

Панель Диагностики-II

Только для использования в ветеринарной *in vitro* диагностике

PN: 900-320 Версия: А

1. Назначение

Панель реагентов Диагностики-II, используемая с ветеринарным биохимическим анализатором skyla VB1, предназначена для количественного определения Альбумина (ALB), Щелочной фосфатазы (ALP), Аланинаминотрансферазы (ALT), Амилазы (AMY), Мочевины в крови (BUN), Креатинина (CREA), Глюкозы (GLU), Общего билирубина (TBIL), Общего холестерина (CHOL), Общего белка (TP), Кальция (Ca), Фосфора (PHOS), Липазы (LIPA) и Гамма-глутамилтранспептидазы (GGT) в цельной крови, плазме и сыворотке животных. Также могут быть получены расчетные значения Глобулина (GLOB), Мочевины (UREA), отношения Альбумин/Глобулин (A/G Ratio), отношения Мочевина в крови/Креатинин (B/C Ratio).

2. Основные сведения

В состав Панели Диагностики II входит всего 14 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 4 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.

Амилаза (AMY): AMY является одним из показателей острого панкреатита и болезней почек.

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

Креатинин (CREA): CREA является одним из маркеров почечной функции.

Глюкоза (GLU): Показатель GLU используется для диагностики диабета и болезней, связанных с метаболизмом углеводов.

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

Общий холестерин (CHOL): Показатель CHOL используется для исследования метаболизма липидов.

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

Кальций (Ca): Показатель Ca может быть использован для обнаружения паратиреоидных дисфункций, остеопатии, хронических заболеваний почек и судорог, обусловленных дефицитом витамина D.

Фосфаты (PHOS): PHOS представляет собой индикатор болезней почек, гипотиреоза и недостаточности или нарушения питания.

Липаза (LIPA): LIPA представляет собой надежный маркер заболеваний поджелудочной железы.

Гамма-глутамилтранспептидаза (GGT): GGT может быть использована для диагностики заболеваний печени, первичной и вторичной опухоли печени.

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

UREA: Значение UREA можно получить из BUN. $UREA \text{ (мг/дл)} = BUN \text{ (мг/дл)} * 2,14$ (для системы СИ: $UREA \text{ (ммоль/л)} = BUN \text{ (ммоль/л)}$).

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

Отношение Мочевина в крови/Креатинин (B/C Ratio): B/C Ratio указывает на степень поражения почек и гиперазотемию (уремию).

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 *n*-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 α -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.

AMY

Активность амилазы определяется путем ферментативной реакции. Субстрат α -(2-хлоро-4-нитрофенил)- β -1,4-галактопиранозилмальтозида (Gal-G2- α -CNP) реагирует непосредственно с α -амилазой с высвобождением 2-хлоро-4-нитрофенол (CNP). Оптическая плотность измеряется на длине волны 405 нм и прямо связана с активностью α -амилазы в пробе.

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 β -никотинамидадениндинуклеотид (NADH) окисляется до (NAD⁺), что сопровождается изменением окраски. Скорость изменения оптической плотности измеряется на длине волны 340 нм и пропорциональна концентрации BUN.

CREA

CREA определяется определяется методом ферментативной реакции по конечной точке. Креатининамидогидролаза гидролизует CREA в креатин. Затем креатин превращается в саркозин путем реакции, катализируемой креатинамидогидролазой. Затем саркозиноксидаза окисляет саркозин с образованием глицина, формальдегида и перекиси водорода (H₂O₂). Пероксидаза реагирует с перекисью водорода, 2,4,6-тригидроксибензойной кислотой (ТВНВА) и 4-аминтриазоламзамещенным пиразолом (4-AAP), образуя в результате краситель хинонимин. Образование красителя измеряется на длине волны 546 нм и пропорционально количеству CREA в образце.

GLU

GLU определяется методом ферментативной реакции по конечной точке. Сахароза при каталитической реакции с гексокиназой образует D-глюкоза-6-фосфат (G-6-P). В присутствии NAD G-6-PD превращает G-6-P в 6-фосфоглюконат и NADH. Оптическая плотность может быть измерена на длине волны 340 нм в присутствии NADH и пропорциональна концентрации GLU.

ТВЛ

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

CHOL

CHOL определяется методом ферментативной реакции по конечной точке. Он 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. Поглощение на длине волны 340 нм можно измерять в присутствии NADH. Оптическая плотность пропорциональна концентрации общего холестерина.

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.

