β-羟丁酸（β-HB）含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYFC3-M48	β-羟丁酸（β-HB）含量检测试剂盒	48T	微量法
AYFC3-M96		96T	微量法

一、 测定意义：

β-羟丁酸是酮体的主要成分，其测定在临床中具有重要意义，尤其在糖尿病酮症酸中毒（DKA）的早期诊断和病情监测中发挥关键作用。

二、 测定原理：

β-羟丁酸在 β-羟丁酸脱氢酶的催化下脱氢生成乙酰乙酸。而辅酶I则被还原成为还原型辅酶I。生成的还原型辅酶I和 INT 在黄递酶的催化下生成 formazane(红色)，据此可在 505nm 波长处测定吸光度的变化可计算出样本 β-羟丁酸的含量。

三、 试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一 A	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一 B	液体 1mL×1 瓶	液体 2mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一：试剂一 A 和试剂二 B 按照 9:1 比例混合，现用现配。			
试剂二	液体 6mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 0.2mL×1 瓶	液体 0.2mL×1 瓶	2-8℃保存

四、 操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm。

2、样本测定（96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂（μL）	空白管	标准管	测定管
上清液	-	-	5
标准管	-	5	-

蒸馏水	5	-	-
试剂一	150	150	150
混匀，置 37℃孵育 5 分钟后，于 546nm 波长处读取吸光度 $A1_{空白}$、$A1_{标准}$和 $A1_{测定}$。计算$\triangle A1_{测定}=A1_{测定}-A1_{空白}$，$\triangle A1_{标准}=A1_{标准}-A1_{空白}$。			
试剂二	50	50	50
混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱反应 5min 后，于 505nm 波长处读取吸光度 A，分别记为 $A2_{空白}$、$A2_{标准}$和 $A2_{测定}$，计算$\triangle A2_{测定}=A2_{测定}-A2_{空白}$，$\triangle A2_{标准}=A2_{标准}-A2_{空白}$。$\triangle A_{测定}=\triangle A2_{测定}-\triangle A1_{测定}$，$\triangle A_{标准}=\triangle A2_{标准}-\triangle A1_{标准}$。(空白管和标准管只需测 1-2 次)。			

五、 β-羟丁酸含量测定：

1、按样本蛋白浓度计算

β-HB(μmol/mg prot)= $C_{标准}\times\Delta A_{测定}\div\triangle A_{标准}\div Cpr$

2、按样本质量计算

β-HB(μmol/g) = $C_{标准}\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}\div W\times V_{样总}$

3、血清（浆）等液体计算

β-HB(μmol/mL) = $C_{标准}\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准}$

$C_{标准}$:标准管浓度;

$V_{样总}$:提取液体积，1mL;

Cpr:样本蛋白质浓度，mg/mL;

W:样本质量，g;