

CE

**REF** BIO85  
**Plat de 96 Puits**



**ARGUTUS MEDICAL**

# **Pi GST EIA**

**Technique Immunoenzymatique**

**FRANÇAIS**

**Mode d'emploi**

# **TABLE OF CONTENTS**

OBJET	3
CONTEXTE CLINIQUE	3
PRINCIPE DU DOSAGE	3
COMPOSITION DU COFFRET	4
PRECAUTIONS D'EMPLOI	5
STABILITE ET CONSERVATION	6
MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI	6
PREPARATION DES REACTIFS	7
PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS	7
CONSERVATION DES ECHANTILLONS	8
PREPARATION DES ECHANTILLONS	9
MODE OPERATOIRE	9
CALCUL DES RESULTATS	10
CONTROLE DE QUALITÉ	11
LIMITES DU TEST	11
PERFORMANCES	11
EXEMPLE DE COURBE D'ETALONNAGE	13
GARANTIE	13
ANNEXE 1	14
RESUME DU MODE OPERATOIRE	15
SIGNIFICATION DES SYMBOLES	16
BIBLIOGRAPHIE	17

## **OBJET**

Argutus Medical Pi GST EIA permet l'analyse quantitative de la Pi Glutathione S-Transférase ( $\pi$ GST) présente dans le plasma et l'urine humains. Pour toute information relative au dosage de la  $\pi$ GST dans d'autres milieux et sous-classes GST, contacter Argutus Medical. Pour la recherche seulement aux États-Unis.

## **CONTEXTE CLINIQUE**

### **URINE**

Dans le rein humain, la  $\pi$ GST est localisée dans la région tubulaire distale tandis que l'alpha GST ( $\alpha$ GST) est localisée principalement dans la région tubulaire proximale<sup>1,2</sup>. La  $\pi$ GST est libérée dans l'urine des sujets normaux, comme le confirme le dosage immuno-enzymatique<sup>3,4</sup>. Tout incident pouvant provoquer une lésion dans la région tubulaire distale peut entraîner une augmentation de la concentration de  $\pi$ GST dans l'urine. Il a été montré que l'élévation de la concentration urinaire de  $\pi$ GST indique une lésion tubulaire distale dans les cas de rejets de greffes rénales<sup>5,6</sup>, de néphrotoxicité<sup>5-7</sup>, d'infection<sup>8</sup>, de diabète<sup>9</sup> et d'atteinte rénale chronique<sup>10</sup>. Il a été démontré que la libération d' $\alpha$ GST peut être associée à une lésion dans la région tubulaire proximale; aussi l'analyse simultanée de la concentration urinaire d' $\alpha$ GST et de  $\pi$ GST peut permettre d'établir une distinction entre lésion tubulaire proximale et distale<sup>5-7</sup>.

### **PLASMA**

Dans le plasma, la concentration de  $\pi$ GST peut aussi être élevée dans les cas de maladies cholestatiques chroniques ou de carcinome des voies biliaires intrahépatiques (Cholangiocarcinome)<sup>11</sup>. Un taux élevé de  $\pi$ GST tissulaire ou dans le plasma peut être trouvé dans certaines pathologies malignes<sup>12</sup>.

## **PRINCIPE DU DOSAGE**

Argutus Medical Pi GST EIA est une technique immunoenzymatique quantitative. La procédure du test repose sur l'addition successive d'un échantillon, d'un conjugué enzymatique et d'un substrat dans des micropuits enduits d'IgG anti- $\pi$ GST. L'intensité de la coloration qui se développe alors est proportionnelle à la quantité de  $\pi$ GST présente dans l'échantillon. La gamme standard se situe entre 1,25 - 40 $\mu$ g/L.

## **COMPOSITION DU COFFRET**

- |  |   |         |      |     |
|--|---|---------|------|-----|
| <p>1. Microplaque enduite d'anticorps<br/>12 x 8 puits enduits d'IgG dirigées contre <math>\pi</math>GST. Puits sécables.<br/>PRET A L'EMPLOI</p>                                    | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">PLA</td> </tr> </table>  | PLA     |      |     |
| PLA  |   |         |      |     |
| <p>2. Standard<br/><math>\pi</math>GST purifiée dans 50% (v/v) de glycérol (5mg/L, 100<math>\mu</math>L).<br/>Contient du Thiomersal.<br/>CONCENTRE</p>                              | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">CAL</td> </tr> </table>  | CAL     |      |     |
| CAL  |   |         |      |     |
| <p>3. Diluant pour échantillons<br/>Solution contenant des protéines et stabilisants. (50mL).<br/>Contient de l'azide de sodium.<br/>PRET A L'EMPLOI</p>                             | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">DIL</td> <td style="padding: 5px;">SPE</td> <td style="padding: 5px;">1X</td> </tr> </table>   | DIL     | SPE  | 1X  |
| DIL  | SPE   | 1X      |      |     |
| <p>4. Concentré de lavage<br/>Tampon de phosphate salin / Tween-20 concentré 20X.<br/>(PBST, 55mL). Contient du Thiomersal.<br/>CONCENTRE</p>  | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">BUF</td> <td style="padding: 5px;">WASH</td> <td style="padding: 5px;">20X</td> </tr> </table> | BUF     | WASH | 20X |
| BUF  | WASH  | 20X     |      |     |
| <p>5. Contrôle positif<br/>Solution <math>\pi</math>GST contenant des protéines et stabilisants<br/>(4,5mL). Contient du Thiomersal et de l'azide de sodium.<br/>PRET A L'EMPLOI</p> | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">CONTROL</td> <td style="padding: 5px;">+</td> </tr> </table>                                   | CONTROL | +    |     |
| CONTROL  | +   |         |      |     |
| <p>6. Conjugué<br/>IgG anti- <math>\pi</math>GST conjuguées à la peroxydase<br/>de raifort (11mL). Contient du Thiomersal.<br/>PRET A L'EMPLOI</p>                                   | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">CONJ</td> <td style="padding: 5px;">ENZ</td> <td style="padding: 5px;">1X</td> </tr> </table>  | CONJ    | ENZ  | 1X  |
| CONJ   | ENZ   | 1X      |      |     |
| <p>7. Substrat<br/>Solution de TMB liquide stabilisée (11mL).<br/>PRET A L'EMPLOI</p>  | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">SUBS</td> <td style="padding: 5px;">TMB</td> </tr> </table>                                    | SUBS    | TMB  |     |
| SUBS   | TMB   |         |      |     |
| <p>8. Solution d'Arrêt<br/>Acide sulfurique 0,5M (11mL).<br/>PRET A L'EMPLOI</p>   | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">SOLN</td> <td style="padding: 5px;">STP</td> </tr> </table>                                    | SOLN    | STP  |     |
| SOLN   | STP   |         |      |     |
| <p>9. NEPHKIT® Tampon stabilisant urinaire (10mL).<br/>Contient du Thiomersal et de l'azide de sodium.<br/>PRET A L'EMPLOI</p>   | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">BUF</td> <td style="padding: 5px;">NEPH</td> </tr> </table>                                    | BUF     | NEPH |     |
| BUF  | NEPH  |         |      |     |
| <p>10. Notice d'utilisation</p>  | <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">INS</td> </tr> </table>  | INS     |      |     |
| INS  |   |         |      |     |

## **PRECAUTIONS D'EMPLOI**

### **SECURITE**

- Pour usage diagnostic *in-vitro* seulement.
- Ce coffret doit être uniquement utilisé par le personnel de laboratoire qualifié.
- Ce kit contient des produits d'origine humaine qui ont été testés négatifs à l'ADN Hépatite B, à l'ARN Hépatite C et à l'ARN VIH. Toutefois, comme aucun test ne peut fournir une garantie totale, ces produits sont considérés comme potentiellement infectieux.
- Certains réactifs contiennent du Thiomérsal qui peut se révéler toxique à l'ingestion.
- La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique, qui est corrosif. Eviter tout contact avec la peau et les yeux. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau et consulter un médecin.
- Le substrat contient du TMB (tétraméthylbenzidine) qui irrite la peau et les muqueuses. En cas de contact avec la peau, rincer à l'eau.
- Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium qui peut former des azides métalliques potentiellement explosifs dans les tuyauteries en plomb ou en cuivre. Pour les éliminer, ces réactifs devront être rincés avec de grands volumes d'eau pour éviter l'accumulation d'azide.
- Eliminer tous les échantillons cliniques ainsi que le matériel contaminé ou potentiellement contaminé en accord avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire. Tout élément doit être manipulé et éliminé comme potentiellement infectieux.
- Tous les résidus de réactifs, préparations ou produits chimiques doivent être considérés comme dangereux. Il est indispensable de les éliminer selon les procédures standard de sécurité.
- Porter des vêtements protecteurs, des gants jetables stériles en latex, et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de la réalisation du test. Se laver les mains après l'utilisation des réactifs.
- Ne pas pipeter avec la bouche, et ne jamais manger ou boire sur la pailleuse de laboratoire.

### **PROCEDURE**

- Pour les projets d'étude clinique, Argutus Medical recommande aux utilisateurs d'analyser tous les échantillons en utilisant le même numéro de lot de kit pour une uniformité optimale de l'étude.
- Ne pas utiliser de kit ou de réactif après la date de péremption.
- Ne pas utiliser ensemble des réactifs de lots différents.
- Des modifications du protocole peuvent conduire à des résultats erronés.
- La réalisation du test sans le respect des températures et temps indiqués peut conduire à des résultats erronés. Dans ce cas, le dosage devra impérativement être répété.
- L'ajout de réactif doit se faire au centre du puits, en prenant soin de ne pas érafler les côtés du puits avec le cône.
- Ne jamais laisser les puits se dessécher Durant la manipulation.

- Eviter toute contamination inter-réactifs ou interpuits et changer de cône à usage unique pour chaque échantillon et composant.
- Ne pas utiliser une solution trouble ou présentant un précipité.
- S'assurer que le tampon de lavage concentré est bien mélangé et qu'il ne reste pas de cristaux avant la dilution.
- De l'eau distillée ou désionisée de bonne qualité est nécessaire pour obtenir un bon tampon de lavage. L'utilisation d'eau de mauvaise qualité ou contaminée peut entraîner un bruit de fond élevé à la lecture des résultats.
- Laisser les réactifs atteindre la température ambiante (20-25°C) et bien mélanger avant l'usage.
- Eviter de laisser les réactifs sous une lumière forte et/ou à une température supérieure à 2 - 8°C pendant une longue période.
- Utiliser seulement des tubes et pipettes de laboratoire propres, et de préférence à usage unique, pour chaque préparation de réactif.
- Eviter la formation de gouttelettes à la surface des puits. Les gouttes doivent être soigneusement essuyées à la fin de la procédure du lavage.
- S'assurer que le fond de la plaque est propre et sec avant lecture des résultats.
- Etablir un plan d'identification et de distribution avant de commencer la manipulation.

### **STABILITE ET CONSERVATION**

1. Tous les réactifs du kit doivent être conservés entre 2 et 8°C. Ainsi conservés, ils sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.
2. Les micropuits doivent être conservés entre 2 et 8°C dans un sachet étanche, avec le dessiccant, jusqu'à leur prochaine utilisation. Replacer les puits non utilisés dans leur sachet de conservation avec le dessiccant.
3. La gamme d'étalonnage de la  $\pi$ GST doit être utilisée dans les 30 minutes suivant la préparation.
4. La solution de lavage préparée (PBST) reste stable à température ambiante pendant deux semaines. Conservée entre 2 et 8°C, elle est stable un mois.

