



Colinesterasa

AA

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:

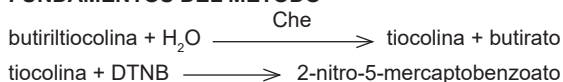
1) Constituye un índice de función hepática, especialmente en hepatopatías crónicas. Se observa una buena correlación entre el aumento de GOT (AST) y la disminución de Che, en hepatitis infecciosas.

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: viales conteniendo ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) en buffer fosfatos para un pH final de la mezcla de reacción de 7,7.

B. Reactivo B: viales conteniendo yoduro de S-butirilcolina (IBTC).

C. Reactivo C: solución acuosa reconstituyente del Reactivo A, con conservantes apropiados.

D. Reactivo D: solución acuosa reconstituyente del Reactivo B, con conservantes apropiados.

Concentraciones finales

IBTC	6 mmol/l
DTNB.....	0,25 mmol/l
Buffer fosfatos	50 mmol/l; pH 7,7

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: agregar la cantidad de Reactivo C indicada en el rótulo. Homogeneizar por inversión hasta disolución completa y fechar.

Reactivo B; preparación: agregar la cantidad de Reactivo D indicada en el rótulo. Homogeneizar por inversión hasta disolución completa y fechar.

Reactivos C y D: 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.

Reactivo A reconstituido: estable 6 semanas en refrigerador (2-10°C). Conservar protegido de la luz.

Reactivo B reconstituido: estable 6 semanas en refrigerador (2-10°C). No debe permanecer destapado.

Reactivos C y D: una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

MUESTRA

Suero o plasma

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 200 mg/l, triglicéridos hasta 25 g/l, hemoglobina hasta 1000 mg/dl ni heparina hasta 50 U/ml de sangre entera.

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 para medir los volúmenes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.

- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
 - Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. La temperatura de la mezcla de reacción debe ser estrictamente mantenida a la temperatura seleccionada. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
 - Tiempo de reacción: 3 minutos
 - Volumen de muestra: 10 ul
 - Volumen final de reacción: 1,51 ml
- Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

Preincubar la cantidad necesaria de Reactivo B reconstituido, a la temperatura seleccionada durante algunos minutos. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Reactivo A reconstituido	1,2 ml
---------------------------------	--------

Preincubar 2 minutos. Luego agregar:

Muestra	10 ul
----------------	-------

Homogeneizar e inmediatamente agregar:

Reactivo B reconstituido	0,3 ml
---------------------------------	--------

Mezclar, incubar 15 segundos y leer la absorbancia disparando simultáneamente el cronómetro. Volver a leer luego de 30 y 60 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.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Colinesterasa (U/l) = $\Delta A/30$ seg x 22210

VALORES DE REFERENCIA

25°C	30°C*	37°C*
Niños, hombres y mujeres de más de 40 años:		
3500-8500 U/l	4300-10500 U/l	5500-13400 U/l
Mujeres entre 16-39 años, no embarazadas y que no toman anticonceptivos orales:		
2800-7400 U/l	3450-9100 U/l	4400-11700 U/l
Mujeres entre 18-41 años, embarazadas o tomando anticonceptivos orales:		
2400-6000 U/l	3000-7400 U/l	3800-9500 U/l

* Valores calculados empleando los siguientes factores de conversión de temperaturas:

25-30°C: 1,23 25-37°C: 1,58

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) Precisión: procesando de acuerdo al protocolo EP5A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
8863 U/l	± 100,75 U/l	1,14 %
4811 U/l	± 46,69 U/l	0,97 %

Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
8863 U/l	± 177,68 U/l	2,00 %
4811 U/l	± 94,79 U/l	1,97 %

b) Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/30$ seg de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 22 U/l.

c) Rango dinámico: si $\Delta A/30$ seg es superior a 0,400, se debe repetir la determinación con Muestra diluida 1/2 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 17000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica, 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.

PRESENTACION

78 ml: 3 x → 20 ml Reactivo A

3 x → 6 ml Reactivo B

1 x 60 ml Reactivo C

1 x 20 ml Reactivo D

(Cód. 1241403)

BIBLIOGRAFIA

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, M. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).

- Dietz, A.S. et al. - Clin. Chem. 19/11:1309 (1973).
- den Blaauwen, D.H. et al. - J. Clin. Chem. Biochem. 21/6:381 (1983).
- Ellman, G. - Archives of Biochemistry and Biophysics 82:70 (1959).
- Newman, M.A., Que Hee S.S. - Clin. Chem. 30/2:308 (1984).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (3^o Edition) WB Saunders, 1999.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 3rd ed., 1990.
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).

SÍMBOLOS

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 / Cáustico
	Irritante
	Consultar instrucciones de uso
	Calibrador
	Control
	Control Positivo
	Control Negativo
	Número de catálogo



Colinesterasa

AA

Para a determinação de colinesterase em soro ou plasma

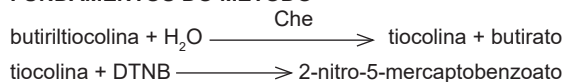
SIGNIFICADO CLÍNICO

Foi demonstrado 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 à 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



REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: frascos contendo ácido 5,5'-ditiobis-2-nitro-benzoico (DTNB) em tampão fosfatos para pH final da mistura de reação de 7,7.

B. Reagente B: frascos contendo iodeto de S-butirilcolina (IBTC).

C. Reagente C: solução aquosa reconstituente do Reagente A, com conservantes apropriados.

D. Reagente D: solução aquosa reconstituente do Reagente B, com conservantes apropriados.

Concentrações finais

IBTC	6 mmol/l
DTNB.....	0,25 mmol/l
Tampão fosfatos	50 mmol/l; pH 7,7

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Solução fisiológica.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente A; preparação: adicionar a quantidade de Reagente C indicado no rótulo. Homogeneizar por inversão até dissolução completa e datar.

Reagente B; preparação: adicionar a quantidade de Reagente D indicado no rótulo. Homogeneizar por inversão até dissolução completa e datar.

Reagentes C e D: 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.

Reagente A reconstituído: é estável por 6 semanas sob refrigeração (2-10°C). Manter ao abrigo da luz.

Reagente B reconstituído: é estável 6 semanas sob refrigeração (2-10°C). Não deve permanecer destampado.

Reagentes C e D: uma vez abertos, não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: obter soro da maneira habitual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar é plasma, recomenda-se usar heparina ou EDTA (Anticoagulante W de Wiener lab.) para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não observam-se interferências por bilirrubina até 200 mg/l, triglicérides até 25 g/l, hemoglobina até 1000 mg/dl, nem heparina até 50 U/ml de sangue inteira.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferentemente fresca. Pode ser conservada até uma semana sob refrigeração (2-10°C), sem acrescentar conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Banho-maria à temperatura de reação selecionada.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 405 nm
- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. A temperatura da mistura de reação deve ser estritamente mantida à temperatura selecionada. Vide os VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: 3 minutos.
- Volume de amostra: 10 ul
- Volume final de reação: 1,51 ml

Os volumes de amostras e reagentes podem-se variar proporcionalmente sem que sejam afetados os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

Preincubar a quantidade necessária de Reagente B reconstituído, à temperatura selecionada durante alguns minutos. Em uma cubeta mantida à temperatura escolhida, colocar:

Reagente A reconstituído	1,2 ml
---------------------------------	--------

Preincubar 2 minutos. Após adicionar:

Amostra	10 ul
----------------	-------

Homogeneizar e logo após adicionar:

Reagente B reconstituído	0,3 ml
---------------------------------	--------

Misturar, incubar 15 segundos e ler a absorbância disparando simultaneamente o cronômetro. Voltar a ler depois de 30 e 60 segundos exatos. Determinar a diferença média da absorbância cada 30 segundos ($\Delta A/30$ seg) subtraindo cada leitura da anterior e fazendo a média dos valores. Utilizar a média para os cálculos.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Colinesterase (U/l) = $\Delta A/30$ seg x 22.210

VALORES DE REFERÊNCIA

25°C	30°C*	37°C*
Crianças, homens e mulheres maiores de 40 anos:		
3500-8500 U/l	4300-10500 U/l	5500-13400 U/l
Mulheres entre 16-39 anos, que não estejam grávidas nem tomem pílula anticoncepcional:		
2800-7400 U/l	3450-9100 U/l	4400-11700 U/l
Mulheres entre 18-41 anos, grávidas ou tomando pílula anticoncepcional:		
2400-6000 U/l	3000-7400 U/l	3800-9500 U/l

* Valores calculados empregando os seguintes fatores de conversão de temperaturas:

25-30°C: 1,23 25-37°C: 1,58

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

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.

