



GHB Enzymatic Assay

Durchführung

KK-GHB

A Commitment to Diagnostics

Präanalytik

Probenvolumen: ~8 µl Urin, Serum

Probenlagerung: Urine, Serum: Bei 2-8 °C bis zu 2 Wochen; bei -20°C für eine längere Lagerung

Benötigte Geräte

Offener klinisch-chemischer Analyser mit einem optischen Filter bei 340 nm und Inkubationskammer bei 37°C.

Testreagenzien

Reagenzien	KK-GHB	Auflösen mit
Inkubationspuffer	1 x 12 mL	gebrauchsfertig
Cofaktor	1 x lyoph.	5.6 ml DMH ₂ O
Enzym	2 x lyoph.	4.2 ml DM H ₂ O, nicht vortexen
Kalibratoren (10, 100 mg/L)	2 x lyoph.	2 ml DM H ₂ O
Kontrollen low/high (lotspezifisch, ca. 15/75 mg/L)	2 x lyoph.	2 ml DM H ₂ O

Automatisiertes Assayprotokoll

Der enzymatische GHB Test von BÜHLMANN wird auf offenen klinisch-chemischen Analysern mit spezifischen Protokollen abgearbeitet wird, die bei Bedarf zur Verfügung gestellt werden.

Die lyophilisierten Reagenzien werden 15 Min. vor Gebrauch aufgelöst.

Testablauf für Konelab 30

100 µl Inkubationspuffer (R1)

+ 8 µl Probe (S)

+ 7 µl DM H₂O

+ 50 µl Cofaktor (R2)

1.5-2 Min. Inkubation bei 37°C

+85 µl Substrat (R3)

1. Messung bei 340 nm (M1)

Inkubation für 5-6 Min. bei 37°C

2. Messung bei 340 nm (M2)

Kalibrierung des Automaten

Die Standardkurve wird mit 2 Kalibratoren mit linearer Regression erstellt. Die Extinktion wird mit Endpoint Mode bei 340 nm bestimmt.

Validierte Anwendungen

Siemens Viva E (Selectra E)
Siemens Advia 1800
Beckman AU400/640 (offline sample dilution required)
Beckman AU680
Roche Cobas Mira
Roche Cobas 6000
Roche Hitachi 912
Thermo Konelab T-series

Onboard Stabilität

Das Enzym kann bei Temperaturen bis zu 15 °C zwei Monate lang gelagert werden.

Interferenzen

Mögliche Interferenzen wurden auf dem Thermo Konelab 30 ermittelt.

Medikamente und Drogen: Gängige Medikamente und Drogen wurden mit Hilfe kommerzieller Drogen-Kontrollen (Randox, Drugs of Abuse Level 2 und Therapeutic Drugs Level 2 und 3) getestet. Es wurden keine Interferenzen festgestellt. Details sind in der Arbeitsanleitung aufgeführt.

Ethanol: 1 g/L Ethanol erhöht den GHB Wert um 3 mg/L. Bis zu 3‰ ist die gemessene GHB Konzentration unter 10 mg/L.

Serum Indices: Keine Interferenzen liegen vor bis zu den angegebenen Konzentrationen: Intralipid® 275 mg/dL; entsprechend 7.7 mmol/L Triglyzeride), konjugiertes Bilirubin (360 µmol/L; 30 mg/dL), unkonjugiertes Bilirubin (513 µmol/L; 30 mg/dL) oder Hämoglobin (3.1 mmol/L; 500 mg/dL) auf dem Konelab 30.



GHB Enzymatic Assay

Charakteristika

KK-GHB

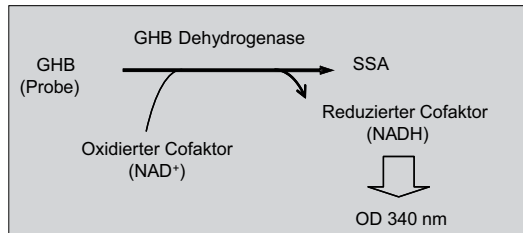
A Commitment to Diagnostics

Verwendungszweck

Zur in vitro Diagnostik. Direkte und quantitative Bestimmung von Gamma-Hydroxy-Buttersäure (GHB) in Urin und Serum mittels enzymatischem Test.

Testprinzip

GHB wird durch eine rekombinante, GHB-spezifische Dehydrogenase metabolisiert, wobei oxidiertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD⁺) als Cofaktor zu NADH reduziert, das bei 340 nm gemessen wird. Die Menge ist direkt proportional zur GHB-Konzentration der Probe.



Konversion von GBL zu GHB

Da GBL, ein GHB Metabolit, im Körper in den aktiven Metaboliten GHB umgewandelt wird, wird es oft selbst als Droge konsumiert. Wenn erforderlich kann eine Konversion von GBL nach GHB durch eine basische Probenvorbehandlung erreicht werden:

- 25 µL 2 N NaOH zu 1000 µL Urin zugeben (Endkonzentration: 50 mM NaOH) und vortexen. Danach können die Proben direkt gemessen werden.

Testcharakteristika

ermittelt auf Konelab 30:

Messbereich (Linearer Bereich) 5 - 230 mg/L

Analytische Sensitivität: LoB <1.0 mg/L
LoD 1.5 mg/L

Funktionelle Sensitivität: LoQ

Urin: 5.0 mg/L

Serum: <5.0 mg/L

Total Präzision Serum und Urin: <10 % CV

Repeatability Serum und Urin: <5 % CV

Between day Präzision Serum und Urin: <5 % CV

Between run Präzision Serum und Urin: <10 % CV

Wiederfindung

Urin 95 - 107 %
Serum 106 - 113 %

Enzymspezifität

Gamma-Butyrolakton (GBL): 4 %
Andere GHB-Analoga oder Vorstufen: «0.1 %
(GHV, GVL, 1,4-BD, BHB (R,S,R/S), AHB (R,S,R/S), Bernsteinsäure)

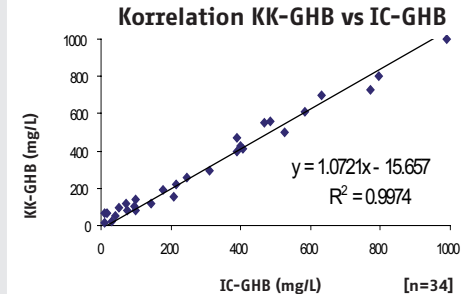
Referenzbereich

Der Referenzbereich wurde ermittelt an Hand eines Kollektivs von Spendern, die kein GHB konsumiert hatten.

	Urin	Serum
n	46	65
Median (mg/L)	<1.5	<1.5
97.5. Perzentile (mg/L)	3.1	6.1

Korrelation zu Referenzmethoden

Es wurde eine hohe Korrelation zur ionischen Chromatographie (IC) und zur LC-MS/MS gezeigt.



Bestellcode:

KK-GHB

CE-marked product



BÜHLMANN Laboratories AG
Germany / Switzerland
info@buhlmannlabs.ch
www.buhlmannlabs.ch
Phone +41 61 487 12 12

BÜHLMANN in Austria GmbH
Austria
info@buhlmannlabs.at
www.buhlmannlabs.at
Phone +43 662 64 01 05