



# Печеночная расширенная панель

Только для использования в ветеринарной *In Vitro* диагностике

PN: 3630101305  
REAGENT-VBP01-C109-02-STD  
Liver Plus Panel-900-180

## 1. Назначение

Печеночная расширенная панель реагентов, используемая с ветеринарным биохимическим анализатором skyla VB1, предназначена для количественного определения Альбумина (ALB), Щелочной фосфатазы (ALP), Аланинаминотрансферазы (ALT), Аспаратаминотрансферазы (AST), Мочевины в крови (BUN), Общего билирубина (TBIL), Общего белка (TP), Общего холестерина (CHOL),  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы (GGT) и желчных кислот (BA) в цельной крови, плазме и сыворотке животных. Также могут быть получены расчетные значения Глобулина (GLOB) и соотношения Альбумин/ Глобулин (A/G Ratio).

## 2. Основные сведения

В состав Печеночной расширенной панели входит всего 10 наборов сухих реагентов, размещенных в соответствующих измерительных каналах реагентного диска. Пользователю достаточно просто ввести пробу крови в отверстие диска для проб и вставить диск в анализатор. Анализ будет автоматически выполнен в течение 15 минут. После завершения теста рассчитываются также 2 дополнительных показателя. Более подробно конструкция диска описана в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

### Клиническая значимость:

*Альбумин (ALB)*: ALB является одним из показателей функции почек, печени и обезвоживания организма.

*Щелочная фосфатаза (ALP)*: ALP является одним из показателей нарушения функции печени и желчевыводящих путей.

*Аланинаминотрансфераза (ALT)*: ALT используется для обнаружения вирусного гепатита животных, цирроза и различных степеней поражения печени и сопутствующих заболеваний.

*Аспаратаминотрансфераза (AST)*: Показатель AST используется в исследованиях гепатобилиарных заболеваний и степени поражения миокарда.

*Мочевина в крови (BUN)*: BUN является одним из важных показателей для диагностики и прогноза течения болезней почек.

*Общий билирубин (TBIL)*: Показатель TBIL используется для диагностики обструктивных болезней печени и гепатобилиарных заболеваний.

*Общий холестерин (CHOL)*: CHOL используется для исследования метаболического состояния липидов

*Общий белок (TP)*: TP представляет собой показатель синтетической функции печени и степени потери белков, вызванной болезнями почек.

*$\gamma$ -глутамилтранспептидаза (GGT)*: GGT используется для диагностики заболеваний печени, первичных и вторичных опухолей печени.

*Желчные кислоты (BA)*: Показатель BA используется для диагностики заболеваний печени

*Глобулин (GLOB)*: GLOB рассчитывается из значений TP и ALB и используется для оценки функции печени.

*Отношение Альбумин/Globulin Ratio (A/G Ratio)*: A/G Ratio представляет собой соотношение показателей ALB и GLOB. Оно используется для оценки функций печени.

### Методы исследования:

#### ALB

ALB определяется по методу конечной точки биохимической реакции. ALB при реакции с бромокрезоловым зеленым (BCG) образует комплекс желто-зеленого цвета. Оптическая

плотность измеряется на длине волны 600 нм. Содержание ALB в пробе пропорционально связанному ALB.

#### ALP

Активность ALP определяется путем ферментативной реакции *p*-нитрофенилфосфата, гидролизуемого ALP в продукт желтого цвета *p*-нитрофенол, оптическая плотность которого измеряется на длине волны 405 нм. Скорость реакции прямо пропорциональна активности фермента.

#### ALT

Активность ALT определяется путем ферментативной реакции. ALT вступает с аланином и с участием  $\alpha$ -кетоглутарата в каталитическую реакцию, в результате которой образуются глутамат и пируват. В присутствии NADH лактатдегидрогеназа превращает пируват в лактат. В процессе реакции NADH окисляется до NAD. Снижение оптической плотности NADH измеряется на длине волны 340 нм и пропорционально активности ALT.

#### AST

Активность AST определяется путем ферментативной реакции. При реакции исследуемого образца с субстрат-ферментным реагентом, AST превращает L-аспарагиновую кислоту и  $\alpha$ -кетоглутарат в глутамат натрия и амидацетат. Затем амидацетат превращается в малат с помощью малатдегидрогеназы с одновременным окислением NADH в NAD. Понижение оптической плотности NADH измеряется на длине волны 340 нм и пропорционально активности AST.

