

Total Bile Acids Assay Kit

Obsah balení

Reagencie Diazyme Total Bile Acids jsou dodávány velkoobchodně, nebo v těchto soupravách:

Přístroj	Katalogové č.	Složení soupravy
Universal	DZ042A-K	R1: 2 x 60 ml R2: 2 x 20 ml Cal: 1 x 2 ml
Half Kit	DZ042A-K01	R1: 2 x 30 ml R2: 2 x 10 ml Cal: 1 x 5 ml
Beckman CX/LX	DZ042A-KB1	R1: 2 x 60 ml R2: 2 x 20 ml Cal: DZ042A-CAL*
Olympus AU400	DZ042A-KY1	
Hitachi 917	DZ042A-KH1	

* Poznámka: Kalibrátory jsou dodávány samostatně

Použití

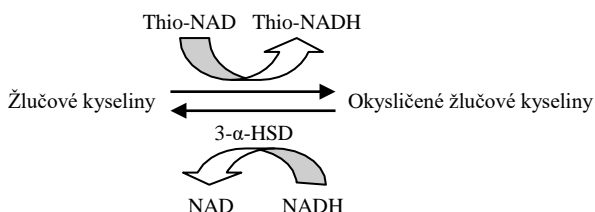
Souprava „Diazyme Total Bile Acids Assay Kit“ je určena pro *in vitro* kvantitativní stanovení celkové koncentraci žlučových kyselin (TBA) ve vzorcích lidského séra. Žlučové kyseliny jsou metabolizovány v játrech a slouží jako marker normální a abnormální funkce jater. Celkové množství žlučových kyselin v séru se zvyšuje u pacientů s onemocněním jater.

Klinický přínos^{1,2}

Žlučové kyseliny jsou metabolizovány v játrech, a tudíž slouží jako marker normální funkce jater. Celková koncentrace žlučových kyselin v séru se zvyšuje u pacientů trpících akutní hepatitidou, chronickou hepatitidou, sklerózou jater a rakovinou jater.

Princip testu

Reagencie testovací soupravy jsou ve stabilním kapalném složení, které umožňuje jejich snadné použití spolu s lepšími výkonnostními charakteristikami. V přítomnosti Thio-NAD enzym 3- α -hydroxysteroid dehydrogenáza (3- α -HSD) přeměňuje žlučové kyseliny na 3-ketosteroidy a Thio-NADH. Tato reakce je reverzibilní a 3- α -HSD může přeměňovat 3-ketosteroidy a Thio-NADH na žlučové kyseliny a Thio-NAD. V přítomnosti nadbytku NADH dochází k účinnému koloběhu enzymu a stupeň tvorby Thio-NADH se stanoví měřením konkrétní změny absorbance při 405 nm.



Potřebné vybavení, které není součástí kitu

Analyzátor umožňující dávkování dvou reagiencí, měření absorbance při 405 nm a tepelnou kontrolu prostředí (37 °C).

Složení reagiencí

Reagencie	Složení
R1	Thio-NAD >0,1 mmol, pufr
R2	3- α -HSD >2kU/l, NADH >0,1 mmol, pufr
Kalibrátor	Konjugované kyseliny cholové, pufr

Příprava reagiencí

Reagencie Diazyme Total Bile Acids jsou dodávány připravené k použití v kapalném stavu. Žluté až žlutohnědé zbarvení reagiencí TBA nemá vliv na provádění testu.

Stabilita a uchování reagiencí

Neotevřené reagencie jsou stabilní až do data expirace vytištěného na štítku. Reagencie jsou citlivé na světlo a měly by být skladovány při teplotě 2-8 °C. Nemíchejte reagencie z různých šarží.

Odběr a nakládání se vzorkem

Použijte čerstvé vzorky pacientova séra. Koncentrace TBA se zvyšuje po jídle. Proto by vzorky měly být odebrány na lačno. Pro test je vhodné použít EDTA plazmu nebo lithium heparinovou plazmu. Vzorky séra nebo plazmy jsou stabilní po dobu jednoho týdne při teplotě 4 °C, nebo po dobu 3 měsíců při teplotě -20 °C.

