

VETSCAN®

Профіль T4 / Холестерин - Thyroxine (T4) / Cholesterol Panel

Січень 2023

PN: 51631100

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

1. Призначення

Реагентний потоп VetScan T4/Cholesterol, який використовується з аналізатором VetScan Whole Blood Analyzer, застосовує сухі та рідкі реагенти для *in vitro* кількісного визначення тироксину (T4) та холестерину у гепаринізованій цільній крові, гепаринізованій плазмі або сироватці.

2. Стислий опис досліджень

Тироксин (T4)

Тироксин — це гормон, який синтезується та секретується щитоподібною залозою. Основною секреторною формою гормону щитоподібної залози є тетраїодтиронін (T4), хоча в кров також секретується деяка кількість трийодтироніну (T3). Співвідношення T4 до T3 у плазмі собак становить 25:1. Потрапляючи в кров, T4 і T3 зв'язуються з транспортними білками. Основним зв'язувальним білком є тироксинзв'язувальний глобулін (TBG) у собак і альбумін у котів. При доставці до клітини-мішені T4 дейдується до T3 на поверхні клітини. T3 є біологічно активною формою гормону щитоподібної залози і легше проникає в клітину-мішень.

Гормон щитоподібної залози має численні ефекти на організм, включно з клінічними, фізіологічними, калоригенними, метаболічними (вуглеводний, білковий та ліпідний обмін), розвитковими, репродуктивними та гематологічними. Визначення T4 допомагає в діагностиці гіпотиреозу та гіпертиреозу, а також у моніторингу терапії натрію левотироксином і метимазолом.

Клінічні ознаки аномальних рівнів T4 часто є невизначеними. Найпоширенішими видимими ознаками гіпотиреозу у собак є зміни шкіри та шерсті, наприклад алопеція або сухе, тьмяне хутро. До інших ознак у собак належать летаргія, знижена переносимість фізичних навантажень, слабкість, атрофія м'язів, ліпідні відкладення на рогівці та діарея. Клінічні ознаки гіпотиреозу у котів включають летаргію та ожиріння (особливо при ятрогенному гіпотиреозі), алопецію, епіляцію та брадикардію.

Найпоширенішими клінічними ознаками гіпертиреозу у котів є втрата ваги та поліфагія. До інших поширених ознак належать неспокій, тахікардія, поліурія-полідипсія, алопеція та діарея.

Холестерин

Холестерин є важливим попередником ефірів холестерину, жовчних кислот і стероїдних гормонів, а також компонентом плазматичних мембран. Швидкість біосинтезу холестерину в печінці опосередковано пропорційна споживанню з їжею. Рівень холестерину в організмі опосередковано контролюється гормоном щитоподібної залози, який стимулює вироблення жовчних кислот. Оскільки жовчні кислоти синтезуються з холестерину, рівень холестерину змінюється обернено пропорційно активності гормону щитоподібної залози.

Рівень холестерину можна використовувати для виявлення гіперліпідемії або як скринінговий тест на гіпотиреоз та гіперадренокортицизм. Результати тесту на холестерин найбільш корисні при аналізі в поєднанні з іншими клінічно-хімічними тестами.

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

3. Принципи методики

Тироксин (Т4)

Першим клінічно застосовним прямим методом визначення тироксину був конкурентний білокзв'язувальний аналіз (СРВА), розроблений Murphy та Pattee на початку 1960-х років.¹ Радіоімунологічні методи з вищою чутливістю та специфічністю значною мірою замінили СРВА.² Занепокоєння щодо радіоактивних відходів і потенційної шкоди для здоров'я сприяло розробці неізотопних тестів, таких як ферментний та флуоресцентний імуноаналіз. Показано, що ферментні імуноаналізи (EIA) для тироксину мають, при клінічно значущих рівнях, точність і прецизійність, еквівалентні автоматизованим методам RIA.³ Запропоновано метод ізотопного розведення з мас-спектрометрією як референтний метод, проте він є дуже складним і трудомістким.⁴