#### BUN

BUN определяется путем ферментативной реакции. Мочевина вследствие гидролиза, катализируемого уреазой, разлагается на аммоний и двуокись углерода. В реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой (GLDH), аммоний реагирует с 2-оксоглутаратом с образованием L-глутамата. В ходе этой реакции  $\beta$ -никотинамидадениндинуклеотид (NADH) окисляется до (NAD<sup>+</sup>), что сопровождается изменением окраски. Скорость изменения оптической плотности измеряется на длине волны 340 нм и пропорциональна концентрации BUN.

#### TBIL

TBIL определяется путем окисления ванадатом. В буферном растворе с pH 3 TBIL окисляется, образуя биливердин. Оптическая плотность измеряется на длине волны 450 нм и пропорциональна общей концентрации билирубина в пробе.

#### CHOL

CHOL определяется путем ферментативной реакции по конечной точке. Холестерин гидролизуется холестеринэстеразой (COE) в свободный холестерин и жирные кислоты. Холестерин и NAD реагируют с холестериндегидрогеназой (CDH) с образованием Cholest-4-En-3-One и NADH. Оптическая плотность измеряется на длине волны 340 нм в присутствии NADH и пропорциональна концентрации ТС.

#### TP

TP определяется биуретовым методом. Пептидные связи белка реагируют с ионами меди в щелочной среде с образованием соединения пурпурного цвета. Изменение окраски пропорционально исходной концентрации TP и измеряется на длине волны 546 нм.

#### GGT

GGT определяется путем ферментативной реакции. GGT катализирует реакцию между L- $\gamma$ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилидом и глицилглицином, приводящую к образованию L- $\gamma$ -глутамилглицилглицина и 5-амино-2-нитробензоата желтой окраски. Скорость высвобождения 5-амино-2-нитробензоата прямо пропорциональна активности GGT в пробе и определяется количественно путем измерения оптической плотности на длине волны 405 нм.

#### BA

Показатель ВА определяется путем ферментативной реакции. В присутствии Thio-NAD<sup>+</sup> желчные кислоты вступают в реакцию с ферментом 3- $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназой (3- $\alpha$ -HSD) с образованием окисленных желчных кислот и Thio-NADH. Возникает ферментативная циклическая реакция, в которой NADH присутствует в реакции, а 3- $\alpha$ -HSD превращает окисленные желчные кислоты в неокисленные желчные кислоты. Скорость образования Thio-NADH пропорциональна концентрации ВА в пробе. Концентрация ВА определяется путем измерения оптической плотности на длине волны 405 нм.

Схемы реакций :

#### ALB

Альбумин + BCG  $\longrightarrow$  комплекс альбумин-BCG

#### ALP

*p*-нитрофенилфосфат  $\xrightarrow{\text{ALP}}$  *p*-нитрофенол + фосфат

#### ALT

L-аланин +  $\alpha$ -кетоглутарат  $\xrightarrow{\text{ALT}}$  пировуват + L-глутамат

Пировуват + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{LDH}}$  L-лактат + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O

#### AST

L-аспарат +  $\alpha$ -кетоглутарат  $\xrightarrow{\text{AST}}$  амидацетат + L-глутамат

Амидацетат + NADH  $\xrightarrow{\text{MDH}}$  малат + NAD<sup>+</sup>

#### BUN

Мочевина + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\text{уреаза}}$  2NH<sub>3</sub> + CO<sub>2</sub>

NH<sub>3</sub> + 2-оксоглутарат + NADH  $\xrightarrow{\text{GLDH}}$  L-глутамат + H<sub>2</sub>O + NAD<sup>+</sup>

#### TBIL

Билирубин + ПАВ + VO<sup>3-</sup>  $\longrightarrow$  биливердин

#### CHOL

Эфиры холестерина + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\text{COE}}$  холестерин + RCOOH

Холестерин + NAD  $\xrightarrow{\text{CDH}}$  Cholest-4-En-3-One + NADH + H<sup>+</sup>

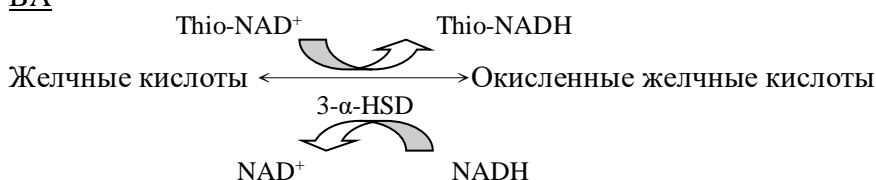
#### TP

Общий белок + Cu<sup>2+</sup>  $\xrightarrow{\text{щелочь}}$  комплекс Cu-белок

#### GGT

L- $\gamma$ -глутамил-3-карбоксит-4-нитроамид + глицилглицин  $\xrightarrow{\text{GGT}}$  L- $\gamma$ -глутамилглицилглицин + 5-амино-2-нитробензоат

ВА



### 3. Реагенты

Содержимое диска:

Каждый диск содержит сухие гранулированные реагенты, сухие гранулированные контроли и дилуэнт.