### **MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI**

1. Micropipettes (5-50 $\mu$ L ; 50-200 $\mu$ L et 200-1000 $\mu$ L) et une multipipette (50-200 $\mu$ L)
2. Laveur de microplaques
3. Lecteur de microplaques ELISA à 450 nm avec une longueur d'onde de référence de 630 nm si possible
4. Bécher de 1 litre
5. Chronomètre
6. Bain-marie
7. Eau désionisée/distillée
8. Agitateur de microplaques
9. Epruvette graduée
10. Tubes à essai
11. Incubateur à température ambiante

## **PREPARATION DES REACTIFS**

### **1. SOLUTION DE LAVAGE (PBST)**

Diluer le concentré de lavage au 1/20ème en ajoutant, par exemple, 10mL de concentré de lavage à 190mL d'eau désionisée. Préparer seulement le volume de solution nécessaire pour le dosage. **S'assurer que les cristaux de sel sont bien dissous avant de procéder à la dilution.** Si nécessaire, chauffer doucement le concentré de lavage à 37°C pendant 15-30 minutes pour dissoudre les cristaux. Chaque barrette de 8 cupules nécessite 25mL de solution de lavage.

### **2. STANDARDS**

Préparer le Standard (A) à 40µg/L à partir de la solution-mère de πGST comme suit:

Solution-mère: 20µL  
 Diluant d'échantillon: 2480µL  
 Total: 2500µL à 40µg/L (A)

A l'aide de tubes à essai numérotés, préparer la gamme d'étalonnage selon le procédé qui suit:

<b>Standard (µg/L)</b>	<b>Volume d'Etalon (µL)</b>	<b>Volume de diluant d'échantillon (µL)</b>
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

## **PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS**

### **URINE**

Le coffret Argutus Medical Pi GST EIA peut être utilisé pour l'analyse quantitative de la πGST de tout échantillon urinaire. En raison de la variation diurne de protéinurie<sup>13</sup> et afin d'obtenir des résultats optimaux, les échantillons doivent être prélevés dès le réveil. Il est impératif de relever l'heure exacte et la quantité d'urine prélevée afin d'exprimer la proportion de πGST excrétée sous forme de taux (ng/min). Voir annexe 1. Il est recommandé de prélever les urines pendant 24 heures ou toute une nuit. Prendre conseil auprès de Argutus Medical si les échantillons doivent être prélevés selon une procédure ou à des moments différents.

Dès que possible après le prélèvement des échantillons, ajouter 200µL de tampon stabilisant urinaire NEPHKIT® à 800µL d'urine (dilution de l'échantillon au 4/5ème), ceci même si les échantillons ne sont pas destinés à être conservés.

Si, lors d'une inspection visuelle, les échantillons semblent contenir des traces de sang, l'échantillon doit être immédiatement centrifugé à 10 000 g pendant 5 minutes. Si, après centrifugation, l'échantillon possède un surnageant clair sans trace

d'hémolyse, un aliquot peut être prélevé et testé pour la  $\pi$ GST. **Par contre, si le surnageant possède encore des traces de sang après simple examen visuel, l'échantillon ne doit pas être utilisé pour la mesure de la  $\pi$ GST.** La présence de traces sanguines n'affecte cependant pas l'analyse quantitative d' $\alpha$ GST. L'échantillon doit être centrifugé et le surnageant prélevé avant que ne soit ajouté le stabilisant urinaire NEPHKIT®.

## **PLASMA**

Maintenir le plasma à une température de 2 à 8°C pendant toute la période du traitement. Recueillir les échantillons dans des tubes d'EDTA ou dans de l'héparinate de lithium et centrifuger à 2 500 g pendant 10 minutes entre 2 et 8°C dans les 6 heures suivant le prélèvement. Décanter le plasma surnageant avec attention et centrifuger à nouveau ce plasma à 6 000 g pendant 10 minutes entre 2 et 8°C pour s'assurer de l'absence totale de plaquettes. Collecter le plasma avec attention par aspiration en prenant bien soin de ne pas remettre les plaquettes en suspension.

La GST-pi se trouve dans les plaquettes ; leur extraction est donc essentielle.

