

# Fluitest® $\alpha$ -HBDH

$\alpha$ -HYDROXYBUTYRATE DEHYDROGENASE



## Order information:

Catalog No.		Contents			
6401	MPR	R1	5 x 20 ml	R2	1 x 25 ml
H6401	Hit I (ILab*)	R1	6 x 20 ml	R2	2 x 13 ml

(\* ) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

## System information:

Hitachi 911/917: ACN 175  
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

## Intended use:

In vitro assay for the quantitative determination of  $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase in human serum and plasma.

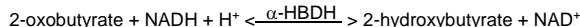
## Summary:

The  $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase ( $\alpha$ -HBDH) or LDH-1 is an isoenzyme of lactate dehydrogenase (LDH) which uses hydroxybutyrate as additional substrate. Compared to other LDH isoenzymes, the  $\alpha$ -HBDH is predominantly found in the myocardium. Therefore  $\alpha$ -HBDH is used in the diagnostic of myocardial infarction. The quotient HBDH/LDH is used in order to differentiate between kidney and myocardial diseases. A decreased quotient indicates a parenchymal kidney disease while an increased quotient is an indication of the severity and progress of a recent myocardial infarction.

This method is an optimised UV-Test recommended by the German Society for Clinical Chemistry (DGKC) in 1972.

## Test principle:

UV-Test according to DGKC



$\alpha$ -HBDH catalyses the conversion of oxobutyrate to hydroxybutyrate. NADH is oxidized to NAD in the process. The rate of decrease in NADH is directly proportional to the  $\alpha$ -HBDH activity and is measured photometrically.

## Reagent Concentration:

<b>R1:</b>	
Phosphate buffer, pH 7.4	60 mmol/l
2-Oxobutyrate	3.8 mmol/l
<b>R2:</b>	
NADH	>1 mmol/l

## Preparation and stability:

Unopened kit components are stable up to the expiry date when stored at +2°C to +8°C. Protect from light.

### Substrate start:

R1: Ready for use

R2: Ready for use

Onboard stability:	R1	28 days
	R2	28 days

### Sample start:

Gently mix 4 parts R1 with 1 part R2 as required. Protect monoreagent from light.

The working reagent is stable:	8 hours	at +15 to +25°C
	5 days	at +2 to +8°C

## Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Serum, heparin- or EDTA-plasma.

Stability:	3 days	at +15 to +25°C
	20 days	at +2 to +8°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

## Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

## Limitations - interference:

Criterion: Recovery within  $\pm 10\%$  of initial value.

Ascorbic acid: No significant interference up to 30 mg/dl.

Icterus: No significant interference up to an index I of 40 (approximate 40 mg/dl bilirubin)

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1000 (approximate 2000 mg/dl triglycerides). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Hemolysis: even small quantities interfere.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

## Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

### Materials provided

• Working solutions as described above

### Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

### Manual procedure for sample start:

Wavelength	340 nm (Hg 334 nm)
Temperature	+37°C
Cuvette	1 cm light path
Zero adjustment	Air or distilled water

Serum/Plasma

Working reagent	1000 $\mu$ l
Sample	10 $\mu$ l

Mix, incubate for 60 sec., read initial absorbance. Start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes. Determine the mean increase of absorbance per minute (dA/min).

### Calculation for sample start:

340 nm	dA/min. x 16030 = Activity (U/l)
Hg 334 nm	dA/min. x 16345 = Activity (U/l)

### Manual procedure for substrate start:

Wavelength	340nm (Hg 334nm)
Temperature	+37°C
Cuvette	1 cm light path
Zero adjustment	Air or distilled water

Serum/Plasma

R1	1000 $\mu$ l
Sample	10 $\mu$ l

Mix and incubate 1 to 5min. Then add:

R2	250 $\mu$ l
----	-------------

Mix, incubate for 60 sec., read initial absorbance. Start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes. Determine the mean increase of absorbance per minute (dA/min).

### Calculation for substrate start:

340 nm	dA/min. x 20000 = Activity (U/l)
Hg 334 nm	dA/min. x 20390 = Activity (U/l)

## Measuring /reportable range:

Measuring range: up to 1200 U/l

Determine samples having higher activities via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute such samples using 0.9% NaCl or distilled/deionised water (e.g. 1 + 9). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 10)

## Expected values:

Adults: 72-182 U/l at 37°C

Quotient HBDH/LDH 0.63-0.81

A damage occurs at:

Myocardial lesion	HBDH/LDH	> 0.9
Kidney disease	HBDH/LDH	< 0.6

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes,  $\alpha$ -HBDH results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

## Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 3 U/l

The lower detection limit represents the lowest measurable  $\alpha$ -HBDH activity that can be distinguished from zero.

