

Набор биохимических реагентов для ветеринарии

ХОЛИНЭСТЕРАЗА ДиаВетТест

ООО «ДИАКОН-ВЕТ»

142290, г. Пущино, Московской обл.

info@diakonvet.ru

<https://diakonvet.ru/>



ХОЛИНЭСТЕРАЗА (CHOL) ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения активности холинэстеразы (ХЭ) в сыворотке и плазме крови животных и птиц.

Холинэстеразы — группа ферментов из класса гидролаз карбоновых кислот, субстратами которых являются сложные эфиры холина с уксусной, пропионовой или масляной кислотами. Внутриклеточная ацетилхолинэстераза играет ключевую роль в процессах нейрогуморальной и синаптической передачи импульсов. Сывороточная холинэстераза выполняет в организме защитные функции. В частности, она предохраняет от инактивации ацетилхолинэстеразу, поскольку с большой скоростью гидролизует ингибитор данного фермента — бутирилхолин.

Показания к применению

Измерение уровня ХЭ в сыворотке крови животных может быть полезным при отравлении инсектицидами или различными токсичными соединениями, ингибирующими фермент (фосфорорганические, фенотиазины, фториды, различные алкалоиды и др.). Активность сывороточной ХЭ — показатель функции печени, снижающийся при ее циррозе, а также гепатите, холецистите и многих других заболеваниях.

Информация для заказа

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 793 011	Реагент 1: 4x20 Реагент 2: 2x10	100

Состав реагентов

Реагент 1	Пирофосфат pH 7,6 Гексациано-(III)-феррат калия	95 ммоль/л 2,5 ммоль/л
Реагент 2	Бутирилхолин	75 ммоль/л

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

Принцип метода

Кинетический фотометрический тест с бутирилтиохолином (Butyrylthiocholin). Под влиянием холинэстеразы бутирилтиохолин гидролизует с образованием масляной кислоты и тиохолина. Тиохолин затем восстанавливает гексациано-(III)-феррат калия (красную кровяную соль) до бесцветного гексациано-(II)-феррата (жёлтой кровяной соли), что приводит к уменьшению поглощения света, измеряемого при 405 нм. Скорость изменения поглощения прямо пропорциональна активности ХЭ. Тип реакции – кинетика.

Аналитические характеристики

Параметр	Значение
Линейность	50-20000 Ед/л
Коэффициент вариации	<3%

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. Если результат измерения выходит за верхнюю границу линейности, пробу следует развести физиологическим раствором, измерить заново и полученный результат умножить на разведение. Если результат измерения выходит за нижнюю границу линейности, пробу следует увеличить в два раза, измерить и полученный результат разделить пополам.

Меры предосторожности

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Предпринимать меры предосторожности, стандартные при работе с лабораторными реактивами.
3. Не использовать реагенты, калибраторы и контроли после истечения срока годности.
4. Реагент содержит <0,1% азида натрия в качестве консерванта. Избегайте контакта с кожей и глазами.

Забор образцов

Забор пробы крови животных производят с соблюдением правил асептики и антисептики, желательны натошак. Кровь у крупных животных берут из яремной или хвостовой вены в одноразовые шприцы-контейнеры с антикоагулянтом ЭДТА (пробирка с зеленой или сиреневой крышкой). При отсутствии указанных шприцев-контейнеров кровь берут одноразовыми шприцами или индивидуальными стерильными иглами для взятия крови в стерильные пробирки с консервантом ЭДТА в расчёте 1-3% от объёма крови и тщательно перемешивают. У свиней кровь берут из уха (иглой или шприцем) или из кончика хвоста. Хвост предварительно обмывают водой с мылом и дезинфицируют спиртом или 3%-ным раствором карболовой кислоты, а затем кончик отрезают ножницами. После взятия крови кончик хвоста обрабатывают йодом, перевязывают или прижигают. Также у свиней возможно взятие из яремной или передней полой вены. У птиц кровь берут из подкрыльцевой вены или из гребешка. Кровь у собак и кошек берут из малой подкожной вены голени, из подкожной вены предплечья или из наружной яремной вены. У мелких животных - получают путем прокола мягкой части ступни или делают надрез края уха. Предварительно по ходу вен выстригают шерсть, дезинфицируют кожу. Не используйте забор крови в шприц, во избежание возникновения вакуумного гемолиза!

