



ООО «ДИАВЕТ»

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

info@diakonvet.ru

Набор биохимических реагентов для ветеринарии

ЛИПАЗА ДиаВетТест

НАЗНАЧЕНИЕ

ЛИПАЗА ДиаВетТест (CHOLIN) – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для количественного определения липазы в сыворотке и плазме крови животных и птиц ферментативных кинетическим методом.

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 колориметрический тест.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Синтетический субстрат для липазы (1,2-о-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester) добавлен в микроэмульсию, и специфически разлагается липазой в присутствии колипазы и желчных кислот. Комбинация липазы и желчных кислот делает это разложение надежно специфическим для панкреатической липазы, без какой-либо реакции, происходящей за счет липолитических ферментов или эстераз. Состав реагентов полностью оптимизирован так, чтобы исключить влияние сывороточных компонентов на результаты анализа. Образующийся в результате реакции метилрезорурфинэфир, самопроизвольно разлагается до метилрезорурфина. Светопоглощение этого красного красителя прямо пропорционально активности липазы в образце.

Увеличение абсорбции определяется фотометрически.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Good`s буфер, pH 8,0	50 ммоль/л
	Тауродезоксихолат	4,3 ммоль/л
	Дезоксихолат	8,0 ммоль/л
	CaCl ₂	15 ммоль/л
Реагент 2	Колипаза	2,2 мг/л
	Тартратный буфер, pH 4,0	7,5 ммоль/л
	Тауродезоксихолат	17,2 ммоль/л
	Субстрат DGGMR	0,65 ммоль/л

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	до 300 Е/л
Чувствительность	не более 3 Е/л

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. Если значение превосходит верхнюю границу диапазона, необходимо развести образец изотоническим раствором NaCl (0,9%) в соотношении 1+1 и полученный результат умножить на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется мультикалибратор TruCal U, производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Метод прослеживается по коэффициенту молярной экстинкции доступного метода измерения.

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов необходимо проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Возможно использование других контрольных материалов, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Реагент 1 вызывает серьезные раздражения глаз. Пользуйтесь

защитной одеждой и перчатками. Не допускайте попадания реагента в глаза, в случае попадания осторожно промойте водой в течение нескольких минут. Обратитесь за медицинской помощью.

3. В качестве консерванта реагенты содержат азид натрия (0,95 г/л). Не глотать! Избегать контакта реагентов с кожей и слизистыми оболочками.

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

5. Для того, чтобы избежать интерференции, вызванных так называемым эффектом переноса, пожалуйста, позаботьтесь об эффективной промывке, особенно после использования интерферирующих реагентов.

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

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию. Не встряхивать! 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 таблицах.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец	-	-	20
Мультикалибратор	-	20	-
Деионизованная вода	20	-	-
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать (не встряхивать), инкубировать 1–5 мин при 37°C, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать, инкубировать 2 мин при 37°C. Измерить оптическую плотность (A1) при длине волны 580, Hg 578 нм и включить секундомер. Измерить оптическую плотность при длине волны 580, Hg 578 нм точно через 1 и 2 мин			

*Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора.

$\Delta A/\text{мин} = \Delta A/\text{мин}(\text{образца или калибратора}) - \Delta A/\text{мин}(\text{холостой пробы})$

РАСЧЕТЫ

По мультикалибратору

$$\text{Активность Липазы [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times$$

× Активность Липазы в мультикалибраторе [Е/л]

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;

$\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

Фактор пересчета

$$\text{Липаза [Е/л]} \times 0,0167 = \text{Липаза [\mu\text{кат/л}]}$$

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

В составе набора содержатся вещества (АЛФ), устраняющие липемичность сыворотки. Аскорбиновая кислота до 30 мг/дл, свободный и конъюгированный билирубин до 60 мг/дл, гемоглобин до 500 мг/дл и липемия до 1000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа.



ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранить реагенты при температуре 2–8°C в плотно закрытых флаконах в упаковке предприятия-изготовителя, в защищенном от света месте в течение всего срока годности.

Не допускать загрязнения. Не замораживать реагенты!

Транспортировка всеми видами крытого транспорта в соответствии с действующими правилами перевозок. Условия транспортирования осуществляются при температуре 2–8°C.

Реагенты в транспортной упаковке устойчивы к воздействию механических факторов, возникающих при транспортировании. Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 12 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

После вскрытия флакона реагенты могут храниться при температуре 2–8°C в темном месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов.

При соблюдении рекомендованного способа хранения реагенты стабильны, после вскрытия флаконов, до конца срока годности, обозначенного на упаковке.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор ЛИПАЗА ДиаВетТест не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала.

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.



ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Липаза — общее название класса пищеварительных эстераз, катализирующих расщепление нейтральных жиров (триглицеридов) до глицерина и жирных кислот. Фермент и его кофактор колипаза вырабатываются большей частью в поджелудочной железе. Кроме того, в малых количествах липаза также секретируется слюнными железами, слизистыми оболочками желудка, легких и кишечника.

Набор реагентов (ЛИПАЗА 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 липазы используется для диагностики панкреатических расстройств. При остром панкреатите концентрация липазы в крови возрастает в 2–50 раз через 4–8 часов после начала приступа. Повышенные уровни липазы, также могут наблюдаться при хронических панкреатитах и закупорке протока поджелудочной железы. Понижение уровня липазы может происходить при онкологических заболеваниях, кроме рака поджелудочной железы, и при неправильном питании (избытке триглицеридов в пище).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 784 011	Реагент 1: 4x20 Реагент 2: 2x10	100

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 крышкой.

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.

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.

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови.

Стабильность:

7 дней	при 20–25°C
7 дней	при 4–8°C
1 год	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).
- недостаточно 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 заменить реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.
- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптацией производителя к конкретному анализатору.
- 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, Ед/л
Собаки	30,0-250,0
Кошки	30,0-300,0
Лошади	...-400,0
Крупный рогатый скот (КРС)	50,0-350,0
Свиньи	11,0-72,0

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

Возможные причины изменения уровня липазы:

Повышение уровня липазы:

- Панкреатит любого происхождения;
- Заболевания почек, снижение клубочковой фильтрации;
- Перитонит, гастрит, обструкция желчного пузыря, операции на внутренних органах;
- Новообразования, кисты поджелудочной железы;
- Непроходимость кишечника;
- Хронические поражения желчного пузыря;
- У кошек – токсоплазмоз и инфекционный перитонит.

Понижение уровня липазы:

- Онкологические процессы;
- Действие лекарственных средств, провоцирующих спазм сфинктера Одди (анальгетики, секретин).

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

