Ácidos biliares

Para la determinación in vitro de ácidos biliares en suero o plasma EDTA fresco en sistemas fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Contenido del envase
1 2212 99 90 313	1 x 50 mL de solución amortiguadora Mezcla de reactivo para 5 uds. de 10 mL de R1 1 x 10 mL de reactivo R2 1 x 2 mL de ácidos biliares estándar, 35 µmol/L

Resumen

Los ácidos biliares se metabolizan en el hígado y se utilizan como marcadores de su funcionamiento normal. Se encuentran valores altos de ácidos biliares en suero en pacientes con hepatitis aguda o crónica, cirrosis hepática y hepatocarcinoma.

Principio

Test colorimétrico con determinación de punto final.
En la presencia de NAD^+, los 3-α hidroxiácidos biliares se convierten con ayuda de la enzima 3-α hidroxiesteroide deshidrogenasa
(3-α HSD) específicamente en los correspondientes 3-ceto-derivados. El NADH aquí formado reacciona con azul de nitrotetrazolio (NBT) por la acción catalítica de la diaforasa formando un derivado azul de formazano. Este colorante se mide con una longitud de onda de 540 nm y es directamente proporcional a la concentración de ácidos biliares en la muestra.

$$\text{3-α hidroxiácidos biliares} + NAD^+ \xrightarrow{\text{3-α-HSD}} \text{3-cetoácidos biliares} + NADH + H^+$$

$$NADH + H^+ + NBT \xrightarrow{\text{diaforasa}} NAD^+ + \text{formazano}$$

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Diaforasa	50 U/L
	NAD^+	1 mmol/L
	NBT	0,2 mmol/L
	Ácido oxámico	
R2:	3-α-HSD	60 U/L
	Trometamol	50 mmol/L
Solución amortiguadora para R1		
	Amortiguador de fosfato	100 mmol/L
	EDTA	
Estándar:		35 µmol/L

Conservación y estabilidad del reactivo

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 - 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación. No se deben congelar los reactivos.

Advertencias y medidas de precaución

1. Los reactivos 1 y 2 contienen como conservante azida de sodio (0,03 %). No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto de la piel o las mucosas con los reactivos, lavar con agua abundante.
2. Observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Eliminación de residuos

El reactivo R2 está listo para su uso.

Preparación de los reactivos

El reactivo R2 está listo para su uso.

Reconstitución de R1

Disolver el contenido de un frasco de reactivo R1 (diaforasa) con 10 mL de solución amortiguadora. El reactivo de uso R1 se puede utilizar hasta una semana a 4°C. Mantener el reactivo protegido de la luz.

Antes del uso, poner los reactivos R1 y R2 a temperatura ambiente.

Equipo adicional necesario

Solución de 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestra

Suero fresco o plasma EDTA (no heparina)
No utilizar muestras hemolizadas.
Las muestras de suero y plasma se conservan 1 semana a 2 – 8 °C. Desechar las muestras contaminadas.

Procedimento del Ensayo

Longitud de onda	540 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto al agua

	VRR	Muestra / estándar
Muestra / estándar	-	80 µL
Agua destilada	80 µL	-
Reactivo R1	600 µL	600 µL
Mezclar e incubar 4 min. a 37 °C. Interpretar la absorbancia A1 y entonces añadir:		
Reactivo R2	120 µL	120 µL
Mezclar e incubar 5 minutos. Interpretar la absorbancia A2.		

$\Delta A = [(A2 - 0{,}85\ A1)\ \text{muestra / estándar}] - [(A2 - 0{,}85\ A1)\ \text{VRR}]$

El factor 0,85 compensa la disminución de la absorbancia al añadir el reactivo 2. El factor se calcula a partir de: (muestra + R1) / volumen total. La compensación es necesaria debido al elevado volumen de la muestra.

Cálculo

Con estándar

$$\text{Ácidos biliares [µmol/L]} = \frac{\Delta A\ \text{muestra}}{\Delta A\ \text{estándar}} \times \text{Conc. estándar [µmol/L]}$$

Controles

Para el control de calidad interno deben ensayarse controles con DiaSys TruLab N y P con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de medida

El test está indicado para medir la concentración de ácidos biliares de hasta 150 µmol/L. Si se sobrepasan estos valores, se recomienda diluir las muestras con solución de NaCl (9 g/L) en una proporción 1:5 y multiplicar por 6 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico en cantidades de hasta 50 mg/dL, con bilirrubina en cantidades de hasta 50 mg/dL, con hemoglobina en cantidades de hasta 500 mg/dL, y con lipidemia de hasta 750 mg/dL de triglicéridos.

Sensibilidad/Límite de Detección

El límite inferior de prueba es 0,28 µmol/L.

Precisión

En la serie n = 15	Valor medio [µmol/L]	Desviación estándar (DE) [µmol/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	9,21	0,34	3,77
Muestra 2	32,8	0,36	1,11
Muestra 3	94,9	1,07	1,13

De un día a otro n = 15	Valor medio [µmol/L]	Desviación estándar (DE) [µmol/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	8,82	0,41	4,65
Muestra 2	30,8	1,32	4,30
Muestra 3	94,8	1,43	1,50

Método de Comparación

En la comparación de DiaSys Ácidos biliares (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 37 muestras:
$y = 0{,}999\ x + 1{,}165$; $r = 0{,}998$.

Valor de Referencia

0 – 10 µmol/L

Bibliografía

1. Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1341-44.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. pp. 1125-77.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania