

IDK[®] Gallensäuren

*Photometrisches Testsystem zur in-vitro-Bestimmung
der Gallensäuren im Serum*

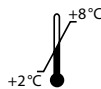
IDK[®] Bile Acids

*Photometric test system for the in vitro determination
of bile acids in serum*

Gültig ab / Valid from 2022-11-07



K 7877CV



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DER TESTPACKUNG	3
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZEN	4
6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG	4
<i>Lagerung</i>	4
<i>Probenvorbereitung</i>	4
7. TESTDURCHFÜHRUNG	4
<i>Testprinzip</i>	4
<i>Pipettierschema</i>	5
8. ERGEBNISSE	5
<i>Berechnung der Probenkonzentration</i>	5
9. EINSCHRÄNKUNGEN	5
10. QUALITÄTSKONTROLLE	5
<i>Referenzwerte</i>	6
11. TESTCHARAKTERISTIKA	6
<i>Präzision und Reproduzierbarkeit</i>	6
<i>Analytische Sensitivität</i>	6
12. VORSICHTSMASSNAHMEN	6
13. TECHNISCHE MERKMALE	6
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	7
15. LITERATUR	7

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene photometrische Test ist für die Bestimmung von Gallensäuren in Serum geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Gallensäuren sind Endprodukte des Cholesterinstoffwechsels der Leber und werden zusammen mit den weiteren Bestandteilen der Galle, wie z. B. Cholesterin, Bilirubin, Phospholipiden und Proteinen, in das Duodenum abgegeben.

Wichtige Funktionen der Gallensäuren sind die Ausscheidung von Cholesterin über den Darm, Aufnahme von Fetten und fettlöslichen Vitaminen im Dünndarm sowie Anregung der Darmmotilität.

Der größte Teil der täglich sezernierten Gallensäuren wird im terminalen Ileum wieder resorbiert, über die Pfortader der Leber zugeführt und erneut mit der Galle ausgeschieden. Dieser Prozess, der auch enterohepatischer Kreislauf genannt wird, führt dazu, dass jeden Tag nur 3–5 % der Gallensäuren mit dem Stuhl ausgeschieden werden.

Störungen im Gallensäure-Metabolismus können an verschiedenen Stellen des enterohepatischen Kreislaufs auftreten:

- Gestörte Gallensäure-Synthese in den Leberzellen
- Intrahepatische Gallestau, z.B. durch gestörten Galletransport
- Extrahepatischer Verschluss der Gallengänge
- Gestörte Gallensäure-Absorption im Darm
- Gestörte Gallensäure-Wiederaufnahme in die Leber
- Gestörter intrazellulärer Metabolismus (Recycling) in der Leberzelle

Auch angeborene (metabolische Erkrankungen u.a.) oder erworbene (Arzneimittel, Toxine, Infektionen u.a.) Lebererkrankungen können ebenfalls zu Störungen im Gallensäuren-Metabolismus führen und messbare Veränderungen der Konzentration von Gallensäuren im Blut hervorrufen. Somit sind Gallensäuren im Blut ein sensibler Marker für Lebererkrankungen (1; 2; 3) und eignen sich als früher Indikator z.B. für toxische Einflüsse auf die Leber (Arzneimittel, Alkohol, Lösungsmittelexposition etc.).

Das relativ unspezifische Symptom Pruritus zusammen mit dem spezifischen Laborergebnis der erhöhten Gallensäuren im Blut definiert das Krankheitsbild der intrahepatischen Cholestase in der Schwangerschaft (ICS, oder englisch ICP).

Gallensäuren im Blut sind der sensitivste Laborparameter für die Diagnostik der ICP ref. Eine ICP tritt in Europa in ca. 0,2 % aller Schwangerschaften (höchste Prävalenz in Schweden: 1–1,5 %) (4) auf und kann auf einer genetischen Prädisposition der Schwangeren beruhen. In der zweiten Hälfte der Schwangerschaft wird die ICP

durch die dann auftretenden hohen Hormonspiegel ausgelöst. Klinisch fassbar ist Juckreiz, der in den Handflächen und Fußsohlen beginnt.

Bei einer unbehandelten ICP besteht ein Risiko für Frühgeburten (19–60%) und Komplikationen beim Neugeborenen (intrapartale Notfallsituation: 22–41%) sowie für intrauterinen Tod (0,75–1,6%) (4). Nach einer aufgetretenen ICP ist eine Cholestase auch unter oraler Kontrazeption möglich, da die ICP durch Hormonspiegel ausgelöst wird. Auch bei weiteren Schwangerschaften besteht ein erhöhtes Risiko für das erneute Auftreten einer ICP (45–70%) (5).

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 7877CV	STD	Standard 48 µmol/l, gebrauchsfertig	1 x 250 µl
K 7877CV	CTRL1	Kontrolle, gebrauchsfertig (Bereich der Spezifikation entnehmen)	1 x 250 µl
K 7877CV	CTRL2	Kontrolle, gebrauchsfertig (Bereich der Spezifikation entnehmen)	1 x 250 µl
K 7877CV	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 10 ml
K 7877CV	RGZ1	Reagenz 1, gebrauchsfertig	1 x 20 ml
K 7877CV	RGZ2	Reagenz 2, gebrauchsfertig	1 x 6 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Einmalküvetten (wir empfehlen PS 1,5 ml halbmikro Einmal-Küvetten, 12,5 x 12,5 x 45 mm von Brand GmbH + Co KG, 97861 Wertheim, Cat. No. 7590 15)
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Küvettenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Achtung: Bitte nehmen Sie die Kit-Komponenten **RGZ1** (Reagenz 1) und **RGZ2** (Reagenz 2) sofort nach Erhalt aus der Transportverpackung und beachten Sie die auf den Produktetiketten aufgedruckten Hinweise zu den Lagerbedingungen.

- **RGZ1** und **RGZ2** sind, bei **-20°C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.
- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzenrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Der **Probenverdünnungspuffer** (SAMPLEBUF) wird im Test als **Leerwert** (Blank) eingesetzt.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8°C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Lagerung

Frisch abgenommenes Serum ist eine Woche bei 2–8°C oder 3 Monate bei -20°C stabil.

Probenvorbereitung

Die Serumproben werden unverdünnt im Test eingesetzt.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

Dieser photometrische Test dient zur quantitativen Bestimmung der Gallensäuren im Serum. Hierbei werden Gallensäuren in Gegenwart eines Überschusses von Thio-NAD mittels des Enzyms 3- α -Hydrosteroid-Dehydrogenase unter Bildung von Thio-NADH zu 3-Keto-Steroiden oxidiert. Die Bildungsrate von Thio-NADH kann photometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm ermittelt werden.

Es wird ein Standard mitgeführt, an dem die Gallensäuren-Konzentrationen der Proben direkt abgelesen werden.

Pipettierschema

Vor Gebrauch alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (15–30 °C) bringen, gut mischen.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

1.	450 µl Reagenz 1 (RGZ1) in die Küvette pipettieren.
2.	30 µl Standard/Kontrollen/Leerwert/Proben in die jeweilige Küvette hinzupipettieren und gut mischen.
3.	5 min bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
4.	150 µl Reagenz 2 (RGZ2) hinzu pipettieren und gut mischen.
5.	1 min bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
6.	<p>Direkt nach der einminütigen Inkubationszeit zum ersten Mal messen, anschließend die Küvette zwei Minuten abgedunkelt stehen lassen und danach ein zweites Mal messen. Der genaue Zeitabstand zwischen beiden Messungen wird notiert. Die Steigung (ΔOD) ergibt sich aus der Differenz von End-OD und Anfangs-OD geteilt durch den zeitlichen Abstand beider Messungen:</p> $\Delta OD = (\text{End-OD} - \text{Anfangs-OD}) / \text{Zeitabstand}$

8. ERGEBNISSE

Berechnung der Probenkonzentration

$$\text{Konzentration}_{\text{Probe}} = \frac{\Delta OD_{\text{Probe}} - \Delta OD_{\text{Leerwert}}}{\Delta OD_{\text{Standard}} - \Delta OD_{\text{Leerwert}}} \times 48 \mu\text{mol/l}$$

9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer Gallensäurekonzentration größer als der Standard 48 µmol/l sollten mit Probenverdünnungspuffer verdünnt und nochmals gemessen werden. Bei der folgenden Auswertung ist der veränderte Verdünnungsfaktor zu beachten.

10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

Referenzwerte

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

11. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit von drei Ergebnissen innerhalb einer Messserie wurde geprüft. Drei Serumproben wurden 5-mal im IDK® Gallensäuren von einer Person angesetzt.

Probe	Gallensäuren [µmol/l]	VK [%]
1	1,3	4,6
2	21,4	9,1
3	7,1	7,1

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze wurde festgelegt als $B_0 + 2 \text{ SD}$. Gemessen wurde 20-mal der Standard null. Die Messungen ergaben eine Nachweisgrenze von 0,19 µmol/l.

12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind giftig. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.

- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST












- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- IDK® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

15. LITERATUR

1. Janel, J. et al., 2015. Serum Bile Acid Levels in Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **61**(1), pp.85–90.
2. Ohtani, N., Yoshimoto, S. & Hara, E., 2014. Obesity and cancer: A gut microbial connection. *Cancer Research*, **74**(7), pp.1885–1889.
3. Setchell, K.D. & Matsui, A., 1983. Serum bile acid analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, **127**(1), pp.1–17.

4. Glantz, A., Marschall, H.-U. & Mattsson, L.-A., 2004. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, **40**(2), pp.467–474.
5. Paus, T. et al., 2002. Diagnostik und Therapie der Schwangerschaftscholestase. *Frauenarzt*, **43**(8), pp.907–911.
6. Halilbasic, E., Claudel, T. & Trauner, M., 2013. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond. *Journal of Hepatology*, **58**(1), pp.155–168.
7. Vincent, R.P. et al., 2013. Higher circulating bile acid concentrations in obese patients with type 2 diabetes. *Annals of clinical biochemistry*, **50**(Pt 4), pp.360–4.
8. Wertheim, B.C. et al., 2009. Physical activity as a determinant of fecal bile acid levels. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, **18**(5), pp.1591–1598.
9. Wong, B.S. et al., 2012. Increased Bile Acid Biosynthesis Is Associated With Irritable Bowel Syndrome With Diarrhea. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **10**(9).
10. Hofman AF (1999) Bile Acids: The Good, the Bad, and the Ugly. *News Physiol. Sci.* **14**: 24-29.

Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		

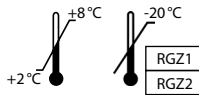
IDK[®] Bile Acids

*Photometric test system for the in vitro determination
of bile acids in serum*

Valid from 2022-11-07



K 7877CV



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	11
2. INTRODUCTION	11
3. MATERIAL SUPPLIED	12
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	12
5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS	12
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	13
<i>Sample storage</i>	13
<i>Sample preparation</i>	13
7. ASSAY PROCEDURE	13
<i>Principle of the test</i>	13
<i>Test procedure</i>	13
8. RESULTS	14
9. LIMITATIONS	14
10. QUALITY CONTROL	14
<i>Reference range</i>	15
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	15
<i>Precision and reproducibility</i>	15
<i>Analytical Sensitivity</i>	15
12. PRECAUTIONS	15
13. TECHNICAL HINTS	15
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	16
15. REFERENCES	16

1. INTENDED USE

This photometric assay is intended for the quantitative determination of bile acids in serum. For *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Bile acids are end products of the hepatic cholesterol metabolism and are secreted into the duodenum together with other bile components like cholesterol, bilirubin, phospholipids and proteins.

Bile acids perform important tasks like excretion of cholesterol via the intestine, absorption of fats and liposoluble vitamins in the small intestine and stimulation of intestinal motility.

Most of the daily secreted bile acids are reabsorbed in the terminal ileum, enter the liver via the portal vein and are again excreted as part of bile. The result of this enterohepatic circulation is a fecal excretion of only 3–5 % of bile acids per day.

Disturbances in the bile acid metabolism can occur at different points of the enterohepatic circulation:

- impaired bile synthesis in liver cells
- intrahepatic cholestase
- extrahepatic closure of the bile duct
- bile acid malabsorption in the intestine
- impaired bile acid reabsorption in the liver
- impaired intracellular metabolism (recycling) in liver cells

An hereditary or acquired dysfunction of the liver, e.g. caused by infections, metabolic diseases, drugs or toxins, causes detectable changes of bile acid concentrations in blood.

Bile acids in blood are a sensitive marker for liver diseases^{1,2,3} and are suited for early indicator for e.g. toxic effects on the liver (drugs, alcohol, solvent exposure etc.).

Together with the rather unspecific symptom pruritus, elevated bile acid levels in blood define the clinical picture of intrahepatic cholestase during pregnancy (ICP).

Bile acids in blood are the most sensitive laboratory parameter for the diagnostics of ICP. In Europe, ICP occurs during 0,2 % of all pregnancies (highest prevalence in Sweden: 1–1,5 %)⁴ and is mostly due to a genetic predisposition of the mother. In the second half of pregnancy, ICP is triggered by high hormone levels. The visible clinical symptom is pruritus, starting at palms and sole of the feet.

Untreated ICP bears the risk of premature birth (19–60%), complications for the newborn (intrapartal emergency situation: 22–41%) and intrauterine death (7.5–1.6%)⁴. After an ICP occurred, a cholestase is also possible on oral contraceptive, as the ICP is caused by increased hormone levels. There is also a risk for recurrence of ICP during further pregnancies (45–70%)⁵.

3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 7877CV	STD	Standard 48 µmol/l, ready-to-use	1 x 250 µl
K 7877CV	CTRL1	Control, ready-to-use (see specification for range)	1 x 250 µl
K 7877CV	CTRL2	Control, ready-to-use (see specification for range)	1 x 250 µl
K 7877CV	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer, ready-to-use	1 x 10 ml
K 7877CV	RGZ1	Reagent 1, ready-to-use	1 x 20 ml
K 7877CV	RGZ2	Reagent 2, ready-to-use	1 x 6 ml

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water*
- Calibrated precision pipettors and 10–1 000 µl single-use tips
- Disposable cuvettes (we recommend PS 1,5 ml semi-micro disposable cuvettes, 12,5 x 12,5 x 45 mm, Brand GmbH + Co KG, D-97861 Wertheim, Germany, Cat. No. 7590 15)
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Cuvette photometer (required filters see chapter 7)

* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

Attention: Please unpack the kit components **RGZ1** (Reagent 1) and **RGZ2** (Reagent 2) from the transport packaging immediately upon receipt and follow the instructions for storage conditions printed on the product labels.

- **RGZ1** and **RGZ2** can be used until the expiry date stated on the label when stored at **-20 °C**.
- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.**
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- **Sample dilution buffer** (SAMPLEBUF) is used as **blank**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8 °C**.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Sample storage

Freshly collected serum can be stored at 2–8 °C for one week or for 3 months at -20 °C.

Sample preparation

Serum samples do not have to be diluted to be used in the assay.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

This assay is designed for the quantitative determination of bile acids in serum.

In the presence of excess thio-NAD, bile acids are converted to 3-keto steroids by the enzyme 3- α -hydroxysteroid dehydrogenase while thio-NADH is formed.

The rate of formation of thio-NADH can be determined by the change of absorbance (DOD) at 405 nm.

The bile acids concentration of the samples is determined directly from the accompanied standard.

Test procedure

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30 °C) and mix well.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Pipet 450 µl reagent 1 (RGZ1) into the cuvette.
2.	Add each 30 µl standard/controls/blank/samples into the respective cuvette and mix well.
3.	Incubate 5 min at room temperature (15–30 °C).
4.	Add 150 µl reagent 2 (RGZ2) and mix well.
5.	Incubate 1 min at room temperature (15–30 °C).
6.	Take the first measurement of absorption directly after the 1 minute incubation , cover the cuvette for 2 min (please note the exact time interval) and then take a second measurement . The slope (ΔOD) corresponds to the difference of final OD and start OD divided by the time interval between the two measurements. $\Delta OD = (\text{final OD} - \text{start OD})/\text{time interval}$

8. RESULTS

Calculation of sample concentration

$$\text{Concentration}_{\text{sample}} = \frac{\Delta OD_{\text{sample}} - \Delta OD_{\text{blank}}}{\Delta OD_{\text{standard}} - \Delta OD_{\text{blank}}} \times 48 \mu\text{mol/l}$$

9. LIMITATIONS

Samples with a concentration of bile acids higher than the standard 48 µmol/l should be further diluted with sample dilution buffer and re-assayed. For the following analysis, the changed dilution factor has to be taken into consideration.

10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

Reference range

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision and reproducibility

The reproducibility of three results in one measurement series was evaluated. Three samples were analysed 5 times by one person using the IDK® Bile acids.

Sample	Bile acids [$\mu\text{mol/l}$]	CV [%]
1	1.3	4.6
2	21.4	9.1
3	7.1	7.1

Analytical Sensitivity

The zero standard was measured 20 times. The detection limit was set as $B_0 + 2 \text{ SD}$ and estimated to be $0.19 \mu\text{mol/l}$.

12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Kit reagents contain sodium azide or ProCin as bactericides. Sodium azide and ProCin are toxic. Avoid contact with skin or mucous membranes.

13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE












- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- IDK® is a trademarks of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immunodiagnostik AG along with a written complaint.

15 .REFERENCES

1. Jahnel, J. et al., 2015. Serum Bile Acid Levels in Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **61**(1), pp.85–90.
2. Ohtani, N., Yoshimoto, S. & Hara, E., 2014. Obesity and cancer: A gut microbial connection. *Cancer Research*, **74**(7), pp.1885–1889.
3. Setchell, K.D. & Matsui, A., 1983. Serum bile acid analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, **127**(1), pp.1–17.
4. Glantz, A., Marschall, H.-U. & Mattsson, L.-A., 2004. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, **40**(2), pp.467–474.
5. Paus, T. et al., 2002. Diagnostik und Therapie der Schwangerschaftscholestase. *Frauenarzt*, **43**(8), pp.907–911.
6. Halilbasic, E., Claudel, T. & Trauner, M., 2013. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond. *Journal of Hepatology*, **58**(1), pp.155–168.
7. Vincent, R.P. et al., 2013. Higher circulating bile acid concentrations in obese patients with type 2 diabetes. *Annals of clinical biochemistry*, **50**(Pt 4), pp.360–4.
8. Wertheim, B.C. et al., 2009. Physical activity as a determinant of fecal bile acid levels. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, **18**(5), pp.1591–1598.

9. Wong, B.S. et al., 2012. Increased Bile Acid Biosynthesis Is Associated With Irritable Bowel Syndrome With Diarrhea. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **10**(9).
10. Hofman AF (1999) Bile Acids: The Good, the Bad, and the Ugly. *News Physiol. Sci.* **14**: 24-29.

Used symbols:

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

