PZ CORMAY S.A.
ul. Wiosenna 22,
05-092 Łomianki, POLSKA
tel.: +48 (0) 81 749 44 00
fax: +48 (0) 81 749 44 34
http://www.cormay.pl

CE CORMAY

BILE ACIDS

Nazwa zestawu	(PL) Nr kat.
Liquick Cor-BILE ACIDS 30	2-338
Liquick Cor-BILE ACIDS 60	2-339
Liquick Cor-BILE ACIDS 120	2-340
HC- BILE ACIDS	4-597
OS- BILE ACIDS	9-475

ZASTOSOWANIE

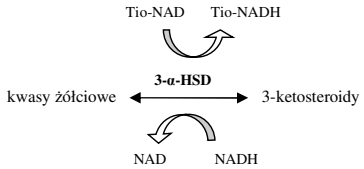
Zestaw diagnostyczny do oznaczania stężenia całkowitych kwasów żółciowych przeznaczony do wykonywania oznaczeń manualnie oraz na analizatorach automatycznych. Odczynniki powinny być stosowane do badań diagnostycznych *in vitro*, przez odpowiednio przeszkolony personel, tylko zgodnie z ich przeznaczeniem, w odpowiednich warunkach laboratoryjnych.

WPROWADZENIE

Kwasy żółciowe są głównym produktem degradacji endogennego cholesterolu powstałego w wątrobie. Całkowite kwasy żółciowe podlegają przemianie materii w wątrobie i są cennym wskaźnikiem prawidłowej lub nieprawidłowej czynności wątroby. Stężenie całkowitych kwasów żółciowych w surowicy jest podwyższone u pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby, marskością wątroby, nowotworami wątroby.

ZASADA METODY

Metoda enzymatyczna z 3-α-dehydrogenazą hydroksysteroidową (3-α-HSD).
Kwasy żółciowe pod wpływem 3-α-dehydrogenazy hydroksysteroidowej (3-α-HSD) w obecności tio-NAD są przekształcane do 3- ketosteroidów i tio-NADH. Reakcja ta jest odwracalna, enzym 3-α-HSD może przekształcać 3-ketosteroidy i NADH do kwasów żółciowych oraz NAD.



Produktem reakcji jest tio-NADH, którego powstawanie w czasie reakcji powoduje przyrost absorbancji przy λ=405 nm. Szybkość tworzenia się tio-NADH jest wprost proporcjonalna do stężenia kwasów żółciowych.

ODCZYNNIKI

Skład zestawu

	Liquick Cor-BILE ACIDS 30	Liquick Cor-BILE ACIDS 60	Liquick Cor- BILE ACIDS 120
1-BILE ACIDS	3 x 30 ml	3 x 50 ml	3 x 100 ml
2-BILE ACIDS	1 x 30 ml	1 x 50 ml	1 x 100 ml

	HC- BILE ACIDS	OS- BILE ACIDS
1-BILE ACIDS	1 x 36,62 ml	2 x 14,5 ml
2-BILE ACIDS	1 x 11,76 ml	2 x 5,5 ml

Odczynniki przechowywane w temp. 2-8°C zachowują trwałość do daty ważności podanej na opakowaniu. Odczynniki przechowywane na pokładzie aparatu w 2-10ºC są stabilne przez 7 tygodni.

Stężenia składników w zestawie

1-BILE ACIDS	
Tio-NAD	> 0,1 mmol
Bufor	
2-BILE ACIDS	
3-α-HSD	> 2 kU/l
NADH	> 0,1 mmol
Bufor	

Ostrzeżenia i uwagi

- Chronić przed bezpośrednim światłem słonecznym i zanieczyszczeniem!
- Unikać kontaktu ze skórą i błonami śluzowymi.
- Żółty lub żółtobrązowy kolor odczynnika nie wpływa na wynik oznaczenia.
- Nie wolno mieszać odczynników pochodzących z różnych serii.
- Nie należy oznaczać stężenia całkowitych kwasów żółciowych u pacjentów leczonych kwasem ursodeoksycholowym (UDCA).

MATERIAŁ BIOLOGICZNY

Surowica.
Stężenie całkowitych kwasów żółciowych wzrasta po spożyciu posiłków, w związku z tym próbki należy pobierać na czczo. Surowica może być przechowywane do 7 dni w temp. 4ºC lub do 3 miesięcy w temp. -20ºC.
Niemniej zaleca się wykonanie badań na świeżo pobranym materiale biologicznym!

