АЛЬФА-ГІДРОКСИБУТИРАТДЕГІДРОГЕНАЗА 500

Liquick Cor-HBDH 500

Кат. №: ***1-316*** *Дата випуску інструкції:* ***04-2012***

Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Назва набору	**Номер кат.**
Liquick Cor - HBDH 500	1-316
Liquick Cor - HBDH "bulk"	1-285

ВСТУП

Лактатдегідрогеназа (LDH, LD) - це тетрамірна молекула, що містить дві можливі форми субодиниць (H і M). Результатом є п'ять ізоферментів, одним з яких є гідроксибутиратдегідрогеназа (HBDH, LD-1), утворена чотирма H субодиницями. HBDH присутній головним чином у серцевому м'язі, але зустрічається також у нирках та еритроцитах. Нормальна сироватка містить переважно LD-2 з меншою кількістю LD-1. Зміни у співвідношенні LD-1 до LD-2 свідчать про інфаркт міокарда або гемоліз.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Метод кінетичний, рекомендований Німецьким Товариством Клінічної Хімії (DGKC).

$$\text{2-oksomaślan} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xleftrightarrow{\alpha\text{-HBDH}} \text{2-hydroksymaślan} + \text{NAD}^+$$

Швидкість зміни оптичної щільності на довжині хвилі 340 нм прямо пропорційна активності гідроксибутиратдегідрогенази.

РЕАГЕНТИ

Склад набору

	Liquick Cor-HBDH 500	**Liquick Cor-HBDH "bulk"**
1-HBDH	3 x 400 мл	--*
2-HBDH	1 x 300 мл	--*

*об'єм реагенту надрукований на етикетці.

Реагенти при температурі 2-8 °C зберігають стабільність протягом усього терміну придатності, зазначеного на упаковці. Реагенти на борту апарату при температурі 2-10 °C стабільні 8 тижнів. Оберігати від забруднень і прямого світла!

Приготування і міцність робочого розчину

Визначення можна виконувати, користуючись окремими реактивами 1-HBDH і 2-HBDH або робочим реактивом. Для його приготування необхідно дуже обережно змішати реактиви 1-HBDH і 2-HBDH у співвідношенні 4+1. Уникати утворення піни!

Термін придатності робочого реактиву: 5 днів при 2-8 °C
24 години при 15-25 °C

Захищати від світла та уникати забруднення!

Концентрації компонентів в реагенті

Фосфатний буфер (pH 7,5)	50 ммоль/л
2-оксибутират	3 ммоль/л
NADH	0.25 ммоль/л

Попередження і примітки

- Використовувати лише для аналізів in vitro.
- Реактиви консервовані азидом натрію (<0,1%). Уникати контакту зі шкірою та слизовими оболонками!
- Реактиви є дійсними, якщо коефіцієнт поглинання робочого розчину вище 1,000 (вимір відносно дистильованої води при довжині хвилі 340 нм в кюветі l=1см при температурі 25 °C).

ДОДАТКОВЕ УСТАТКУВАННЯ

- Автоматичний аналізатор або фотометр, що дозволяє знімати покази при довжині хвилі 340 нм (Hg 334 нм, 365 нм);
- Термостат на 25 °C або 37 °C;
- Загальне лабораторне устаткування.

ЗРАЗКИ

Сироватка.

Не вживати гемолізну кров, так як в еритроцитах активність HBDH надзвичайно висока. Не охолоджувати та не заморожувати зразки.

Активність HBDH не стабільна і падає під час зберігання зразків. Зразки можна зберігати до 6 години при температурі 15-25 °C.

Проте, рекомендується проводити дослідження з використанням свіжозібраного біологічного матеріалу!

ПРОЦЕДУРА ВИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений як для мануального визначення (метод Sample Start і Reagent Start), так і для використання в деяких типах автоматичних аналізаторів. Установки параметрів для них надаються сервісною службою за запитом.

Визначення мануальне

довжина хвилі	340 нм (Hg 334 нм, 365 нм)
температура	25 °C/37 °C
кювета	1 см

Метод Sample Start

У кювету помістити:

Робочий Реактив	1000 мкл

Підігріти до температури визначення. Потім додати:

Досліджуваний матеріал	20 мкл (температура 25 °C) або 10 мкл (температура 37 °C)

Ретельно перемішати, інкубувати у зазначеній температурі. Після закінчення 1 хвилини визначити коефіцієнт поглинання щодо повітря або дистильованої води. Повторити вимір після чергових 1, 2, 3 хвилин. Порахувати середню зміну коефіцієнта поглинання за хвилину (ΔA/хв.).

