

Total Bile Acids

Enzymatic - Colorimetric

Quantitative determination of Total Bile Acids IVD

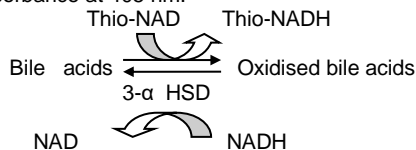
Store at 2-8°C

INTENDED USE

For the quantitative determination *in vitro* of Total Bile Acids in serum and plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD^{1,2}

In the presence of Thio-NAD, the enzyme 3- α hydroxysteroid dehydrogenase (3- α HSD) converts bile acids to 3-keto steroids and Thio-NADH. The reaction is reversible and 3- α HSD can convert 3-keto steroids and Thio-NADH to bile acids and Thio-NAD. In the presence of excess NADH, the enzyme cycling occurs efficiently and the rate of formation of Thio-NADH is determined by measuring specific change of absorbance at 405 nm.



CLINICAL SIGNIFICANCE

Fasting serum bile acids can be used in the diagnosis and prognosis of liver disease. Levels rise in many liver diseases, for example hepatitis and liver sclerosis. Abnormal levels in fasting patients or immediately after a meal can be used to detect liver disease and damage, impaired liver function, intestinal dysfunction and perhaps a gall bladder blockage. Bile acid measurement may detect some forms of liver disease earlier than standard liver tests because bile acids levels correspond to liver function, rather than liver damage. In veterinary medicine, bile acid measurement is considered to be a superior indicator of liver disease.

REAGENTS

R 1	Goods buffer	
	Thio-NAD	1,0 g/L
	Sodium azide	0,05 % (w/v)
R2	Goods buffer	
	NADH	6,0 g/L
	3- α HSD	12 KU/L
	Sodium azide	0,05 % (w/v)
	Stabilizers	
OPTIONAL	TBA CAL	REF: 1002290

PRECAUTIONS

R1 and R2 contain Sodium azide. Avoid ingestion or contact with skin or mucous membranes. In case of skin contact, flush affected area with copious amounts of water. In case of contact with eyes or if ingested, seek immediate medical attention. See MSDS for disposal of the product.

PREPARATION

Reagents are ready for use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Stability: Once opened R1 and R2 are stable for 28 days at 2-8°C.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum, EDTA / Lithium heparin plasma. Serum or plasma samples are stable for 1 week at 2-8°C, or at 3 months at -20°C.

PROCEDURE

1. Assay conditions:
 Wavelength:405nm
 Cuvette:1 cm light path
 Constant temperature37°C / 15-25°C
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette:

	Calibrator	Sample
R1	750 μ L	750 μ L
R2	250 μ L	250 μ L
Standard	10 μ L	----
Sample	----	10 μ L

4. Mix and read the absorbance after 60 s (A_1) and 120 s (A_2).
5. Calculate: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CALCULATIONS

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Sample}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrator}}} \times \text{Calibrator conc} = \mu\text{mol/L bile acid in the sample}$$

QUALITY CONTROL

Control Sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: TBA / CO₂ Control Ref. 1002292.

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagent and calibration for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Human Serum (fasting) 0 - 10 μ mol/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 1,47 μ mol/L to *linearity limit* of 150 μ mol/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/5 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 5.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (μ mol/L)	SD	CV (%)	
Mean (μ mol/L)	26,8	42,9	24,9	40,6
SD	0,66	1,08	0,47	0,87
CV (%)	2,48	2,52	1,92	2,14

Sensibilidad analítica: 1 μ mol/L = 0,0010784 (A)

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r^2): 0,987.

Regression equation: $y = 0,9755x - 0,17307$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

The following analytes were tested up to the levels indicated and were found not to interfere: Haemoglobin (250 mg/dL), Triglycerides (1000 mg/dL), Intralipid (800 mg/dL) and Bilirubin (85 mg/dL).