## **CONSERVATION DES ECHANTILLONS**

### **URINE**

Ne pas stocker d'échantillons sans leur avoir préalablement ajouté le tampon stabilisant urinaire NEPHKIT®. Celui-ci doit être ajouté à l'échantillon dans les 12 heures suivant son prélèvement. Il est recommandé de procéder au dosage des échantillons dès que possible après le prélèvement. Cependant, après addition du tampon stabilisant NEPHKIT®, les échantillons peuvent être conservés une semaine entre 2 et 8°C ou au moins 12 mois à -20°C. Eviter les congélations-décongélations répétées. En l'absence de tampon stabilisant urinaire NEPHKIT®, la congélation peut réduire jusqu'à 70 % le taux de GST urinaire détectable par dosage immunoenzymatique. Cette perte en GST urinaire est très vraisemblablement due à la dénaturation qui se produit au cours du cycle de congélation.

### **PLASMA**

Les échantillons doivent être congelés à -20°C dès que possible après le prélèvement. Aucun changement de la concentration de  $\pi$ GST ne sera observé auprès des échantillons conservés à -20°C pour une période allant jusqu'à 3 mois. Eviter les congélations-décongélations répétées.

## **PREPARATION DES ECHANTILLONS**

### **URINE**

Immédiatement avant le dosage, diluer les échantillons au 1/2 en ajoutant 200µL d'échantillon à 200µL de diluant d'échantillon.

### **PLASMA**

Immédiatement avant le dosage, diluer les échantillons au 1/5ème en ajoutant 50µL d'échantillon à 200µL de diluant d'échantillon. Si les échantillons à doser sont nombreux (plus de 10 en double exemplaire), il est possible, afin de faciliter leur transfert sur la microplaque de dosage, de les diluer sur une microplaque vierge en procédant aux ajustements de volume nécessaires.

**La dilution n'est pas requise pour le Contrôle Positif.**

Ne conserver aucun échantillon dilué.

## **MODE OPERATOIRE**

REMARQUE: Attendre que les réactifs soient à température ambiante avant de commencer les dosages.

### **1. INCUBATION DES ECHANTILLONS/STANDARDS**

- 1.1. Préparer la solution de lavage et les standards en suivant le procédé décrit dans "Préparation des réactifs".
- 1.2. Préparer les échantillons comme décrit dans "Préparation des échantillons".
- 1.3. Prendre le nombre nécessaire de micropuits sur la plaque de dosage (14 pour les standards et 2 pour chacun des contrôles et des échantillons) et compléter les espaces dans les colonnes avec les micropuits vierges (disponibles chez Argutus Medical). Déposer sur la microplaque, les standards (**G-A ; 0 à 40µg/L**), le contrôle positif et les échantillons dilués (**100µL/puits**) en duplicate.
- 1.4. Couvrir la microplaque et incubé à température ambiante (20 à 25°C) pendant **60 ± 2 minutes** sous agitation uniforme.  
Remarque: un agitateur de microplaques "Lab-line Titertek-Plate" a été utilisé à la vitesse 2-3.
- 1.5. Retirer le couvercle et laver chaque barrette 4 fois avec la solution de lavage (**250µL – 350µL/puits**). Taper ensuite fermement la plaque contre un papier buvard afin d'éliminer toute trace de solution de lavage sur les puits.  
Remarque: Le lavage peut être automatique ou manuel.

## 2. INCUBATION DU CONJUGUE

- 2.1. Ajouter **100µL** de conjugué à chaque puits.
- 2.2. Recouvrir la microplaque et incuber à température ambiante (20 à 25°C) pendant **60 ± 2 minutes** sous agitation uniforme.  
Remarque: un agitateur de microplaques "Lab-Line Titer-Tek Plate" a été utilisé à la vitesse 2-3.
- 2.3. Laver chaque barrette comme indiqué à l'étape 1.5.