Состав реагентов:

Состав	Количество на 1 диск
Бромкрезоловый зеленый	5,4 мкг
Лактатдегидрогеназа	0,3 ед.
Малатдегидрогеназа	0,04 ед.
Уреаза	0,12 ед.
Глутаматдегидрогеназа	0,01 ед.
Холестеринэстераза	2,4 ед.
$\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназа	0,015 ед.
Холестериндегидрогеназа	0,5 ед.
Азид натрия	1,74 мкг
Метаванадат натрия	0,01 мг
Бридж (полиоксиэтиленовые эфиры)	1 ед/л
Сульфат цинка	0,001 мл
Гидроксид натрия	0,12 мг
Сульфат меди	0,142 мг
Глицилглицин	0,38 мг
L-аспартовая кислота	0,5 мг
Лимонная кислота	242,1 мкг
Трис-основание	1,8 мг
L-аланин	0,3 мг
Ацетат магния	16,1 мкг
Цитрат натрия дегидратированный	370,6 мкг
$\alpha$ -кетоглутаровая кислота	0,15 мг
L- $\gamma$ -глутамил-3-карбокси-4-нитроамид	0,1 мг
Динатриевая соль $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты дегидратированная	0,34 мг
Динатриевая соль 4-нитрофенилфосфата	0,1 мг
NAD	0,1 мг
NADH	0,1 мг
THIO-NAD	19,698 мкг.

Хранение реагентов:

- Реагентные диски следует хранить при температуре 2 - 8°C.
- Срок годности указывается на пакете с реагентным диском. Не используйте реагентные диски с истекшим сроком годности.

### 4. Отбор и подготовка проб

Отбор проб:

- С помощью Печеночной расширенной панели можно исследовать цельную кровь с литий-гепарином, плазму с литий-гепарином, сыворотку и контрольные материалы. Требуется 200 мкл пробы. (Допустимая погрешность составляет  $\pm 10$  мкл).

- Отбор и подготовка проб, а также дальнейшее обращение с ними должно производиться в соответствии со стандартными лабораторными процедурами и требованиями местного законодательства.

**Замечание:** Не используйте образцы, содержащие другие коагулянты. Это приведет к ошибкам в результатах анализа.

#### Подготовка проб:

- Перед внесением пробы в реактивный диск осторожно переверните пробирку с образцом несколько раз, чтобы убедиться в гомогенности (равномерности смешивания) пробы. Если в качестве пробы используется цельная кровь, не трясите контейнер сильно во избежание гемолиза.

#### Замечания:

1. Выполняйте анализ в течение 10 минут после добавления пробы в реактивный диск.
2. Использование образцов цельной крови с уровнем гематокрита (Hct) выше 60% может отрицательно повлиять на результаты анализа.

**Замечание:** Дополнительная информация по отбору и подготовке проб приводится в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

## 5. Процесс анализа

#### Подготовка материалов:

1 реактивный диск Печеночной расширенной панели skyla.

#### Материалы, не входящие в диагностическую панель:

Ветеринарный биохимический анализатор skyla VB1

Контейнер для отбора проб

Микродозатор/ Наконечники

Если реактивный диск или его упаковка повреждены, или срок годности истек, не используйте диск.

#### Условия проведения теста:

Тесты следует выполнять при окружающей температуре 10 - 32°C. Продолжительность каждого теста около 15 минут. В процессе теста в реакционном отсеке анализатора поддерживается температура 37°C для стабильности анализа.

#### Шаги выполнения теста:

1. Откройте фольгированный пакет и достаньте реактивный диск.
2. Удалите защитную полоску, которой запечатан дилуэнт.
3. С помощью микродозатора добавьте 200 мкл пробы в отверстие для пробы реактивного диска.
4. Поместите диск в реакционный отсек анализатора.
5. Нажмите кнопку “Start” (Пуск) на экране для начала анализа.