Abaxis адаптувала комерційно доступний метод EIA для використання в аналізаторі VetScan Whole Blood Analyzer. У цій реакції 8-аніліно-1-нафталінсульфонова кислота (ANS) спричиняє вивільнення ендogenous Т4 із зв'язувальних білків. Вивільнений ендogenous Т4 конкурує за місця зв'язування з антитілом (Ab) з Т4, міченим ферментом глюкозо-6-фосфатдегідрогеназою (кон'югат G6PDH-Т4). Кон'югат G6PDH-Т4, зв'язаний з антитілом, має нижчу активність, ніж незв'язаний кон'югат. Зі зростанням зв'язування ендogenous Т4 кількість незв'язаного ферментного кон'югату збільшується. Активний фермент відновлює нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+) до NADH.

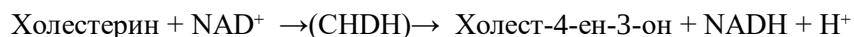
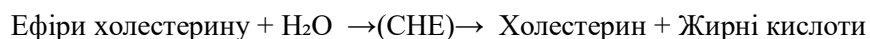


Швидкість зміни поглинання при 340 нм зумовлена перетворенням NAD^+ на NADH і прямо пропорційна кількості ендogenous Т4 у зразку.

Холестерин

Найпоширеніші тести використовують ферментативні реакції кінцевої точки (endpoint). Ці прості процедури зазвичай застосовують холестеролестеразу та холестеролоксидазу з реакцією Тріндера-фінішу.^{5,6} Abaxis розробила ферментативний метод, який використовує холестеролдегідрогеназу замість холестеролоксидази. Використання холестеролдегідрогенази усуває реакцію Тріндера, тим самим уникаючи перешкод з боку фізіологічних аналітів, таких як білірубін і гемоглобін.

Холестеролестераза гідролізує ефіри холестерину та H_2O з утворенням холестерину та жирних кислот. Холестерин окислюється холестеролдегідрогеназою до холестенону, а нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+) відновлюється до NADH.



Поглинання вимірюється бихроматично при 340 нм і 405 нм. Також вимірюється спеціальна холоста проба, щоб забезпечити відсутність сторонніх реакцій, що впливають на розрахунки рівня холестерину. Утворення NADH у цій кінцевій (endpoint) реакції прямо пропорційне кількості холестерину, наявного 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 T4/Cholesterol 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 індексів зразка. Кожен реагентний ротор також

містить розчинник, що складається з поверхнево-активних речовин, ANS, антитіл до T4 та консервантів.

Попередження та застереження

- Тільки для 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.
- Реагентні гранули та розчинник 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 системи 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 24 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 Whole Blood 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 системи 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 контрольної сироватки. Камера для зразка реагентного ротора може вмістити до 120 мкл зразка.

- Зразок, зібраний 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.⁷ 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.

Відомі речовини-перешкоди

- Єдиним антикоагулянтом, рекомендованим для використання з аналізатором VetScan Whole Blood Analyzer, є літій-гепарин.
- Фізичні перешкоди (гемоліз, іктеричність та ліпемія) можуть спричиняти зміни у зареєстрованих концентраціях деяких аналітів. Індeksi зразка друкуються внизу кожної результатної картки, щоб інформувати оператора про рівні перешкоджаючих факторів у кожному зразку. Аналізатор VetScan Whole Blood Analyzer приховує будь-які результати, на які суттєво впливають гемоліз, ліпемія або іктеричність. Замість результату на картці друкується «HEM», «LIP» або «ICT».

8. Процедура

Надані матеріали

- Один реагентний ротор VetScan T4/Cholesterol

Матеріали, необхідні, але не надані

- Аналізатор VetScan Whole Blood 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 T4/Cholesterol 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 системи VetScan.

Калібрування

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

Контроль якості

Контролі можуть періодично прогонятися на аналізаторі VetScan Whole Blood 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 системи VetScan щодо запуску контролів.

9. Результати

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

Інтерпретація результатів

Підвищений T4

- Концентрації T4 зазвичай вищі у собак віком до одного року і знижуються з віком собаки.
- Підвищений рівень T4 у котів є надійним показником гіпертиреозу. Гіпертиреоз — найпоширеніша причина підвищеного T4 і одне з найчастіше діагностованих захворювань у дрібних тварин. Типовою причиною спонтанного гіпертиреозу у котів є функціональна аденома щитоподібної залози. Гіпертиреоз рідко спостерігається у собак, але якщо він трапляється, зазвичай свідчить про неоплазію або введення надмірної кількості натрію левотироксину гіпотиреоїдному собаці. Приблизно 66% канінних неоплазм є аденокарциномами.
- Тестування щитоподібної залози у котів зазвичай проводиться для діагностики гіпертиреозу, моніторингу ефектів антитиреоїдної терапії або моніторингу замісної терапії щитоподібної залози після руйнування неопластичних тканин щитоподібної залози. При оцінці загального T4 у котів необхідно враховувати вік і супутні захворювання. Значення T4 вищі у молодих котів і зазвичай знижуються з віком. У старших котів із підозрою на гіпертиреоз супутні захворювання, такі як ниркова недостатність, можуть спричиняти стан, відомий як синдром еутиреоїдного хворого, який може знижувати загальні значення T4. У таких випадках для підтвердження діагнозу гіпертиреозу використовується тест на вільний T4 методом рівноважного діалізу (fT4ED).
- Три поширені стани потребують підтвердження за допомогою тесту fT4ED. Високі нормальні значення T4 (3–5 мг/дл) у молодого kota без вираженої втрати ваги є нормальними. Високі значення (>5 мг/дл) у старого kota з ознаками втрати ваги зазвичай є діагностичними для гіпертиреозу. Високі нормальні значення (3–5 мг/дл) у старого kota можуть свідчити про гіпертиреоз. Оскільки ці значення можуть пригнічуватися супутнім захворюванням, для діагностики цього прихованого гіпертиреозу необхідний тест на активний гормон (fT4ED).

Знижений T4

- У собак загальний T4 можна використовувати для виключення діагнозу гіпотиреозу. Якщо загальний T4 перебуває в межах норми, дуже мало ймовірно, що собака має гіпотиреоз. Низьке або нижче-нормальне значення T4 може вказувати на, але не підтверджувати, гіпотиреоз, оскільки на T4 впливають нетиреоїдні фактори, такі як лікарські засоби та захворювання. Діагноз гіпотиреозу у собак можна підтвердити за допомогою вільного T4 методом рівноважного діалізу (fT4ED).

- Інші причини зниженого рівня Т4 можуть бути пов'язані з медикаментозною терапією та синдромом еутиреїдного хворого. Глюкокортикоїди є найбільш клінічно значущими препаратами, що впливають на рівень Т4. При синдромі еутиреїдного хворого знижений рівень Т4 спостерігається при таких нетиреоїдних захворюваннях, як гостра та хронічна ниркова недостатність, цукровий діабет, печінкова недостатність та ожиріння.
- Після виключення медикаментозної терапії та синдрому еутиреїдного хворого найпоширенішою причиною зниженого рівня Т4 є первинний гіпотиреоз. Гіпотиреоз у собак найчастіше є результатом лімфоцитарного тиреоїдиту або ідіопатичної атрофії. Пухлини щитоподібної залози, що зруйнували >75% тканини залози, можуть спричиняти клінічні ознаки гіпотиреозу. Вроджені дефекти гіпофіза, руйнування гіпофіза та пригнічення гіпофіза можуть спричиняти вторинний гіпотиреоз у собак.
- Спонтанний гіпотиреоз рідко реєструється у котів. Поширеними причинами феліного гіпотиреозу є двобічна тиреоїдектомія та передозування радіоактивного йоду або антитиреоїдних препаратів у котів із гіпертиреозом.
- У пацієнтів з гіпотиреозом також може спостерігатися підвищена концентрація холестерину.
- Для отримання точної базової концентрації Т4 медикаментозну терапію слід призупинити на кілька днів перед забором зразка у пацієнта.