## 3. DEVELOPPEMENT DE LA COLORATION

- 3.1. Ajouter **100µL** de substrat dans chacun des puits à l'aide d'une multipipette et incuber à température ambiante pendant exactement 15 minutes.

## 4. ARRET

- 4.1. Arrêter la réaction en ajoutant **100µL** de solution d'arrêt dans chacun des puits. S'assurer que le substrat et la solution d'arrêt sont parfaitement mélangés.
- 4.2. Lire immédiatement le résultat à 450nm avec lecture de référence à 630nm (si possible).

## CALCUL DES RESULTATS

1. Calculer la densité optique (D.O.) moyenne pour chaque échantillon.
2. Tracer une courbe d'étalonnage de  $A_{450/630nm}$  par rapport à  $[\pi\text{GST}]$  exprimé en µg/L. La courbe devrait présenter une forme similaire à celle de la Figure 1.
3. Lire sur la courbe la valeur  $[\pi\text{GST}]$  (µg/L) indiquée par la densité optique (D.O.) moyenne des échantillons.
4. Multiplier la valeur  $[\pi\text{GST}]$  obtenue par le facteur de dilution approprié afin d'obtenir la valeur réelle  $[\pi\text{GST}]$ . Pour les urines, multiplier la valeur obtenue par un facteur de 1,25 pour tenir compte de la dilution des échantillons par le tampon stabilisant urinaire NEPHKIT®.
5. La concentration du contrôle positif est directement lue sur la courbe et elle doit se situer entre les extrêmes indiqués à l'intérieur du coffret.
6. Se reporter à l'annexe 1 pour savoir comment exprimer la valeur  $\pi\text{GST}$  sous forme de taux (ng/min).
7. Les concentrations d'échantillons dont les valeurs sont situées en dehors de la courbe standard ne sont pas valables et doivent être à nouveau effectuées avec un facteur de dilution plus élevé. Aucune donnée ne doit être extrapolée.

## **CONTROLE DE QUALITE**

Le contrôle positif doit toujours être inclus pour déterminer la validité des résultats. Les valeurs du contrôle positif doivent être en accord avec les spécifications données à l'intérieur du coffret. Si ces critères ne sont pas rencontrés, le test est considéré invalide et doit être répété.

## **LIMITES DU TEST**

Il est indispensable que les résultats soient corrélés avec le profil clinique du patient et les autres résultats cliniques du laboratoire.

## **PERFORMANCES**

### **GAMME DE REFERENCE**

Il est conseillé à chaque laboratoire d'élaborer sa propre gamme de référence en fonction du groupe étudié.

### **SPECIFICITE**

Argutus Medical Pi GST EIA est hautement spécifique de la  $\pi$ GST. Aucune réactivité croisée notable avec les isoformes Mu ou Alpha GST n'a été observée.

### **INTERVALLES DE MESURES**

La gamme de mesure est comprise entre 1,25 et 40 $\mu$ g/L ce qui correspond à 3,12 et 100 $\mu$ g/L d'un échantillon d'urine dilué au 1/2 dans le diluant pour échantillon ou 6,25-200 $\mu$ g/L d'un échantillon de plasma dilué au 1/5 dans le diluant pour échantillon. Cet intervalle peut être étendu en augmentant la dilution de l'échantillon.

### **LIMITES DE DETECTION**

La limite de détection du kit de Argutus Medical Pi GST EIA est de 0,7 $\mu$ g/L. La limite de détection est de 1,75 $\mu$ g/L pour un échantillon d'urine stabilisée dilué au 1/2 ou 3,5 $\mu$ g/L pour un échantillon de plasma dilué au 1/5.

### **INTERFERENCE**

Aucune interférence significative n'a été observée pour ce test avec des échantillons lipémiques ou ictériques.

Dans le cas d'échantillons lipémiques\*: moins de 10% d'interférence jusqu'à 1 000 UI dans le plasma.

Pour les échantillons ictériques : moins de 10% d'interférence à 5 mg/mL dans le plasma et moins de 10% à 5mg/mL dans l'urine. Les échantillons contenant du sang hémolysé sont impropres au dosage de la  $\pi$ GST et ne doivent pas être utilisés.

\*Tests réalisés avec des intralipides 20% de Fresenius.

Des études internes ont montrés que les échantillons avec un taux très élevé de Facteur Rhumatoide peuvent interferer avec ce dosage.

Pour plus d'information, veuillez contacter Argutus Medical.

## REPRODUCTIBILITE

**Tableau 1:** Variation intra-test du kit Argutus Medical Pi GST EIA réalisée sur 2 échantillons (1 plasmas et 1 urines) en répétant le test 24 fois pour chaque échantillon.

Echantillon	$\pi$ GST ( $\mu$ g/L)	DS	%CV	N
Plasma (faible)	210,1	4,65	2	24
Urine (faible)	3,8	0,09	2	24

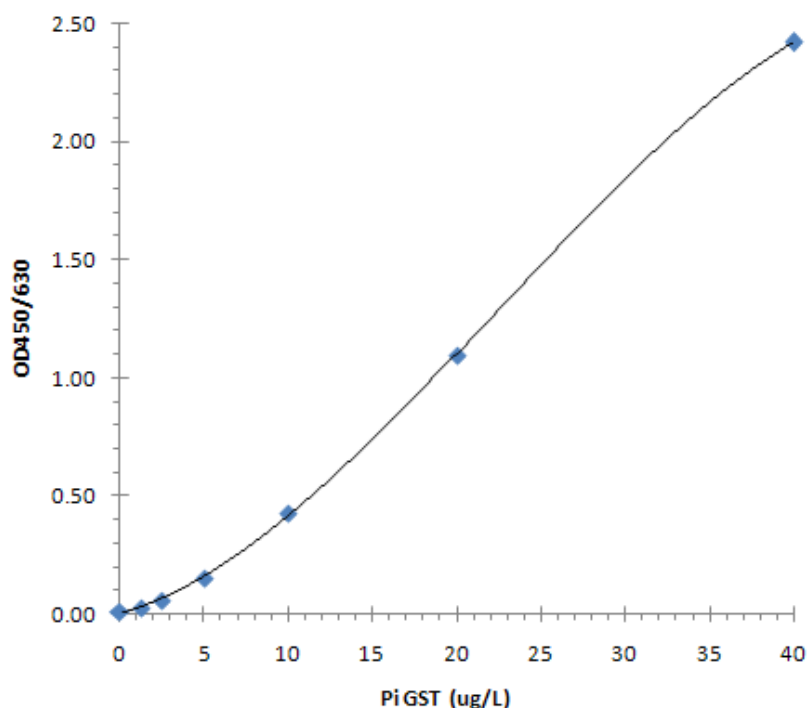
**Tableau 2:** Variation inter-test du kit Argutus Medical Pi GST EIA réalisée sur 4 échantillons testés 25 fois sur le même lot.

Echantillon	$\pi$ GST ( $\mu$ g/L)	DS	%CV	N
Plasma (faible)	218,2	14,72	7	25
Plasma (moyen)	315,9	22,36	7	25
Urine (faible)	5,4	0,52	9	25
Urine (moyennement faible)	61,5	3,56	6	25

**Tableau 3:** Variation inter-lot du kit Argutus Medical Pi GST EIA réalisée sur 3 échantillons testés 10 fois sur 3 numéros de lots.

Echantillon	$\pi$ GST ( $\mu$ g/L)	DS	%CV	N
Plasma (faible)	222,4	13,35	6	30
Plasma (moyen)	326,4	25,49	8	30
Urine (faible)	6,1	1,00	16	30

## **EXEMPLE DE COURBE D'ETALONNAGE**



**Figure 1:** Courbe d'étalonnage type obtenue avec le kit Argutus Medical Pi GST EIA. Tracé linéaire-linéaire de  $A_{450/630\text{nm}}$  en fonction de  $[\pi\text{GST}]\mu\text{g/L}$ .

