vetscan VS2 Analizador químico

Perfil de T4/Colesterol (Rotor)



Consumible para ser usado con el VETSCAN $^{\rm \tiny B}$ VS2 Analizador Químico.

Exclusivamente para uso veterinario.



Indicaciones

VETSCAN® VS2 Perfil de T4/Colesterol (Rotor) utilizado con el VETSCAN® VS2 Analizador Químico emplea reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de tiroxina (T4) y colesterol en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

Resumen y explicación de las pruebas

Tiroxina (T₄)

La tiroxina es una hormona sintetizada en la glándula tiroidea y secretada por ésta. La forma principal de secreción de la hormona tiroidea es la tetra-yodotironina (T_4), aunque también se secreta algo de triyodotironina (T_3) en la sangre. La relación de T_4 a T_3 es de 25:1 en plasma canino. Una vez en la sangre, T_4 y T_3 quedan fijadas por medio de proteínas de transporte. La principal proteína de fijación es la globulina de fijación de tiroxina (TBG) en el perro y la albúmina en el gato. En el momento del suministro a la célula objetivo, T_4 se desioniza a T_3 en la superficie celular. T_3 es la forma biológicamente activa de la hormona tiroidea e ingresa con mayor facilidad a la célula objetivo.

La hormona tiroidea tiene muchos efectos en el cuerpo, que incluyen aquellos clínicos, fisiológico, calorigénico, metabólico (carbohidratos, proteínas y lípidos), de desarrollo, reproductivos y hematológicos. Las determinaciones de T_4 ayudan en el diagnóstico de hipotiroidismo e hipertiroidismo, y en el control de las terapias con levotiroxina sódica y tiamazol.

Las señales clínicas de niveles anormales de T_4 con frecuencia son vagas. Las señales observables más comunes de hipotiroidismo canino son cambios en

la piel y en el manto, tales como alopecia o un manto seco y opaco. Otras señales en los perros incluyen letargo, intolerancia al ejercicio, debilidad, atrofia muscular, depósitos corneales de lípidos y diarrea. Las señales clínicas de hipotiroidismo felino incluyen letargo y obesidad (especialmente en el caso de hipotiroidismo yatrogénico), alopecia, epilación del pelo y bradicardia.

Las señales más prevalentes de hipertiroidismo felino son pérdida de peso y polifagia. Otras señales comunes son inquietud, taquicardia, poliuria-polidipsia, alopecia y diarrea.

Colesterol

El colesterol es un precursor principal del éster del colesterol, ácidos biliares y hormonas esteroideas, y es un componente de las membranas plasmáticas. La tasa de la biosíntesis del colesterol en el hígado es indirectamente proporcional al insumo dietario. Los niveles de colesterol en el cuerpo son controlados indirectamente por la hormona tiroidea, que estimula la producción de ácido biliar. Dado que los ácidos biliares son sintetizados a partir del colesterol, las concentraciones de colesterol varían inversamente con la actividad de la hormona tiroidea.

Pueden usarse niveles de colesterol para ayudar en la detección de hiperlipidemia o como prueba de detección para hipotiroidismo e hiperadrenocorticismo. Los resultados de colesterol son de mayor utilidad cuando se los analiza conjuntamente con otras pruebas químicas clínicas.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

Principios del procedimiento

Tiroxina (T₄)

El primer método directo clínicamente factible de medición de la tiroxina fue un ensayo de fijación de proteínas competitivas (CPBA) desarrollado por Murphy y Pattee a principios de la década de 1960¹. Las técnicas de los radioinmunoensayos (RIA), con su mayor sensibilidad y especificidad, reemplazaron en gran medida al CPBA². Las preocupaciones con respecto a los desechos radiactivos y los potenciales peligros para la salud ayudaron a promover el desarrollo de pruebas no isotópicas, tales como los inmunoensayos con enzimas y por fluorescencia. Los inmunoensayos con enzimas (EIA) para la tiroxina han demostrado tener, a niveles clínicamente importantes, una exactitud y precisión equivalentes a los procedimientos RIA automáticos³. Se ha propuesto un procedimiento espectrométrico de masa por dilución de isótopos como método de referencia, pero éste es muy complicado y elaborado⁴.

VETSCAN® ha adaptado un método EIA comercialmente disponible para uso en el VETSCAN® VS2 Analizador Químico. En la reacción, el ácido 8-anilino-1-naftalén sulfónico (ANS) causa la liberación de T_4 endógena de las proteínas de fijación. La T_4 endógena liberada compite para sitios de fijación de anticuerpos (Ab) con la T_4 marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (conjugado G6PDH- T_4). El conjugado G6PDH- T_4 fijado a un anticuerpo tiene una menor actividad que el conjugado no fijado. A medida que aumenta la fijación de la T_4 endógena, aumenta también la cantidad de conjugado de enzima sin fijar. La enzima activa reduce la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD+) a NADH.

$$T_4 + T_4$$
-G6PDH + NAD+ \xrightarrow{Ab} Ab: $T_4 + Ab:T_4$ -G6PDH + NADH + H+

El índice de cambio de la absorbancia a 340 nm se debe a la conversión de NAD+ en NADH y es directamente proporcional a la cantidad de T_4 endógena en la muestra.

