

Žlučové kyseliny, Enzymatický cyklus

(cz) český

Diagnostická reagensce pro kvantitativní *in vitro* stanovení celkových žlučových kyselin v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

| Ref. č. | Obsah | | | |
|-----------------|-------|------------|-------|------------|
| 903100 | 1 x | 0.9 L R1 | + 3x | 0.1 L R2 |
| 903110 | 4 x | 90 mL R1 | + 1 x | 120 mL R2 |
| 903115 | 4 x | 45 mL R1 | + 1 x | 60 mL R2 |
| 903120 | 4 x | 22.5 mL R1 | + 1 x | 30 mL R2 |
| 903125 | 4 x | 9 mL R1 | + 1 x | 12 mL R2 |
| 950911 | 4 x | 45 mL R1 | + 3 x | 20 mL R2 |
| 90410917 | 3 x | 60 mL R1 | + 1 x | 60 mL R2 |
| 9A0808 | 3 x | 20 mL R1 | + 1 x | 20 mL R2 |
| 9T1008 | 3 x | 20 mL R1 | + 1 x | 20 mL R2 |
| 9K0707 | 4 x | 45 mL R1 | + 1 x | 60 mL R2 |
| 9E1808 | 2 x | 37.5 mL R1 | + 2 x | 12.5 mL R2 |

Pouze pro profesionální *in vitro* diagnostické použití.

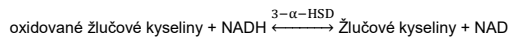
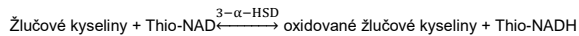
ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická reagensce pro kvantitativní *in vitro* stanovení celkových žlučových kyselin v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

SHRNUTÍ [1, 2]

Žlučové kyseliny jsou metabolizovány v játrech, a proto slouží jako marker správné funkce jater. Zvýšené koncentrace žlučových kyselin je možné nalézt u pacientů s akutní hepatitidou, chronickou hepatitidou, sklerózou jater a rakovinou jater.

PRINCIP TESTU



Za přítomnosti Thio-NAD proměňuje enzym 3- α -hydroxysteroid dehydrogenáza (3- α -HSD) žlučové kyseliny na 3-keto steroidy za vzniku Thio-NADH. Reakce je vratná a 3- α -HSD může proměňovat 3-keto steroidy a NADH na žlučové kyseliny a NAD (zpětná tvorba žlučových kyselin). Přítomnost nadbytku NADH podporuje tuto enzymatickou zpětnou tvorbu. Rychlost tvorby Thio-NADH je stanovována měřením specifické změny absorbance při 405 nm.

ZKRATKY

| | | |
|------------------|---|-------------------------------------------|
| TBA | = | Celkové žlučové kyseliny |
| NAD | = | Nikotinamid adenin dinukleotid |
| NADH | = | Redukovaný NAD |
| 3- α -HSD | = | 3- α -hydroxysteroid dehydrogenáza |

SLOŽENÍ REAGENCE

| SLOŽKY | KONCENTRACE |
|---------------------|-------------|
| Reagensce 1: | |
| Pufr | |
| Thio-NAD | > 0.1 mM |
| Reagensce 2: | |
| Pufr | |
| 3- α -HSD | > 2 KU/L |
| NADH | > 0.1 mM |

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

Standard nebo kalibrátor, např.:

| REF | Název | Obsah |
|--------|----------------------------|----------|
| 903210 | Standard žlučových kyselin | 1 x 3 mL |

Kontroly, např.:

| REF | Název | Obsah | Popis |
|----------|----------|-----------|---------------------|
| D98481 | Diacon N | 12 x 5 mL | Kontrola normální |
| D14481 | Diacon N | 5 x 5 mL | Kontrola normální |
| D98481SV | Diacon N | 1 x 5 mL | Kontrola normální |
| D14482 | Diacon P | 12 x 5 mL | Kontrola abnormální |
| D14482 | Diacon P | 5 x 5 mL | Kontrola abnormální |
| D14482SV | Diacon P | 1 x 5 mL | Kontrola abnormální |

- Roztok NaCl (9 g/L)
- Fotometrický přístroj
- Obecné laboratorní vybavení

PŘÍPRAVA REAGENCE

Reagensce jsou určeny k přímému použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

| | |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Podmínky skladování | Skladujte při 2-8 °C. Chraňte před světlem! Po použití okamžitě uzavřete |
| Stabilita | Neotevřené reagensce jsou stabilní do uvedeného data expirace |

Reagensce jsou světlo citlivé. Vlastní žlutá až žluto-hnědá barva reagensce neinterferuje s testem.

Poznámka: Reagensce z různých šarží se nesmí zaměňovat.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Se vzorky a reagensciemi obsahujícími materiál lidského původu je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními, za použití bezpečných laboratorních postupů.
- Nepolykejte! Zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
- Prostudujte si prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagensciemi.

- Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
- Kdyby došlo k incidentu v souvislosti s medicínským produktem, nahláste jej výrobci a vašemu podle předpisů příslušnému úřadu.
- Pouze pro profesionální použití!

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU⁴

Použijte čerstvé pacientské sérum, EDTA- nebo plazmu s lithium heparinem. Celková koncentrace žlučových kyselin (TBA) je zvýšena po jídle; proto je třeba vzorky odebrat na lačno*.

Stabilita:

| | | |
|--------------------|------------|----------|
| Sérum nebo plazma: | Při 4 °C | 1 týden |
| | Při -20 °C | 3 měsíce |

Kontaminované vzorky zlikvidujte.