## **GARANTIE**

Les performances présentées ici ont été obtenues en suivant la procédure décrite. Toute modification de la procédure non recommandée par Argutus Medical peut perturber les résultats obtenus. Auquel cas, Argutus Medical décline toute responsabilité expresse, tacite ou statutaire, y compris la responsabilité tacite pour commercialisation et conformité à un usage donné. Argutus Medical ne peut alors être tenu responsable des dommages, directs ou indirects, subis par l'utilisateur.

## **ANNEXE 1**

### **EXCRETION DE $\pi$ GST EXPRIMEE EN TAUX**

L'excrétion de  $\pi$ GST est constante dans le temps et non par rapport au volume d'urine, ce qui signifie qu'il sera peut-être plus approprié d'exprimer l'excrétion de  $\pi$ GST sous forme de taux (ng/min) que de concentration. Ceci peut être important en cas de diurèse inhabituelle (oligo- ou polyurie, par exemple). Le taux d'excrétion est calculé comme suit:

### **RECUEIL DE L'URINE**

Recueillir les échantillons d'urine comme indiqué dans le paragraphe "Prélèvement et manipulation des échantillons".

Noter le moment de la miction (T2), celui de la miction précédente (T1), ainsi que le volume total d'urine évacuée (V).

### **CALCUL DU TAUX D'EXCRETION DE $\pi$ GST**

1. Déterminer les niveaux de  $\pi$ GST urinaire à l'aide de Argutus Medical Pi GST EIA ( $\mu$ g/L).
2. Calculer la période T (T2 - T1) en minutes pendant laquelle l'urine a été recueillie.
3. Noter le volume d'urine en mL (V).
4. Calculer le taux d'excrétion comme suit:

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

## **RESUME DU MODE OPERATOIRE**

### **1. INCUBATION DES ECHANTILLONS / STANDARDS**

- 1.1. Préparer la solution de lavage et les standards.
- 1.2. Préparer les échantillons.
- 1.3. Placer les micropuits sur la microplaque. Ajouter sur la microplaque, les standards, le contrôle positif et les échantillons dilués (100µL/puits), en double exemplaire.
- 1.4. Couvrir la microplaque et incuber à température ambiante (20 à 25°C) pendant **60 ± 2 minutes** sous agitation uniforme.
- 1.5. Retirer le couvercle et laver chaque barrette 4 fois avec la solution de lavage (**250 - 350µL/puits**).

### **2. INCUBATION DU CONJUGUE**

- 2.1. Ajouter **100µL** de conjugué dans chaque puits.
- 2.2. Recouvrir la microplaque et incuber à température ambiante (20 à 25°C) pendant **60 ± 2 minutes** sous agitation uniforme.
- 2.3. Laver chaque barrette comme décrit à l'étape 1.5.

### **3. DEVELOPPEMENT DE LA COLORATION**

- 3.1. Ajouter 100µL de substrat dans chaque puits et incuber à température ambiante pendant exactement 15 minutes.

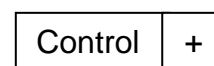
### **4. ARRET**

- 4.1. Arrêter la réaction en ajoutant **100µL** de solution d'arrêt dans chacun des puits.  
S'assurer du mélange complet entre substrat et solution d'arrêt.
- 4.2. Lire immédiatement le résultat à 450nm avec longueur d'onde de référence à 630nm (si possible).

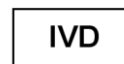
### **5. CALCULER LES RESULTATS**

## **SIGNIFICATION DES SYMBOLES**

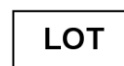
Limites du témoin positif



Matériel médical pour le diagnostic *in vitro*



Référence du lot



Référence Cat



Limites de température



Utiliser avant



Fabricant



Matériel biologique dangereux



## **BIBLIOGRAPHIE**

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  $\pi$ -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  $\alpha$  and  $\pi$  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  $\pi$  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](mailto:info@argutusmed.com)**

**<http://www.argutusmed.com>**

Document Code: PI-284-FR-08  
03/09