Vzorky od pacientů, kteří jsou léčeni ursodeoxycholovou kyselinou (UD-CA), nejsou vhodné pro test TBA (DZ042A).

Bezpečnostní opatření

- Určeno pro *in vitro* diagnostické použití.
- Se vzorky a reagiencemi obsahujícími lidský materiál by mělo být nakládáno jako s potenciálně infekčními, s použitím příslušných laboratorních postupů, jako jsou například postupy popsané v „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (HHS Publication Number [CDC] 93-8395).
- Stejně jako u jakéhokoli diagnostického testu by výsledky měly být interpretovány s ohledem na výsledky všech dalších testů a na klinický stav pacienta.
- Vyvarujte se požití a kontaktu reagiencí s pokožkou a sliznicí.

Postup testu

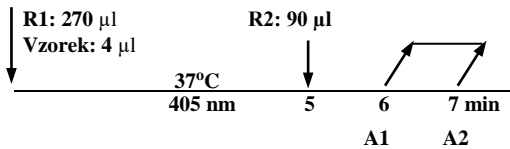
- Napipetujte 270 μ L R1 do kyvety, do které se přidá 4 μ L vzorku, standardu, nebo vody (jako blank).
- Inkubujte při 37 °C po dobu 3 minut a proveďte měření blank (autozero) absorbance při 405 nm.
- Napipetujte 90 μ L R2 do kyvety, promíchejte a okamžitě sledujte absorbanci při 405 nm po dobu 2 minut.
- Vypočítejte $\Delta A_{405}/\text{min}$ pro vzorek, blank a standard odečtením hodnoty O.D. v čase 60 sekund od hodnoty O.D. v čase 120 sekund.
 $\Delta A_{405}/\text{min} = (\text{O.D. v čase 120 s} - \text{O.D. v čase 60 s})$
- Stanovte celkovou koncentraci žlučových kyselin s pomocí následujícího vzorce:

Vzorek (TBA, $\mu\text{mol/L}$) =

$$\frac{\text{Vzorek } \Delta A_{405\text{nm}/\text{min}} - \text{Blank } \Delta A_{405\text{nm}/\text{min}}}{\text{Standard } \Delta A_{405\text{nm}/\text{min}} - \text{Blank } \Delta A_{405\text{nm}/\text{min}}} \times \text{Standard}$$

Jestliže koncentrace žlučových kyselin vzorku přesáhne lineární rozsah (1-180 μmol/L), naředte vzorek před testem 0,9% NaCl.

Průběh testu pro analyzátor chemického složení



Aplikační záznamové listy pro použití Diazyme Total Bile Acids Enzymatic Cycling Assay na automatických klinických analyzátoch chemického složení jsou dostupné na vyžádání. Volejte 858-455-4768 nebo použijte email: support@diazyme.com.

Kalibrace

Kalibrátor žlučových kyselin je součástí balení a spolu s 0,9% fyziologickým roztokem jako nulové reference by měl být používán dle pokynů pro kalibraci testu. Četnost kalibrace se může lišit a závisí na použití přístroje. Pro další informace volejte 858-455-4768 nebo zašlete email na: support@diazyme.com.

Kontrola kvality

Doporučujeme, aby každá laboratoř používala kontrolní materiály žlučových kyselin pro validaci výkonnosti reagensů. Sadu normálních a abnormálních rozsahů koncentrací žlučových kyselin je možné objednat u Diazyme Laboratories (Cat. # DZ042A-Con). Pokud hodnoty získané použitím kontrol přesáhnou přijatelné limity stanovené výrobcem, test by se neměl provádět. Doporučujeme, aby testování kontrol kvality splňovalo požadavky federálních, státních a místních předpisů nebo akreditací.