Более подробно рабочие шаги и настройка прибора приведены в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

#### Замечания:

1. При обращении с реактивными дисками или анализатором надевайте лабораторные перчатки и прочие средства защиты во избежание инфицирования пробой.

2. Использованные реагентные диски и наконечники дозатора следует рассматривать как биологические отходы и обращаться с ними в соответствии с требованиями местного законодательства.
3. Анализ следует выполнять в течение 20 минут после вскрытия пакета.
4. Не храните реагентный диск при температуре выше 25°C более 48 часов перед использованием.
5. Если реагентный диск или его упаковка повреждены, или срок годности истек, не используйте диск.

## 6. Калибровка

Штрих-код на каждом реагентном диске содержит всю информацию необходимую для калибровки анализируемых показателей. Анализатор автоматически считывает информацию штрих-кода в процессе анализа.

## 7. Контроль качества

- Подготовка и использование контрольных материалов описаны в соответствующих инструкциях. В случае расхождений с контрольными значениями рекомендуется выполнить проверочный тест на автоматическом лабораторном анализаторе или обратиться в службу технической поддержки.
- Материалы внешнего контроля качества можно использовать для проверки точности работы VB1. Рекомендуем проводить контроль качества в следующих случаях:
  - Не реже 1 раза в 30 дней;
  - Перед использованием реагентов из новой партии;
  - При перемещении анализатора или существенном изменении рабочих окружающих условий.

В противном случае следуйте требованиям местных законодательных актов или стандартных рабочих процедур, принятым в вашей организации.

## 8. Диапазон референсных норм

В приведенной ниже таблице даны референсные нормы для каждого из показателей. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория или клиника устанавливала собственные референсные нормы для своих пациентов.

Аналитические показатели		Референсные нормы		Референсные нормы (единицы SI)	
ALB	Собаки	2,6 -4,0	г/дл	26-40	г/л
	Кошки	2,5 -4,0	г/дл	25-40	г/л
ALP	Собаки	<212	ед./л	<212	ед./л
	Кошки	<111	ед./л	<111	ед./л
ALT	Собаки	<100	ед./л	<100	ед./л
	Кошки	<130	ед./л	<130	ед./л
AST	Собаки	<50	ед./л	<50	ед./л
	Кошки	<48	ед./л	<48	ед./л
BUN	Собаки	6-26	мг/дл	2,1-9,3	ммоль мочевины/л
	Кошки	13 -37	мг/дл	4,6-13,0	ммоль мочевины/л
TBIL	Собаки	<0,9	мг/дл	<15	мкмоль/л
	Кошки	<0,9	мг/дл	<15	мкмоль/л
CHOL	Собаки	110-320	мг/дл	2,8-8,3	ммоль/л
	Кошки	54-220	мг/дл	1,4-5,7	ммоль/л
TP	Собаки	5,2-8,2	г/дл	52 -82	г/л
	Кошки	5,7-8,9	г/дл	57 -89	г/л
GGT	Собаки	<10	ед./л	<10	ед./л
	Кошки	<10	ед./л	<10	ед./л

ВА	Собаки	<25	мкмоль/л	<25	мкмоль/л
	Кошки	<25	мкмоль/л	<25	мкмоль/л
	<5 мкмоль/л натошак 5,0-15,0 мкмоль/л через 2 часа после еды >25 мкмоль/л при ослабленной функции печени				

## 9. Ограничения

К физиологически обусловленным мешающим факторам в крови относятся гемолиз, иктеричность и липемия. Для каждого из исследуемых показателей использовались сыворотки с известными концентрациями эндогенных веществ 2 уровней. Существенным было принято смещение результатов теста >20%. (**Замечание:** максимальные измененные концентрации составили: гемоглобина 600 мг/дл; билирубина (несвязанного) 62,5 мг/дл, билирубина (связанного) 57,5 мг/дл; интралипидов 0,55%).

