

# REAGENT Set B

## For ISCUS/ISCUS<sup>flex</sup> Clinical Microdialysis Analyzer

Ref. No. 8002164

### Content

1. Reagent: One bottle lyophilized reagent each for Glucose, Lactate, Pyruvate, Glycerol and Glutamate placed in a cassette.
2. Buffer: One bottle 6 mL each for Glucose, Lactate, Pyruvate and Glycerol and 4 mL for Glutamate.
3. Calibrator: One bottle of Calibrator A 6 mL placed in the Reagent Cassette.

### Preparation

1. Unscrew the cap with the membrane from the reagent and calibrator bottles, placed in the cassette. Remove and discard the rubber stoppers.
2. Unscrew the cap from the buffer bottles and gently transfer the contents to the corresponding reagent bottle.
3. Fasten the cap with the membrane on the reagent and calibrator bottles in the cassette, without returning the rubber stoppers.
4. Let the reagents and calibrator stand and equilibrate in room temperature for at least 30 minutes prior to use. The contents will be completely mixed when the Reagent Cassette is placed and identified in the analyzer.

### Intended use and stability of solution

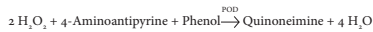
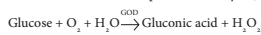
The Reagent Set is made for use in ISCUS or ISCUS<sup>flex</sup> Clinical Microdialysis Analyzer. Each Reagent Cassette has a unique code, written on the label, which should be registered when placing it in the analyzer.

The Reagent Set is stable up to expiry date when stored at +2 to +8 °C. Reconstituted reagents are stable for five days in the analyzer. The contents are sufficient for around 215 analyses.

## GLUCOSE

Colorimetric method for the quantitative determination of Glucose in Microdialysates.

**Measuring principle**  
Glucose is enzymatically oxidized by glucose oxidase (GOD). The hydrogen peroxide formed reacts with phenol and 4-amino-antipyrine. This reaction is catalyzed by peroxidase (POD) and yields a red-violet colored quinoneimine. The rate of formation is measured photometrically at 530 nm and is proportional to the glucose concentration.



Linear range: 0.1 - 25 mmol/L

	Component in test solution	Concentration
Glucose reagent	4-aminoantipyrine	0.77 mmol/L
	Ascorbate oxidase	>3 kU/L
	Glucose oxidase	>1.5 kU/L
	Peroxidase	>1.5 kU/L
Glucose buffer	Phosphate buffer, pH 7.0	0.1 mol/L
	Phenol	11 mmol/L
	Sodium azide	0.4 g/L

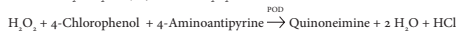
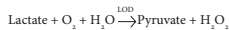
#### References:

1. Barhem and P. Trinder, *Analyst* 97 (1972) 142

## LACTATE

Colorimetric method for the quantitative determination of Lactate in Microdialysates.

**Measuring principle**  
Lactate is enzymatically oxidized by lactate oxidase. The hydrogen peroxide formed reacts with 4-chlorophenol and 4-amino-antipyrine. This reaction is catalyzed by peroxidase (POD) and yields a red-violet colored quinoneimine. The rate of formation is measured photometrically at 530 nm and is proportional to the lactate concentration.



Linear range: 0.1 - 12 mmol/L

	Component in test solution	Concentration
Lactate reagent	4-aminoantipyrine	0.4 mmol/L
	Lactate oxidase	>500 U/L
	Peroxidase	>500 U/L
	Ascorbate oxidase	>12.0 kU/L
Lactate buffer	PIPES buffer, pH 6.8	100 mmol/L
	4-Chlorophenol	5.4 mmol/L
	Sodium oxalate	7.5 mmol/L
	EDTA-disodium salt	5 mmol/L
	Sodium azide	0.3 g/L

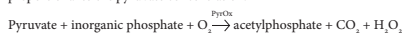
#### References:

1. N. Shimojo et al. *Clin Chem* 35 (1989) 1992
2. H.F. Kühnle et al., *J.Clin Chem Biochem* 15 (1977) 171
3. T.O. Kleine et al., *Dtsch Med Wschr* 104 (1979) 553

## PYRUVATE

Colorimetric method for the quantitative determination of Pyruvate in Microdialysates.

