



Total Bile Acids Assay Kit

Configuración

El reactivo del kit para ácidos biliares totales (Total Bile Acids de Diazyme) se suministra a granel y con la siguiente configuración de kit:

Configuración	Nº catalogo	Dimensioni del kit
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
Beckmann 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	

* Nota: el calibrador se vende por separado

Uso previsto

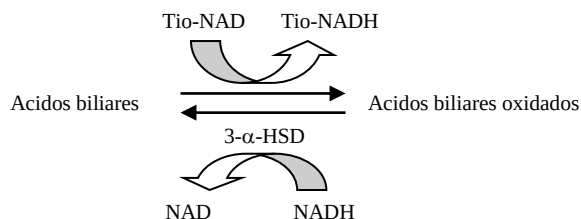
El kit para el ensayo de ácidos biliares totales (Total Bile Acids Assay Kit de Diazyme) se ha diseñado para la determinación cuantitativa *in vitro* de los ácidos biliares totales (TBA) en suero humano. Los ácidos biliares totales se metabolizan en el hígado y sirven como marcador del funcionamiento normal y anómalo del hígado. El nivel sérico de ácidos biliares totales aparece aumentado en pacientes con hepatitis aguda, hepatitis crónica, esclerosis del hígado y cáncer hepático.

Significancia clínica^{1,2}

Los ácidos biliares totales se metabolizan en el hígado y sirven como marcador del funcionamiento normal y anómalo del hígado. El nivel sérico de ácidos biliares totales aparece aumentado en pacientes con hepatitis aguda, hepatitis crónica, esclerosis del hígado y cáncer hepático.

Principio del ensayo

Los reactivos del kit del ensayo se presentan en una fórmula líquida estable que facilita su manejo y mejora el rendimiento. En presencia de Tio-NAD, la enzima 3- α -hidroxiesteroide dehidrogenasa (3- α -HSD) convierte los ácidos biliares en 3-cetoesteroides y Tio-NADH. La reacción es reversible, por lo que la enzima 3- α -HSD puede convertir 3-cetoesteroides y Tio-NADH en ácidos biliares y Tio-NAD. En presencia de exceso de NADH, la variación cíclica de las enzimas se produce de forma eficaz y la tasa de formación de Tio-NADH viene determinada por la medición del cambio específico de la absorbancia a 405 nm.



Materiales necesarios pero no suministrados

Un analizador con capacidad para dispensar dos reactivos y medir la absorbancia a 405 nm con control de temperatura (37 °C).

Composición de los reactivos

Reactivo	Composición
R1	Tio-NAD >0,1mM, tampón
R2	3- α -HSD >2kU/L, NADH >0,1 mM, tampón
Calibrador	Ácido cólico conjugado, tampón

Preparación de los reactivos

Los reactivos del ensayo para ácidos biliares totales de Diazyme son reactivos líquidos que se suministran listos para utilizar. El color característico del reactivo TBA (que oscila entre amarillo y amarillo amarronado) no interfiere en el ensayo.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

Los reactivos sin abrir se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Los reactivos son fotosensibles y deberían conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. No deben mezclarse reactivos de distintos lotes.

Obtención y manipulación de muestras

Utilice muestras frescas de suero de los pacientes. La concentración de TBA aumenta después de las comidas, por lo que las muestras deberían obtenerse en ayunas. Pueden utilizarse muestras de plasma tratado con EDTA o heparina de litio. Las muestras de suero o plasma se mantienen estables durante una semana a 4 °C, o durante 3 meses a -20 °C.

Las muestras de pacientes sometidos a tratamiento con ácido ursodeoxicólico (AUDC) no son aptas para el ensayo de TBA (DZ042A).

Precauciones

1. Para uso de diagnóstico *in vitro*.
2. Las muestras y los reactivos que contienen material de procedencia humana deberían manipularse como muestras potencialmente infecciosas y deben aplicarse procedimientos de laboratorio seguros como los que se describen en el documento "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, publicación número [CDC] 93-8395 del HHS).
3. Como con cualquier procedimiento de ensayo diagnóstico, la interpretación de los resultados debe realizarse teniendo en cuenta los resultados del resto de las pruebas y el estado clínico del paciente.
4. Evite la ingestión y el contacto con la piel o las membranas mucosas.

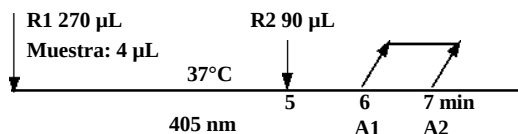
Procedimiento del ensayo

1. Pipetee 270 μ L de R1 en la cubeta y luego añada 4 μ L de muestra, estándar o agua (como blanco).
2. Deje incubar a 37 °C durante 3 minutos y mida la absorbancia del blanco (autocero) a 405 nm.
3. Pipetee 90 μ L de R2 en la cubeta, mezcle y supervise inmediatamente la absorbancia a 405 nm durante 2 minutos.
4. Calcule $\Delta A_{405}/\text{min}$ para la muestra, el blanco y el estándar restando el valor D.O. a 60 segundos del valor D.O. a 120 segundos.
 $\Delta A_{405}/\text{min} = (\text{D.O. a 120 seg} - \text{D.O. a 60 seg})$
5. Utilice la siguiente ecuación para determinar la concentración de ácidos biliares totales:

$$\text{Muestra (TBA, } \mu\text{mol/L)} = \frac{\Delta A_{405\text{nm/min de muestra}} - \Delta A_{405\text{nm/min de blanco}}}{\Delta A_{405\text{nm/min de estándar}} - \Delta A_{405\text{nm/min de blanco}}} \times \text{Estándar}$$

Si los ácidos biliares de la muestra superan el intervalo lineal (1-180 µmol/L), diluya la muestra con 0,9% de NaCl antes de realizar el ensayo.

