

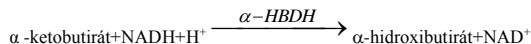
Kódszám:	45961	45962	45963
Kiszerezés:	100 ml (1x50 ml+ 1x50 ml)	600 ml (1x300 ml+ 1x300 ml)	10x20 ml (10x10 ml+ 10x10 ml)

A szérum α -hidroxibutirát-dehidrogenáz (α -HBDH) aktivitásának meghatározására szolgáló reagenskészlet. DGKC módszer.

A laktát-dehidrogenáz izoenzimok affinitása az α -keto-butirát szubsztráttal szemben jelentősen különbözik. Az LDH-1 és LDH-2 izoenzimok (együtt α -HBDH) nagy affinitása lehetővé teszi a gyors, differenciált enzimaktivitás-meghatározást. Szívinfarktus esetén az aktivitás emelkedik.

A meghatározás elve

Az LDH-1 és LDH-2 izoenzimok NADH+H⁺ jelenlétében az α -ketobutirát szubsztrátot α -hidroxibutirát alakítják, miközben NAD keletkezik. Az abszorbanciacsökkenés arányos az α -HBDH aktivitásával.



Referencia-értéktartomány

α -HBDH aktivitás a szérumban: 80-220 U/l

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

Reagens

1. Reagens (R1)

foszfát puffer, pH:7,50 62 mmol/l

α -ketobutirát 6,2 mmol/l

2. Reagens (R2)

NADH 240 μ mol/l

Figyelmeztetés

Zavaros reagens felhasználása tilos.

A szennyezések elkerülésére csak tiszta laboratóriumi eszközöket szabad használni. A reagensek nátrium-azidot tartalmaznak (0,1%). Az azid-vegyületek keletkezésének elkerülése érdekében, a reagens kiöntése után a lefolyót vízzel öblítsük ki.

Minta

Hemolízismentes szérum.

A reagens stabilitása

Fénytől védve és 2-8 °C-on tárolva a reagens

felbontás nélkül: a címkén jelzett ideig,

felbontás után: 30 napig használhatók.

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE

Munkareagens készítése és stabilitása

•Egykomponensű reagens készítése:

Keverjük össze a reagensket (R1 és R2) azonos arányban.

stabilitása: 20-25°C-on: egy hét

2-8 °C-on: négy hét

•Eljárás két reagens alkalmazásával:

A reagens felhasználásra készek.

Mérési eljárás

Hullámhossz: 340 (334-365) nm

Hőmérséklet: 37°C

Fényút: 1 cm

Leolvasás: desztillált vízzel szemben

Mérés: kinetikus (csökkenő)

Amennyiben a munkareagens abszorbanciája 334 nm-en nem éri el az 1,1-et a reagens nem használható.

•Bemérés egy reagens esetén:

Munkareagens	1 ml
Minta	25 μ l

Keverjük össze és egy perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA /perc), 3 perces kereszttől.

•Bemérés két reagens esetén:

R1	1 ml
Minta	50 μ l

Keverjük össze és inkubáljuk egy percig.

R2	1 ml
----	------

Keverjük össze és egy perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA /perc), 3 perces kereszttől.

Kalibráció: (DGKC módszer, 37 °C-on)

S1: Desztillált víz

S2: Diagnosticum DunaCal Katalógusszám: Dcal

Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) vagy

Randox Calibration Serum Level I vagy

Randox Calibration Serum Level II

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,

- ahogy ezt a laboratórium minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{\Delta A_{minta}}{\Delta A_{standard}} \times C_{standard} = C_{minta}$$

A=abszorbancia,
C=konzentráció

Az eredmények kiszámítása faktoral

Egyreagenses módszerrel

340 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc \times 7014

334 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc \times 7150

Kétreagenses módszerrel

340 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc \times 7478

334 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc \times 7616

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI

A méréseket Olympus 600-as automatán végeztük (37°C).

Linearitási tartomány

A módszer 1200 U/l aktivitásig lineáris.

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 0,001 Abs/min 334 nm-en mért abszorbanciaváltozás megegyezik 7,150 U/l α -HBDH aktivitással.

Precizitás

	Reprodukálhatóság		
	Átlag aktivitás (U/l)	SD	CV %
1. minta	153,8	1,29	0,84
2. minta	248,7	1,98	0,79

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó alfa-HBDH reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: $r = 0,9999$

lineáris regresszió: $y (U/l) = 1,045x - 2,623$

(x= más gyártó reagens, y= saját reagens).

Szelektivitás










Bilirubin 0,5 g/l-ig (855 μ mol/l), lipid 2 g/l-ig, glukóz 5 g/l-ig (27,7 mmol/l) aszkorbinsav 0,5 g/l-ig (2,84 mmol/l) nem befolyásolja a mérést.

Megjegyzés

Ne használja a reagent a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárat dátum eltelté után. A készítményeket, tesztadatokat és reagensket csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak *in vitro* diagnosztikai használatra alkalmas!

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárat idő (év/hónap)		

Irodalom

Deutsche Gesellschaft Für Klinische Chemie Z. Clin. Chem U.Klin. Biochem. 1972, 10: 182.