WYPOSAŻENIE DODATKOWE

- analizator automatyczny lub fotometr umożliwiający odczyt przy długości fali 405 nm;
- termostat na 37ºC;
- ogólne wyposażenie laboratoryjne;

WYKONANIE OZNACZENIA

Programy do analizatorów dostarczamy na życzenie.

Oznaczanie manualne

długość fali	405 nm
temperatura	37°C
kuweta	1 cm

Do kuwety napipetować:

	próba badana (PB)	próba wzorcowa (PW)
1-BILE ACIDS	900 µl	900 µl
2-BILE ACIDS	300 µl	300 µl

Ogrzać do temperatury oznaczenia. Następnie dodać:

kalibrator	-	20 µl
materiał badany	20 µl	-

Dokładnie wymieszać, po 2 min. inkubacji odczytać absorbancję próby wzorcowej (PW) i próby badanej (PB) wobec wody lub powietrza. Powtórzyć pomiar po kolejnych 1, 2 i 3 minutach. Obliczyć średnią zmianę absorbancji (ΔA) dla obydwu prób.

Obliczanie wyników

$$\text{stężenie kwasów żółciowych} = \frac{\Delta A(PB)}{\Delta A(PW)} \times \text{stężenie kalibratora}$$

WARTOŚCI PRAWIDŁOWE [3]

surowica	2,5 – 6,8 µmol/l (1,25 – 3,4 µg/ml)

Zalecane jest opracowanie przez każde laboratorium własnych zakresów wartości prawidłowych charakterystycznych dla lokalnej populacji.

KONTROLA JAKOŚCI

W celu wewnętrznej kontroli jakości, do każdej serii oznaczeń, należy dołączać surowice kontrolne CORMAY BILE ACIDS CONTROLS (Nr kat. 5-149).
Do kalibracji należy stosować CORMAY BILE ACIDS CALIBRATOR (Nr kat. 3-125).
Krzywa kalibracyjna powinna być sporządzana co 7 tygodni, przy każdej zmianie serii odczynnika lub w razie potrzeby np. jeśli wartości oznaczenia surowic kontrolnych nie mieszczą się w wyznaczonym zakresie.

CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Podane niżej rezultaty uzyskano używając analizatora automatycznego Biolis 24i Premium oraz Hitachi 717. W przypadku przeprowadzenia oznaczenia na innym analizatorze lub manualnie otrzymane wyniki mogą różnić się od podanych.

- **Czułość:** 2,9 µmol/l (1,45 µg/ml).

- **Liniowość:** do 180 µmol/l (90 µg/ml).

Dla wyższych stężeń próbkę należy rozcieńczyć 0,9% roztworem NaCl, oznaczenie powtórzyć, a wynik pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

- **Specyficzność / Interferencje**

Hemoglobina w stężeniu do 0,5 g/dl, bilirubina w stężeniu do 50 mg/dl, kwas askorbinowy w stężeniu do 50 mg/dl i triglicerydy w stężeniu do 750 mg/dl nie wpływają na wyniki oznaczenia.

- **Precyzja**

Powtarzalność (run to run) n = 20	Średnia [µmol/l]	SD [µmol/l]	CV [%]
poziom 1	30,72	0,34	1,11
poziom 2	47,96	0,64	1,34

Odtwarzalność (day to day) n = 20	Średnia [µmol/l]	SD [µmol/l]	CV [%]
poziom 1	8,12	0,24	2,90
poziom 2	23,0	0,61	2,60

- **Porównanie metody**

Porównanie wyników oznaczeń kwasów żółciowych wykonanych na **Biolis 24i Premium** (y) i na **OLYMPUS AU400** (x), z użyciem 45 próbek, dało następujące wyniki:
y = 1,0813 x - 0,0198 µmol/l;
R = 0,9997 (R – współczynnik korelacji)

UTYLIZACJA ODPADÓW

Postępować zgodnie z aktualnymi przepisami.

LITERATURA

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.
4. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W.: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej, Volumed, 261-262, (1998).

Data wydania: 06. 2021.

PZ CORMAY S.A.
ul. Wiosenna 22,
05-092 Łomianki, POLSKA
tel.: +48 (0) 81 749 44 00
fax: +48 (0) 81 749 44 34
http://www.cormay.pl

CE CORMAY

BILE ACIDS

Kit name	(EN) Cat. No
Liquick Cor-BILE ACIDS 30	2-338
Liquick Cor-BILE ACIDS 60	2-339
Liquick Cor-BILE ACIDS 120	2-340
HC- BILE ACIDS	4-597
OS- BILE ACIDS	9-475

INTENDED USE

Diagnostic kit for determination of total bile acids concentration used both for manual assay and in several automatic analysers

The reagents must be used only for *in vitro* diagnostic, by suitably qualified laboratory personnel, only for the intended purpose, under appropriate laboratory conditions.

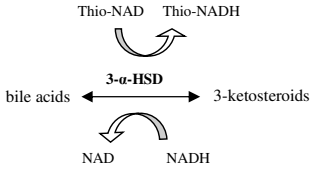
INTRODUCTION

Bile acids are the main product of degradation of endogenous cholesterol formed in the liver. Total bile acids are metabolized in the liver and are a valuable indicator of normal or abnormal liver function. Serum total bile acids are increased in patients with viral hepatitis, liver cirrhosis and liver cancer.

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic method with 3-α-hydroxysteroid dehydrogenase (3-α-HSD).

Bile acids under the influence of 3-hydroxysteroid dehydrogenase (3-α-HSD) in the presence of thio-NAD are converted to 3 - ketosteroids and thio-NADH. The reaction is reversible and 3-α-HSD can convert 3-ketosteroids and NADH to bile acids and NAD.



The rate of thio-NADH formation can be monitored at 405 nm and is proportional to the bile acids activity.

REAGENTS

Package

	Liquick Cor-BILE ACIDS 30	Liquick Cor-BILE ACIDS 60	Liquick Cor- BILE ACIDS 120
1-BILE ACIDS	3 x 30 ml	3 x 50 ml	3 x 100 ml
2-BILE ACIDS	1 x 30 ml	1 x 50 ml	1 x 100 ml

	HC- BILE ACIDS	OS- BILE ACIDS
1-BILE ACIDS	1 x 36.62 ml	2 x 14.5 ml
2-BILE ACIDS	1 x 11.76 ml	2 x 5.5 ml

The reagents when stored at 2-8°C are stable up to expiry date printed on the package. The reagents are stable for 7 weeks on board the analyser at 2-10°C.

Concentrations in the test

1-BILE ACIDS

Thio-NAD	> 0.1 mmol
Buffer	

2-BILE ACIDS

3-α-HSD	> 2 kU/l
NADH	> 0.1 mmol
Buffer	

Warnings and notes

- Protect from direct sunlight and avoid contamination!
- Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Yellow or yellow-brown color of the reagent does not affect the reagents performance.
- Reagents from different lots must not be interchanged.
- Samples from patients treated with ursodeoxycholic acid (UDCA) are not suitable for the determination of total bile acid concentrations.

SPECIMEN

Serum.

Total bile acids concentration is increased after meals, therefore samples should be collected under fasting conditions. Serum and plasma samples are stable for a 7 days at 4 °C or for 3 month at -20 °C.

Nevertheless it is recommended to perform the assay with freshly collected samples!

ADDITIONAL EQUIPMENT

- automatic analyser or photometer able to read wavelength at 405 nm;
- thermostat at 37ºC;
- general laboratory equipment;

PROCEDURE

Applications for analyzers are available on request.

Manual procedure

wavelength	405 nm
temperature	37°C
cuvette	1 cm

Pipette into the cuvettes:

	test (T)	calibrator (C)
1-BILE ACIDS	900 µl	900 µl
2-BILE ACIDS	300 µl	300 µl

Bring up to the temperature of determination. Then add:

calibrator	-	20 µl
sample	20 µl	-

Mix well and after 2 min. of incubation read the absorbance of calibrator (C) and test (T) against water or air. After next 1, 2, and 3 minutes repeat absorbance reading and calculate the mean absorbance change (ΔA) for calibrator and sample.

Calculation

$$\text{bile acids concentration} = \frac{\Delta A(T)}{\Delta A(C)} \times \text{calibrator concentration}$$

REFERENCE VALUES [3]

serum	2.5 – 6.8 µmol/l (1.25 – 3.4 µg/ml)

It is recommended for each laboratory to establish its own reference ranges for local population.

