

VETSCAN®

Передопераційний / Базовий профіль - Prep Profile II

Січень 2023

PN: 51630900

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Призначення

Реагентний ротор VetScan® Prep Profile II, який використовується з аналізатором VetScan Chemistry Analyzer, застосовує сухі та рідкі реагенти для *in vitro* кількісного визначення аланінамінотрансферази (ALT), лужної фосфатази (ALP), креатиніну (CRE), глюкози (GLU), загального білка (TP) та азоту сечовини крові (BUN) у гепаринізованій цільній крові, гепаринізованій плазмі або сироватці.

2. Стислий опис досліджень

Реагентний ротор VetScan Prep Profile II та аналізатор VetScan Chemistry Analyzer становлять діагностичну систему *in vitro*, яка допомагає ветеринару діагностувати такі порушення:

Аланінамінотрансфераза	Захворювання печінки, зокрема вірусний гепатит і цироз; захворювання серця.
Лужна фосфатаза	Захворювання печінки, кісток, паразитоподібних залоз та кишечника.
Креатинін	Захворювання нирок.
Глюкоза	Цукровий діабет, гіперглікемія, гіпоглікемія, діабет та захворювання печінки.
Загальний білок	Зневоднення, захворювання нирок, печінки, метаболічні та аліментарні порушення.
Азот сечовини крові	Захворювання печінки та нирок.

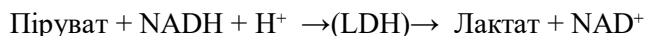
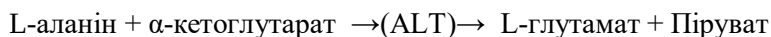
Як і при будь-якій діагностичній процедурі, перед встановленням остаточного діагнозу слід враховувати всі інші дослідження, включно з клінічним станом пацієнта.

3. Принципи методики

Аланінамінотрансфераза (ALT)

Метод, розроблений для використання на аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer, є модифікацією процедури Wróblewski та LaDue, рекомендованої Міжнародною федерацією клінічної хімії (IFCC).^{1,2}

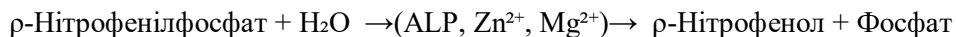
У цій реакції ALT каталізує перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату з утворенням L-глутамату та пірувату. Лактатдегідрогеназа каталізує перетворення пірувату на лактат. Одночасно NADH окислюється до NAD⁺, як показано на наведеній нижче схемі реакції.



Швидкість зміни різниці поглинання між 340 нм і 405 нм зумовлена перетворенням NADH на NAD⁺ і прямо пропорційна кількості ALT у зразку.

Лужна фосфатаза (ALP)

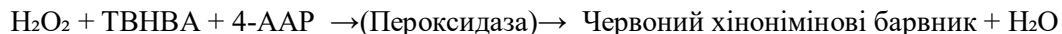
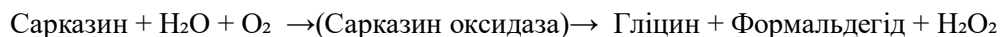
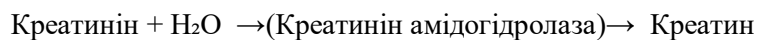
Методика VetScan є модифікацією методів AACC та IFCC.³ Лужна фосфатаза гідролізує р-NPP у буфері з металевими іонами, утворюючи р-нітрофенол і фосфат. Використання р-нітрофенілфосфату (р-NPP) підвищує швидкість реакції.^{4,5} Надійність цієї методики значно підвищується завдяки використанню буфера з металевими іонами для підтримання концентрації іонів магнію та цинку в реакції.⁶ Референтний метод Американської асоціації клінічної хімії (AACC) використовує р-NPP як субстрат і буфер на основі металевих іонів.⁷



Кількість ALP у зразку пропорційна швидкості зростання різниці поглинання між 405 нм і 500 нм.

Креатинін (CRE)

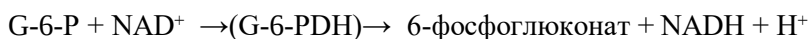
Метод Яффе, вперше запропонований у 1886 році, досі широко використовується для визначення рівня креатиніну в крові. Сучасний референтний метод поєднує використання фулерової землі (флоридину) з методикою Яффе для підвищення специфічності реакції.^{8,9} Розроблено ферментативні методи, більш специфічні для креатиніну, ніж різні модифікації методики Яффе.^{10,11,12} Методи з використанням ферменту креатиніну амідогідролази усувають проблему перешкод з боку іонів амонію, характерну для методик з використанням креатиніну імінгідролази.¹³



Для визначення концентрації креатиніну у зразку використовуються дві кювети. Ендогенний креатин вимірюється у холостій кюветі, значення якої віднімається від сумарного показника ендогенного креатину та креатину, утвореного внаслідок ферментативних реакцій у дослідній кюветі. Після виключення ендогенного креатину з розрахунків концентрація креатиніну стає пропорційною інтенсивності утвореного червоного забарвлення. Кінцева реакція вимірюється як різниця поглинання між 550 нм і 600 нм.