**Measuring principle**  
Pyruvate is enzymatically oxidized by pyruvate oxidase (PyrOx). The hydrogen peroxide formed reacts with N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-m-toluidine and 4-amino-antipyrine. This reaction is catalyzed by peroxidase (POD) and yields a red-violet colored quinoneimine. The rate of formation is measured photometrically at 530 nm and is proportional to the pyruvate concentration.



Linear range: 10 - 300 (10 - 1500) µmol/L

	Component in test solution	Concentration
Pyruvate reagent 4-amino-antipyrine	0.3 mmol/L	
	Tiamine pyrophosphate	0.2 mmol/L
	FAD	10 µmol/L
	Pyruvate Oxidase	>0.2 kU/L
	Peroxidase	>0.8 kU/L
Pyruvate buffer	Ascorbate Oxidase	>10 kU/L
	Citrate buffer, pH 6.1	100 mmol/L
	Potassium dihydrogenphosphate	10 mmol/L
	MgCl <sub>2</sub>	10 mmol/L
	TOOS	1.5 mmol/L
Sodium azide	0.3 g/L	

#### References:

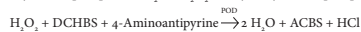
1. B. Sedewitz, et al., *J. Bacteriol*, 160 (1984) 273-278
2. M. Nawata, et al., *Anal Biochem*, 190 (1990) 84-87
3. H. Araki and M. Yamada, in: H. U. Bergmeyer (Editor), *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed., Vol 6, Verlag Chemie, Weinheim, 1984

## GLYCEROL

Colorimetric method for the quantitative determination of Glycerol in Microdialysates.

### Measuring principle

Glycerol is phosphorylated by adenosin triphosphate (ATP) and glycerol kinase (GK) to glycerol-3-phosphate, which is subsequently oxidized in the presence of glycerol-3-phosphate oxidase (GPO). The hydrogen peroxide formed reacts with 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzene sulphonic acid (DCHBS) and 4-amino-antipyrine. This reaction is catalyzed by peroxidase (POD) and yields a red-violet colored quinoneimine (ACBS). The rate of formation is measured photometrically at 530 nm and is proportional to the glycerol concentration.



Linear range: 10 - 1500 µmol/L

	Component in test solution	Concentration
Glycerol reagent 4-aminoantipyrine	0.4 mmol/L	
	ATP	1.0 mmol/L
	Glycerol kinase	>400 U/L
	Glycerol-3-phosphate-oxidase	>1.5 kU/L
	Peroxidase	>1 kU/L
Glycerol buffer	Ascorbate oxidase	>7.0 kU/L
	PIPES buffer, pH 7.6	40 mmol/L
	DCHBS	1.5 mmol/L
	Magnesium ions	17.5 mmol/L
	Sodium azide	0.2 g/L

#### References:

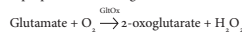
1. K.J. Foster and K.G.M.M. Alberti, *Clin Chem* 24 (1978) 1568

## GLUTAMATE

Colorimetric method for the quantitative determination of Glutamate in Microdialysates.

### Measuring principle

Glutamate is enzymatically oxidized by glutamate oxidase (GltOx). The hydrogen peroxide formed reacts with N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-m-toluidine (TOOS) and 4-amino-antipyrine. This reaction is catalyzed by peroxidase (POD) and yields the red-violet colored quinoneimine. The rate of formation is measured photometrically at 530 nm and is proportional to the glutamate.