Výsledky

Koncentrace žlučových kyselin se vyjadřuje v μmol/L (μEq/l).

Referenční rozsah³

0-10 μmol/l žlučových kyselin v séru nebo plazmě je považováno za normální rozsah. Navrhujeme, aby každá laboratoř stanovila rozsah normálních hodnot pro populaci ve svém regionu.

Omezení

- Vzorek s koncentracemi žlučových kyselin přesahujícími limit linearitu by měl být naředěn 0,9% fyziologickým roztokem a měřen opakovaně se zohledněním zředovacího poměru při výpočtu výsledků.
- Vzorky od pacientů, kteří jsou léčeni ursodeoxycholovou kyselinou (UD-CA), nejsou pro vhodné pro test TBA (DZ042A).

Výkonnostní charakteristiky (Hitachi 717)

Tyto výkonnostní charakteristiky byly stanoveny v Diazyme Laboratories pomocí automatizovaných postupů na přístroji Hitachi 717.

Správnost měření

Výsledky dosažené tímto testem byly porovnány s výsledky podobného testu celkových žlučových kyselin na analyzátoru Hitachi 717 s použitím vzorků séra.

Padesát dva (52) vzorků séra o koncentracích 0,47 – 131,25 μmol/l dala korelační koeficient 0,9918. Lineární regrese výsledků poskytla následující rovnici:

$$\text{Tato metoda} = 1,1536 (\text{referenční metoda}) - 0,8567 \mu\text{mol/l}$$

Porovnávací sada vzorků séra a lithium heparinové plazmy v rozsahu 0,14 – 21,18 μmol/L dala koeficient korelace 0,9805. Lineární regrese výsledků poskytla následující rovnici:

$$\text{Lithium heparin} = 0,9972 (\text{sérum}) + 0,1178 \mu\text{mol/l}$$

Studie přesnosti

Přesnost vzhledem k testované sérii (intra-assay precision) a přesnost mezi sériemi (inter-assay precision) byla vyhodnocována u vzorků obsahujících dvě různé úrovně žlučových kyselin (8 μmol a 23 μmol). Přesnost vzhledem k testované sérii byla zkoušena pomocí těchto dvou úrovní vzorků (nízká = 8 μmol a vysoká = 23 μmol) ve 20 bězích. Všechny testy byly prováděny pomocí automatického analyzátoru Hitachi 717. Údaje o přesnosti jsou shrnuty v následující tabulce:

Přesnost vzhledem k testované sérii

	Úroveň 1 (8 μmol)	Úroveň 2 (23 μmol)
Počet replikátů	20	20
Průměr	7,93	23,5
SD	0,31	0,3
CV%	3,9%	1,3%

Přesnost mezi sériemi

	Úroveň 1 (8 μmol)	Úroveň 2 (23 μmol)
Počet replikátů	20	20
Průměr	8,12	23,0
SD	0,24	0,61
CV%	2,9%	2,6%

Linearita

Studie linearity pomocí analyzátoru Hitachi 717 ukázaly, že Diazyme Total Bile Acids Assay má lineární rozsah 0 až 180 μmol.

Interference

Interference pro Diazyme Total Bile Acids Assay byla vyhodnocena na analyzátoru Hitachi 717. Následující substance, které jsou běžně přítomné v séru, vedly k menší než 10% odchylce při uvedených koncentracích: triglyceridy 750 mg/dl, kyselina askorbová 50 mg/dl, bilirubin 50 mg/dl a hemoglobin 500 mg/dl.

Reference

1. LaRusso, N.F. et al., Dynamics of Enterohepatic Circulation of Bile Acids, New Engl J M, 291, 689-692, (1974).
2. Skrede S. et al: Bile acids measured in serum during fasting as a test for liver disease, Clin Chem 24: 1095-1099, 1978
3. Wu, Alan H. B. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. 4th ed. St. Louis, MO: Saunders/Elsevier, 2006. 170-171.