Глюкоза (GLU)

Вимірювання концентрації глюкози спочатку проводили методами мідь-редукції (такими як Folin-Wu та Somogyi-Nelson).^{14,15,16} Недостатня специфічність методів мідь-редукції призвела до розробки кількісних процедур із використанням ферментів гексокінази та глюкозооксидази. Метод визначення глюкози Abaxis є модифікованою версією гексокіназного методу, запропонованого як основа референтного методу визначення глюкози.¹⁷ Реакція глюкози з аденозинтрифосфатом (ATP), яку каталізує гексокіназа (HK), утворює глюкозо-6-фосфат (G-6-P) та аденозиндифосфат (ADP). Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (G-6-PDH) каталізує перетворення G-6-P на 6-фосфоглюконат і відновлення нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD⁺) до NADH.



Загальний білок (TP)

Метод визначення загального білка є модифікацією біуретової реакції, відомої своєю точністю, достовірністю та специфічністю.¹⁸ Спочатку його розробив Riegler, а модифікували Weichselbaum, Doumas та ін. Біуретова реакція є кандидатним референтним методом визначення загального білка.^{19,20,21}

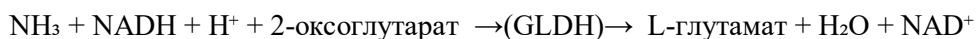
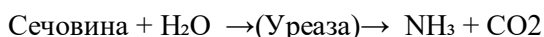
У біуретовій реакції розчин білка обробляють іонами міді(II) [Cu(II)] у сильнолужному середовищі. Тартрат натрію-калію та йодид калію додаються для запобігання осадженню гідроксиду міді та автовідновленню міді відповідно.⁴¹ Іони Cu(II) реагують з пептидними зв'язками між карбонільним киснем та амідним азотом з утворенням забарвленого Cu-білкового комплексу.



Кількість загального білка у зразку прямо пропорційна поглинанню Cu-білкового комплексу. Тест на загальний білок є кінцевою (endpoint) реакцією, а поглинання вимірюється як різниця поглинання між 550 нм і 850 нм.

Азот сечовини крові (BUN)

У системі Abaxis використовується сполучена ферментативна реакція. У цій реакції уреаза гідролізує сечовину до аміаку та вуглекислого газу.²² Після поєднання аміаку з 2-оксоглутаратом і відновленим нікотинамідаденіндинуклеотидом (NADH) фермент глутаматдегідрогеназа (GLDH) окислює NADH до NAD⁺.



Швидкість зміни різниці поглинання між 340 нм і 405 нм зумовлена перетворенням NADH на NAD⁺ і прямо пропорційна кількості сечовини у зразку.

4. Принцип роботи

Див. посібник оператора аналізатора VetScan Chemistry Analyzer щодо принципів та обмежень методики.

5. Опис реагентів

Реагенти

Кожен реагентний ротор VetScan Prep Profile II містить сухі реагентні гранули, специфічні для кожного тесту. Сухий реагент «холостої проби зразка» (buffer blank reagent), що складається з буфера, поверхнево-активних речовин, допоміжних речовин і консервантів, включений до кожного реагентного ротора для розрахунку концентрацій аланінамінотрансферази, лужної фосфатази, глюкози та азоту сечовини. Окремі холості проби зразка включені до ротора для розрахунку концентрацій креатиніну та загального білка. Кожен реагентний ротор також містить розчинник, що складається з поверхнево-активних речовин і консервантів.

Попередження та застереження

- Тільки для ветеринарного in vitro діагностичного застосування.
- Контейнер з розчинником у реагентному роторі автоматично відкривається, коли закривається шухляда аналізатора. Ротор з відкритим контейнером розчинника не можна використовувати повторно. Перед закриттям шухляди переконайтеся, що зразок або контроль вже поміщено в ротор.
- Реагентні гранули можуть містити кислоти або їдкі речовини. Оператор не контактує з реагентними гранулами при дотриманні рекомендованих процедур. У разі контакту з гранулами (наприклад, під час прибирання після падіння або тріщини ротора) уникайте потрапляння всередину, на шкіру або вдихання.
- Деякі реагентні гранули містять азид натрію, який може реагувати зі свинцевими та мідними трубами з утворенням вибухонебезпечних азидів металів. Реагенти не контактують із свинцевими та мідними трубами при дотриманні рекомендованих

процедур. Однак якщо реагенти все ж потрапили на такі труби, промийте великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду.