Linear range: 1 - 150 µmol/L

	Component in test solution	Concentration
Glutamate reagent	4-amino-antipyrine	0.3 mmol/L
	Glutamate Oxidase	>0.25 kU/L
	Peroxidase	>0.8 kU/L
	Ascorbate Oxidase	>17.5 kU/L
Glutamate buffer PIPES buffer, pH 6.8	100 mmol/L	
	TOOS	1.5 mmol/L
	Sodium azide	0.3 g/L

#### References:

1. H. Kusakabe et al., *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 179
2. H. Kusakabe et al., *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 1323
3. A. Böhmer et al., *Eur. J. Biochem.* 182 (1989) 327-332
4. U. Wollenberger et al., *Biosensors* 4 (1989) 381-39

## CALIBRATOR A

### Calibration values

Glucose	5.55 mmol/L
Lactate	2.5 mmol/L
Glycerol	475 µmol/L
Pyruvate	250 µmol/L
Glutamate	25 µmol/L

### Sample material

Microdialysates

### WARNING

Do not pipette by mouth. Exercise the normal precautions required for handling laboratory reagents.

The buffer contains Sodium Azide. Avoid ingestion or contact with skin or mucous membranes. In case of skin contact, flush affected area with copious amounts of water. In case of contact with eyes or if ingested, seek immediate medical attention.

Sodium Azide may react with lead and copper plumbing, to form potentially explosive azides. When disposing of such reagents, flush with large volumes of water to prevent azide build up. Exposed metal surfaces should be cleaned with 10 % sodium hydroxide.



Last day of use



Lot number



Storage temperature



Consult instructions for use



In vitro diagnostic device

For in vitro use only



The product meets EU directive for IVD (98/79/EC)

### Manufactured by:

M Dialysis AB  
Hammarby Fabriksväg 43  
SE-120 30 • Stockholm • Sweden  
Tel: +46-8-470 10 20  
Fax: +46-8-470 10 55  
E-mail: info@mdialysis.com  
www.mdialysis.com

### USA office:

73 Princeton Street  
N. Chelmsford • MA 01863 • USA  
Phone: +1 978 251 1940, +1-866-868-9236  
Fax: +1 978 251-1960  
E-mail: usa@mdialysis.com

# REAGENT Set B

## Till ISCUS/ISCUS<sup>flex</sup> Clinical Microdialysis Analyzer

Ref. Nr. 8002164

### Innehåll

- Reagens: En flaska frystorkat reagens vardera för glukos, laktat, pyruvat, glycerol och glutamat placerat i en kasset.
- Buffert: En flaska innehållande 6 mL vardera för glukos, laktat, pyruvat och glycerol samt en flaska innehållande 4 mL för Glutamat.
- Kalibrator: En flaska innehållande 6 mL kalibrator A placerad i reagentkassetten.

### Beredning

- Avlägsna de membranförsedda locken från reagensflaskorna och kalibratorflaskan. Tag bort och kasta gummipropparna.
- Avlägsna locket från buffertflaskorna och överför försiktigt deras innehåll till motsvarande reagens-flaska.
- Skruva tillbaka de membranförsedda locken på reagens- och kalibratorflaskorna i kassetten, utan att sätta tillbaka gummiproppen.
- Låt reagenserna och kalibratorn komma i jämvikt i rumtemperatur under minst 30 minuter innan användning. Innehållet kommer att blandas när reagentkassetten placeras och identifierats i analysinstrumentet.

### Avsedd användning och lösningarnas stabilitet

Detta reagensset är avsett att användas i ISCUS eller ISCUS<sup>flex</sup> Clinical Microdialysis Analyzer. Varje reagenskasset har ett unikt nummer på etiketten som måste registreras när kassetten placeras i analysinstrumentet.

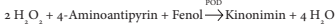
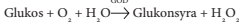
Innehållet är stabilt till utgångsdatum vid förvaring i +2 till +8 °C. Tillrett reagens är stabilt i fem dagar i analysinstrumentet. Innehållet räcker till ca 215 bestämningar.

## GLUKOS

Kolorimetrisk metod för kvantitativ bestämning av glukos i mikrodialysat.

### Mätprincip

Glukos oxideras enzymatiskt i närvaro av glukosoxidas (GOD). Den bildade väteperoxiden reagerar med fenol och 4-aminoantipyrin. Denna reaktion katalyseras av peroxididas (POD) och ger ett röd-violett kinonimin-färgämne. Hastigheten med vilken färgämnet bildas mäts fotometriskt vid 530 nm och är proportionell mot glukoskoncentrationen.