Подготовка проб

ВНИМАНИЕ! В процессе забора, хранения и транспортировки образцов крови избегайте их вспенивания или встряхивания. Это может вызвать гемолиз, что ведет к получению некорректных результатов.

Объектами исследования являются сыворотка или плазма крови. Сыворотку или плазму следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

Для получения сыворотки кровь забирают в пробирку с активатором свертывания. После взятия материала, пробирку осторожно переворачивают несколько раз для обеспечения перемешивания крови и активатора; далее выдерживают пробирку в вертикальном состоянии в течение 10-30 минут при комнатной температуре. Пробирку со свернувшейся кровью центрифугируют 20 минут со скоростью 2000 об/мин.

Проведение анализа

Для одноканального полуавтоматического биохимического анализатора:

1. Приготовить рабочий раствор: смешать Реагент 1 и Реагент 2 в соотношении 4:1 (400 мкл R1 и 100 мкл R2). Оставить свежеприготовленный рабочий раствор на 10-15 мин. при комнатной температуре (15-25°C) для уравнивания компонентов смеси. Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C не более недели или при комнатной температуре не более суток.
2. Нагреть рабочий раствор до 37°C. Приготовить реакционные смеси в следующих количествах (конечное соотношение образца к рабочему раствору 1:50):

Образец	Объем, мкл
Сыворотка или плазма крови	10
Рабочий раствор	500

3. Пробы перемешать и инкубировать 2 мин. при 37°C.
4. Измерять пробы при длине волны 405 нм три раза с интервалом 60 сек, в соответствии с Руководством пользователя биохимического анализатора.

Примечание. При программировании анализатора применяйте значение фактора 68500.

Примечание. Для установки значения бланка (холостой пробы) или калировки используйте следующие реакционные смеси, соответственно:

Холостая проба

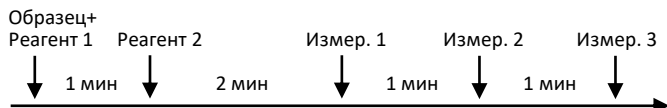
Образец	Объем, мкл
Вода дистиллированная	10
Рабочий раствор	500

Калибровочная проба

Образец	Объем, мкл
Калибратор	10
Рабочий раствор	500

Настройку бланка и калибровку полагается выполнять периодически в соответствии с Руководством пользователя применяемого анализатора.

Для автоматического биохимического анализатора (общая схема):



Примечание. При использовании различных автоматических биохимических анализаторов состав реакционной смеси и порядок действий могут отличаться. Запрашивайте соответствующую анализатору адаптацию.

Контроль качества

Для калибровки анализаторов рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы DiaSys (Германия). Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и TruLab P фирмы DiaSys (Германия).

Интерпретация результатов исследования

Референсные значения

Образец	Нормальный диапазон, Ед/л
Собаки	2200-12000
Кошки	2000-11800
Лошади	2300-15000
Кр. рогатый скот	2800-11800
Свиньи	3000-13000

Повышение уровня:

- Отравление токсическими соединениями (фосфорорганические препараты, феноксиазины, фториды, алкалоиды);
- Гипоальбуминемия;
- Хирургические операции;
- Падение на 40-50% - признаки гепатита в острой форме;
- Падение на 70% - терминальный цирроз, онкопроцесс;
- Беременность (вторая половина);
- Хронические заболевания почек, желчнокаменная болезнь.

Понижение уровня:

- Генетический гепатоз с гиперпигментацией;
- Тяжелые заболевания почек;
- Воспалительные заболевания тонкого кишечника;
- Ожирение;
- Гиперлипопротеинемия;
- Беременность (первая половина).

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

Транспортировка, условия хранения и эксплуатации

Транспортировка и хранение наборов должны производиться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортировка и хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!**

Срок годности невскрытого набора 18 месяцев с даты изготовления. После вскрытия флакона реагент может храниться при температуре 2–8°C в темном месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов.

Утилизация отходов

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

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.

Изготовитель

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

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в ООО «ДИАКОН-ВЕТ»:

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

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