Інструкції з поводження з реагентами

Реагентні ротори можна використовувати одразу з холодильника без попереднього нагрівання. Відкрийте запаяний фольгований пакет і вийміть ротор, уникаючи торкання кільця зі штрих-кодом, розташованого зверху ротора. Використовуйте згідно з інструкціями, наведеними в посібнику оператора VetScan. Ротор, не використаний протягом 20 хвилин після відкриття пакета, слід утилізувати. Ротори з відкритих пакетів не можна повертати назад у холодильник для подальшого використання.

Зберігання

Зберігайте реагентні ротори в запаяних пакетах при температурі 2–8 °C (36–46 °F). Не піддавайте відкриті або закриті ротори впливу прямого сонячного світла або температур вище 32 °C (90 °F). Не допускайте, щоб ротори, запаяні у фольгованих пакетах, залишалися за кімнатної температури довше 48 годин перед використанням. Відкривайте пакет і виймайте ротор безпосередньо перед використанням.

Ознаки нестабільності або погіршення якості реагентного ротора

- Усі реагенти в реагентному роторі за умови зберігання, описаного вище, стабільні до дати закінчення терміну придатності, вказаної на пакеті ротора. Не використовуйте ротор після закінчення терміну придатності. Дата закінчення терміну придатності також закодована у штрих-коді, надрукованому на кільці зі штрих-кодом. Якщо реагенти прострочені, на дисплеї аналізатора VetScan Chemistry Analyzer з'явиться повідомлення про помилку.
- Розірваний або іншим чином пошкоджений пакет може пропускати вологу до невикористаного ротора та негативно впливати на роботу реагентів. Не використовуйте ротор із пошкодженого пакета.

6. Прилад

Див. посібник оператора VetScan щодо повної інформації про використання аналізатора.

7. Забір і підготовка зразка

Мінімальний необхідний обсяг зразка становить ~100 мкл гепаринізованої цільної крові, гепаринізованої плазми, сироватки або контролю. Камера для зразка реагентного ротора може вмістити до 120 мкл зразка.

- Зразки, зібрані у гепаринізовану мікропіпетку, слід **негайно** дозувати у реагентний ротор після забору.
- Використовуйте лише вакуумні пробірки для забору зразків з літій-гепарином (зелена кришка) для цільної крові або плазми. Використовуйте вакуумні пробірки без добавок (червона кришка) або пробірки-сепаратори сироватки (червона або червоно-чорна кришка) для зразків сироватки.
- Зразки цільної крові, отримані шляхом венепункції, повинні бути гомогенними перед перенесенням зразка в реагентний ротор. Обережно перевертайте пробірки для забору кілька разів безпосередньо перед перенесенням зразка. **Не** струшуйте пробірку для забору. Струшування може спричинити гемоліз.
- Тест необхідно розпочати протягом 10 хвилин після перенесення зразка в реагентний ротор.
- Зразки, отримані шляхом венепункції цільної крові, слід аналізувати протягом 60 хвилин після забору; якщо це неможливо, відокремте зразок і перенесіть його в чисту пробірку.²³

Аналізуйте відокремлену плазму або сироватку протягом 5 годин після центрифугування. Якщо це неможливо, зберігайте зразок у закритій пробірці при температурі 2–8 °C (36–46 °F) не довше 48 годин. Зразок плазми або сироватки можна зберігати при -10 °C (14 °F) до 5 тижнів у морозильній камері без циклу автоматичного розморожування.

- **Концентрація глюкози** знижується приблизно на 5–12 мг/дл за 1 годину в невідцентрифугованих зразках, що зберігаються за кімнатної температури.²⁴
- Охолодження зразків цільної крові може спричиняти значні зміни концентрацій **глюкози** та **креатиніну**.²⁵

