

Набор биохимических реагентов для ветеринарии

ГЛЮКОЗА ДиаВетТест



НАЗНАЧЕНИЕ

ГЛЮКОЗА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения содержания глюкозы глюкозооксидазным методом 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 (GOD-PAP), глюкозооксидазный.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Глюкозооксидаза катализирует окисление β-D-глюкозы кислородом воздуха с образованием эквимольных количеств глюколактона и перекиси водорода. Пероксидаза катализирует окисление хромогенных субстратов перекисью водорода в присутствии фенола с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (480–520) нм. Тип реакции – конечная точка.



СОСТАВ НАБОРА

Реагент	Буферно-ферментный раствор, pH 7,5, содержащий	
	Глюкозооксидазу	≥10 кЕ/л
	Фенол	≥3,0 ммоль/л
	4-аминоантипирин	≥0,3 ммоль/л
Калибратор	Пероксидазу	≥1,0 кЕ/л
	Калибровочный раствор	
	Глюкозы в растворе азиды натрия	5,55 ммоль/л 0,095%

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	1,0–30 ммоль/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 0,5 ммоль/л
Кoeffициент вариации	не более 5%

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании глюкозы в образце выше 30 ммоль/л анализируемую пробу следует развести 1+1 физиологическим раствором (0,9% NaCl), а полученный результат умножить на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N), 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.

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

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 реагенте содержится токсичный компонент – фенол, в калибраторе – 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
Дистиллированная вода	10	–	–
Калибратор	–	10	–
Образец	–	–	10
Реагент	1000	1000	1000

Пробы перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 10 мин или при комнатной температуре (15–25°C) в течение 20 мин. 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 мин.

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

РАСЧЕТЫ

Содержание глюкозы в сыворотке, плазме крови и моче (ммоль/л) определить по формуле:

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

- где: C – концентрация глюкозы в опытной пробе, ммоль/л;
 $\Delta A_{оп}$ – изменение оптической плотности опытной пробы, ед.опт.пл.;
 $\Delta A_{кал}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед.опт.пл.;
 $C_{кал}$ – концентрация глюкозы в калибраторе/мультикалибраторе, ммоль/л.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 15 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл и липемия до 28,5 ммоль/л триглицеридов не влияют на точность анализа.



Медикаментозное лечение с применением N-ацетилцистеина, ацетаминофена и метамизола приводит к ложно низким результатам в образцах пациентов. Уровень глюкозы увеличивается под влиянием АКТГ, кортикостероидов, кофеина, D-тироксина, адреналина, фенатазинов, препаратов лития, эстрогенов, индометацина, пероральных контрацептивов и др. Дополнительные вещества (АЛФ), устраняющие липемичность сыворотки, не требуются.

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 темном 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.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор ГЛЮКОЗА 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

Глюкоза (С6Н12О6) — моносахарид (шестиатомный гидроксильный альдегид). Глюкозное звено входит в состав полисахаридов (целлюлоза, крахмал, гликоген) и ряда дисахаридов (мальтозы, лактозы и сахарозы). Является одним из основных метаболитов углеводного обмена и поставщиком энергии для протекающих в организме биохимических процессов. Концентрация глюкозы в крови является производной активности процессов гликолиза, гликогенолиза, глюконеогенеза, гликолиза и регулируется многими гормонами. Инсулин является основным гипогликемическим фактором, во время как глюкагон, соматотропин, тиреотропин, гормоны щитовидной железы, кортизол и адреналин вызывают гипергликемию. Набор реагентов (ГЛЮКОЗА 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

Измерение глюкозы в крови является основным лабораторным тестом в диагностике диабета, ожирения, патологий щитовидной железы, надпочечников, гипофиза, печени. Рекомендуется проводить контрольные исследования на наличие диабета II типа всех особей во второй половине жизни. В более раннем возрасте скрининговое исследование проводится при повышенном риске диабета (включая животных старше 10 лет). Биохимические сдвиги могут быть обнаружены за несколько лет до появления клинических признаков заболевания.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 778 005	Реагент: 3x68 Калибратор: 1x3,0	204
DV 778 006	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 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 анализов.

4. Подготовка проб:

4.1. Получение плазмы крови.

Рекомендуем использовать вакуумные пробирки с крышкой с фторидом натрия (стабилизатором глюкозы) и ЭДТА (антикоагулянт). Благодаря применению стабилизаторов и антикоагулянтов, в образце крови блокируется гликолиз. Отбренные 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 в плазме после добавления ингибиторов гликолиза (фториды, манноза):

2 дня	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
1 день	при -20°C

Стабильность в сыворотке (отделенная от форменных элементов):

8 ч	при 15–25°C
72 ч	при 2–8°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 заменять 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 реagentной смеси, и нарушение соотношения реagent/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.*

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией



НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ*

Образец	Нормальный диапазон, ммоль/л
Собаки	4,3-7,3
Кошки	3,3-6,3
Лошади	3,0-7,0
Крупный рогатый скот (КРС)	2,2-3,3
Свиньи	4,0-6,4
Овцы	2,75-4,4
Куры	11,43-27,03

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

Возможные причины изменения уровня глюкозы:

Повышение уровня глюкозы:

- Сахарный диабет;
- Физиологическая гипергликемия (умеренная физическая нагрузка, стресс, выброс адреналина);
- Эндокринная патология (феохромоцитомы, соматостатинома, тиреотоксикоз, акромегалия, гигантизм, синдром Кушинга);
- Заболевания поджелудочной железы (острый и хронический панкреатит; панкреатит при эпидемическом паротите, муковисцидозе, гемохроматозе, опухоли поджелудочной железы);
- Кровоизлияние в мозг, инфаркт миокарда;
- Хронические заболевания печени и почек;
- Наличие антител к инсулиновым рецепторам.

Понижение уровня глюкозы:

- Заболевания поджелудочной железы (гиперплазия, аденома или карцинома);
- Эндокринная патология (адреногенитальный синдром, гипотиреоз);
- Тяжелые болезни печени (цирроз, гепатит, карцинома, гемохроматоз);
- Злокачественные неопластические опухоли (рак надпочечника, рак желудка, фибросаркома);
- Ферментопатии (гликогенозы, галактоземия);
- Реактивная гипогликемия (гастроэнтеростома, вегетативные расстройства, постгастроэктомия, нарушение перистальтики ЖКТ);
- Интоксикация; нарушения питания; интенсивная физическая нагрузка; лихорадочные состояния.

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. Gunder 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 реagentов «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.