Linjärt område: 0,1 - 25 mmol/L

	Komponent i testlösningen	Koncentration
Glukosreagens	4-aminoantipyrin Askorbatoxididas Glukosoxididas Peroxidas	0,77 mmol/L >3 kU/L >1,5 kU/L >1,5 kU/L
Glukosbuffert	Fosfatbuffert, pH 7,0 Fenol Natriumazid	0,1 mol/L 11 mmol/L 0,4 g/L

### Referenser:

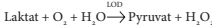
- Barhem and P. Trinder, *Analyst* 97 (1972) 142

## LAKTAT

Kolorimetrisk metod för kvantitativ bestämning av laktat i mikrodialysat.

### Mätprincip

Laktat oxideras enzymatiskt i närvaro av laktatoxididas (LOD). Den bildade väteperoxiden reagerar med 4-klorfenol och 4-aminoantipyrin. Denna reaktion katalyseras av peroxididas (POD) och ger ett röd-violett kinonimin-färgämne. Hastigheten med vilken färgämnet bildas mäts fotometriskt vid 530 nm och är proportionell mot laktatkoncentrationen.



Linjärt område: 0,1 - 12 mmol/L

	Komponent i testlösningen	Koncentration
Laktatreagens	4-aminoantipyrin Laktatoxididas Peroxidas	0,4 mmol/L >500 U/L >500 U/L
Laktatbuffert	Askorbatoxididas PIPES buffert, pH 6,8 4-Klorfenol Natriumoxalat EDTA-dinatrium salt Natriumazid	100 mmol/L 5,4 mmol/L 7,5 mmol/L 5 mmol/L 0,3 g/L

### Referenser:

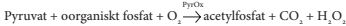
- N. Shimojo et al, *Clin Chem* 35 (1989) 1992
- H.F. Kühnle et al, *J.Clin Chem BioChem* 15 (1977) 171
- T.O. Kleine et al, *Dtsch Med Wschr* 104 (1979) 553

## PYRUVAT

Kolorimetrisk metod för kvantitativ bestämning av pyruvat i mikrodialysat.

### Mätprincip

Pyruvat oxideras enzymatiskt i närvaro av pyruvatoxididas (PyrOx). Den bildade väteperoxiden reagerar med N-etyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidin och 4-aminoantipyrin. Denna reaktion katalyseras av peroxididas (POD) och ger ett röd-violett kinondiimin-färgämne. Hastigheten med vilken färgämnet bildas mäts fotometriskt vid 530 nm och är proportionell mot pyruvatkoncentrationen.



Linjärt område: 10 - 300 (10 - 1500) µmol/L

	Komponent i testlösningen	Koncentration
Pyruvatreagens	4-amino-antipyrin Tiaminpyrofosfat FAD Pyruvatoxididas Peroxidas	0,3 mmol/L 0,2 mmol/L 10 µmol/L >0,2 kU/L >0,8 kU/L
Pyruvatbuffert	Askorbatoxididas Citratbuffert, pH 6,1 Kaliumdivätefosfat MgCl2 TOOS Natriumazid	>10 kU/L 100 mmol/L 10 mmol/L 10 mmol/L 1,5 mmol/L 0,3 g/L

### Referenser:

- B. Sedewitz, et al., *J. Bacteriol*, 160 (1984) 273-278
- M. Nawata, et al., *Anal Biochem*, 190 (1990) 84-87
- H. Araki and M. Yamada, in: H. U. Bergmeyer (Editor), *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed., Vol 6, Verlag Chemie, Weinheim, 1984

## GLYCEROL

Kolorimetrisk metod för kvantitativ bestämning av glycerol i mikrodialysat.

### Mätprincip

Glycerol fosfateras i närvaro av adenintrifosfat (ATP) och glycerolkinas (GK) till glycerol-3-fosfat, som därefter oxideras enzymatiskt i närvaro av glycerolfosfatoxididas (GPO). Den bildade väteperoxiden reagerar med 3,5-diklor-2-hydroxybensensulfonsyra (DCHBS) och 4-aminoantipyrin. Denna reaktion katalyseras av peroxididas (POD) och ger det röd-violetta kinonimin-färgämnet (ACSB). Hastigheten med vilken färgämnet bildas mäts fotometriskt vid 530 nm och är proportionell mot glycerolkoncentrationen.