Відомі речовини-перешкоди

- Єдиним антикоагулянтом, рекомендованим для використання з аналізатором VetScan Chemistry Analyzer, є літій-гепарин. Abaxis провела дослідження, які демонструють, що EDTA, фторид, оксалат та будь-який антикоагулянт, що містить іони амонію, впливатимуть щонайменше на один показник у реагентному роторі VetScan Prep Profile II.
- Фізичні перешкоди (гемоліз, іктеричність та ліпемія) можуть спричиняти зміни у зареєстрованих концентраціях деяких аналітів. Індокси зразка друкуються внизу кожної результатної картки, щоб інформувати оператора про рівні перешкоджаючих факторів у кожному зразку. Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer приховує будь-які результати, на які суттєво впливають гемоліз, ліпемія або іктеричність. Замість результату на картці друкується «HEM», «LIP» або «ICT».
- **Концентрація глюкози** залежить від часу, що минув з моменту прийому їжі пацієнтом, а також від типу відібраного зразка. Для точної інтерпретації результатів глюкози зразки слід відбирати у пацієнта, який голодував щонайменше 12 годин.²⁶
- Перешкоди можуть спостерігатися в тесті на загальний білок при аналізі зразків з ліпемічним індексом 3+.²⁷ Зразки з концентрацією тригліцеридів >400 мг/дл можуть показувати завищений рівень загального білка. Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer приховує будь-які результати, на які впливає перешкода з боку ліпемії понад 10%. Замість результату на картці друкується «LIP».

8. Процедура

Надані матеріали

- Один реагентний ротор VetScan Prep Profile II

Матеріали, необхідні, але не надані

- Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer

Параметри тесту

Система VetScan працює за температури навколишнього середовища від 15 °C до 32 °C (59–90 °F). Час аналізу для кожного реагентного ротора VetScan Prep Profile II становить менше 14 хвилин. Аналізатор підтримує температуру реагентного ротора на рівні 37 °C (98,6 °F) протягом усього періоду вимірювання.

Процедура тестування

Повна процедура забору зразка та покрокова робоча процедура детально описані в посібнику оператора VetScan.

Калібрування

Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer калібрується виробником перед відвантаженням. Штрих-код, надрукований на кільці зі штрих-кодом, надає аналізатору калібрувальні дані, специфічні для ротора. Див. посібник оператора VetScan.

Контроль якості

Контролі можуть періодично прогонятися на аналізаторі VetScan Chemistry Analyzer для перевірки точності аналізатора. Abaxis рекомендує використовувати комерційно доступний контроль на основі сироватки. Прогоняйте контролі на реагентному роторі так само, як і зразки пацієнтів. Див. посібник оператора VetScan щодо запуску контролів.

9. Результати

Аналізатор VetScan Chemistry Analyzer автоматично розраховує та друкує концентрації аналітів у зразку. Деталі розрахунків кінцевої точки (endpoint) та швидкості реакції наведені в посібнику оператора VetScan.

10. Обмеження методики

Загальні процедурні обмеження описані в посібнику оператора системи VetScan.

- Зразки з гематокритом, що перевищує 60% об'єму упакованих еритроцитів, можуть давати неточні результати. Зразки з високим гематокритом можуть бути позначені як гемолізовані. Такі зразки можна відцентрифугувати, а отриману плазму повторно прогнати в новому реагентному роторі.

Попередження: Розширене тестування аналізатора VetScan Chemistry Analyzer показало, що у дуже рідкісних випадках зразок, дозований у реагентний ротор, може не потрапляти рівномірно в камеру для зразка. Через нерівномірний потік може бути проаналізована недостатня кількість зразка, і кілька результатів можуть виходити за межі встановлених референтних діапазонів. Зразок можна повторно прогнати, використовуючи новий реагентний ротор.

11. Характеристики продуктивності (лінійність)

Хімічна реакція для кожного аналіту є лінійною в межах динамічного діапазону, вказаного нижче, коли система VetScan експлуатується згідно з рекомендованою процедурою (див. посібник оператора VetScan). Наведена нижче таблиця динамічних діапазонів відображає спектр значень, які може визначити система VetScan. **Наведені нижче інтервали не є нормальними (референтними) діапазонами.**

Таблиця 1: Динамічні діапазони VetScan

Аналіт	Динамічний діапазон (загальноприйняті одиниці)	Динамічний діапазон (одиниці CI)
ALT	5 – 2000 Од/л	5 – 2000 Од/л
ALP	5 – 2400 Од/л	5 – 2400 Од/л
CRE	0,2 – 20 мг/дл	18 – 1768 мкмоль/л
GLU	10 – 700 мг/дл	0,6 – 38,9 ммоль/л
TP	2 – 14 г/дл	20 – 140 г/л
BUN	2 – 180 мг/дл	0,7 – 64,3 ммоль сечовини/л

12. Бібліографія

(Бібліографічні джерела наведено мовою оригіналу відповідно до наукової практики цитування — назви статей і журналів не перекладаються, щоб зберегти точність посилань.)

- Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956;91:569-71.
- Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J. Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-34.

3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan. 1937;30:69-87.
6. Petittler C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. Clin Chem 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. J Biol Chem 1919;38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. Z Anal Chem 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16:40-9.
21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981;27:1642-50.
22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. Am J Med Tech 1982;48:543-5.