



Colinesterasa

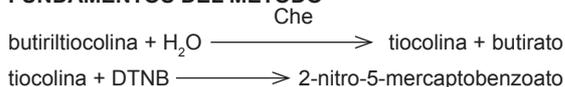
Método cinético a 405 nm para la determinación de colinesterasa en suero o plasma

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.

FUNDAMENTOS DEL METODO



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo yoduro de S-butiriltilcolina y ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) desecados.

B. Reactivo B: solución de buffer fosfatos para pH final 7,7.

Concentraciones finales

Ioduro de S-butiriltilcolina 7 mmol/l
DTNB 0,25 mmol/l
Fosfatos 50 mmol/l; pH 7,7

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo B: listo para usar. Puede presentar cristales que sedimentan en reposo y no afectan su reactividad. Pipetear sin remover el sedimento.

Reactivo A: agregar 3 ml de Reactivo B a un vial de Reactivo A. Tapar y agitar hasta disolución completa. Reconstituir en el momento de 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: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: es estable una hora a temperatura ambiente.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El cambio de coloración de los reactivos puede indicar deterioro de los mismos.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener suero 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: los anticoagulantes que contienen citrato, fluoruro u oxalato producen una leve inhibición.

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 el refrigerador (2-10°C), sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C
- Tiempo de reacción: depende del PROCEDIMIENTO (I o II)
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen de Reactivo A: 3 ml
- Volumen final de reacción: 3,02 ml

I- PROCEDIMIENTO CON ΔT FIJO

A) 25 - 30°C

En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Reactivo A reconstituido	3 ml
--------------------------	------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	20 ul
---------	-------

Mezclar inmediatamente y leer la absorbancia, disparando simultáneamente el cronómetro. Volver a leer luego de 30, 60 y 90 segundos exactos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia cada 30 segundos ($\Delta A/30$ seg) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 37°C

Usar Muestra diluida 1/2 con solución fisiológica y seguir el procedimiento descrito (I-A). Multiplicar el resultado obtenido por 2.

I- CALCULO DE LOS RESULTADOS

Colinesterasa (U/l) = $\Delta A/30$ seg x 22.710

La Tabla I permite realizar este cálculo directamente.

Equivalencia de unidades:

1 U/ml = 1 kU/l = 1000 U/l

II- PROCEDIMIENTO CON ΔA FIJO

A) 25 - 30°C

En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Reactivo A reconstituido	3 ml
--------------------------	------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	20 ul
---------	-------

Mezclar inmediatamente; registrar la absorbancia, disparando simultáneamente el cronómetro y medir el tiempo en segundos en que se produce un aumento de absorbancia de 0,100 ($\Delta A = 0,100$ D.O.). Medir tres intervalos de tiempo consecutivos. Determinar el valor medio de los tiempos obtenidos ($\Delta T/0,100$ D.O.) y utilizar este promedio para los cálculos.

B) 37°C

Usar Muestra diluida al 1/2 con solución fisiológica y seguir el procedimiento descrito (II-A). Multiplicar el resultado obtenido por 2.

II- CALCULO DE LOS RESULTADOS

Colinesterasa (U/l) = $\frac{68.120}{\Delta T/0,100 \text{ D.O.}}$

donde:

ΔT = tiempo promedio en segundos

La Tabla II permite realizar este cálculo directamente.

Ver Equivalencia de unidades en I.

VALORES DE REFERENCIA

25°C	30°C*	37°C*
3.200-9.000 U/l	3.962-11.142 U/l	4.970-13.977 U/l

* Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

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

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.

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.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: empleando el procedimiento I (con ΔT fijo) y procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
6.145 U/l	$\pm 90,8$ U/l	1,47 %
2.584 U/l	$\pm 67,0$ U/l	2,59 %

b) Límite de detección: el mínimo cambio de actividad detectable es 23 U/l.

c) Rango dinámico: si $\Delta A/30$ seg es superior a 0,250 (procedimiento con ΔT fijo) o $\Delta T/0,100$ D.O. es inferior a 5 segundos (procedimiento con ΔA fijo), se debe repetir la determinación con Muestra diluida 1/2 ó 1/5 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 5.650 U/l cuando se emplea el procedimiento con ΔT fijo y hasta 9.000 U/l cuando se emplea el procedimiento con ΔA fijo.

PRESENTACION

- 20 x 3 ml (Cód. 1241401).

BIBLIOGRAFIA

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, K. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).
- Lippi, U. y Cagnin, V. - Lab. V/6:615 (1978).
- De Díaz, M. et al. - Rev. Asoc. Bioq. Arg. - 54/1-2:15 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

TABLA I (25-30-37°C)			
$\Delta A/30$ seg	U/l	$\Delta A/30$ seg	U/l
0,010	227	0,130	2.952
0,015	341	0,135	3.066
0,020	454	0,454	3.179
0,025	568	0,145	3.283
0,030	681	0,150	3.407
0,035	795	0,155	3.520
0,040	908	0,160	3.634
0,045	1.022	0,165	3.747
0,050	1.136	0,170	3.861
0,055	1.249	0,175	3.974
0,060	1.363	0,180	4.088
0,065	1.476	0,185	4.201
0,070	1.590	0,190	4.315
0,075	1.703	0,195	4.428
0,080	1.817	0,200	4.542
0,085	1.930	0,205	4.655
0,090	2.044	0,210	4.769
0,095	2.157	0,215	4.883
0,100	2.271	0,220	4.996
0,105	2.385	0,225	5.110
0,110	2.498	0,230	5.223
0,115	2.612	0,235	5.337
0,120	2.725	0,240	5.450
0,125	2.839	0,245	5.564
		0,250	5.677

TABLA II (25-30-37°C)			
t	U/l	t	U/l
4	17.030	32	2.129
5	13.624	34	2.004
6	11.353	36	1.892
7	9.731	38	1.793
8	8.515	40	1.703
9	7.569	42	1.622
10	6.812	44	1.548
11	6.193	46	1.481
12	5.677	48	1.419
13	5.240	50	1.362
14	4.866	55	1.239
15	4.541	60	1.135
16	4.258	65	1.048
17	4.007	70	973
18	3.784	75	908
19	3.585	80	852
20	3.406	85	801
21	3.244	90	757
22	3.096	95	717
23	2.962	100	681
24	2.838	120	568
25	2.725	140	487
26	2.620	160	426
27	2.523	180	379
28	2.433	200	341
29	2.349	250	272
30	2.271	300	227
		350	195

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 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.
Disp. N°: 5996/83-5635/98-3479/13

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina