



Набор биохимических реагентов для ветеринарии

ОБЩИЙ БЕЛОК ДиаВетТест

НАЗНАЧЕНИЕ

ОБЩИЙ БЕЛОК ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения содержания общего белка в сыворотке и плазме крови животных и птиц биуретовым способом.

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

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

МЕТОД

Фотометрический тест в соответствии с биуретовым методом.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Белки образуют с ионами меди в щелочной среде комплекс, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации общего белка в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 540 (520–560) нм.

СОСТАВ НАБОРА

Монореагент	Раствор, содержащий	
	NaOH	180 ммоль/л
	Калий-натрий виннокислый	31,7 ммоль/л
	CuSO ₄	6,6 ммоль/л
Калибратор	KI	15 ммоль/л
	Калибровочный раствор, содержащий	
	BCA	50 г/л
	NaCl	0,9 %
	NaN ₃	0,095%

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	10–150 г/л
Отклонение от линейности	не более 3%
Чувствительность	не более 5 г/л
Коэффициент вариации	не более 3%

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании общего белка в образце выше 150 г/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 проводите измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) (Биуретовый без сывороточного бланка – для монореагентной схемы определения; Биуретовый с сывороточным бланком – для бирагентной схемы определения).

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

Для калибровки фотометрических систем рекомендуем использовать калибратор из набора или мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Значение калибратора из набора прослеживается до референсного материала SRM 927c.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при нестабильности результатов 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 монореагенте содержится щелочь, в Калибраторе содержится 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 меры при работе с лабораторными реагентами меры предосторожности.

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

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Монореагентная схема - запуск реакции образцом.

Монореагент 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
Образец	–	–	20
Вода дистиллированная	20	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	20	–
Монореагент/ Рабочий реагент	1000	1000	1000
Пробы перемешать и инкубировать при температуре 15–25/37°C в течение 10 мин. Измерить оптическую плотность (А) опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (520–560) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Окраска растворов стабильна в течение 60 мин.			

$DA = A_{\text{образца или калибратора/мультикалибратора}} - A_{\text{холостой пробы}}$

*Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение Образец: Монореагент/Рабочий реагент составляет 1:50).

РАСЧЕТЫ

Содержание общего белка в образце определить по формуле:

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

где: С – концентрация общего белка в опытной пробе, г/л;

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

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

C_{кал} – концентрация общего белка в калибраторе/мультикалибраторе, г/л.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 30 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл, гемоглобин до 500 мг/дл, декстран до 2000 мг/дл и липемия до 1000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительные вещества (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.



ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2–8°C в холодильных камерах или устройствах, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры, в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Набор предназначен для одноразового применения.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2–8°C, в холодильных камерах или устройствах, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

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

Набор применять в помещениях с нормальными климатическими условиями при температуре окружающей среды от 15 до 25°C, относительной влажности воздуха не более 80%.

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.

Монореагент после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2–25°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 ОБЩИЙ БЕЛОК ДиаВетТест не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду, 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

Белки — высокомолекулярные органические вещества, состоящие из альфа-аминокислот, соединённых в цепочку пептидной связью. Множество комбинаций аминокислот создают молекулы белков с большим разнообразием свойств и функций: структуры и транспорт, метаболизм и катаболизм веществ, производство и утилизация энергии, рост и размножение, запасание, иммунитет и многое другое. Они служат основным строительным материалом для всех клеток и тканей тела. Из белков построены ферменты, многие гормоны, антитела и факторы свертывания крови. Помимо этого, они выполняют функцию переносчиков гормонов, витаминов, минералов, жироподобных субстанций и других компонентов обмена веществ в крови, а также обеспечивают их транспортировку внутрь клеток. Белки являются важнейшей частью питания, соответственно они поступают в организм с пищей. В процессе пищеварения белки расщепляются на составляющие их аминокислоты, которые затем используются организмом для синтеза своих собственных белков.

Набор реагентов (ОБЩИЙ БЕЛОК 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

Отклонение уровня общего белка крови от нормы может быть вызвано рядом физиологических состояний не патологического характера или являться симптомом различных заболеваний. Принято различать относительное отклонение, связанное с изменением содержания воды в циркулирующей крови, и абсолютное, вызванное изменениями в обмене сывороточных белков. Наибольшее клиническое значение имеет абсолютная гипопроотеинемия. Абсолютное снижение концентрации общего белка в крови чаще всего происходит за счет уменьшения количества альбуминов. Истощение запасов альбумина в крови может происходить при недоедании, заболеваниях желудочно-кишечного тракта и трудностях в усвоении пищи, хронических интоксикациях. К заболеваниям, связанным с уменьшением количества альбуминов крови, относятся нарушения в работе печени, почек, некоторые эндокринные патологии. Абсолютное повышение общего белка крови может возникать при острых и хронических инфекционных заболеваниях из-за усиленной продукции иммунных глобулинов, при некоторых онкологических заболеваниях крови, при заболеваниях печени и др.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 788 005	Реагент: 3x68 Калибратор: 1x3,0	204
DV 788 006	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 многообразного 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 $2,0-8,0^\circ\text{C}$.

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, обводит тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре $37-38^\circ\text{C}$ 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:

24 ч	при $15-25^\circ\text{C}$
72 ч	при $2-8^\circ\text{C}$
6 месяцев	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.



Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией



- 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 адаптациями 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, г/л
Собаки	55,1-75,2
Кошки	57,5-79,6
Лошади	57,1-79,1
Крупный рогатый скот (КРС)	61,6-82,2
Свиньи	58,3-83,2
Овцы	60,0-79,0
Куры	21,0-52,0

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

Возможные причины изменения уровня общего белка:

Повышение уровня общего белка:

- Дегидратация (диарея у молодых животных, холера, рвота при кишечной непроходимости, обширные ожоги);
- Острые и хронические инфекционные заболевания;
- Онкологические заболевания с гиперпродукцией патологических белков – парапротеинемия;
- Гиперглобулинемия, моно- и поликлональные гаммапатии.

Понижение уровня общего белка:

- Недостаточное поступление белка в организм с пищей (голодание, панкреатиты, энтероколиты, опухоли, последствия оперативных вмешательств);
- Синдром мальабсорбции;
- Заболевания печени (циррозы, гепатиты, карцинома и метастазы опухолей в печень, токсическое поражение);
- Острые и хронические кровотечения, нефротический синдром, гломерулонефрит; обширные ожоги.

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.