Colesterol

Las pruebas más comunes emplean reacciones enzimáticas de punto final. Típicamente, estos procedimientos sencillos usan colesterol esterasa y colesterol oxidasa con un acabado de Trinder^{5,6}. VETSCAN® desarrolló un método enzimático que usa colesterol deshidrogenasa en lugar de la colesterol oxidasa. El uso de la colesterol deshidrogenasa elimina la reacción de Trinder, evitando así la interferencia de los sustratos fisiológicos como la bilirrubina y la hemoglobina.

La colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol y $\rm H_2O$ para formar colesterol y ácidos grasos. El colesterol es oxidado por colesterol deshidrogenasa a colestenona y la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD+) se reduce a NADH.

Ésteres de colesterol +
$$H_2O$$
 \xrightarrow{CHE} Colesterol + ácidos grasos Colesterol + NAD^+ \xrightarrow{CHDH} Colest-4-en-3-ona + $NADH + H^+$

La absorbancia se mide bicromáticamente a 340 nm y 405 nm. También se mide una muestra de referencia dedicada a asegurar que las reacciones secundarias no interfieren con los cálculos de los niveles de colesterol. La producción de NADH en esta reacción de punto final es directamente proporcional a la cantidad de colesterol en la muestra.

Principios de la operación

Consulte el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

Descripción de los reactivos

Reactivos

VETSCAN® VS2 Perfil de T4/Colesterol (Rotor) contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Se incluye en cada rotor reactivo un reactivo seco de muestra de referencia (que consta de amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizadores) para usar en el cálculo de los índices de la muestra. Cada rotor reactivo contiene también un disolvente formado por surfactantes, ANS, anticuerpos a T₄ y estabilizadores.

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico in vitro.
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un rotor con un envase de diluyente abierto. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el rotor antes de cerrar el cajón.
- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un rotor reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

• El reactivo en soporte sólido y el diluyente contienen compuestos nitrogenados sódicos que pueden reaccionar con plomo y cobre para formar compuestos nitrogenados metálicos muy explosivos. Los reactivos no entrarán en contacto con el plomo y cobre si se siguen los procedimientos recomendados. Sin embargo, si los reactivos entran en contacto con los metales, se debe lavar abundantemente con agua para prevenir la acumulación de azida.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los rotores reactivos pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. Abra la bolsa de cierre hermético y saque el rotor, teniendo cuidado de no tocar el anillo del código de barras situado en la parte superior del rotor reactivo. Utilice de acuerdo con las instrucciones provistas en el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico. Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa. Los rotores dentro de bolsas abiertas no pueden volver a colocarse en el refrigerador para uso en otro momento.

Almacenamiento

Almacene rotores reactivos en sus bolsas selladas a 2-8 °C (36-46 °F). No exponga los rotores abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32 °C (90 °F). No permita que los rotores sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 24 horas antes del uso. Abra la bolsa y retire el rotor inmediatamente antes de usarlo.

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

 Todos los reactivos contenidos en el rotor reactivo, cuando se almacena tal como se describe más arriba, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa del rotor. No utilice un rotor después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

 Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

Instrumento

Consulte el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico para recibir información completa sobre el uso del analizador.

Obtención y preparación de las muestras

El tamaño mínimo necesario para la muestra es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o suero de control. La cámara de muestra del rotor reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- La muestra recogida en una micropipeta heparinizada debe dispensarse en el rotor reactivo inmediatamente después de la recolección de la muestra.
- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta

- cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfiérala a un tubo de ensayo limpio⁷. Analice la muestra separada de plasma o suero en las 5 horas siguientes a la centrifugación. Si esto no es posible, refrigere la muestra en un tubo de ensayo tapado a 2-8 °C (36-46 °F) durante no más de 48 horas. Una muestra de plasma o suero puede almacenarse a -10 °C (14 °F) durante un máximo de 5 semanas en un congelador que no tiene un ciclo de autodescongelación.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el VETSCAN® VS2 Analizador Químico es heparina de litio.
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El VETSCAN® VS2 Analizador Químico suprime cualquier resultado que se vea afectado por una interferencia significativa por hemólisis, lipemia o ictericia. "HEM", "LIP" o "ICT" se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.