Esquema del ensayo para analizadores químicos



Puede solicitar las hojas de aplicación del ensayo de ciclado enzimático para ácidos biliares totales de Diazyme para analizadores de química clínica automatizados. Llame al +1 858-455-4768 o envíe un correo electrónico a: support@diazyme.com.

Calibración

Para calibrar el procedimiento se necesita un calibrador para ácidos biliares y solución salina al 0,9% como referencia cero. La frecuencia de calibración puede variar en función del uso que se haga del equipo. Si desea obtener más información, llame al +1 858-455-4768 o envíe un correo electrónico a: support@diazyme.com.

Control de calidad

Se recomienda a los laboratorios utilizar controles para ácidos biliares para validar el rendimiento de los reactivos para ácidos biliares. Puede solicitar un juego de controles para ácidos biliares de rango normal y anómalo a Diazyme Laboratories (N.º de catálogo DZ042A-Con). No debería realizarse el ensayo si los resultados de los controles quedan fuera de los límites aceptables (determinados por el fabricante). Se recomienda realizar el control de calidad de acuerdo con las directrices federales, estatales y locales o los requisitos de acreditación.

Resultados

La concentración de ácidos biliares se expresa como µmol/L (µEq/L).

Rango de referencia ³

El suero o plasma con una concentración de ácidos biliares de 0-10 µmol/L se considera dentro del rango normal. Se recomienda a los laboratorios establecer un rango de valores normales para la población de su comunidad.

Limitaciones

- Las muestras con un nivel de ácidos biliares superior al límite de linealidad deberían diluirse con solución salina al 0,9% y volver a analizarse teniendo en cuenta el factor de dilución para el cálculo del valor.
- Las muestras de pacientes sometidos a tratamiento con ácido ursodeoxicólico (AUDC) no son aptas para el ensayo de TBA (DZ042A).

Características de rendimiento (Hitachi 717)

Las características de rendimiento indicadas se han establecido en las instalaciones de Diazyme Laboratories utilizando procedimientos automáticos en un analizador Hitachi 717.

Precision

Se comparó el rendimiento de este ensayo con el rendimiento de un ensayo para ácidos biliares totales similar en un analizador Hitachi

717 utilizando muestras de suero

El coeficiente de correlación correspondiente a cincuenta y dos (52) muestras de suero con concentraciones comprendidas entre 0,47 y 131,25 µmol/L fue de 0,9918. El análisis de la regresión lineal se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

Este método = 1,1536 (método de referencia) - 0,8567 µmol/L

El coeficiente de correlación correspondiente a un juego equilibrado de muestras de suero y plasma con heparina de litio con una concentración comprendida entre 0,14 y 21,18 µmol/l fue de 0,9805. El análisis de la regresión lineal se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

Heparina de litio = 0,9972 (suero) + 0,1178 µmol/L

Estudios de precisión

La precisión intraensayo e interensayo se evaluó a partir de muestras con dos niveles distintos de ácidos biliares (8 µM y 23 µM). La precisión interensayo se evaluó analizando estas muestras con dos niveles (bajo = 8 µM y alto = 23 µM) en 20 ensayos. Todos los ensayos se realizaron con el analizador automático Hitachi 717. En la siguiente tabla se resumen los datos de precisión:

Precisión intraensayo

	Nivel 1 (8 µM)	Nivel 2 (23 µM)
Número de réplicas	20	20
Media	7,93	23,5
SD	0,31	0,3
CV%	3,9%	1,3%

Precisión interensayo

	Nivel 1 (8 µM)	Nivel 2 (23 µM)
Número de réplicas	20	20
Media	8,12	23,0
SD	0,24	0,61
CV%	2,9%	2,6%

Linealidad

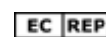
Los estudios de linealidad realizados con un analizador Hitachi 717 muestran que el ensayo de ácidos biliares totales de Diazyme presenta un rango de linealidad comprendido entre 1 y 180 µM.

Interferencia

Se utilizó un analizador Hitachi 717 para determinar la interferencia del ensayo de ácidos biliares totales de Diazyme. Las siguientes sustancias normalmente presentes en el suero generaron una desviación inferior al 10% con las siguientes concentraciones: triglicéridos a 750 mg/dL, ácido ascórbico a 50 mg/dL, bilirrubina a 50 mg/dL y hemoglobina a 500 mg/dL.

Referencias

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



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Alemania

12889 Gregg Court
Poway, CA 92064, USA
Tel: (858) 455-4754
Fax: (858) 455-4750