Verzió: 59-DL-2014-04

Felülvizsgálat dátuma: 2016-03

Cat. No.:	45961, 915963	45962, 915964	45963, 915965
Size:	100 ml (1x50 ml + 1x50 ml)	600 ml (1x300 ml + 1x300 ml)	10x20 ml (10x10 ml + 10x10 ml)

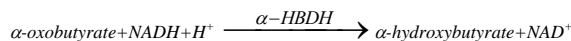
340 nm:	$\Delta A/\text{min} \times 7478 = \text{U/l}; \Delta A/\text{min} \times 124,6 = \mu\text{kat/l}$
334 nm:	$\Delta A/\text{min} \times 7616 = \text{U/l}; \Delta A/\text{min} \times 126,9 = \mu\text{kat/l}$

Reagent kit for determination of α -hydroxybutyrate dehydrogenase (α -HBDH) activity in serum. DGKC method.

There is a significant difference between affinities of lactate dehydrogenase isoenzymes for α -hydroxybutyrate as substrate. High affinity of LDH-1 for this substrate permits a rapid, differentiated determination of the enzyme activity. Increased activities are found associated with myocardial infarction.

Principle

LDH-1 isoenzyme in the presence of NADH and H^+ converts α -oxobutyrate substrate into α -hydroxybutyrate while NAD^+ is formed. The rate of decrease in absorbance is proportional to the α -hydroxybutyrate dehydrogenase activity.



Reference values

Serum α -HBDH activity: 80-220 U/l (1,33-3,67 $\mu\text{kat/l}$)
It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

1.Reagent (R1)	
Phosphate buffer, pH=7.50	62 mmol/l
α -oxobutyrate	6.2 mmol/l
2.Reagent (R2)	
NADH	240 $\mu\text{mol/l}$

Precautions

Discard cloudy reagent. Avoid contamination by using clean disposable devices (pipettes, plastic vials for analyzers, ...).
These reagents contain sodium azide (0.1%). To avoid the possible build-up of azide compounds, flush waste-pipes with water after the disposal of undiluted reagent.

Samples

Serum free of haemolysis.
Haemolysis interferes with the test.

PROCEDURE

Preparation and stability of working reagent

- One-reagent procedure:
Mix 1 volume of reagent 1 (R1) with 1 volume of reagent 2 (R2).
Stability: Keep the reagent protected from light.
at 20-25°C: 1 week
at 2-8 °C: 4 weeks

If the absorbance of working reagent is lower than 1.1 at 334 nm the reagent can not be used.

Assay conditions

Wavelength:	340 (334-365) nm
Temperature:	37°C
Cuvette:	1 cm pathway
Method:	kinetic (decreasing)

•One reagent procedure

Working reagent	1 ml
Sample	25 μl

Mix and after 1 minute incubation, measure the change of absorbance per minute ($\Delta A/\text{min}$) for 3 minutes.

•Two reagent procedure

R1	1 ml
Sample	50 μl

Mix and incubate for 1 minute.

R2	1 ml
----	------

Mix and after 1 minute incubation, measure the change of absorbance per minute ($\Delta A/\text{min}$) for 3 minutes.

Calibration: (37°C, DGKC method)

- S1: Distilled water
- S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Deal or Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) or Randox Calibration Serum Level I or Randox Calibration Serum Level II

Calibration frequency

- Two point calibration is recommended
- after reagent lot change,
- as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{\Delta A_{\text{sample}}}{\Delta A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{sample}}$$

A = Absorbance, C = Concentration

Calculation using factor

One reagent procedure

- 340 nm: $\Delta A/\text{min} \times 7014 = \text{U/l}; \Delta A/\text{min} \times 116,9 = \mu\text{kat/l}$
- 334 nm: $\Delta A/\text{min} \times 7150 = \text{U/l}; \Delta A/\text{min} \times 119,2 = \mu\text{kat/l}$

Two reagent procedure

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

PERFORMANCES DATA

The following data were obtained using the Olympus 600 analyzer (37°C).

Linearity

The test is linear up to 1200 U/l (20,0 $\mu\text{kat/l}$) α -HBDH activity.

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs units/min is equivalent to 7.150 U/l (0,12 $\mu\text{kat/l}$) α -HBDH activity at 334 nm.

Precision

Sample	Reproducibility		
	Average activity (U/l)	SD	CV%
sample I	153.8	1.29	0.84
sample II	248.7	1.98	0.79

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial α -HBDH reagent.

The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: $r=0.9999$

Linear regression: $y(\text{U/l}) = 1.045x - 2.623$

(x= other commercial reagent, y= own reagent).

Specificity










Bilirubin 855 $\mu\text{mol/l}$ (50 mg/dl), lipid 200mg/dl, glucose 27.7 mmol/l (500mg/dl) and ascorbic acid 2.84 mmol/l (50mg/dl) don't interfere with the assay up to the given levels to.

NOTE

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.

The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Deutsche Gesellschaft Für Klinische Chemie Z. Klin. Chem U.Klin. Biochem. 1972, 10: 182

Version: 59-DL-2014-04

Date of revision: 2016-03