Ca

Ca определяется методом определения конечной точки химической реакции. Кальций реагирует с арсеназо III с образованием комплекса пурпурной окраски. Образование комплекса измеряется на длине волны 650 нм и пропорционально содержанию Ca в образце.

PHOS

PHOS определяется путем ферментативной реакции. Посредством ряда ферментативных реакций с сахарозафосфатазой, фосфоглюкоматазой и глюкоза-6-фосфатдегидрогеназой PHOS образует 6-фосфоглюконат и NADH. Оптическая плотность NADH измеряется на длине волны 340 нм и пропорциональна содержанию PHOS в образце.

LIPA

Активность LIPA путем ферментативной реакции. Субстрат эфира 1,2-о-дилаурил-Рас-глицерол-3-глутаровая кислота-(6'-метилрезорурфин) (DGGMR) реагирует непосредственно с LIPA с выделением из субстрата метилрезорурфина. Оптическая плотность реакции измеряется на длине волны 546 нм прямо пропорциональна активности липазы в пробе.

Схемы реакций:

ALB

Альбумин + BCG \longrightarrow комплекс альбумин-BCG

ALP

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

ALT

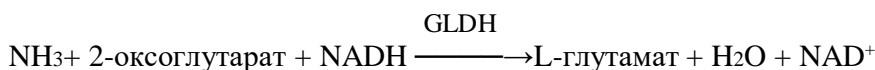
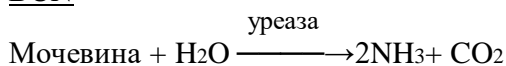
L-аланин + α -кетоглутарат $\xrightarrow{\text{ALT}}$ пироват + L-глутамат

Пироват + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ L-лактат + NAD⁺ + H₂O

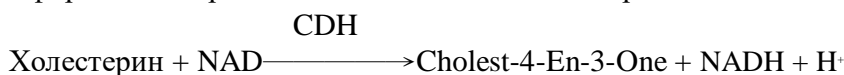
AMY

Gal-G2- α -CNP + H₂O $\xrightarrow{\alpha\text{-амилаза}}$ Gal-G2 + CNP

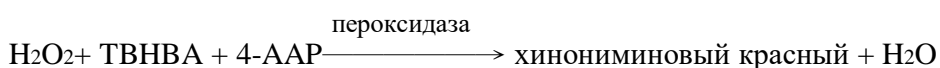
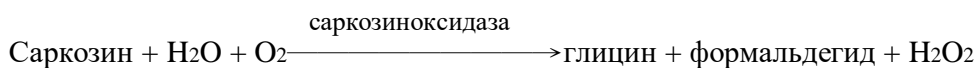
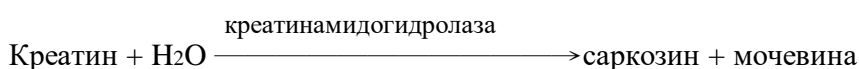
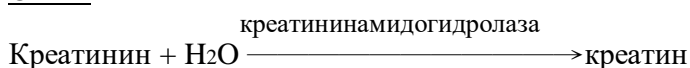
BUN



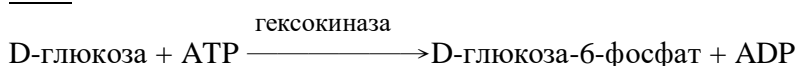
CHOL



CREA



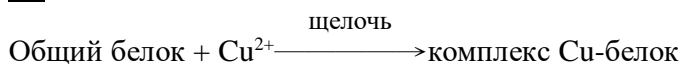
GLU



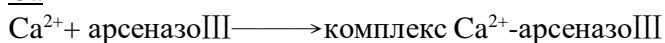
TBIL



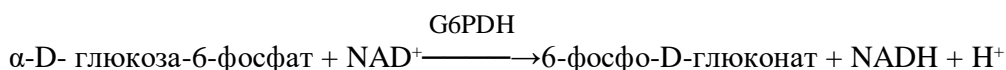
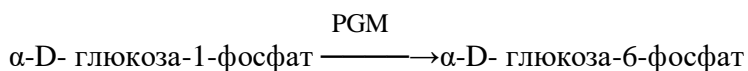
TP



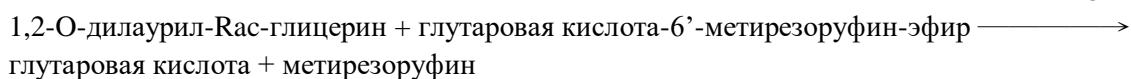
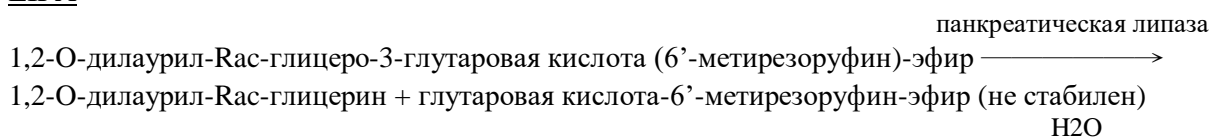
Ca



PHOS



LIPA



GGT

L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид + глицилглицин $\xrightarrow{\text{GGT}}$
L-γ-глутамилглицилглицин + 5-амино-2-нитробензоат

3. Реагенты

Содержимое диска:

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

Состав реагентов:

Состав	Количество на 1 диск
1,4-пиперазиндиэтансульфоновая кислота	0,08 мг
4-APP	0,02 мг
Би-4-нитрофенилфосфат натрия	0,1 мг
АрсеназоШ	0,007 мг
АТФ	0,04 мг
Бромкрезоловый зеленый	5,4 мкг
Холестериндегидрогеназа	0,36 ед.
Холистеринэстераза	1,44 ед.
Колипаза свиная панкреатическая	0,1 мкг
Сульфат меди	0,1 мг
Креатиназа	2,8 ед.
Креатинкиназа	5,6 ед.
DGGMR	0,004 мг
G6PDH	0,3 ед.
Gal-G2-α-CNP	0,04 мг
Глицилглицин	0,38 мг
Гексокиназа	0,1 ед.
Лактатдегидрогеназа	0,9 ед.
L-аланин	0,3 мг
L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид	0,1 мг
NAD	0,34 мг
NADH	0,09 мг
Пероксидаза	0,1 ед.
Фосфоглюкомутаза	0,05 ед.
Саркозиноксидаза	0,4 ед.
Метаванадат натрия	0,01 мг
Сахароза	0,3 мг
Сахароза фосфорилазы	0,01 ед.
ТВНВА	0,2 мг
Уреаза	0,03 ед.
α-кетоглутаровая кислота	0,25 мг

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 панели Диагностика-II могут исследоваться цельная кровь с литий-гепарином, плазма с литий-гепарином, сыворотка и контрольные материалы. Требуется 200 мкл пробы. (Допустимая погрешность составляет ±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 реагентный 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 реагентный 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 реагентный диск панели skyla «Диагностика-II».

Материалы, не входящие в диагностическую панель:

Ветеринарный биохимический анализатор skyla VB1

Контейнер для отбора проб

Микродозатор / Наконечники

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 реагентный диск.
2. Удалите защитную полосу, которой запечатан дилуэнт.
3. С помощью микродозатора добавьте 200 мкл пробы в отверстие для пробы реагентного 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 реагентными 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.

Показатели		Референсные нормы		Референсные нормы (единицы SI)	
ALB	Собаки	2,6 -4,6	г/дл	26-46	г/л
	Кошки	2,5 -4,6	г/дл	25-46	г/л
ALP	Собаки	0 -212	ед./л	0 -212	ед./л
	Кошки	0 -111	ед./л	0 -111	ед./л
ALT	Собаки	<100	ед./л	0 -88	ед./л
	Кошки	<130	ед./л	0 -116	ед./л
AMY	Собаки	400-1500	ед./л	400-1500	ед./л
	Кошки	500 -1600	ед./л	500 -1600	ед./л
BUN	Собаки	6,0-26,0	мг/дл	2,1-9,3	ммоль мочевины/л
	Кошки	13,0 -37,0	мг/дл	4,6-13,0	ммоль мочевины/л
CHOL	Собаки	110 -320	мг/дл	2,8 -8,3	ммоль/л
	Кошки	54 -220	мг/дл	1,4 -5,7	ммоль/л
CREA	Собаки	0,4 -1,6	мг/дл	35 -141	мкмоль/л
	Кошки	0,7 -2,0	мг/дл	62 -177	мкмоль/л
GLU	Собаки	60 -110	мг/дл	3,3-6,1	ммоль/л
	Кошки	53 -150	мг/дл	2,9-8,3	ммоль/л

TBIL	Собаки	<0,9	мг/дл	<15	мкмоль/л
	Кошки	<0,9	мг/дл	<15	мкмоль/л
TP	Собаки	5,2-8,2	г/дл	52 -82	г/л
	Кошки	5,7-8,9	г/дл	57 -89	г/л
Ca	Собаки	8,6 -12,0	мг/дл	2,2-3,0	ммоль/л
	Кошки	8,0 -12,0	мг/дл	2,0-3,0	ммоль/л
PHOS	Собаки	2,5-6,8	мг/дл	0,8 -2,2	ммоль/л
	Кошки	3,1-7,5	мг/дл	1,0 -2,4	ммоль/л
LIPA	Собаки	25 -125	ед./л	25 -125	ед./л
	Кошки	25 -35	ед./л	25 -35	ед./л
GGT	Собаки	<10	ед./л	<10	ед./л
	Кошки	<10	ед./л	<10	ед./л

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	500 мг/дл	34,5 мг/дл	28,4 мг/дл	0,1%
AMY	400 мг/дл	54,3 мг/дл	33,3 мг/дл	0,4%
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%
CREA	200 мг/дл	25,9 мг/дл	---	0,17%
GLU	600 мг/дл	62,5 мг/дл	57,5 мг/дл	0,3%
TBIL	600 мг/дл	---	---	0,1%
TP	300 мг/дл	62,5 мг/дл	57,5 мг/дл	0,2%
Ca	600 мг/дл	56,3 мг/дл	57,5 мг/дл	0,3%
PHOS	500 мг/дл	42,1 мг/дл	57,5 мг/дл	0,13%
LIPA	200 мг/дл	29,0 мг/дл	20,2 мг/дл	0,2%
GGT	400 мг/дл	36,7 мг/дл	26,3 мг/дл	0,1%

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	1,0-6,0	г/дл	10-60	г/л
ALP	41 - 2000	ед./л	41 - 2000	ед./л
ALT	20 - 1100	ед./л	20 - 1100	ед./л
AMY	22 - 3000	ед./л	22 - 3000	ед./л
BUN	2,0 - 140,0	мг/дл	0,7-50,0	ммоль мочевины/л
CHOL	50 - 540	мг/дл	1,4 -14	ммоль/л
CREA	0,3 - 20,0	мг/дл	27 -1768	мкмоль/л
GLU	30 - 550	мг/дл	1,7-30,5	ммоль/л
TBIL	0,4 - 30,0	мг/дл	7,0 -513,0	мкмоль/л
TP	1,5 - 10,0	г/дл	15-100	г/л
Ca	4,0 - 15,0	мг/дл	1,0-3,8	ммоль/л
PHOS	0,1 - 20,0	мг/дл	0,03-6,45	ммоль/л
LIPA	25 – 300	ед./л	25 – 300	ед./л
GGT	10 - 1500	ед./л	10 - 1500	ед./л

Референсный метод:

В качестве референсного исследования использовался SIEMENS ADVIA 1800 и Cobas c111 (для измерения LIPA). Тесты выполнялись с использованием одних и тех же проб сыворотки для обоих методов.

Аналитические показатели		R ₂	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	0,2758	32	31-243 ед./л
AMY	Собаки	0,9955	0,9830	10,544	20	377-3250 ед./л
	Кошки	0,9925	0,9689	28,25	24	834-32059 ед./л
BUN	Собаки	0,9967	0,9843	0,6679	42	10,7-128,4 мг/дл
	Кошки	0,9923	1,0067	-0,7677	40	17,5-126,9 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
CREA	Собаки	0,9968	1,0526	-0,0305	38	0,47-16,93 мг/дл
	Кошки	0,9928	1,0498	-0,2650	38	1,2-17,65 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	0,9970	0,9237	0,1946	35	0,1-31,2 мг/дл
	Кошки	0,9957	0,9285	0,2412	26	0,1-31,2 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
Ca	Собаки	0,9945	1,0006	-0,0095	19	7,3-16,4 мг/дл
	Кошки	0,9689	0,9814	0,1209	19	7,1-16,4 мг/дл
PHOS	Собаки	0,9434	0,9434	0,2678	30	2,7-13,2 мг/дл
	Кошки	0,9369	0,9369	0,3763	32	3,3-11,1 мг/дл
LIPA	Собаки	0,9932	1,0139	-1,1153	20	27-289 ед./л
	Кошки	0,9961	0,9977	1,4814	8	26-220 ед./л
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

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:

Адрес:

Служба технической поддержки:

Сайт:

SKYLA CORPORATION HSINCHU SCIENCE PARK
BRANCH

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

+886-3-611-8511

www.skyla.com

Дата выпуска: 03.05.2018