Je odpovědností každé laboratoře použít dostupné zdroje nebo vykonat vlastní studie pro určení specifických stabilitních kritérií pro jejich laboratoř⁵.

* Toto neplatí pro ženy s intrahepatální cholestázou v těhotenství, při které je potřebný test vylučování žlučových kyselin a vzorky je proto potřebné odebrat po jídle.

STANDARD

(není obsažen v kitu; musí se objednat samostatně)

| | |
|-------------|------------------|
| Koncentrace | 50 μ mol/L |
| Skladování | Při 2 - 8 °C |
| Stabilita: | Do data expirace |

Po použití okamžitě uzavřete! Zabraňte kontaminaci! Při skladování chraňte před světlem!

PROVEDENÍ TESTU

| | |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Metoda | Kolorimetrická, 2-bodová kinetická, rostoucí reakce, enzymatický cyklus |
| Vlnová délka | 405 nm |
| Optická dráha | 1 cm |
| Teplota | 37 °C |

Reagensce a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

| | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Pipetujte do zkumavek | Blank | Standard | Vzorek |
| Reagensce 1 | 900 μ L | 900 μ L | 900 μ L |
| Vzorek | - | - | 14 μ L |
| Standard | - | 14 μ L | - |
| Dest. voda | 14 μ L | - | - |
| Smíchejte, inkubujte 3 - 5 minut při 37 °C. Potom přidejte: | | | |
| Reagensce 2 | 300 μ L | 300 μ L | 300 μ L |
| Zamíchejte, inkubujte 60 sek. při 37 °C a změřte absorbanci A1 při 405 nm. Inkubujte dalších 60 sek. při 37 °C a změřte absorbanci A2 při 405 nm. Vypočítejte změnu absorbance $\Delta A = (A2 - A1)$ | | | |

Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoře mohou být vytvořeny na požádání.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

$$\text{TBA } [\mu\text{mol/L}] = \frac{\Delta A \text{ vzorku} - \Delta A \text{ blanku}}{\Delta A \text{ std} - \Delta A \text{ blanku}} \times \text{konc. Std. } [\mu\text{mol/L}]$$

KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Doporučuje se vykonávání interní kontroly kvality. Doporučujeme Dialab multikontroly séra **Diacon N** (s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (s hodnotami v abnormálním rozsahu). Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

Kalibrace

Metoda vyžaduje použití standardu žlučových kyselin nebo kalibrátoru. Doporučujeme Dialab **standardu žlučových kyselin**. 0.9% roztok NaCl je potřebné použít jako nulový kalibrátor.

Frekvence kalibrace se může měnit a závisí od současné přístrojové aplikaci.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ:

Jako preciznost v rámci testovací série tak i preciznost mezi testovacími sériemi byly určeny pomocí vzorků se dvěma různými koncentracemi žlučových kyselin (8 μ M a 23 μ M) ve 20 bězích.

CV \leq 3.9 % byl stanoven pro preciznost v rámci testovací série a CV \leq 2.9 % byl stanoven pro preciznost mezi testovacími sériemi.

Analytická citlivost

Spodní hranice linearity je 1 μ mol/L.

Linearity a rozsah měření

Test byl vyvinut pro stanovení koncentrací žlučových kyselin v rozsahu měření od 1 - 180 μ mol/L v séru/plazmě.

Analytická specifická

| | |
|------------------------------------|-----------|
| Žádná interference do koncentrace: | |
| Kyselina askorbová | 50 mg/dL |
| Bilirubin | 50 mg/dL |
| Hemoglobin | 500 mg/dL |
| Triglyceridy | 750 mg/dL |

Klinická účinnost

Porovnání mezi Dialab žlučovými kyselinami, enzymatický cyklus (x) a komerčně dostupným testem (y) za použití 52 vzorků (0.47 – 131.25 $\mu\text{mol/L}$) poskytlo následující výsledky:

$$y = 1.1536x - 0.8567 \mu\text{mol/L}; r = 0.992.$$

Odpovídající si sady 39 vzorků séra a lithium heparinové plazmy v rozmezí 0.14 – 21.18 $\mu\text{mol/L}$ poskytly následující výsledky:

$$\text{Lithium heparin} = 0.9972 (\text{sérum}) + 0.1178 \mu\text{mol/L}; r = 0.9805$$

Testy byly vykonány pomocí následujícího analyzátoru: Hitachi 717.

NÁVAZNOST

Standard je návazný ke kalibrátoru žlučových kyselin od Sigma Diagnostics.

OČEKÁVANÉ HODNOTY³

V séru/plazmě: 0 – 10 $\mu\text{mol/L}$ *

Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsahy.

OMEZENÍ

- Vzorky s koncentracemi žlučových kyselin nad hranicí linearitu je potřebné zředit roztokem NaCl (9 g/L) a opětovně otestovat s použitím faktoru zředění při výpočtu hodnot.
- Vzorky pacientů, který jsou na léčbě Ursodeoxycholovou kyselinou (UDCA), nejsou vhodné pro analýzu tímto produktem.


NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

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. Ovadia C, Seed P, Sklavounos A et al. Association of adverse perinatal outcomes of intrahepatic cholestasis of pregnancy with biochemical markers: results of aggregate and individual patient data meta-analyses. Lancet 2019; 393(10174):899-909.
5. CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline. H18-A4. Vol.30 no. 10.

Použité symboly

| Symbol | Popis |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|
|  | Obsah |