NOTES

1. The reagent should not be used if exposed to temperatures above 25°C for greater than 8 hours, as the accuracy of the assay will be affected.
2. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

1. Komiya, Youichi. , Adachi, Tetsuo, Ito, Yoshimasa, Hikano, Kazuyuki. , Sugiura, Mamoru. , Sawaki, Siiunji. Microassay Of Serum Bile Acids By An Enzymatic Cycling Method, Chem Pharm Bull (Toyko) 30: 3796 -3797 (1982).
2. Agape, V., Russo, P., Xaiz, L., Calmi, S., and Grisler, R. Evaluation Of Colorimetric Enzymatic Procedure for Determining The Total Bile Acids In the Blood. Minerva Dietol Gastroenterol. Jul-Sep: 35 (3): 159 – 164 (1989).

PACKAGING

Ref: 1001030

Cont.

R1:1 x 50 mL, R2:1 x 18 mL

Ácidos Biliares Totales

Enzimático - Colorimétrico

Determinación cuantitativa de los Ácidos Biliares Totales IVD

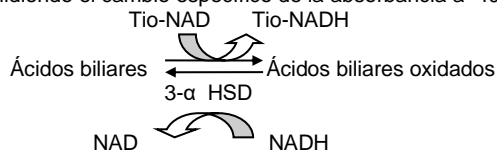
Conservar a 2-8°C

USO PREVISTO

 Para la determinación cuantitativa *in vitro* de los Ácidos Biliares Totales en suero y plasma.

PRINCIPIO DEL MÉTODO^{1,2}

En presencia de Tio-NAD, la enzima 3- α hidroxisteroide dehidrogenasa (3- α HSD) convierte los ácidos biliares en 3-ceto esteroides y Tio-NADH. La reacción es reversible y 3- α HSD se puede convertir en 3-ceto esteroides y Tio-NADH a ácidos biliares y Tio-NAD. En presencia de exceso de NADH, el ciclo enzimático tiene lugar de forma efectiva y la tasa de formación de Tio-NADH se determina midiendo el cambio específico de la absorbancia a 405 nm.



SIGNIFICADO CLÍNICO

El análisis de Ácidos Biliares se puede utilizar para el diagnóstico y pronóstico de enfermedad hepática. Los niveles aumentan en muchas enfermedades hepáticas, como por ejemplo hepatitis o esclerosis hepática. Niveles anormales en pacientes en ayunas o inmediatamente después de ingerir una comida, pueden ser indicadores de enfermedad y daño hepático, deficiencia de la función hepática, disfunción intestinal y tal vez un bloqueo de la vesícula biliar. El análisis de Ácidos Biliares puede detectar algunas formas de enfermedad hepática antes que las pruebas normales del hígado, porque los niveles de Ácidos Biliares corresponden a la función hepática, en lugar de al daño hepático. En medicina veterinaria, el análisis de Ácidos Biliares se considera el mejor indicador de enfermedad hepática.

REACTIVOS

R 1	Tampón de Good	
	Tio-NAD	1,0 g/L
	Azida de sodio	0,05% (w/v)
R2	Tampón de Good	
	NADH	6,0 g/L
	3- α HSD	12 KU/L
	Azida de sodio	0,05 % (w/v)
	Estabilizadores	
OPCIONAL	TBA CAL	Ref. 1002290

PRECAUCIONES

R1 y R2 contienen Azida de Sodio. Evitar la ingestión o el contacto con la piel o membranas mucosas. En caso de contacto con la piel, limpiar la zona afectada con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o ingestión, acudir inmediatamente al médico. Ver MSDS para disposición del producto

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación durante el uso.

No utilice reactivos fuera de la fecha indicada.

Estabilidad: Una vez abierto R1 y R2 son estables 28 días a 2-8°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o colorímetro para mediciones a 405 nm.
- Cubetas de paso de luz de 1,0 cm.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero, EDTA / plasma litio heparina. Las muestras de suero o plasma son estables durante 1 semana a 2-8°C, o 3 meses a -20°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda (principal/sub): 405 nm

Cubeta: paso de luz de 1 cm

Temperatura constante 37°C / 15-25°C

2. Regular el instrumento a cero con agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Calibrador	Muestra
R1	750 μ L	750 μ L
R2	250 μ L	250 μ L
Patrón	10 μ L	----
Muestra	----	10 μ L

 4. Mezclar y leer la absorbancia después de 60 s (A_1) y 120 s (A_2).

 5. Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

 $(\Delta A)_{\text{Muestra}} \times \text{Calibrador conc} = \mu\text{mol/L ácido biliar en la muestra}$
 $(\Delta A)_{\text{Calibrador}}$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras control valorados: TBA / CO₂ Control Ref. 1002292.

