

Use

Total Bile Acid Assay kit is intended for the in vitro quantitative determination of serum total bile acids (TBA).

Summary

Total bile Acids are metabolized in the liver and, hence, serve as a marker for normal liver function.

Serum total bile acids are increased in patients with acute hepatitis, chronic hepatitis, liver sclerosis and liver cancer.

Principle

The reagents of the assay kit are in a stable liquid formulation that allows for ease of use coupled with enhanced performance characteristics.

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.

Reagents

R1 Thio-NAD, Buffer > 0.1 mM

R2 3- α -HSD, >2kU/L ; NADH>0.1 mM Buffer

Calibrator Conjugated cholic acids, Buffer

Reagents Preparation

Reagents are liquid and ready to use. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

Storage And Stability

Store the kit at 2-8°C.

Unopened reagents are stable until the expiration date printed on the label.

Reagents from different lots must not be interchanged.

Precaution in Use

The product is not classified as dangerous (DLg). The final concentration of the components is below the limits imposed by Regulation (EC) No. 1272/2008 - CLP (and subsequent amendments) and Directive 88/379/CEE and subsequent amendments to the classification-packaging and labeling of dangerous substances N. 285 art. 28 l. n. 128/1998).

However the reagent should be handled with care, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes. In case of contact with eyes rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

Waste Management

Please refer to the local legal requirements.

Specimen Collection and Preparation

Use fresh patient serum sample. TBA concentration is increased after meals; hence, samples should be collected under fasting conditions.

EDTA treated plasma or Lithium heparin plasma samples are suitable for use.

Serum or plasma samples are stable for a week at 4°C, or for 3 months at -20°C.

Note

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

Procedures

Wavelength	λ : 405 nm
Working temperature	37°C
Optical path	1 cm
Reaction	Fixed Time
Bring the reagents at 15-25°C before using them.	

Procedure

	STD	SAMPLE
Reagent R1	270 μ l	270 μ l
Sample	--	4 μ l
Standard	4 μ l	--
Mix, incubate at 37°C for 5' and then add:		
	STD	SAMPLE
Reagent R2	90 μ l	90 μ l
Mix, then incubate at 37°C. Measure the absorbance values of first reading after 60" from sample adding (E1C) and standard (E1STD). Read a second time after 60" (E2C), (E2STD).		

Calculation

$$\text{TBA } [\mu\text{Eq/L}] \text{ o } [\mu\text{mol/l}] = \frac{(E2C - E1C) / (E2STD - E1STD) \times \text{Conc. STD}}$$

Reference Values to 37°C

Serum - plasma 0-10 μ mol/l

Reference values are considered indicative since each laboratory should establish reference ranges for its own patient population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical history.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Analytical Sensitivity and Linearity

Total Bile Acids assay has a linear range from 0 to 180 μ mol/l.

Samples with values exceeding this range must be diluted with saline solution. Then multiply the result for the diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 20 samples for each control (N-H) (Normal-High). Results:

MEAN (U/l)	N = 7.93	H = 23.5
S.D.	N = 0.31	H = 0.3
C.V.%	N = 3.9	H = 1.3

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 20 samples for each control (N-H) Results:

MEAN (U/l)	N = 8.12	H = 23.0
S.D.	N = 0.24	H = 0.61
C.V.%	N = 2.9	H = 2.6

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 20 samples has given a correlating factor **r = 0.9805**

$$y = 0.9972 x + 0.1178$$

Interferences

No interferences was observed by the presence of:

Bilirubin	$\leq$ 50 mg/dl
Triglycerides	$\leq$ 750 mg/dl
Ascorbate acid	$\leq$ 50 mg/dl
Hemoglobin	$\leq$ 500 mg/dl

Quality Controls

It's necessary, each time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert. Each laboratory should establish its own mean and standard deviation and adopt a quality control program to monitor laboratory testing.

Bibliography

Goldstein, D.E. et al, *Diabetes Care*. 27(7):1761-73(2004)
United Kingdom Prospective study;1998; *Lancet* 352:837-53

Symbols

CE CE Mark (requirement of 98/79 regulation)

IVD in vitro medical device

LOT Batch Code

 Use by

 Storage temperature limits

 Read instruction for use

 Gesam Production srl

 Shelter from sunlight

UDI Unique Identified Number

 Production data

Uso

Il kit degli acidi biliari totali è utilizzato per la determinazione quantitativa in vitro del siero degli acidi biliari totali (TBA).

Sommario

Gli acidi biliari totali sono metabolizzati nel fegato e sono indicatori della normale funzione epatica.

Aumentano in pazienti con epatite acuta, cronica, sclerosi epatica e cancro al fegato.

Principio

La formulazione liquida stabile dei reagenti del kit facilita le performance.

In presenza del Thio-NAD, l'enzima 3- α -idrossisteroide deidrogenasi (3- α -HSD) converte gli acidi biliari in 3-keto steroidi and Thio-NADH.

La reazione è reversibile e 3- α -HSD può convertire i 3-keto steroidi e il Thio-NADH in acidi biliari e Thio-NAD.

Con eccessivo NADH, il ciclo enzimatico avviene efficientemente e la percentuale di formazione di Thio-NADH è determinata misurando il cambio specifico di assorbanza a 405 nm.