QUALITY CONTROL

For internal quality control it is recommended to use the CORMAY BILE ACIDS CONTROLS (Cat. No 5-149) with each batch of samples.

For calibration CORMAY BILE ACIDS CALIBRATOR (Cat. No 3-125) is recommended.

The calibration curve should be prepared every 7 weeks, with change of reagent lot number or as required e.g. quality control findings outside the specified range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following results have been obtained using automatic analysers Biolis 24i Premium and Hitachi 717. Results may vary if a different instrument or a manual procedure is used.

- **Sensitivity:** 2.9 µmol/l (1.45 µg/ml).

- **Linearity:** up to 180 µmol/l (90 µg/ml).

For higher concentration, dilute the sample with 0.9% NaCl and repeat the assay. Multiply the result by dilution factor.

- **Specificity / Interferences**

Haemoglobin up to 0.5 g/dl, bilirubin up to 50 mg/dl, ascorbic acid up to 50 mg/dl and triglycerides up to 750 mg/dl do not interfere with the test.

- **Precision**

Repeatability (run to run) n = 20	Mean [µmol/l]	SD [µmol/l]	CV [%]
level 1	30.72	0.34	1.11
level 2	47.96	0.64	1.34
Reproducibility (day to day) n = 80	Mean µmol/l]	SD [µmol/l]	CV [%]
level 1	8.12	0.24	2.9
level 2	23.0	0.61	2.6

- **Method comparison**

A comparison between bile acids values determined at **Biolis 24i Premium** (y) and at **OLYMPUS AU400** (x) using 45 samples gave following results:

y = 1.0813 x - 0.0198 µmol/l;

R = 0.9997 (R – correlation coefficient)

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

LITERATURE

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.
4. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W.: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej, Volumed, 261-262, (1998).

Date of issue: 06. 2021.

PZ CORMAY S.A.
ul. Wiosenna 22,
05-092 Łomianki, POLSKA
tel.: +48 (0) 81 749 44 00
fax: +48 (0) 81 749 44 34
http://www.cormay.pl

CE CORMAY

BILE ACIDS

Название набора	**(RUS) Кат. №**
Liquick Cor-BILE ACIDS 30	2-338
Liquick Cor-BILE ACIDS 60	2-339
Liquick Cor-BILE ACIDS 120	2-340
HC- BILE ACIDS	4-597
OS- BILE ACIDS	9-475

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Диагностический набор для определения концентрации общих желчных кислот. Набор предназначен как для мануального определения, так и для использования в некоторых типах автоматических анализаторов

Реагенты должны использоваться только для диагностики *in vitro*, квалифицированным лабораторным персоналом, в целях, для которых они предназначены, в соответствующих лабораторных условиях.

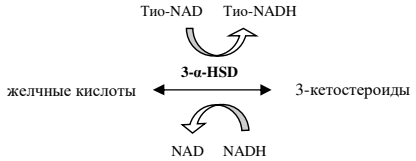
ВВЕДЕНИЕ

Желчные кислоты – это главный продукт деградации эндогенного холестерина, синтезируемого в печени. Желчные кислоты метаболизируются в печени и являются ценным показателем нормальной либо абнормальной функции печени. Повышение уровня общих желчных кислот в сыворотке повышено у пациентов с вирусными гепатитами, циррозом и раком печени.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Энзиматический метод с 3-α-гидроксистероид дегидрогеназой (3-α-HSD).

Желчные кислоты под воздействием 3-α-HSD в присутствии тио-NAD превращаются в 3-кетостероиды и тио-NADH. Реакция обратима и 3-α-HSD может обращать 3-кетостероидыи тио-NADH в желчные кислоты и NAD.



Скорость образования тио-NADH может быть измерена по росту адсорбции на 405 нм и прямо пропорциональна концентрации желчных кислот в пробе.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

	Liquick Cor-BILE ACIDS 30	**Liquick Cor-BILE ACIDS 60**	**Liquick Cor- BILE ACIDS 120**
1-BILE ACIDS	3 x 30 мл	3 x 50 мл	3 x 100 мл
2-BILE ACIDS	1 x 30 мл	1 x 50 мл	1 x 100 мл

	HC- BILE ACIDS	**OS- BILE ACIDS**
1-BILE ACIDS	1 x 36,62 мл	2 x 14,5 мл
2-BILE ACIDS	1 x 11,76 мл	2 x 5,5 мл

Реагенты при температуре 2-8ºC, сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. Реагенты на борту аппарата при температуре 2-10ºC стабильны 7 недель.

Концентрация компонентов в реагентах

1-BILE ACIDS

Тио-NAD > 0,1 ммоль/л
Буфер

2-BILE ACIDS

3-α-HSD > 2 кЕд/л
NADH > 0,1 ммоль/л
Буфер

Предостережения и примечания

- Предохранять от прямых солнечных лучей и загрязнения!
- Избегать контакта с кожей и слизистыми оболочками.
- Не смешивать реактивы из разных серий.
- Естественный желтоватый или коричневатый оттенок реагента не влияет на результаты определений.
- Пробы пациентов, принимающих урсодеоксихолевую кислоту не пригодны для определения общих желчных кислот.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка.

Концентрация общих желчных кислот возрастает после еды, в связи с этим пробы следует брать натощак. Сыворотка может храниться до 7 дней при темп. 4ºC либо 3 месяца при темп.-20ºC.

Тем не менее рекомендуется производить исследования на свежевзятом биологическом материале!

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр с возможностью проведения измерений на длине волны 405 нм;
- термостат на 37 ºC;
- общее лабораторное оборудование;

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов.

Мануальное определение

длина волны	405 нм
температура	37°C
кювета	1 см

В кювету поместить:

	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
1-BILE ACIDS	900 мкл	900 мкл
2-BILE ACIDS	300 мкл	300 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	20 мкл
иссл. материал	20 мкл	-

Тщательно перемешать, инкубировать 2 минуты. Определить коэффициент поглощения стандартного А(ОС) и исследуемого образцов А(ОИ) в отношении воды или воздуха. Через следующие 1, 2 и 3 мин. повторить измерения и вычислить усредненное изменение абсорбции для обеих образцов.

Расчет результатов

$$\text{концентрация желчных кислот} = \frac{\Delta A(\text{ОИ})}{\Delta A(\text{ОС})} \times \text{концентрация калибратора}$$

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ [3]

сыворотка	2,5 – 6,8 мкмоль/л (1,25 – 3,4 мкг / мл)

Каждой лаборатории рекомендуется разработать собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества при проведении исследований рекомендуется использовать контрольные сыворотки CORMAY BILE ACIDS CONTROLS (Кат. № 5-149) для каждой серии измерений.

Для калибровки рекомендуется использовать калибратор CORMAY BILE ACIDS CALIBRATOR (Кат. № 3-125). Калибровочную кривую следует составлять каждые 7 недель, при каждой смене лота реагентов и в случае необходимости, напр. если результаты определения контрольных сывороток не попадают в референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Данные метрологические характеристики были получены при использовании автоматических анализаторов Biolis 24i Premium и Hitachi 717. Результаты, полученные на других анализаторах либо вручную, могут отличаться.

- **Чувствительность:** 2,9 мкмоль/л (1,45 мкг / мл).

- **Линейность:** до180 мкмоль/л (90 мкг / мл).

Для определения более высоких концентраций образец следует развести 0,9% NaCl, повторить определение и полученный результат умножить на коэффициент разведения.

- **Специфичность / Интерференции**

Гемоглобин до 0,5 г/дл, биллирубин до 50 мг/дл, аскорбиновая кислота до 50 мг/дл и триглицериды до 750 мг/дл не влияют на результаты определений.

- **Точность**

Повторяемость (между сериями) n = 20	Среднее [мкмоль/л]	SD [мкмоль/л]	CV [%]
уровень 1	30,72	0,34	1,11
уровень 2	47,96	0,64	1,34
Воспроизводимость (изо дня в день) n = 20	Среднее [мкмоль/л]	SD [мкмоль/л]	CV [%]
уровень 1	8,12	0,24	2,9
уровень 2	23,0	0,61	2,6

- **Сравнение метода**

Сравнение результатов определения общих желчных кислот, произведенных на анализаторах **Biolis 24i Premium** (y) и **OLYMPUS AU400** (x) для 45 образцов дало следующие результаты:

y = 1,0813 x - 0,0198 мг/дл;
R = 0,9997 (R – коэффициент корреляции)

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

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.
4. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W.: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej, Volumed, 261-262, (1998).

Дата создания: 06. 2021.