Si los valores de control están fuera del rango definido, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio deberá disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

 Suero humano (en ayunas) 0 - 10 μ mol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 1,47 μ mol/L hasta el límite de linealidad 150 μ mol/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/5 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado por 5.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	Media (μ mol/L)	SD	Media (μ mol/L)	SD
Media (μ mol/L)	26,8	42,9	24,9	40,6
SD	0,66	1,08	0,47	0,87
CV (%)	2,48	2,52	1,92	2,14

Sensitivity: 1 μ mol/L = 0,0010784 (A)

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). El ensayo con 50 muestras dio los siguientes resultados: Coeficiente de correlación (r)²: 0,987.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9755x - 0,17307$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los ensayos se probaron hasta los niveles indicados y no se encontró interferencia: Hemoglobina (250 mg/dL), Triglicéridos (1000 mg/dL), Intralípido (800 mg/dL) y Bilirrubina (85 mg/dL).

NOTAS

- Los reactivos no se deben utilizar si han estado expuestos a temperaturas superiores a 25°C durante 8 horas, ya que afecta a la exactitud del ensayo.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Komiyama, Youichi. , Adachi, Tetsuo, Ito, Yoshimasa, Hikano, Kazuyuki. , Sugiura, Mamoru. , Sawaki, Siunji. Microassay Of Serum Bile Acids By An Enzymatic Cycling Method, Chem Pharm Bull (Toyko) 30: 3796 -3797 (1982).
- Agape, V., Russo, P., Xaiz, L., Calmi, S. , and Grisler, R. Evaluation Of Colorimetric Enzymatic Procedure for Determining The Total Bile Acids In the Blood. Minerva Dietol Gastroenterol. Jul-Sep: 35 (3): 159 - 164 (1989).

PRESENTACIÓN

Ref: 1001030

Cont.

R1: 1 x 50 mL, R2: 1 x 18 mL

Determinação quantitativa dos Ácidos Biliares Totais IVD

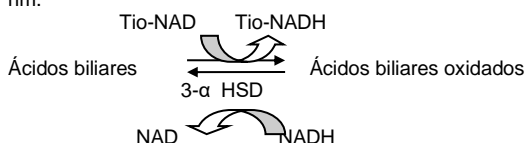
Conservar a 2 – 8 °C

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Para a determinação quantitativa *in vitro* dos Ácidos Biliares Totais no soro e plasma.

PRINCÍPIO DO MÉTODO^{1,2}

Na presença de Tio-NAD, a enzima 3- α hidroxisteroide desidrogenase (3- α HSD) converte os ácidos biliares em 3-ceto esteróides e Tio-NADH. A reação é reversível e a 3- α HSD pode converter 3-ceto esteróides e Tio-NADH em ácidos biliares e Tio-NAD. Na presença de excesso de NADH, o ciclo enzimático ocorre de forma efetiva e a taxa de formação de Tio-NADH é determinada medindo a alteração específica na absorvância a 405 nm.



SIGNIFICADO CLÍNICO

A análise de Ácidos Biliares pode ser utilizada para o diagnóstico e prognóstico de doença hepática. Os níveis aumentam em muitas doenças hepáticas, como por exemplo na hepatite ou esclerose hepática. Níveis anormais em doentes em jejum ou imediatamente após ingerirem um alimento, podem ser indicadores de doença e dano hepático, deficiência da função hepática, disfunção intestinal e talvez um bloqueio da vesícula biliar. A análise de Ácidos Biliares pode detetar algumas formas de doença hepática antes das análises normais ao fígado, uma vez que os níveis de Ácidos Biliares correspondem à função hepática, e não ao dano hepático. Na medicina veterinária, a análise de Ácidos Biliares é considerada o melhor indicador de doença hepática.