# Fluitest® $\alpha$ -HBDH

$\alpha$ -HYDROXYBUTYRATE DEHYDROGENASE



## **Imprecision:**

### **Serum**

Reproducibility was determined using controls and the following results were obtained (n=20):

Sample	With in run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	100	2.21	2.20
Sample 2	174	2.97	1.71
Sample 3	388	4.20	1.08

Sample	Run to run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	97.8	2.20	2.25
Sample 2	177	2.01	1.14
Sample 3	386	6.96	1.80

## **Method comparison:**

A comparison of the Analyticon Fluitest  $\alpha$ -HBDH (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result (U/l):

$$y = 1.00x - 1.00; \quad r = 0.999$$

## **Quality control:**

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

## **Calibration:**

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E                      10 x 3 ml                      #1430

## **Calibration frequency:**

Two-point calibration is recommended:

- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

## **Disposal:**

Please note the legal regulations.

## **Literature:**

1. Greiling H, Gressner AM et al. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York, Schattauer Verlag 1995
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology, Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of clinical Chemistry 3<sup>rd</sup> ed, Philadelphia, WB Saunders Company 1999 p.617-721.
3. Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4<sup>th</sup> ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.
4. Elliot, BA. The serum hydroxybutyrate dehydrogenase in diseases other than myocardial infarction. Clin Sci 1963;24:343-55.

### Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
6401 MPR	R1 5 x 20 ml R2 1 x 25 ml
H6401 Hit I (ILab*)	R1 6 x 20 ml R2 2 x 13 ml

(\* ) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

### Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 175  
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

### Anwendungszweck:

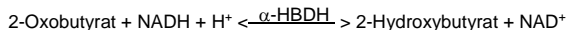
In Vitro Test zur quantitativen Bestimmung von  $\alpha$ -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase in Humanserum und -plasma.

### Zusammenfassung:

$\alpha$ -Hydroxybutyratdehydrogenase ( $\alpha$ -HBDH) ist ein Isoenzym der Lactatdehydrogenase (LDH), das Hydroxybutyrat als zusätzliches Substrat verwendet. Im Vergleich zu anderen LDH-Isoenzymen liegt es in höheren Konzentrationen im Herzmuskelgewebe vor und ist daher etwas sensitiver und spezifischer für die Diagnostik eines Myokardinfarkts. Zur Unterscheidung zwischen Leber- und Herzerkrankungen kann der HBDH/LDH-Quotient berechnet werden. Ein erniedrigter HBDH/LDH-Quotient deutet auf einen parenchymalen Leberschaden hin, während ein erhöhter Quotient im Falle eines Myokardinfarkts gemessen werden kann. Der vorliegende Test ist ein optimierter UV-Test nach DGKC (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie)

### Testprinzip:

UV-Test nach DGKC



Die  $\alpha$ -HBDH katalysiert die Umwandlung von Oxobutyrat zu Hydroxybutarat. Dabei wird NADH zu NAD oxidiert. Die Geschwindigkeit der NAD-Bildung ist direkt proportional zur katalytischen  $\alpha$ -HBDH-Aktivität und wird photometrisch gemessen.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

<b>R1:</b>	
Phosphatpuffer, pH 7,4	60 mmol/l
2-Oxobutyrat	3,8 mmol/l
<b>R2:</b>	
NADH	>1 mmol/l

### Herstellung und Haltbarkeit:

Bis zum aufgedruckten Verfallsdatum bei +2°C bis +8°C haltbar. Vor Licht schützen.