Procedimiento

Materiales suministrados

Un VETSCAN® VS2 Perfil de T4/Colesterol (Rotor)

Materiales necesarios pero no suministrados

VETSCAN® VS2 Analizador Químico

Parámetros de prueba

El sistema VETSCAN® opera a temperaturas ambientes entre 15 °C y 32 °C (59-90 °F). El tiempo de análisis para cada VETSCAN® VS2 Perfil de T4/ Colesterol (Rotor) es de menos de 14 minutos. El analizador mantiene el rotor reactivo a una temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba

La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

Calibrado

El VETSCAN® VS2 Analizador Químico es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del rotor. Consulte el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

Control de calidad

Pueden analizarse controles periódicamente en el VETSCAN® VS2 Analizador Químico para verificar la exactitud del analizador. Zoetis recomienda analizar un control comercialmente disponible, basado en suero. Los controles deben analizarse en el rotor reactivo de la misma manera que las muestras de pacientes. Consulte el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico para aprender cómo analizar los controles.

Resultados

El VETSCAN® VS2 Analizador Químico calcula automáticamente e imprime las concentraciones de electrolitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

Interpretación de resultados

Aumento de T₄

- Las concentraciones de T₄ tienden a ser superiores en los perros de menos de un año de edad, disminuyendo a medida que envejece el perro.
- Un aumento en el nivel de T₄ en un felino es un indicador fiable de hipertiroidismo. El hipertiroidismo es la causa más común de T₄ elevada y es una de las enfermedades diagnosticas con mayor frecuencia en animales pequeños. La causa típica del hipertiroidismo espontáneo en los gatos es un adenoma tiroideo funcional. El hipertiroidismo es raramente observado en perros pero, cuando aparece, por lo general es indicativo de neoplasia o la administración de demasiada levotiroxina sódica a un perro hipotiroideo. Aproximadamente el 66% de los neoplasmas caninos son adenocarcinomas.

- Las pruebas tiroideas felinas por lo general se realizan para diagnosticar hipertiroidismo, para controlar los efectos del tratamiento antitiroideo o para controlar el tratamiento de reemplazo tiroideo después de la destrucción de las glándulas tiroideas neoplásticas. Al evaluar la T4 total en gatos, se debe tener en cuenta la edad y las enfermedades concurrentes. Los valores de T4 son mayores en los gatos más jóvenes y normalmente disminuyen con la edad. En gatos de mayor edad con sospecha de hipertiroidismo, las enfermedades concurrentes como insuficiencia renal causan una condición conocida como síndrome de enfermedad eutiroidea, que puede deprimir los valores de la T4 total. En estos casos, se utiliza una prueba de T4 libre por diálisis de equilibrio (fT4ED) para confirmar un diagnóstico de hipertiroidismo.
- Tres condiciones comunes requieren confirmación con la prueba fT4ED. Los valores altos normales de T_4 (3-5 mg/dl) en un gato joven sin pérdida marcada de peso son normales. Los valores altos (>5 mg/dl) en un gato de mayor edad con señales de pérdida de peso es por lo general un diagnóstico de hipertiroidismo. Los valores altos normales (3-5 mg/dl) en un gato de mayor edad pueden indicar hipertiroidismo. Dado que estos valores pueden suprimirse por enfermedad concurrente, es necesaria una prueba para la hormona activa (fT4ED) para diagnosticar este hipertiroidismo oculto.

Disminución de T₄

En perros, el valor de T_4 total puede usarse para eliminar un diagnóstico de hipotiroidismo. Si la T_4 total se encuentra dentro del intervalo normal, es muy poco probable que el perro sea hipotiroideo. Un valor bajo o bajo normal de T_4 puede sugerir hipotiroidismo, sin confirmarlo, porque hay factores no tiroideos, tales como fármacos y enfermedad, que afectan la T_4 . Un diagnóstico de hipotiroidismo en perros puede confirmarse por medio de una prueba de T_4 libre por diálisis de equilibrio (fT4ED).

- Otras causas de una disminución de los niveles de T₄ pueden estar asociados con la terapia de fármacos y con el síndrome de enfermedad eutiroidea. Los glucocorticoides son los fármacos más clínicamente relevantes que afectan los niveles de T₄. En el síndrome de enfermedad eutiroidea, la disminución de los niveles de T₄ se observan con enfermedades no tiroideas, tales como insuficiencia renal aguda y crónica, diabetes mellitus, insuficiencia hepática y obesidad.
- Después de eliminar la terapia con fármacos y el síndrome de enfermedad eutiroidea, la causa más común de la disminución de niveles de T₄ es el hipotiroidismo primario. El hipotiroidismo en perros es con más frecuencia un resultado de la tiroiditis linfocítica o de la atrofia idiopática. Los tumores tiroideos que hayan destruido más del 75% de la glándula tiroidea pueden causar señales clínicas de hipotiroidismo. Los defectos congénitos de la glándula pituitaria, la destrucción pituitaria y la supresión pituitaria pueden causar un hipotiroidismo secundario en los perros.
- Raras veces se informa de hipotiroidismo espontáneo en los gatos. Las causas comunes de hipotiroidismo felino son la tiroidectomía bilateral y las sobredosis de yodo radiactivo o fármacos antitiroideos en gatos hipertiroideos.
- Los pacientes hipotiroideos también pueden tener concentraciones elevadas de colesterol.
- Para obtener una concentración basal exacta de T₄, debe suprimirse la administración de los medicamentos al paciente durante varios días.