Гіперхолестеринемія

- Раціон з високим вмістом жиру або зразок крові, взятий невдовзі після прийому їжі пацієнтом, можуть спричинити гіперхолестеринемію. Гіперхолестеринемія не є видимою при візуальному огляді зразка, оскільки вона не спричиняє ліпемію.
- Зниження активності щитоподібної залози спричиняє зменшення катаболізму холестерину, що призводить до підвищення рівня холестерину. Виявлення підвищеного рівня холестерину при скринінговому обстеженні може бути першим показником гіпотиреозу. Холестерин у поєднанні з рівнями вільного Т4 є хорошим показником канінного гіпотиреозу.
- Попередній діагноз гіперліпідемії можна встановити за допомогою рівнів холестерину та ліпемічного індексу, надрукованого на результатній картці VetScan. Концентрація холестерину >300 мг/дл у поєднанні з ліпемічним індексом 2+ або 3+ може вказувати на гіперліпідемію у собак, що голодували. Феліновий гіперліпідемію можна діагностувати, коли концентрація холестерину >200 мг/дл, а індекс становить 1+ або вищий у котів, що голодували.
- Низькі рівні холестерину зазвичай не є проблемою. Гіпохолестеринемія спостерігається при ентеропатії з втратою білка, деяких захворюваннях печінки, певних злоякісних новоутвореннях та тяжкому порушенні харчування. У разі підозри на захворювання печінки слід дослідити результати тестів на аланінамінотрансферазу (ALT), альбумін, лужну фосфатазу (ALP), глобулін, загальний білірубін та загальний білок. Низькі рівні білка, альбуміну та глобуліну можуть спостерігатися у випадках ентеропатії з втратою білка та порушення харчування.

10. Обмеження методики

Загальні процедурні обмеження описані в посібнику оператора системи VetScan.

- Якщо результат конкретного тесту перевищує діапазон аналізу, зразок слід проаналізувати іншим затвердженим методом тестування або надіслати до референтної лабораторії. **Не** розводьте зразок і не прогоняйте його повторно на аналізаторі VetScan Whole Blood Analyzer.

- 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.
- Метод VetScan для визначення Т4 чутливий до перешкод з боку аутоантитіл до Т4. У рідкісних випадках наявності аутоантитіл до Т4 у зразку результати Т4 будуть заниженими.

Попередження: Розширене тестування VetScan 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 результати 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 системи VetScan). Наведена нижче таблиця динамічних діапазонів відображає спектр значень, які може визначити система VetScan.

Таблиця 1: Динамічні діапазони VetScan

Аналіт	Динамічний діапазон (загальноприйняті одиниці)	Динамічний діапазон (одиниці CI)
Тироксин (Т4)	0,5 – 8,0 мкг/дл	6,5 – 103,2 нмоль/л
Холестерин	20 – 520 мг/дл	0,5 – 13,5 ммоль/л

12. Бібліографія

1. Murphy BE, et al. Determinations of thyroxine utilizing the property of protein-binding. J Clin Endocrinol Metab. 1964;24:187-196.
2. Chen I-W, et al. Thyroxine: In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:956-959.
3. Kaplan LA, et al. Evaluation and comparison of radio-flourescence and enzyme-linked immunoassays for serum thyroxine. Clin Biochem. 1981;14:182-186.
4. Moller, et al. Isotope dilution-mass spectrometry of thyroxin proposed as a reference method. Clin Chem. 1983;29:2106-2110.
5. Norma, et al. Polarographic method for rapid micodetermination of cholesterol with cholesterol esterase and cholesterol oxidase. 1976; 22:336-340.
6. Allain, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. 1974; 20:472-475.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.