µL per brønd**). Efter vask bankes pladen grundigt mod papirserviet på bordet for at sikre fjernelse af al vaskebufferen fra brøndene.
Bemærk: Der kan bruges vaskeautomat eller manuel vask.

2. INKUBERING MED KONJUGATET

- 2.1. Tilsæt **100µL** konjugat per brønd til mikrotiter pladen.
- 2.2. Tildæk mikrotiter pladen og inkuber i **60 ± 2 minutter** ved rumtemperatur 20-25°C under jævn omrystning.

Bemærk: Til validering af testen er brugt en Lab-Line Interments© omryster, hastighed 2-3.
- 2.3. Fjern tildækningen og vask 4 gange med Vaskebuffer (250-350)µL per brønd. Efter vask bankes pladen grundigt mod papirserviet på bordet for at sikre fjernelse af al vaskebufferen fra brøndene.
- 2.4.

3. FREMKALDELSE

- 3.1. Tilsæt **100µL** substrat per brønd. Brug en multidispenser pipette og inkuber ved rumtemperatur (20-25)°C i nøjagtigt 15 minutter.

4. STOP

- 4.1. Stop fremkaldelsen ved tilsætning af **100µL** stopopløsning per brønd. Bland grundigt for sikre fuldstændig afbrydelse af fremkaldelsesreaktionen.
- 4.2. Aflæs umiddelbart herefter OD-værdien ved 450nm spektrofotometrisk og brug- hvis muligt - 630nm som reference.

BEREGNING AF RESULTATER

1. Beregn middelabsorbansen for hver prøve.
2. Lav en kalibreringskurve med $A_{(450/630)}$ nmværdierne på abscissen og π GSTkoncentrationen i µg/L på ordinaten (En lineær kurve, se Figur 1).
3. Aflæs prøvernes π GST-koncentration i µg/L ud fra kalibreringskurven.
4. Gang den beregnede [π GST] med den passende fortyndingsfaktor for at få den aktuelle [π GST]. Resultaterne for urin prøverne bør ganges yderligere med 1.25 for at kompensere for fortynding af prøvens urinstabiliserende buffer.
5. Koncentrationen af den Positive Kontrol aflæses direkte fra kurven. Sammenhold den aflæste værdi med den på indersiden af kitæskens låg opgivne værdi.
6. For at udtrykke π GST-koncentrationen i urin som rate (ng/minut) se instruktion i Appendiks .
7. Prøvekoncentrationer med målinger uden for standardkurven er ugyldige og skal gentages med en højere fortyndingsfaktor. Ekstrapolering af data kan ikke accepteres.

KRITERIER FOR KVALITETSSIKRING

Den positive kontrol skal altid inkluderes for at vurdere validiteten af test resultaterne. Hvis den aflæste værdi af den positive kontrol ikke ligger indenfor værdien opgivet på indersiden af kitæskens låg, skal resultaterne kasseres og testen gentages.

BEGRÆSNINGER I BRUGEN

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

ASSAY SPECIFIKATIONER

REFERENCE OMRÅDE

Det anbefales at det enkelte laboratorie fastlægger referenceområde relevant for den/de patientgrupper, der undersøges.

SPECIFICITET

Argutus Medical Pi GST EIA er specifik for π GST. Ingen signifikant krydsreaktivitet til μ eller α GST isoformer er observeret.

MÅLEOMRÅDE

Kalibreringskurvens målområde dækker 1.25 – 40 $^{\circ}$ g/L, svarande til 3.12 - 100 $^{\circ}$ g/L i urinprøver stabiliseret 4/5 i stabiliseringsbuffer og fortyndet $_$ fortyndningsbuffer og 6.25 - 200 μ g/L i plasmaprøver fortyndet 1/2 i prøvefortyndningsbuffer.

DETEKTIONSGRÆNSE

Argutus Medical Pi GST EIA har en detektionsgrænse på 0.7 μ g/L. Dette giver en nedre detektionsgrænse i urinprøver stabiliseret 1.75 i stabiliseringsbuffer og fortyndet $_$ i fortyndningsbuffer og 3.5 μ g/L i plasmaprøver fortyndet 1/2 i prøvefortyndningsbuffer

INTERFERENS

Der er ikke observeret nogen signifikant interferens med lipidæmisk prøvemateriale eller ikteriske prøver.

Lipidæmi*: <10% interferens op til 1000IU i plasma prøver.

Ikeri: <10% interferens ved 5mg/mL i både plasma og urinprøver. Hæmolytiske prøver er uegnede til π GST målinger og må ikke bruges.

*Undersøgt med Intralipid 20% fra Fresenius.

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.

REPRODUCERBARHE

Tablet 1: Inom assay variation af Argutus Medical Pi GST EIA bestemt for 2 prøver; 1 plasma og 1 urin med n=24 indenfor et enkelt assay.

Prøv	πGST (μg/L)	SA	VK%	N
Låg plasma	210.1	4.65	2	24
Låg urin	3.8	0.09	2	24

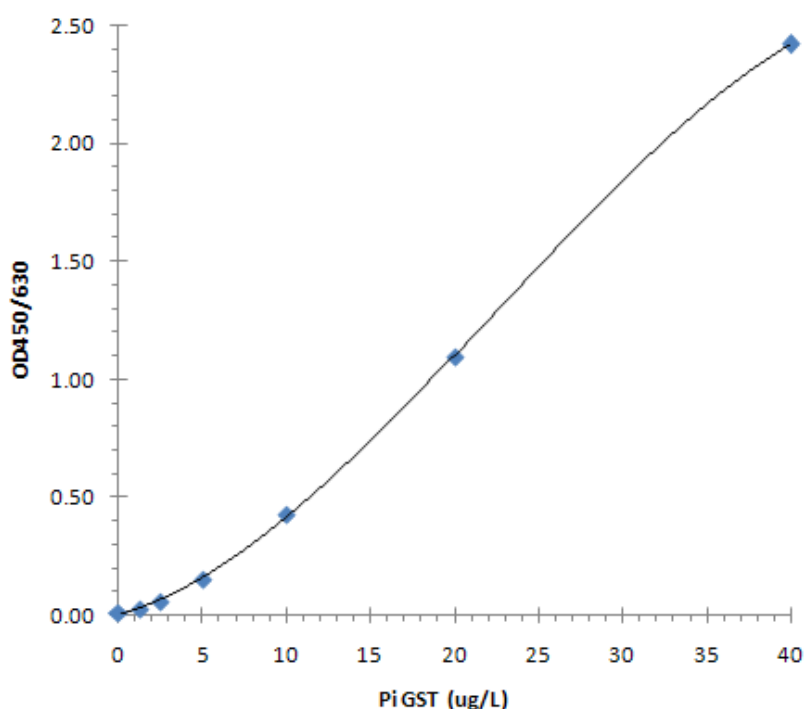
Tabel 2: Mellan assay variation af Argutus Medical Pi GST EIA bestemt for 4 prøver over 25 assays for en batch med fuld procedure for alle assays.

Prøv	π GST ($\mu\text{g/L}$)	SA	VK%	N
Låg plasma	218.2	14.72	7	25
Middel plasma	315.9	22.36	7	25
Låg urin	5.4	0.52	9	25
Låg-Middel urin	61.5	3.56	6	25

Tabel 3: Mellan batch variation af Argutus Medical Pi GST EIA bestemt for 3 prøver over 10 assays beregnet for 3 batches.

Prøv	π GST ($\mu\text{g/L}$)	SA	VK%	N
Låg plasma	222.4	13.35	6	30
Middel plasma	326.4	25.49	8	30
Låg urin	6.1	1.00	16	30

EKSEMPEL PÅ KALIBRERINGSKURVE



Figur 1: Typisk kalibreringskurve fundet ved brug af Argutus Medical π GST EIA. Plot af $A_{450/630\text{nm}}$ versus [π GST] $\mu\text{g/L}$.

GARANTI

De præsenterede specifikationer er opnået ved at følge den i dette dokument beskrevne procedure. Enhver ændring eller modifikation af den i dette dokument beskrevne procedure – der ikke specifikt er anbefalet af Argutus Medical – ophæver alle garantier udtrykte, forudsatte og lovmæssige, inkluderende salgbarhed og brugsevne. Argutus Medical påtager sig intet ansvar for skader opstået direkte eller som indirekte konsekvens af brug af dette produkt.

APPENDIKS 1

πGST UDSKILLELSE UDTRYKT SOM RATE

Udskillelsen af πGST er konstant i tid og ikke i urin volumen. Dette betyder, at det kan være mere relevant at udtrykke πGST som rate i ng/minut i stedet for koncentration; µg/L. Det kan være vigtigt i situationer, hvor der er tale om usædvanlig diurese, såsom oligo- eller polyuria. Udskillesesraten opnås som følger:

URIN OPSAMLING

Opsaml urinprøver som beskrevet i afsnittene "Prøvetagning" og "Prøveopbevaring". Noter tidspunkt for urinering (T2), tidspunkt for tidligere urinering (T1) og det totale urin volumen (V).