Розрахунок результатів

активність HBDH [Од/л] = ΔA/хв. x F

Величина F залежить від довжини хвилі світла і виносить:

λ	25°C	37°C
340 нм	8095	16030
334 нм	8250	16345
365 нм	15000	29705

Метод Reagent Start

Визначення можна виконати також використовуючи окремі реактиви 1-HBDH і 2-HBDH.

У кювету помістити:

1-HBDH	1000 мкл

Підігріти до температури визначення. Потім додати:

Досліджуваний матеріал	20 мкл (температура 25 °C) або 10 мкл (температура 37 °C)

Ретельно перемішати, інкубувати 1-5 хвилин. Додати:

2-HBDH	250 мкл

Ретельно перемішати і виконати вимірювання як в методі Sample Start.

Розрахунок результатів

активність HBDH [Од/л] = ΔA/хв. x F

Величина F залежить від довжини хвилі світла і виносить:

λ	25°C	37°C
340 нм	10080	20000
334 нм	10275	20390
365 нм	18675	37060

Перекладач Тетяна Зеленська

РЕФЕРЕНСНІ ВЕЛИЧИНИ

сироватка	25 °C	37 °C
дорослі	55 - 150 Од/л (0.917 - 2.33 мккат/л)	< 182 Од/л (< 3.04 мккат/л)

Кожній лабораторії рекомендується встановити свої власні норми, характерні для обстежуваного контингенту.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для внутрішнього контролю якості рекомендується використовувати контрольні сироватки CORMAY SERUM HN (Кат. № 5-172) і CORMAY SERUM HP (Кат. № 5-173) для кожної серії вимірювань.
Для калібрації автоматичних аналізаторів рекомендується використовувати CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Кат. № 5-174 та 5-176) і LEVEL 2 (Кат. № 5-175 та 5-177).
Калібрування рекомендується проводити кожні 8 тижнів, при кожній зміні лота реагентів і в разі потреби, наприклад, якщо результати визначення контрольних сироваток не потрапляють в референтний діапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЗНАЧЕННЯ

Ці метрологічні характеристики були отримані за допомогою автоматичного аналізатора Biolis 24i Premium. У випадку проведення аналізу на іншому аналізаторі або вручну отримані результати можуть відрізнятися.

- **Чутливість:** 9.2 Од/л (0.153 мккат/л).

- **Лінійність**: до 500 Од/л (8.33 мккат/л).
  Якщо активність HBDH в досліджуваному матеріалі перевищує 500 Од/л, матеріал необхідно розвести у співвідношенні 1 до 9 з 0,9 % розчином NaCl і повторити визначення. Результат помножити на 10.

- **Специфічність/Інтерференція**
  Гемоглобін до 2.5 г/дл, білірубін до 20 мг/дл, аскорбінова кислота до 62 мг/л, тригліцериди до 1000 мг/дл не впливають на результати вимірювань.

- **Точність**

Повторюваність (між серіями) n = 20	Середня [Од/л]	SD [Од/л]	CV [%]
Рівень 1	141.63	2.12	1.50
Рівень 2	362.68	4.52	1.25

Відтворюваність (між днями) n = 80	Середня [Од/л]	SD [Од/л]	CV [%]
Рівень 1	148.94	2.03	1.37
Рівень 2	380.33	3.28	0.86

- **Порівняння методів**

Порівняння результатів визначення HBDH, отриманих на Biolis 24i Premium (y) і на Prestige 24i (x) з використанням 101 зразка дало наступні результати:
y = 1.0432 x – 7.6087 Од/л;
R = 0.9945 (R – коефіцієнт кореляції)

УТИЛІЗАЦІЯ ВІДХОДІВ

Відповідно до вимог місцевого законодавства.

ВИРОБНИК

ПЗ КОРМЕЙ С.А.
вул. Віосенна, 22
05-092 м. Ломянкі, Польща
тел.: +48 (0) 81 749 44 00
факс: +48 (0) 81 749 44 34
http://www.cormay.pl

УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

Перекладач Тетяна Зеленська