REAGENTES

R 1	Tampão de Good	
	Tio-NAD	1,0 g/L
	Azida sódica	0,05 % (w/v)
R 2	Tampão de Good	
	NADH	6,0 g/L
	3- α HSD	12 KU/L
	Azida sódica	0,05 % (w/v)
	Estabilizadores	

PRECAUÇÕES

R1 e R2 contêm Azida Sódica. Evitar a ingestão ou o contacto com a pele ou membranas mucosas. Em caso de contacto com a pele, limpar a zona afetada com água abundante. Em caso de contacto com os olhos ou ingestão, procure assistência médica imediatamente. Ver a MSDS para eliminação do produto

CALIBRAÇÃO

Recomenda-se que o ensaio seja calibrado utilizando o Calibrador Ácidos Biliares Totais ref. 1002290. Recomenda-se realizar a calibração diariamente.

PREPARAÇÃO

Os reagentes estão prontos a utilizar.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada. Estabilidade: Uma vez abertos, R1 e R2 são estáveis durante 28 dias a 2 – 8 °C.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou colorímetro para medições a 405 nm.
- Cuvetes de 1,0 cm caminho de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro, EDTA / plasma lítio heparina. As amostras de soro ou plasma são estáveis durante 1 semana a 2 – 8 °C, ou durante 3 meses a -20 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda (principal/sub): 405 nm
Cuvete: caminho de luz de 1 cm
Temperatura constante : 37 °C / 15 - 25 °C
- Ajustar o instrumento a zero com água destilada.
- Pipetar numa cuvete:

	Padrão	Amostra
R1	750 μ L	750 μ L
R2	250 μ L	250 μ L
Padrão	10 μ L	----
Amostra	----	10 μ L

- Misturar e ler a absorvância após 60 s (A₁) e 120 s (A₂).
- Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

$(\Delta A)_{\text{Amostra}} \times \text{Conc calibrador} = \mu\text{mol/L ácido biliar na amostra}$
 $(\Delta A)_{\text{Calibrador}}$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soros controlo avaliados: TBA / CO₂ Control Ref. 1002292.

Se os valores do controlo estiverem fora do intervalo definido, deve-se rever o instrumento, os reagentes e a técnica.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro humano (em jejum) : 0 - 10 μ mol/L

Estes valores são indicativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Do *limite de deteção* de 1,47 μ mol/L até ao *limite de linearidade* de 150 μ mol/L.

Se os resultados obtidos forem superiores ao limite de linearidade, diluir a amostra 1/5 com água destilada e multiplicar o resultado por 5.

Precisão:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	Média (μ mol/L)	SD	24,9	40,6
Média (μ mol/L)	26,8	42,9	0,47	0,87
SD	0,66	1,08	1,92	2,14
CV (%)	2,48	2,52		

Sensibilidade analítica: 1 μ mol/L = 0,0010784 (A)

Exactitude: Os resultados obtidos utilizando reagentes SPINREACT não demonstraram diferenças sistemáticas quando comparados com outros reagentes comerciais.

Coficiente regressão: (r)²: 0,987.

Equação de regressão: y = 0,9755x - 0,17307.

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Os ensaios foram testado até aos níveis indicados e não se observaram interferências: hemoglobina (250 mg/dL), triglicérideos (1000 mg/dL), intralípido (800 mg/dL) e bilirrubina (85 mg/dL).

NOTAS

- Os reagentes não devem ser utilizados caso tenham estado expostos a temperaturas superiores a 25 °C durante 8 horas, uma vez que tal afeta a exatidão do ensaio.
- A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Komiya, Youichi. , Adachi, Tetsuo, Ito, Yoshimasa, Hikano, Kazuyuki. , Sugiura, Mamoru. , Sawaki, Siunji. Microassay Of Serum Bile Acids By An Enzymatic Cycling Method, Chem Pharm Bull (Toyko) 30: 3796 -3797 (1982).
- Agape, V., Russo, P., Xaiz, L., Calmi, S. , and Grisler, R. Evaluation Of Colorimetric Enzymatic Procedure for Determining The Total Bile Acids In the Blood. Minerva DietolGastroenterol. Jul-Sep: 35 (3): 159 – 164 (1989).

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001030

Cont.

R1:1 x 50 mL, R2:1 x 18 mL