BEREGNING AF πGST UDSKILLELSESRATE

1. Bestem πGST koncentrationen i µg/L med Argutus Medical Pi GST EIA.
2. Beregn perioden i minutter for opsamling af urinen (T), som $T = T2 - T1$.
3. Noter urin volumen i mL.
4. Beregn udskillesesraten som:

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

RESUME AF ASSAY PROCEDURE

1. PRØVE OG KALIBRATOR INKUBERING

- 1.1. Forbered vaskebuffer og kalibratorer.
- 1.2. Forbered prøvemateriale.
- 1.3. Placer Mikrotiter brønde i assay pladen. Tilsæt kalibratorer, positiv kontrol og fortyndede prøver (**100µL/brønd**) i duplikater til mikrotiter brøndene.
- 1.4. Tildæk pladen og inkuber ved (20-25)°C i 60 ± 2 minutter med ensartet omrystning.
- 1.5. Fjern afdækningen og vask hver strip 4 gange med **250-350µL** vaskebuffer per brønd

2. KONJUGAT INKUBERING

- 2.1. Tilsæt **100µL** konjugat per brønd.
- 2.2. Tildæk pladen og inkuber ved (20-25)°C i 60 ± 2 minutter med ensartet omrystning.
- 2.3. Fjern afdækningen og vask hver strip 4 gange med (**250-350µL**) vaskebuffer per brønd.

3. FREMKALDELSE

- 3.1. Tilsæt **100µL** substrat per brønd og inkuber inkuber ved (20-25°C) i præcis **15 minutter**.

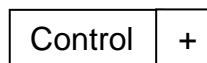
4. STOP

- 4.1. Afbryd reaktionen ved at tilsætte **100µL** stopopløsning per brønd. Bland grundigt for at sikre fuldstændig terminering af fremkaldelses reaktionen.
- 4.2. Aflæs umiddelbart ved 450nm og brug – hvis muligt - 630nm som reference.

5. BERGEN RESULTATER

FORTOLKNING AF SYMBOLER

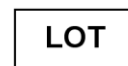
Området for positiv kontrol



In vitro diagnostisk medicinsk anordning



Batchkode



Katalognummer



Temperaturbegrænsninger



Anvendes inden udgangen af



Producent



Farligt biologisk materiale



LITTERATURLISTE

1. **Campbell, J.A.H. et al.** (1991). Immunohistologic localisation of alpha, mu and pi class glutathione S-transferases in human tissue. *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. **Sundberg, A.G.M. et al.** (1994). Quantitation of glutathione S-Transferase-pi in the urine by radioimmunoassay. *Nephron* **66**, 162-169
4. **Manning, F. et al.** (1994). Biotrin International internal research.
5. **Sundberg, A.G.M. et al.** (1994). Urinary π -glutathione S-transferase as an indicator of tubular injury in the human kidney. *Nephron* **67**, 308-316.
6. **Stegeman, C.A. et al.** (1996). Differential diagnosis of early graft dysfunction by urinary excretion of α and π glutathione S-transferase in renal transplantation (RT). Presented at the Congress of the American Society of Nephrology, **3-6. Nov 1996**.
7. **Eger II, E.I. et al.** (1997). Nephrotoxicity of Sevoflurane® versus Desflurane® in volunteers. *Anesthesia and Analgesia* **84**, 160-168.
8. **Bouissou, F. et al.** (1998). Urinary glutathione-S-transferase: excretion in normal children and children with pyelonephritis. Poster presented at the meeting of the French Society of Infectious Diseases in Paediatrics. Limoges, France - **May 1998**.
9. **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**.
10. **Branten, A et al.** (2000). Urinary excretion of glutathione S transferases alpha and pi in patients with proteinuria: reflection of the site of tubular injury. *Nephron* **85(2): 120-6**.
11. **Vaubourdolle, M et al.** (1996). Plasma π glutathione S-transferase as a marker of biliary cell damage. *Hepatology* **24(4pt2) p 593A**.
12. **Beckett, G.J. and Hayes, J.D.** (1993). Glutathione S-transferase: Biomedical applications. *Advances in Clinical Chemistry* **30**, 281-380.
13. **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>