Linjärt område: 10 - 1500 µmol/L

	Komponent i testlösningen	Koncentration
Glycerolreagens	4-aminoantipyrin ATP Glycerolkinas Glycerol-3-fosfat-oxididas Peroxidas	0,4 mmol/L 1,0 mmol/L >400 U/L >1,5 kU/L >1 kU/L
Glycerolbuffert	Askorbatoxididas PIPES buffert, pH 7,6 DCHBS Magnesium joner Natriumazid	>7,0 kU/L 40 mmol/L 1,5 mmol/L 17,5 mmol/L 0,2 g/L

### Referenser:

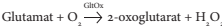
- K.J. Foster and K.G.M.M. Alberti, *Clin Chem* 24 (1978) 1568

## GLUTAMAT

Kolorimetrisk metod för kvantitativ bestämning av glutamat i mikrodialysat.

### Mätprincip

Glutamat oxideras enzymatiskt av glutamatoxididas (GltOx). Den bildade väte-peroxiden reagerar med N-etyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidin (TOOS) och 4-aminoantipyrin. Denna reaktion katalyseras av peroxididas (POD) och ger ett röd-violett kinondiimin-färgämne. Hastigheten med vilken färgämnet bildas mäts fotometriskt vid 530 nm och är proportionell mot glutamatkoncentrationen.



Linjärt område: 1-150 µmol/L

	Komponent i testlösningen	Koncentration
Glutamatreagens	4-amino-antipyrin Glutamatoxididas Peroxidas	0,3 mmol/L >0,25 kU/L >0,8 kU/L
Glutamatbuffert	Askorbatoxididas PIPES buffert, pH 6,8 TOOS Natriumazid	>17,5 kU/L 100 mmol/L 1,5 mmol/L 0,3 g/L







### Referenser:

- H. Kusakabe et al., *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 179
- H. Kusakabe et al., *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 1323
- A. Böhrmer et al., *Eur. J. Biochem.* 182 (1989) 327-332
- U. Wollenberger et al., *Biosensors* 4 (1989) 381-39

## CALIBRATOR A

### Kalibreringsvärden

Glukos	5,55 mmol/L
Laktat	2,5 mmol/L
Glycerol	475 µmol/L
Pyruvat	250 µmol/L
Glutamat	25 µmol/L

Provmaterial	VARNING
Mikrodialysat	Pipettera inte med munnen. Använd de försiktighetsåtgärder som krävs för hantering av laboratoriereagenser.
Symbolförklaring	Bufferten innehåller natriumazid. Undvik intag och kontakt med hud eller slemhinnor. Vid hudkontakt, skölj med stora mängder vatten. Vid ögonkontakt eller intag, uppsök läkarhjälp omedelbart.
 Sista förbrukningsdag	Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör och bildar då högexplosiva azider. Vid avvyrtring, spola alltid med mycket vatten för att förhindra upplagring av azidsalter i avloppssystemet.
 Lot-nummer	Exponerade metalltyr tvättas med 10% natriumhydroxid.
 Lagertemperatur	
 Läs användarmanual	
 In vitro diagnostiskt reagens	Endast för in vitro användning
 Produkten uppfyller EU's direktiv för IVD (98/79/EC)/LVFS 2001:7	

### Tillverkad av:

M Dialysis AB  
Hammarby Fabriksväg 43  
SE-120 30 • Stockholm • Sweden  
Tel: +46-8-470 10 20  
Fax: +46-8-470 10 55  
E-mail: info@mdialysis.com  
www.mdialysis.com

### USA-kontoret:

73 Princeton Street  
N.Chelmsford • MA 01863 • USA  
Phone: +1 978 251 1940, +1-866-868-9236  
Fax: +1 978 251-1960  
E-mail: usa@mdialysis.com