

ХОЛИНЭСТЕРАЗА ДиаВетТест



Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения активности холинэстеразы в крови животных.

Холинэстераза (ХЭ) - фермент из класса гидролаз, катализирующий расщепление эфиров холина (ацетилхолина и др.) с образованием холина и соответствующих кислот. Измерение уровня ХЭ в сыворотке крови животных может быть полезным при отравлении инсектицидами или различными токсичными соединениями ингибирующими фермент (фосфорорганические, феноксиазины, фториды, различные алкалоиды и др.) и для оценки функции печени. Следует отметить, что в отличие от других ферментов, где указанием на наличие патологического процесса является повышение активности, активность холинэстеразы, которая синтезируется клетками печени, при гепатите снижается. Иногда измерение ХЭ используется для определения синтетической функции печени животного. Небольшое повышение активности холинэстеразы отмечено в первую половину беременности, а ее снижение - во вторую половину, что не является указанием на наличие патологического процесса. Так как холинэстераза находится в связанном с альбумином состоянии, значительное снижение концентрации альбумина ведет за собой соответствующее падение уровня ХЭ.

Показания к исследованию

- Заболевания печени различной этиологии;
- Отравления.

Информация для заказа

Кат. №	Состав, мл		Объем, мл
	Реагент 1	Реагент 2	
DV 793 011	4x20	2x10	100

Метод

Кинетический фотометрический тест. Под влиянием холинэстеразы бутирилтиохолин гидролизуетсся с образованием масляной кислоты и тиохолина. Тиохолин затем восстанавливает гексациано-(III)-феррат калия (красную кровяную соль) до бесцветного гексациано-(II)-феррата (желтой кровяной соли), что приводит к уменьшению поглощения света, измеряемого при 405 нм.

Аналитические характеристики

- Линейность в диапазоне от 50 до 20 000 Ед/л.
- Отклонение от линейности не превышает 3%.
- Чувствительность – не более 50 Ед/л.
- Коэффициент вариации – не более 3%.

При содержании холинэстеразы в сыворотке или плазме крови выше 20 000 Ед/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в соотношении 1 + 5 и полученный результат умножить на 6.

Контроль качества

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы [DiaSys](#). Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruCal N и P (Бутирилтиохолиновый).

Подготовка животного к исследованию

У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления. Можно пить воду.

Исследуемые образцы

- Сыворотка.
- Гепаринизированная или ЭДТА-плазма.

Меры предосторожности

Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Подготовка к анализу

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Для приготовления **рабочего реагента**: смешать 4 объема **реагента 1** и один объем **реагента 2**. Тщательно закрыть флаконы с **реагентами 1 и 2** после отбора аликвот.

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Проведение анализа

Компоненты отбирать в количествах, указанных в таблице.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.				Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.			
Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба	Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Сыворотка крови	-	-	20	Сыворотка крови	-	-	20
Дист. вода	20	-	-	Дист. вода	20	-	-
Мультикалибратор	-	20	-	Мультикалибратор	-	20	-
Рабочий реагент	1000	1000	1000	Реагент 1	1000	1000	1000
				Перемешать, инкубировать около 3 мин, затем добавить:			
				Реагент 2	250	250	250
Пробы и калибратор тщательно перемешать и выдержать при температуре 37°C в течение 120 с. Измерить оптическую плотность против холостой пробы, на длине волны 405 нм. Через 1 мин повторить измерение. Рассчитать изменение оптической плотности в мин.				Перемешать, инкубировать 2 мин, затем измерить поглощение и запустить отсчёт времени. Повторно измерить поглощение через 1, 2 и 3 мин и определить скорость его изменения ($\Delta A/\text{мин}$).			
				$\Delta A/\text{мин} = \Delta A/\text{мин}_{\text{пробы}} - \Delta A/\text{мин}_{\text{холостой пробы}}$			

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:50).

Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.

Расчет: По фактору $\Delta A/\text{мин} \times 68500 = \text{Активность ХЭ (Ед/л)}$

$$\frac{\Delta A_{\text{образца}}}{\Delta A_{\text{калибр.}}}$$

По калибратору: $\text{ХЭ [Ед/л]} = \frac{\Delta A_{\text{образца}}}{\Delta A_{\text{калибр.}}} \times \text{Конц. калибратора [Ед/л]}$

Фактор пересчета: $\text{ХЭ [кЕ/л]} \times 16,67 = \text{ХЭ [мккат/л]}$

Интерпретация результатов исследования

Единицы измерения в лаборатории: Ед/л.

Референсные значения: собака – 2200-12000 Ед/л, кошка – 2000-11800 Ед/л, лошадь – 2300-15000 Ед/л; крупный рогатый скот – 2800-11800 Ед/л; свинья – 3000-13000 Ед/л.

Понижение уровня холинэстеразы:

- Отравление токсическими соединениями (фосфорорганические препараты, фенотиазины, фториды, различные алкалоиды);
- Гипоальбуминемия;
- Хирургические операции;
- ↓ на 40-50% - признаки гепатита в острой форме;
- ↓ на 70% - терминальная стадия цирроза, онкопроцесс;
- Беременность (вторая половина);
- Хронические заболевания почек, желчнокаменная болезнь.

Повышение уровня холинэстеразы:

- Генетический гепатоз с гиперпигментацией;
- Тяжелые заболевания почек (нефриты, нефротический синдром);
- Воспалительные заболевания тонкого кишечника (экссудативный энтерит);
- Ожирение;
- Гиперлиппротеинемия;
- Беременность (первая половина).

Транспортирование, условия хранения и эксплуатации набора

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов стабильны до конца месяца, указанного в сроке годности, при хранении при 2–8°C в защищенном от света месте. Не допускать загрязнения. Не замораживать реагенты!

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

Обезвреживание отходов

Утилизацию отходов после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами.

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.

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

По вопросам, касающимся качества набора ([ХОЛИНЭСТЕРАЗА ДиаВетТест](#)), следует обращаться в [ООО «ДИАКОН-ВЕТ»](#) по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-39; доб. 56-24/55-97