



In vitro solutions

Набор биохимических реагентов для ветеринарии

ТРИГЛИЦЕРИДЫ ДиаВетТест



ООО «ДИАВЕТ»

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>
info@diakonvet.ru

НАЗНАЧЕНИЕ

ТРИГЛИЦЕРИДЫ ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения содержания триглицеридов ферментативным фотометрическим методом (GPO-PAP) в сыворотке и плазме крови животных и птиц.

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

МЕТОД

Ферментативный фотометрический тест (GPO-PAP).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеинлипаза (ЛПЛ) катализирует реакцию гидролиза триглицеридов с образованием жирных кислот и эквивалентного количества глицерина. Глицерин при наличии АТФ, глицерокиназы (ГК) и глицерофосфатоксидазы (ГФО) окисляется кислородом воздуха с образованием эквивалентного количества перекиси водорода. Пероксидаза (ПОД) катализирует окисление хромогенных субстратов перекисью водорода в присутствии хлорфенола с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации триглицеридов в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (480–520) нм.

Триглицериды $\xrightarrow{\text{ЛПЛ}}$ Глицерин + Жирная кислота

Глицерин + АТФ $\xrightarrow{\text{ГК}}$ Глицерол-3-фосфат + АДФ

Глицерол-3-фосфат + O₂ $\xrightarrow{\text{ГФО}}$ Дигидроацетонфосфат + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-Аминоантипирин + 4-Хлорфенол $\xrightarrow{\text{ПОД}}$ Хинонимин + HCl + 4H₂O

СОСТАВ НАБОРА

Реагент	Буферно-ферментный раствор, pH 6,8, содержащий	
	4-хлорфенол	≥4,0 ммоль/л
	4-аминоантипирин	≥0,2 ммоль/л
	АТФ	≥1,0 ммоль/л
	Глицеринкиназу	≥0,1 кЕ/л
	Липопротеинлипазу	≥1,0 кЕ/л
	Глицерофосфатоксидазу	≥0,5 кЕ/л
	Пероксидазу	≥2,0 кЕ/л
Калибратор	Азид натрия	0,095%
	Калибровочный раствор триглицеридов	2,3 ммоль/л
	Азид натрия	0,095%

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	1,0–11,4 ммоль/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 0,5 ммоль/л
Коэффициент вариации	не более 5%

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании триглицеридов в сыворотке или плазме крови выше 11,4 ммоль/л анализируемую пробу следует развести 1+1 физиологическим раствором (0,9% NaCl) и полученный результат умножить на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N), контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (метод GPO-PAP) и контрольной сыворотки «Липиды» (TruLab L

Уровень 1 и Уровень 2) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных материалов, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Для калибровки фотометрических систем рекомендуется использовать калибратор из набора или мультикалибратор TruCal U (метод GPO-PAP) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация триглицеридов в TruCal U определяется по референтному методу газовой хроматографии – масс-спектрометрии изотопного разведения (GC-IDMS).

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании нового набора.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.

2. В реагенте и в калибраторе содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.

3. Предпринимать стандартные при работе с лабораторными реактивами меры предосторожности.

4. Не использовать реагенты и контроли после истечения срока годности.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Реагент и калибратор готовы к использованию.

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода дистиллированная	10	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	10	–
Образец	–	–	10
Реагент	1000	1000	1000

Пробы перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 10 минут или при комнатной температуре (15–25°C) в течение 20 минут. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (480–520) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска растворов стабильна в течение 60 минут.

* Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к реагенту составляет 1:100).

РАСЧЕТЫ

Содержание триглицеридов в сыворотке или плазме крови определить по формуле:

$$C = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{кал}}} \times C_{\text{кал}}$$

где: C – концентрация триглицеридов в опытной пробе,



ммоль/л;

$A_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. пл.;

$A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. пл.;;

$C_{кал}$ – концентрация триглицеридов в калибраторе/мультикалибраторе, ммоль/л.

Фактор пересчета:

Триглицериды [ммоль/л] × 87,5 = Триглицериды [мг/дл].

Триглицериды [мг/дл] × 0,0114 = Триглицериды [ммоль/л].

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Билирубин до 40 мг/дл (измерение при 546 нм) и до 12 мг/дл (измерение при 505 нм) не влияет на точность анализа. Влияние аскорбиновой кислоты начинается с 6,0 мг/дл, гемоглобина с 250 мг/дл.

В составе набора содержатся вещества (АЛФ), устраняющие липемичность сыворотки.

ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2–8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагент после вскрытия флакона может храниться при температуре 2–8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона и отсутствии загрязнения.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2–8°C в течение 3 месяцев при условии достаточной герметичности флакона и отсутствии загрязнения.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор ТРИГЛИЦЕРИДЫ ДиаВетТест не содержит токсичных и взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

ИЗГОТОВИТЕЛЬ

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д.1а.

Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: EN ISO 13485, ГОСТ ISO 13485



ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Триглицериды (триацилглицериды) - сложные эфиры глицерина и высших жирных кислот, являются главной формой накопления жирных кислот в организме и одним из основных источников энергии, альтернативным по отношению к глюкозе. Триглицериды представляют собой основные жиры, которые присутствуют в жировой ткани. В крови переносятся в составе липопротеидов высокой (ЛПВП), низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), а также хиломикрон. Основная функция хиломикрон - перенос пищевых триглицеридов из кишечника, где происходит их всасывание, в кровяное русло. Триглицериды сначала гидролизуются при помощи липаз до глицерина и свободных жирных кислот, после чего могут из жировых депо переходить в плазму крови (мобилизация жирных кислот) и использоваться тканями организма в качестве энергетического материала.

Набор реагентов (ТРИГЛИЦЕРИДЫ ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторах открытого типа. Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

Показания к применению

Определение триглицеридов применяется в диагностике нарушений метаболизма липидов (дислипотеинемий), атеросклероза, ожирения, гипертонической болезни, сахарного диабета, панкреатита. Определение содержания триглицеридов, как правило, производится одновременно с другими показателями обмена липидов: общим холестерином, ЛПНП (липопротеиды низкой плотности), ЛПВП (липопротеиды высокой плотности). Содержание триглицеридов необходимо знать для того, чтобы правильно классифицировать гиперлипотеинемии и проводить адекватное лечение.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 790 005	Реагент: 3x68 Калибратор: 1x3,0	204
DV 790 006	Реагент: 9x68 Калибратор: 2x3,0	612

Забор образцов

1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многократного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей исследования.

Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышечкой.

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах $\pm 10\%$ от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на 180° для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по применению. Перемешивание необходимо проводить аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.

3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4°C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих аналитов.

4. Подготовка проб:

4.1. Получение плазмы крови. Рекомендуем использовать вакуумные пробирки с ЭДТА/Гепарином Na в качестве антикоагулянта. Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

4.2. Получение сыворотки крови.

Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

Внимание! Исследования не проводятся при:

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияет [6]).
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

5. Хранение.

Стабильность:

2 дня	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
3 месяца	при -20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).

- недостаточная чистая посуда. Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.

- загрязнение блоков кювет. Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.

- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. Рекомендуется заменять реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.

- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики к адаптациям производителя к конкретному анализатору.

ТРИГЛИЦЕРИДЫ ДиаВетТест



- ошибки при проведении преаналитического этапа. *Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.*

- ошибки при приготовлении реагентной смеси, и нарушение соотношения реагент/образец (при работе на полуавтоматических биохимических анализаторах). *Необходимо повторить смешивание.*

- недостоверные результаты при проведении контроля качества. *Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.*

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ*

Образец	Нормальный диапазон, ммоль/л
Собаки	0,24-0,98
Кошки	0,38-1,10
Лошади	0,1-0,4
Крупный рогатый скот (КРС)	0,2-0,6
Свиньи	0,2-0,5
Овцы	...-2,49
Куры	0,43-5,23

*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

Возможные причины изменения уровня триглицеридов:

Повышение уровня триглицеридов:

- Острый и хронический панкреатит;
- Гипотиреоз;
- Сахарный диабет;
- Гиперкортицизм;
- Нефротический синдром;
- Хроническая почечная недостаточность;
- Первичная гиперлипидемия;
- Инфаркт миокарда;
- Ожирение;
- Обструкция желчного протока;
- Болезни печени различной этиологии;
- Идиопатическая гиперлиппротеинемия и гиперхиломикронемия у кошек.

Понижение уровня триглицеридов:

- Нарушение синтетической функции печени;
- Анорексия; мальабсорбция; энтеропатия с потерей белка;
- Лимфангиэктазия;
- Экзокринная панкреатическая недостаточность;
- Тепловой удар;
- Острые инфекции; анемии; сепсис;
- Гипертиреоз;
- Хроническая сердечная недостаточность;
- Гипопротеинемия.

ВНИМАНИЕ! Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион, 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реагентов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в **ООО «ДИАВЕТ»:**

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

info@diakonvet.ru

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