Reagenti

R1 Thio-NAD, tampone > 0.1 mM

R2 3- α -HSD, >2kU/L ; NADH>0.1 mM tampone

Calibratore acidi colici coniugati, tampone

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono liquidi e pronti all'uso. Tenerli fuori dal frigorifero solo per l'uso e richiuderli immediatamente.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8°C.

I reagenti non aperti sono stabili fino alla data di scadenza posta sull'etichetta.

Reagenti di diversi lotti non possono essere scambiati.

Avvertenze

Il prodotto non è pericoloso (DLg). La concentrazione finale dei componenti non supera i limiti imposti dalla Direttiva (EC) No. 1272/2008 - CLP (e successive variazioni) e dalla Direttiva 88/379/CEE (e successive variazioni) sul confezionamento e l'etichettatura delle sostanze pericolose N. 285 art. 28 l. n. 128/1998).

Tuttavia, bisogna maneggiare il reagente con cura, secondo la giusta pratica di laboratorio.

Attenzione: I reagenti contengono Sodio Azoturo (0.095%) come conservante. Evitare il contatto con la pelle, gli occhi e le membrane della mucosa. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente e consultare il medico.

Smaltimento

Fare riferimento alle normative locali.

Raccolta campione e Preparazione

Usare un campione fresco di siero. La concentrazione dei TBA è più elevata dopo i pasti; dunque, i campioni devono essere raccolti a digiuno.

Sono adatti all'uso i campioni di plasma trattati con EDTA o quelli di eparina di litio.

I campioni di siero o plasma sono stabili per una settimana a 4°C, o per 3 mesi a -20°C.

Note

- Secondo tale metodo, il kit deve essere usato in manuale. Seguire gli applicativi specifici per l'uso automatico.
- Evitare la luce diretta, o contaminazione e l'evaporazione.
- I volumi nella procedura possono essere cambiati proporzionalmente.
- In caso di non conformità o richiesta di controllo di qualità, fare riferimento al lotto della confezione o dei singoli flaconi.

Procedure

Lunghezza d'onda	λ : 405 nm
Temperature di lavoro	37°C
Cammino ottico	1 cm
Reazione	tempo prefissato
Portare i reagenti a 15-25°C prima dell'uso.	

Procedura

	STD	CAMPIONE
Reagente R1	270 μ l	270 μ l
Campione	--	4 μ l
Standard	4 μ l	--
Mescolare, incubare a 37°C per 5' e poi aggiungere:		
	STD	CAMPIONE
Reagente R2	90 μ l	90 μ l
Mescolare, incubare a 37°C. Calcolare i valori di assorbanza della prima lettura a 60" dall'aggiunt del campione (E1C) e lo standard (E1STD). Rileggere dopo 60" (E2C), (E2STD).		

Calcolo

$$\text{TBA } [\mu\text{Eq/L}] \text{ o } [\mu\text{mol/l}] = \frac{(E2C - E1C) / (E2STD - E1STD) \times \text{Conc. STD}}$$

Valori di riferimento a 37°C

Siero - plasma 0-10 μ mol/l

I valori di riferimento sono indicativi poiché ogni laboratorio stabilisce i propri range. I risultati vanno valutati in base alla storia clinica del paziente.

PERFORMANCE ANALITICA

Sensibilità analitica e Linearità

Il kit degli acidi biliari totali ha un range lineare da 0 a 180 μ mol/l.

I campioni con valori superiori a questo range vanno diluiti con soluzione salina; per poi moltiplicare il risultato con un fattore di diluizione.

"Intra-Assay" (within-Run)

Determinata su 20 campioni per ogni controllo (N-H) (Normale-alto). Risultati:

MEAN (U/l)	N = 7.93	H = 23.5
S.D.	N = 0.31	H = 0.3
C.V.%	N = 3.9	H = 1.3

Precisione "Inter-Assay" (between-run)

Determinata su 20 campioni per ogni controllo (N-H)

Risultati:

MEAN (U/l)	N = 8.12	H = 23.0
S.D.	N = 0.24	H = 0.61
C.V.%	N = 2.9	H = 2.6

Correlazione

Uno studio fatto confrontando questo metodo con uno simile su 20 campioni ha dato come fattore di correlazione $r = 0.9805$

$$y = 0.9972 x + 0.1178$$

Interferenze

Nessuna interferenza è stata rilevata in presenza di:

Bilirubina	≤ 50 mg/dl
Trigliceridi	≤ 750 mg/dl
Acido Ascorbico	≤ 50 mg/dl
Emoglobina	≤ 500 mg/dl

Controllo di Qualità

Dopo l'uso, è necessario eseguire i controlli di qualità e verificare che i valori ottenuti siano nei limiti di range consentito. Ogni laboratorio stabilisce i propri range e la deviazione di standard e adotta un proprio programma di controllo di qualità.

Bibliografia

Goldstein, D.E. et al, Diabetes Care. 27(7):1761-73(2004)
United Kingdom Prospective study;1998; Lancet 352:837-53

Simbologia

CE Marchio CE (requisito della normativa 98/76)

IVD Dispositivo medico in vitro

LOT Codice Lotto

Scadenza

Limiti di temperatura di stoccaggio

Leggere le istruzioni per l'uso

Gesam Production srl

Non esporre alla luce solare

UDI Numero Identificativo Unico

Dati sulla produzione