#### Substratstart:

R1: Gebrauchsfertig	
R2: Gebrauchsfertig	
Onboard Stabilität:	
R1	28 Tage
R2	28 Tage

#### Probenstart:

1 Teil R2 wird mit 4 Teilen R1 gemischt. Arbeitsreagenz vor Licht schützen.
Stabilität:
8 Stunden bei +15°C bis +25°C
5 Tage bei +2°C bis + 8°C

### Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.  
Serum, Heparin oder EDTA Plasma.  
Haltbarkeit: 3 Tage bei 15-25°C  
20 Tage bei 2-8°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum.  
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.  
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung  $\pm$  10% vom Ausgangswert.  
Ascorbinsäure: keine wesentliche Beeinflussung bis 30mg/dl.  
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 40 (ca. 40 mg/dl Bilirubin).  
Lipämie (Intralipid): keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1000 (ca. 2000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.  
Hämolyse: schon kleinste Mengen stören.  
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

### Testverfahren:

Anwendungen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

#### Delieferte Materialien

• Reagenzien wie vorher angegeben.

#### Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.  
• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

### Manuelle Testdurchführung für Probenstart:

Wellenlänge	340nm (Hg 334nm)
Temperatur	+37°C
Schichtdicke	1 cm
Messung	Luft oder Aqua dest.

Serum/Plasma

Arbeitsreagenz	1000 $\mu$ l
Probe	10 $\mu$ l

Mischen, nach 60 Sek. Extinktion ablesen. Gleichzeitig Stoppuhr starten. Nach genau 1, 2 und 3 Min. Ablesung wiederholen. Hieraus den Mittelwert der Extinktionen ermitteln ( $\Delta E/\text{min}$ ).

### Berechnung für Probenstart:

340 nm	dE/min. x 16030 = Aktivität (U/l)
Hg 334 nm	dE/min. x 16345 = Aktivität (U/l)

### Manuelle Testdurchführung für Substratstart:

Wellenlänge	340nm (Hg 334nm)
Temperatur	+37°C
Schichtdicke	1 cm
Messung	Luft oder Aqua dest.

Serum/Plasma

R1	1000 $\mu$ l
Probe	10 $\mu$ l

Mischen. 1-5min inkubieren. Dann zufügen:

R2	250 $\mu$ l
----	-------------

Mischen, nach 60 Sek. Extinktion ablesen. Gleichzeitig Stoppuhr starten. Nach genau 1, 2 und 3 Min. Ablesung wiederholen. Hieraus den Mittelwert der Extinktionen ermitteln ( $\Delta E/\text{min}$ ).

### Berechnung für Substratstart:

340 nm	dE/min. x 20000 = Aktivität (U/l)
Hg 334 nm	dE/min. x 20390 = Aktivität (U/l)

### Messbereich:

Messbereich: bis 1200 U/l

Proben mit höheren Aktivitäten werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden Proben mit höheren Aktivitäten manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) oder dest. bzw. entionisiertem Wasser verdünnt (z.B. 1 + 9). Das Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z.B. Faktor 10).

### Referenzbereich:

Erwachsene:	72-182U/l bei 37°C
Quotient HBDH/LDH	0,63-0,81
Eine Schädigung liegt vor bei:	
Myokardläsion	HBDH/LDH > 0,9
Leberschaden	HBDH/LDH < 0,6

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die  $\alpha$ -HBDH-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

3 U/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren  $\alpha$ -HBDH-Aktivität, die von Null unterschieden werden kann.

# Fluitest® $\alpha$ -HBDH

$\alpha$ -HYDROXYBUTYRAT- DEHYDROGENASE



## Impräzision:

### Serum

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse (n=20):

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Kontrollserum 1	100	2,21	2,20
Kontrollserum 2	174	2,97	1,71
Kontrollserum 3	388	4,20	1,08

Probe	Tag zu Tag		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Kontrollserum 1	97,8	2,20	2,25
Kontrollserum 2	177	2,01	1,14
Kontrollserum 3	386	6,96	1,80

## Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest®  $\alpha$ -HBDH (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (U/l):

$$y = 1,00 x - 1,00 ; r = 0,999$$

## Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, daß Werte außerhalb des Bereichs liegen.

## Kalibration:

S1: NaCl (0,9%)

S2: Bio Cal® E                      10 x 3 ml                      #1430

## Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- Bei Reagenzflaschenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

## Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

## Literatur:

1. Greiling H, Gressner AM et al. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York, Schattauer Verlag 1995
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology, Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of clinical Chemistry 3<sup>rd</sup> ed, Philadelphia, WB Saunders Company 1999 p.617-721.
3. Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4<sup>th</sup> ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.
4. Elliot, BA. The serum hydroxybutyrate dehydrogenase in diseases other than myocardial infarction. Clin Sci 1963;24:343-55.