Hipercolesterolemia

- Una dieta de alto contenido graso o una muestra de sangre recogida poco después de que el paciente haya comido puede causar hipercolesterolemia. La hipercolesterolemia no es aparente al realizarse un examen visual de la muestra dado que no causa lipemia.
- Una reducción en la actividad tiroidea causa una disminución en el catabolismo del colesterol, resultando en niveles elevados de colesterol. La



- observación de un elevado nivel de colesterol en un perfil de detección puede ser el primer indicador de hipotiroidismo. El colesterol, cuando se utiliza junto con los niveles de T_4 libre, es un buen indicador de hipotiroidismo canino.
- Un diagnóstico preliminar de hiperlipidemia puede hacerse usando los niveles de colesterol y el índice lipémico impreso en la tarjeta de resultados VETSCAN®. Las concentraciones de colesterol mayores a 300 mg/dl junto con un índice lipémico de 2+ o 3+ pueden indicar hiperlipidemia en perros en ayunas. La hiperlipidemia felina puede diagnosticarse cuando se observan concentraciones de colesterol mayores a 200 mg/dl y un índice de 1+ o superior en gatos en ayunas.
- Los niveles bajos de colesterol por lo general no representan un problema. Se ha observado hipocolesterolemia en el caso de enteropatía con pérdida de proteína, algunas enfermedades hepáticas, ciertas malignidades y una malnutrición grave. Deben examinarse los resultados de las pruebas de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), globulina, bilirrubina total y proteína total, en caso de sospecharse enfermedad hepática. Pueden observarse bajos niveles de proteína, albúmina y globulina en casos de enteropatías con pérdida de proteína y malnutrición.

Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

Si un resultado para una prueba particular supera los valores del análisis, la muestra deberá analizarse por otro método de prueba homologada o enviarse a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el VETSCAN® VS2 Analizador Químico.

- Las muestras con hematocritos que excedan del 60% de volumen corpuscular de eritrocitos darán resultados inexactos. Las muestras con un
 hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas
 muestras pueden ser centrifugadas y luego volver a analizar el plasma
 con un nuevo rotor reactivo.
- El método de T_4 de VETSCAN® es susceptible a interferencia por el autoanticuerpo a T_4 . En los raros casos en que hay presencia de autoanticuerpo a T_4 en una muestra, los resultados de T_4 serán bajos.

Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema VETSCAN® han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al rotor reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia establecidos. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo rotor reactivo.

Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el sistema VETSCAN® se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el Manual del Usuario del VETSCAN® VS2 Analizador Químico). La tabla de intervalos dinámicos que aparece a continuación representa el espectro que puede detectar el sistema VETSCAN®.

Tabla 1: Intervalos dinámicos de VETSCAN®		
Analito	Intervalo dinámico Unidades comunes	Unidades SI
Tiroxina (T₄)	0,5 - 8,0 ug/dl	(6,5 - 103,2 nmol/l)
Colesterol	20 - 520 mg/dl	0,5 - 13,5 mmol/l

Bibliografía

- 1. Murphy BE, et al. Determinations of thyroxine utilizing the property of protein-binding. J Clin Endocrinol Metab. 1964:24:187-196.
- 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-
- 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.



vetscan VS2 Analizador químico

Perfil de T4/Colesterol

(Rotor)

No reutilizar.

Desechar los componentes usados y materiales no utilizados de acuerdo a las regulaciones locales. Conservar fuera del alcance de los niños y animales domésticos.

Importado y Distribuido por: Zoetis México, S. de R.L. de C.V.

Paseo de los Tamarindos Número 60 Planta Baja, Colonia Bosques de las Lomas, Alcaldía de Cuajimalpa de Morelos, México, Ciudad de México, Código Postal 05120.

VETSCAN® PLUS V

Para mayor información, contacte al **Soporte técnico de nuestro Servicio VETSCAN® Plus** llamando al 800 777 0384 con un horario en México de lunes a viernes de 7:00 a 19:00 h y sábados de 7:00 a 13:00 h; o escríbanos al correo electrónico: DXSupport.LATAM@zoetis.com

Para México, visite: www.vetscan.mx

Hecho en Estados Unidos de América

