



Cholinesterase

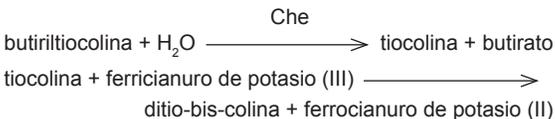
Para la determinación de colinesterasa en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Se ha demostrado la existencia de dos colinesterasas: una es la acetilcolinesterasa o colinesterasa verdadera (acetil colina hidrolasa, EC. 3.1.1.7) que se encuentra en eritrocitos y terminaciones de nervios colinérgicos, y la otra es la butirilcolinesterasa o pseudocolinesterasa (EC. 3.1.1.8) que se encuentra en plasma, hígado, músculo liso y adipocitos. La colinesterasa del suero o plasma (Che) o pseudocolinesterasa está asociada a las siguientes condiciones clínicas:

- 1) Constituye un índice de función hepática, especialmente en hepatopatías crónicas. Se observa una buena correlación entre el aumento de GOT (AST) y la disminución de Che, en hepatitis infecciosas.
- 2) Su disminución indica intoxicación por insecticidas organofosforados, inhibidores de la Che.
- 3) En algunos individuos sensibles a la succinilcolina, relajante muscular administrado durante la anestesia, se observa una apnea post-anestésica prolongada y en algunos casos, fatal. Esto coincide con la presencia de una variante genética de la Che ("atípica") incapaz de hidrolizar a la succinilcolina. En sujetos normales, esta droga es hidrolizada "in vivo" por la Che, en 1 a 4 minutos, por eso la apnea también se relaciona con bajos niveles de Che total. Existen métodos de inhibición diferencial que permiten detectar a sujetos portadores de colinesterasa atípica.

FUNDAMENTOS DEL METODO



REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** buffer pirofosfato 73 mM, ferricianuro de potasio (III) 2,4 mM, pH 7,7.
- B. Reactivo B:** solución de buffer de Goods 10 mM, butiriltiocolina 92 mM, pH 4,0.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/)

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones. Proteger de la luz.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado o plasma con EDTA

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.
- b) Aditivos:** en caso de emplear plasma como muestra, se recomienda el uso de heparina o EDTA (**Anticoagulante W** de Wiener lab.) como anticoagulantes para su obtención.
- c) Sustancias interferentes conocidas:** no se observan interferencias por bilirrubina hasta 500 mg/l, triglicéridos hasta 14 g/l, hemoglobina hasta 1000 mg/dl. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C) o 1 año a -20°C, sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para **Cholinesterase** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador	4 ul
Reactivo A	150 ul
Incubación durante 300 segundos a 37°C	
Reactivo B	30 ul
Incubación durante 120 segundos a 37°C. Lectura de ab-	

sorbancia inicial a 405 nm (A_1). A los 90 segundos exactamente medidos con cronómetro, se registra una segunda lectura (A_2). Para obtener el resultado de colinesterasa en U/l, se multiplica la diferencia de absorbancia ($\Delta A = A_2 - A_1$) por el factor.

CALIBRACION

El **Calibrador A plus** es procesado de la misma manera que las muestras. A partir de él se calcula el factor correspondiente. Ingresar el valor de concentración del calibrador, cada vez que se cambie de lote.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de colinesterasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma

Niños, hombres y mujeres > 40 años: 5320 - 12920 U/l
Mujeres entre 16 y 39 años, no embarazadas y que no toman anticonceptivos orales: 4260 - 11250 U/l
Mujeres entre 18 y 41 años, embarazadas o tomando anticonceptivos orales: 3650 - 9120 U/l

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, teniendo en cuenta sexo, edad, hábitos alimenticios, medición y otros factores propios de la población.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Colinesterasa (kU/l) = Colinesterasa (U/l) x 0,001

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas. Se recomienda utilizar **Standatrol S-E 2 niveles** de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

PERFORMANCE

a) **Precisión:** basado en el protocolo EP15A del CLSI, se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación como estimadores de la precisión intraensayo (CV_i) y total (CV_t):

Nivel	CV	CV_t
2553 U/l	1,4%	1,5%
4283 U/l	2,8%	2,5%
6791 U/l	1,5%	1,5%

b) **Límite de detección:** 70 U/l.

c) **Límite de cuantificación:** 262 U/l.

d) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 14000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica

(NaCl 9 g/l), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación, consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe utilizarse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1999704)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009278)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009350)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009607)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1009916)*

BIBLIOGRAFIA

- Young D. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, second edition, 1997.
- Young D. and Friedman R. Effects of Disease on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, third edition, 1997.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Test, AACC, editado por AACC, fourth edition, 2001.
- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, editado por W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.
- Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis, Vol V 3rd. Edition.
- User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP15-A2 Vol. 24 N° 25, 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. - J Clin Chem Clin Biochem 21:381-386, 1983.



Cholinesterase

Para a determinação de colinesterase em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

Foi demonstrada a existência de duas colinesterases: uma é a acetilcolinesterase ou colinesterase verdadeira (acetil colina hidrolase, EC.3.1.1.7) que encontra-se nos eritrócitos e terminação dos nervos colinérgicos e a outra, é a butirilcolinesterase ou pseudocolinesterase (EC.3.1.1.8) que encontra-se no plasma, fígado, músculo liso e adipócitos.

A colinesterase do soro ou plasma (Che) ou pseudocolinesterase associa-se às seguintes condições clínicas:

1) Constitui um índice de função hepática, especialmente nas hepatopatias crônicas. Observa-se uma boa correlação entre o aumento de GOT (AST) e a redução da Che, nas hepatites infecciosas.

2) Sua redução indica intoxicação por inseticidas organofosforados, inibidores da Che.

3) Em indivíduos sensíveis à succinilcolina, relaxante muscular ministrado durante a anestesia, observa-se uma apneia post-anestésica prolongada e em alguns casos, fatal. Isto coincide com a presença de uma variante genética da Che ("atípica") que não pode hidrolisar à succinilcolina. Em pessoas normais, a succinilcolina é hidrolisada "in vivo" pela Che, em 1 a 4 minutos, relacionando-se a apneia com baixos níveis da Che total.

Existem métodos de inibição diferencial que permitem detectar sujeitos portadores de colinesterase atípica.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Che

butiriltiocolina + H₂O $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$ tiocolina + butirato

tiocolina + ferricianeto de potássio (III) $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$
ditio-bis-colina + ferrocianeto de potássio (II)

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: tampão pirofosfato 73 mM, ferricianeto de potássio (III) 2,4 mM, pH 7,7.

B. Reagente B: solução de tampão de Goods 10 mM, butiriltiocolina 92 mM, pH 4,0.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- **Calibrador A plus** de Wiener lab.
- Solução fisiológica (NaCl 9 g/l)

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações. Proteger da luz.

AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado ou plasma com EDTA

a) Coleta: obter soro da maneira habitual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, é recomendável o uso de heparina ou EDTA (**Anticoagulante W** de Wiener lab.) para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não são observadas interferências por bilirrubina até 500 mg/l, triglicérides até 14 g/l, e hemoglobina até 1000 mg/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Pode ser conservada até uma semana sob refrigeração (2-10°C) ou um ano a -20°C, sem o acréscimo de conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

PROCEDIMENTO

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para **Cholinesterase** em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas.

Amostra ou Calibrador	4 ul
Reagente A	150 ul
Incubação durante 300 segundos a 37°C.	
Reagente B	30 ul
Incubação durante 120 segundos a 37°C. Leitura de	

absorbância inicial a 405 nm (A_1). Transcorridos 90 minutos exatamente medidos com cronômetro, registrar a segunda leitura (A_2). Para obter o resultado de colinesterase em U/l, multiplicar a diferença de absorbância ($\Delta A = A_2 - A_1$) pelo fator.

CALIBRAÇÃO

O **Calibrador A plus** é processado da mesma maneira que as amostras. A partir dele é calculado o fator correspondente. Ingressar o valor de concentração do calibrador quando mudar o lote.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de colinesterase, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou plasma

Crianças, homens e mulheres > 40 anos: 5320 - 12920 U/l
Mulheres entre 16-39 anos, que não estejam grávidas nem tomem pílula anticoncepcional: 4260 - 11250 U/l
Mulheres entre 18-41 anos, grávidas ou tomando pílula anticoncepcional: 3650 - 9120 U/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência, levando em consideração sexo, idade, hábitos alimentares, medicação e outros fatores próprios da população.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Colinesterase (kU/l) = Colinesterase (U/l) x 0,001

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitada, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas. Recomenda-se utilizar **Standatrol S-E 2 níveis** da Wiener lab. como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida, porque os mesmos são dependentes do método.

DESEMPENHO

a) **Precisão:** processando segundo o protocolo EP15A do CLSI, obtiveram-se os seguintes coeficientes de variação como estimadores da precisão intra-ensaio (CV_i) e total (CV_t):

Nível	C.V. _i	C.V. _t
2553 U/l	1,4%	1,5%
4283 U/l	2,8%	2,5%
6791 U/l	1,5%	1,5%

b) **Limite de detecção:** 70 U/l.

c) **Limite de quantificação:** 262 U/l.

d) **Linearidade:** a reação é linear até 14000 U/l. Para va-

lores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração, deve ser utilizado **Calibrador A plus** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A
- 1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1999704)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A
- 1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009278)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagente A
- 1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009350)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagente A
- 1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009607)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagente A
- 1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009916)*

REFERÊNCIA

- Young D. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, second edition, 1997.
- Young D. and Friedman R. Effects of Disease on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, third edition, 1997.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Test, AACC, editado por AACC, fourth edition, 2001.
- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, editado por W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.
- Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis, Vol V 3rd. Edition.
- User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP15-A2 Vol. 24 N° 25, 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. - J Clin Chem Clin Biochem 21:381-386, 1983.



Cholinesterase

For cholinesterase determination in serum or plasma

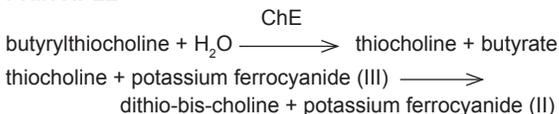
SUMMARY

The existence of two cholinesterases has been proved: one is Acetylcholinesterase called true cholinesterase (Acetylcholine acetylhydrolase, E.C. 3.1.1.7), which is found in erythrocytes and in cholinergic nerve endings. The other one is the butyrylcholine esterase or pseudo-cholinesterase (E.C. 3.1.1.8), which is found in plasma, liver, smooth muscle and fatty cells. Serum or plasma cholinesterase (ChE) or pseudo-cholinesterase, is associated to the following clinical conditions:

- 1) It is considered as an indicator of hepatic function, especially in chronic pathologies. A good correlation between the increase of GOT (AST) and the decrease of ChE in infectious hepatitis can be observed.
- 2) Its decrease indicates intoxication by organophosphate pesticides, which are ChE inhibitors.
- 3) In some individuals, sensitive to succinyl choline -a muscle relaxant administered during anesthesia- a prolonged post-anesthetic apnea is observed, sometimes with fatal outcomes. This coincides with the presence of a genetic variation of ChE ("atypical") unable to hydrolyze succinyl choline. In normal individuals this drug is hydrolyzed "in vivo" by ChE, in 1 to 4 minutes. Thus, prolonged apnea is also related to low levels of total ChE.

There are methods of differential inhibition that allow the detection of carriers of this atypical cholinesterase.

PRINCIPLE



PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 73 mM pyrophosphate buffer, 2.4 mM potassium ferrocyanide (III), pH 7.7.

B. Reagent B: 10 mM Goods buffer solution, 92 mM butyrylthiocholine, pH 4.0.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab's **Calibrador A plus**
- Saline solution (9 g/l NaCl)

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNING

Reagents are for diagnostic "in vitro" use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

All reagents and samples should be discarded according to current regulations.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Once opened, they should not remain uncapped or outside the refrigerator for extended periods of time. Avoid contamination. Protect from light.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma or plasma with EDTA

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: when using plasma, heparin or EDTA (Wiener lab's **Anticoagulate W**) are recommended as anticoagulant for its collection.

c) Known interfering substances: no interferences have been observed with bilirubin up to 500 mg/l, triglycerides up to 14 g/l and hemoglobin up to 1000 mg/l. Refer to Young, D.S. in references for drugs' effect on the present method.

d) Stability and storage instructions: freshly collected samples are preferable. Samples could be stored for up to one week at 2-10°C or for up to 1 year at -20°C without adding preservatives.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Volumetric material for measuring stated volumes
- Automated analyzer

PROCEDURE

(Automated analyzer)

Below is a general procedure for Cholinesterase in automated analyzers. For programming instructions check the user's manual of the automated analyzer in use.

Sample or Calibrator	4 ul
Reagent A	150 ul
Incubate during 300 seconds at 37°C	
Reagent B	30 ul

Incubate during 120 seconds at 37°C. Measure initial absorbance at 405 nm (A_1). After exactly 90 seconds measured with stopwatch, register a second measurement (A_2). To obtain cholinesterase result in U/l, multiply absorbance difference ($\Delta A = A_2 - A_1$) by factor.

CALIBRATION

Calibrador A plus is processed in the same way than the samples, the corresponding factor is calculated based on it. Enter the calibrator concentration value each time the lot is changed.

QUALITY CONTROL METHOD

For each test, process 2 levels of quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known activities of cholinesterase.

REFERENCE VALUES

Serum or plasma

Children, men and women > 40 years old: 5320 - 12920 U/l

Women between 16 and 39 years old, not pregnant and not taking oral contraceptives: 4260 - 11250 U/l

Women between 18 and 41 years old, pregnant or taking oral contraceptives: 3650 - 9120 U/l

It is recommended that each laboratory establish its own reference values, taking into account sex, age, eating habits, medications and other population factors.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Cholinesterase (kU/l) = Cholinesterase (U/l) x 0.001

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

To preserve reagents' integrity avoid all forms of contamination, only using thoroughly clean and dry micropipettes for measurement. It is recommended to use Wiener lab's **Standatrol S-E 2 niveles** as quality control material. The use of controls from other manufacturers may yield different values for certain ranges because they depend on the method or system used

PERFORMANCE

a) **Precision:** based on EP15A protocol from CLSI, the following coefficients of variation were obtained as estimators of the intra-assay (CV_i) and total (CV_t) precision:

Level	CV _i	CV _t
2553.3 U/l	1.4%	1.5%
4282.7 U/l	2.8%	2.5%
6790.7 U/l	1.5%	1.5%

b) **Detection limit:** 70 U/l

c) **Quantification limit:** 262 U/l

d) **Linearity:** reaction is linear up to 14000 U/l. For higher values, dilute the sample with saline solution (9 g/l NaCl), repeat the assay and multiply the result by the dilution factor.

PARAMETERS FOR AUTOMATIC ANALYZERS

For programming instructions, refer to the User Manual of the automated analyzer in use. For calibration use **Calibrador A plus** separately provided by Wiener lab.

WIENER LAB PROVIDES

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1999704)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009278)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009350)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagent A

- 1 x 20 ml Reagent B

(Cat. N° 1009607)

120 ml: - 2 x 50 ml Reagent A

- 1 x 20 ml Reagent B

(Cat. N° 1009916)*

REFERENCES

- Young D. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, second edition, 1997.
- Young D. and Friedman R. Effects of Disease on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, third edition, 1997.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Test, AACC, editado por AACC, fourth edition, 2001.
- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, editado por W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.
- Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis, Vol V 3rd Edition.
- User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP15-A2 Vol. 24 N° 25, 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. - J Clin Chem Clin Biochem 21:381-386, 1983.



Cholinesterase

Nr kat. 1999704 Nr kat. 1009607
Nr kat. 1009278 Nr kat. 1009916
Nr kat. 1009350

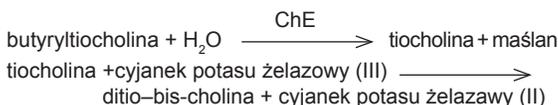
Do ilościowego oznaczania cholinoesterazy
w surowicy i osoczu

WSTĘP

Wykazano obecność dwóch cholinesteraz. Acetylocholinesteraza lub "prawdziwa cholinesteraza" (E.C. 3.1.1.7), która występuje w erytrocytach i receptorach acetylocholinylu w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Druga z nich to pseudocholinesteraza (E.C. 3.1.1.8) występuje w osoczu, wątrobie, mięśniówce gładkiej iw komórkach tłuszczowych. Oznaczanie poziomu Cholinesterazy (ChE) i pseudocholinesterazy w surowicy krwi lub osoczu jest istotne w następujących stanach klinicznych:

- 1) Jako wskaźnik czynności wytwórczych wątroby, szczególnie w chorobach przewlekłych. Zaobserwowano korelację pomiędzy wzrostem AST i obniżeniem się ChE w infekcyjnych zapaleniach wątroby.
- 2) Obniżenie ChE wskazuje na zatrucie środkami owadobójczymi (fosforanami organicznymi), które hamują aktywność ChE.
- 3) U niektórych osób z nadwrażliwością na sukcyńlocholinę-substancji zwiótczającej mięśniówkę, może doprowadzić do wydłużenia fazy bezdechu po narkozie. Jest to związane z obecnością u niektórych pacjentów genetycznie uwarunkowanych atypowych ChE, wykazujących obniżoną aktywność enzymatyczną stąd opóźniony rozkład sukcyńlocholinylu. Istnieją metody wykrywające występowanie atypowych odmian ChE u ludzi.

ZASADA DZIAŁANIA



Cholinesteraza jest enzymem katalizującym reakcję hydrolizy butyryltyocholinylu do maślanu i tyocholinylu; później enzym redukuje cyjanek potasu żelazowy (III) do cyjanu potasu żelazowego (II). Szybkość wzrostu absorbancji mierzonej przy długości fali 405 nm jest wprost proporcjonalna do aktywności cholinesterazy w próbce.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: 2.4 mM cyjanek potasu żelazowy (III) w 73 mM buforze pirofosforanowym (pH 7.7).

B. Odczynnik B: 92 mM butyryltyocholina w 10 mM buforze Goods (pH 4.0).

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Sól fizjologiczna (0.9 %)
- **Calibrador A plus** Wiener lab.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynniki: są gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".
Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych.
Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: są trwałe przechowywane w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Po otwarciu, nie należy pozostawiać, nie zamknięte, poza lodówką, przez dłuższy okres czas. Unikać zanieczyszczenia odczynnika. Chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego.

MATERIAŁ

Surowica lub heparynizowane osocze lub osocze z EDTA.

- a) Pobranie:** pobrać krew w klasyczny sposób.
- b) Substancje dodatkowe:** dla osocza heparyna lub EDTA (Anticoagulant W Wiener lab) jest zalecana jako antykoagulant.
- c) Znane interakcje:** bilirubina do 50.0 mg/dl, triglicerydy do poziomu 1400 mg/dl, hemoglobina do 1000 mg/dl, nie mają wpływu na wynik badania.
Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S., pozycja w j. polskim.
- d) Trwałość i warunki przechowywania:** oznaczenie w surowicy lub osoczu należy wykonać bezpośrednio po pobraniu. Jeśli oznaczenie nie jest wykonywane od razu, próbki surowicy i osocza można przechowywać w temperaturze 2-10°C przez 7 dni lub do 1 roku w - 20°C bez dodatku substancji konserwujących.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (nie dostarczone)

- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Automatyczny analizator.

PROCEDURA

(analizator automatyczny)
Poniżej zamieszczono procedurę dla cholinoesterazy na analizator automatyczny. Wprowadzając aplikację na konkretny aparat należy przestrzegać jego instrukcji obsługi. Do kuwety inkubowanej we właściwej temperaturze należy dodać:

Próbkę lub kalibrator

4 µl

Odczynnik A	150 µl
Inkubować przez 300 sekund w 37°C.	
Odczynnik B	30 µl
Inkubować przez 120 sekund w 37°C.	
Odczytać początkową absorbancję próbki wzorcowej i próbki badanej przy długości fali 405 nm (A_1). Po dokładnie 90 sekundach odczytać absorbancję po raz drugi (A_2). Aby otrzymać wynik cholinesterazy w U/l, należy obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = A_2 - A_1$) i pomnożyć przez współczynnik otrzymany z kalibracji.	

KALIBRACJA

Calibrador A plus należy traktować tak jak próbkę badaną, na podstawie tego oznaczenia jest wyznaczany współczynnik kalibracji. Należy aktualizować wartości materiału kalibracyjnego przy każdej zmianie numeru serii.

KONTROLA JAKOŚCI

Zaleca się stosowanie do każdego wykonywanego badania naszej surowicy kontrolnej (**Standatrol S-E 2 niveles**) zawierającej mianowane wartości cholinesterazy dla tej metody.

ZAKRES WARTOŚCI REFERENCYJNYCH

Surowica lub osocze

Dzieci, kobiety, mężczyźni powyżej 40 lat 5320 - 12920 U/l

Kobiety od 16 do 39 lat 4260 - 11250 U/l

(bez antykoncepcji, nie ciężarne)

Kobiety od 18 do 41 lat 3650 - 9120 U/l

(Ciężarne lub stosujące antykoncepcję)

Zgodnie z zaleceniami IFCC, każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjne, biorąc pod uwagę płeć, wiek, nawyki żywieniowe i inne czynniki populacyjne.

PRZELICZANIE NA JEDNOSTKI SI

Cholinesteraza (kU/l) = Cholinesteraza (U/l) x 0.001

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować jedynie czyste i suche końcówki.

Zaleca się stosowanie materiału kontrolnego **Standatrol S-E 2 niveles** Wiener lab. Stosując materiały kontrolne innego producenta można otrzymać wartości poza zakresem dopuszczalnym, ponieważ są one zależne od zastosowanej metody lub analizatora.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: badania przeprowadzono zgodnie z zasadami zawartymi w dokumencie EP5-A NCCLS.

Powtarzalność - zmienność w serii:

Poziom	C.V.
2553 U/l	1.4%
4283 U/l	2.8%
6791 U/l	1.5%

Odtwarzalność - zmienność między seriami:

Poziom	C.V.
2553 U/l	1.5%
4283 U/l	2.5%
6791 U/l	1.5%

b) Liniiowość testu: do 1400 mg/dl. W przypadku wyższych wartości należy rozcieńczyć próbkę solą fizjologiczną (1:9), powtórzyć badanie i pomnożyć badanie przez współczynnik rozcieńczenia.

c) Czułość testu: 70 U/l.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Programując analizator należy przestrzegać jego instrukcji obsługi. Kalibracje należy wykonywać przy użyciu **Calibrator A plus** Wiener lab dostarczanego oddzielnie.

WIENERLAB DOSTARCZA

60 ml: -1 x 50 ml odczynnika A

-1 x 10 ml odczynnika B

(Nr kat. 1999704)

60 ml: -1 x 50 ml odczynnika A

-1 x 10 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009278)

60 ml: -1 x 50 ml odczynnika A

-1 x 10 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009350)

120 ml: -2 x 50 ml odczynnika A

-1 x 20 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009607)

120 ml: -2 x 50 ml odczynnika A

-1 x 20 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009916)

ŹRÓDŁA

- Young D. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, second edition, 1997.
- Young D. and Friedman R. Effects of Disease on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, third edition, 1997.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Test, AACC, editado por AACC, fourth edition, 2001.
- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, editado por W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.
- Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis, Vol V 3rd.Edition.
- User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP15-A2 Vol. 24 N° 25, 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. - J Clin Chem Clin Biochem 21:381-386, 1983.

SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrące

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-50



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina