

Liquick Cor-HBDH



ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ α - ГИДРОКСИБУТИРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Название набора	Номер кат.
Liquick Cor-HBDH mini	1-297
Liquick Cor-HBDH 30	1-241

ВВЕДЕНИЕ

Лактатдегидрогеназа является тетрамером, содержащим два возможных типа субъединиц: X и M. Одним из пяти изоэнзимов есть α -гидроксибутиратдегидрогеназа (HBDH, LD-1), состоящая из четырех подъединиц X. HBDH находится в основном, в клетках сердечной мышцы, почек и эритроцитах. В нормальной сыворотке в больших количествах встречается энзим LD-2 при меньшем участии LD-1. Возрастание уровня HBDH указывает на пережитый инфаркт либо гемолиз.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Кинетический метод, разработанный с учетом рекомендаций Немецкой Ассоциации Клинической Химии (DGKC).



Скорость изменения поглощения на $\lambda=340$ нм прямо пропорциональна активности HBDH.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

	Liquick Cor- HBDH mini	Liquick Cor- HBDH 30
1-HBDH	2 x 24 мл	5 x 24 мл
2-HBDH	1 x 12 мл	1 x 30 мл

Реактивы, хранящиеся при температуре 2-8°C сохраняют свою важность до даты срока годности, указанной на упаковке. Реагенты на борту аппарата при температуре 2-10°C стабильны 8 недель. Хранить от загрязнений и света!

Приготовление и прочность рабочего реактива.

Определение можно выполнить используя отдельные реактивы 1-HBDH и 2-HBDH либо реактив рабочий. Для его приготовления осторожно смешать реактивы 1-HBDH и 2-HBDH в отношении 4+1. Избегать образования пены!

Прочность рабочего реактива: 5 дней при 2-8°C
24 часа при 15-25°C

Хранить от света и загрязнений!

Концентрации компонентов в реагентах

фосфатный буфер (pH 7,5)	50 ммоль/л
2- оксобутират	3 ммоль/л
NADH	0,25 ммоль/л

Предупреждения и примечания

- Использовать только для целей диагностических in vitro.
- Реагенты содержат (< 0,1%) азид натрия в качестве консерванта. Избегать контакта с кожей и слизистыми оболочками.
- Реактивы действительны, если коэффициент поглощения рабочего раствора выше 1,000 (измерение относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете $l=1$ см при температуре 25°C).

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр, позволяющий снимать показания при длине волны 340 нм (Hg 334 нм, 365 нм);
- термостат на 25°C либо 37°C;
- общее оборудование лабораторное;

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка.

Не использовать гемолизованные образцы по причине очень высокой активности HBDH в эритроцитах. Не охлаждать и не замораживать образцы.

HBDH нестабильна и активность фермента быстро снижается при хранении образцов. Образцы могут храниться до 6 часов при 15-25°C.

Тем не менее, рекомендуется проводить исследования на свежесобранном биологическом материале!

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Набор предназначен как для мануального определения (методы Sample Start, Reagent Start), так и для определений при помощи автоматических анализаторов. Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов.

Определение мануальное

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

Метод Sample Start

В кювету поместить:

рабочий раствор	1000 мкл
-----------------	----------

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

исследуемый материал	20 мкл (температура 25°C)
	либо 10 мкл (температура 37°C)

Тщательно перемешать, инкубировать в указанной температуре. По истечении 1 минуты определить коэффициент поглощения относительно воздуха или дистиллированной воды. Повторить измерение после очередных 1, 2, 3 минут. Посчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Расчёт результатов

активность HBDH [Ед/л] = $\Delta A/\text{мин.}$ x F

Величина F зависит от длины волны света и выносит:

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

Metoda Reagent Start

Определение можно проводить используя отдельные реактивы 1-HBDH и 2-HBDH.

В кювету поместить:

1-HBDH	1000 мкл
--------	----------

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

исследуемый материал	20 мкл (температура 25°C)
	либо 10 мкл (температура 37°C)

Тщательно перемешать, инкубировать 1-5 минут. Затем добавить:

2-HBDH	250 мкл
--------	---------

Тщательно перемешать и выполнить измерения как в методе Sample Start.

Расчёт результатов

активность HBDH [Ед/л] = $\Delta A/\text{мин.}$ x F

Величина F зависит от длины волны света и выносит:

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

РЕФЕРЕНСНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ^{1,7}

сыворотка	25°C	37°C
взрослые	55 – 140 Ед/л (0,917 – 2,33 мккат/л)	< 182 Ед/л (< 3,04 мккат/л)

Каждой лаборатории рекомендуется разработать собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать контрольные сыворотки CORMAY SERUM HN (Кат.№ 5-172) и CORMAY SERUM HP (Кат.№ 5-173) для каждой серии измерений.

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется использовать CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Кат.№ 5-174, 5-176) или LEVEL 2 (Кат.№ 5-175, 5-177).

Калибровочную кривую следует составлять каждые 8 недель, при каждой смене лота реагента и в случае необходимости, напр. если результаты определения контрольных сывороток не попадают в референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПРЕДЕЛЕНИЙ

Эти метрологические характеристики были получены при использовании автоматического анализатора Biolis 24i Premium. Результаты, полученные на других анализаторах и вручную, могут отличаться.

- **Чувствительность:** 9,2 Ед/л (0,153 мккат/л).
- **Линейность:** до 500 Ед/л (8,33 мккат/л).
Если активность НВДН в исследуемом образце превышает 500 Ед/л, образец необходимо развести в 10 раз 0,9% раствором NaCl и повторить определение. Результат умножить на 10.
- **Специфичность / Интерференции**
Гемоглобин до 2,5 г/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, билирубин до 20 мг/дл и триглицериды в концентрации до 1000 мг/дл не влияют на результаты определений.

Точность

Повторяемость (между сериями) n = 20	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	141,63	2,12	1,50
уровень 2	362,68	4,52	1,25

Воспроизводимость (изо дня в день) n = 80	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	148,94	2,03	1,37
уровень 2	380,33	3,28	0,86

Сравнение метода

Сравнение результатов определения НВДН, произведенных на Biolis 24i Premium (y) и на Prestige 24i (x) с использованием 101 образцов дало следующие результаты:

$$y = 1,0432 x - 7,6087 \text{ Ед/л};$$

$$R = 0,9945 \quad (R - \text{коэффициент корреляции})$$

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Поступать согласно местным требованиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 8, 658-660 (1970).
2. DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 10, 281-291 (1972).
3. Elliot B.A., Wilkinson J.H.: Clin. Sci. 24, 343 (1963).
4. Berry A.J., Lott J.A., Grannis G.F.: Clin. Chem. 19/11, 1255-1258 (1973).
5. Burtis C.A., Ashwood E.R., ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 816-8, (1994).
6. Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 384 (1995).
7. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W.: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej, Volumed, 142-144, 781, (1998).

Дата издания: 04. 2012.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.

Ул. Вёсэна 22,
05-092 Ломянки, ПОЛЬША
тел.: +48 (0) 22 751 79 10
Факс: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.cormay.pl>

04/12/04/12