Показатель	Концентрация веществ с уровнем влияния менее 20%			
	Гемоглобин	Билирубин (несвязанный)	Билирубин (связанный)	Интралипиды
ALB	300 мг/дл	62,5 мг/дл	57,5 мг/дл	0,2%
ALP	600 мг/дл	25,9 мг/дл	57,5 мг/дл	0,1%
ALT	600 мг/дл	36,7 мг/дл	18,9 мг/дл	0,1%
AST	300 мг/дл	42,1 мг/дл	22,3 мг/дл	0,1%
BUN	500 мг/дл	42,1 мг/дл	29,3 мг/дл	0,43%
CHOL	300 мг/дл	30,0 мг/дл	30,0 мг/дл	0,2%
TBIL	600 мг/дл	---	---	0,1%
TP	300 мг/дл	62,5 мг/дл	57,5 мг/дл	0,2%
GGT	400 мг/дл	36,7 мг/дл	26,3 мг/дл	0,1%
ВА	200 мг/дл	50,4 мг/дл	26,3 мг/дл	0,2%

## 10. Характеристики

### Динамический диапазон:

Диапазоны изменения для каждого из исследуемых показателей приведены ниже:

Показатель	Диапазон изменения		Диапазон изменения (ед. SI)	
	Диапазон	Единица	Диапазон	Единица
ALB	2,0-8,0	г/дл	20-80	г/л
ALP	41 - 2000	ед./л	41 - 2000	ед./л
ALT	30 - 1100	ед./л	30 - 1100	ед./л
AST	30 - 1000	ед./л	30 - 1000	ед./л
BUN	2,0 - 140,0	мг/дл	0,7-50,0	ммоль мочевины/л
TBIL	0,4 - 30,0	мг/дл	7,0 - 513,0	мкмоль/л
CHOL	50 - 540	мг/дл	1,3 – 14,0	ммоль/л
TP	1,5 - 10,0	г/дл	15-100	г/л
GGT	10 - 1500	ед./л	10-1500	ед./л
ВА	5,0 - 140	мкмоль/л	5,0 - 140	мкмоль/л

### Сравнительный метод:











В качестве референсного метода исследования использовался SIEMENS ADVIA 1800. Тесты выполнялись с использованием одних и тех же проб сыворотки для обоих методов.

Показатель		R <sub>2</sub>	Наклон	Пересечение	Количество проб	Диапазон изменений
ALB	Собаки	0,9848	0,9999	0,0000	38	2,7-5,9 г/дл
	Кошки	0,9676	1,0000	0,0000	38	3,1-6,4 г/дл
ALP	Собаки	0,9626	0,9999	-0,0059	32	53-1246 ед./л
	Кошки	0,9581	0,9998	-0,0010	32	24-263 ед./л

ALT	Собаки	0,9872	0,9934	-2,4272	31	28-284 ед./л
	Кошки	0,9951	1,0290	0,7497	38	31-243 ед./л
AST	Собаки	0,9990	0,9968	-0,9437	38	22-803 ед./л
	Кошки	0,9997	1,0033	28,25	24	22-891 ед./л
BUN	Собаки	0,9967	0,9843	0,6679	41	9,7-128,4 мг/дл
	Кошки	0,9923	1,0067	-0,7677	40	17,5-126,9 мг/дл
GLU	Собаки	0,9953	1,0000	0,00892	43	78-558 мг/дл
	Кошки	0,9957	0,9956	2,1761	44	93-549 мг/дл
TBIL	Собаки	0,9966	0,9866	0,2672	23	0,1-31,2 мг/дл
	Кошки	0,9954	0,9965	0,0687	25	0,1-31,2 мг/дл
CHOL	Собаки	0,9944	0,9115	2,840	12	98-310 мг/дл
	Кошки	0,9899	1,0557	-10,199	15	84-220 мг/дл
TP	Собаки	0,9603	0,9999	0,0000	38	5,2-9,5 г/дл
	Кошки	0,9883	0,9999	0,0000	38	6,3-10,3 г/дл
GGT	Собаки	0,9992	1,0014	-0,5713	28	17-1861 ед./л
	Кошки	0,9988	1,0027	0,0039	12	27-1647 ед./л
BA	Собаки	0,9878	0,9349	0,6227	21	8,8-137 ед./л
	Кошки	0,9924	0,9848	-0,7697	20	9,1-131 ед./л



**Использованные символы**

	Каталожный номер		При использовании смотри инструкцию
	Код партии		Использовать до
	Производитель		Знак соответствия европейским стандартам
	Температурные пределы		Осторожно
	Не использовать повторно		Рассчитано на

Поставщик:

SKYLA CORPORATION HSINCHU SCIENCE PARK  
BRANCH

Адрес:

No. 8, Dusing Road, Hsinchu Science Park, Hsinchu, Taiwan

Служба технической поддержки:

+886-3-611-8511

Сайт:

[www.skyla.com](http://www.skyla.com)

Дата выпуска: 18.02.2016

PN: 7B25000065HA

SKYLA CORPORATION