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.

DESEMPENHO

a) Precisão: processando segundo o protocolo EP5A do NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), obteve-se o seguinte:

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
8863 U/l	± 100,75 U/l	1,14 %
4811 U/l	± 46,69 U/l	0,97 %

Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
8863 U/l	± 177,68 U/l	2,00 %
4811 U/l	± 94,79 U/l	1,97 %

b) Limite de detecção: depende do fotômetro utilizado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um $\Delta A/30$ seg de 0,001 a mínima mudança de atividade detectável será 22 U/l.

c) Faixa dinâmica: se $\Delta A/30$ seg é superior a 0,400, deve-se repetir a determinação com Amostra diluída 1/2 com solução fisiológica, corrigindo conseqüentemente os resultados.

d) Linearidade: a reação é linear até 17000 U/l. Para valores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica, 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.

APRESENTAÇÃO

78 ml: 3 x → 20 ml Reagente A

3 x → 6 ml Reagente B

1 x 60 ml Reagente C

1 x 20 ml Reagente D

(Cód. 1241403)

REFERÊNCIA

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, M. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).
- Dietz, A.S. et al. - Clin. Chem. 19/11:1309 (1973).
- den Blaauwen, D.H. et al. - J. Clin. Chem. Biochem. 21/6:381 (1983).

- Ellman, G. - Archives of Biochemistry and Biophysics 82:70 (1959).
- Newman, M.A., Que Hee S.S. - Clin. Chem. 30/2:308 (1984).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (3ª Edition) WB Saunders, 1999.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 3rd ed., 1990.
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após a reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo



Colinesterasa

AA

For the determination of cholinesterase activity in serum or plasma

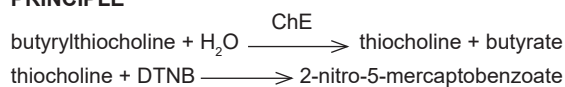
SUMMARY

The existence of two cholinesterases has been proved: one is Acetylcholinesterase or "true Cholinesterase" (Acetylcholine hydrolase, E.C. 3.1.1.7), which is found in erythrocytes and in cholinergic nerve terminals. The other one is the butyrylcholine esterase or pseudocholinesterase (E.C. 3.1.1.8), which is found in plasma, liver, smooth muscle and fat cells.

Serum or plasma cholinesterase (ChE) or pseudocholinesterase, 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: vials containing 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) in phosphate buffer for a final pH 7.7.

B. Reagent B: vials containing S-butrylthiocholine iodide.

C. Reagent C: Reagent A diluent aqueous solution with proper preservatives.

D. Reagent D: Reagent B diluent aqueous solution with proper preservatives.

Final concentrations

S-butrylthiocholine iodide..... 6 mmol/l
DTNB..... 0.25 mmol/l
phosphate buffer......50 mmol/l; pH 7.7

NON-PROVIDED REAGENTS

Saline solution.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: reconstitute with stated volume of Reagent C. Homogenize by inversion until complete dissolution and date.

Reagent B: reconstitute with stated volume of Reagent D. Homogenize by inversion until complete dissolution and date.

Reagent C: ready to use.

Reagent D: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

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

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date printed on label.

Reconstituted Reagent A: stable for 6 weeks in refrigerator (2-10°C). Store protected from direct light exposure.

Reconstituted Reagent B: stable for 6 weeks in refrigerator (2-10°C). Store tightly capped.

Reagent C and D: once opened, should remain neither uncapped nor without refrigeration for long periods of time. Avoid contamination.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain the sample in the usual way.

b) Additives: when using plasma, use heparin or EDTA-based anticoagulants (Wiener lab.'s Anticoagulante W).

c) Known interfering substances: no interferences are observed from hemoglobin up to 1000 mg/dl, triglycerides up to 25 g/l, bilirubin up to 200 mg/l and heparin up to 50 U/ml. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. Samples could be stored up to one week in refrigerator (2-10°C) without added preservatives.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Spectrophotometric square cuvettes.
- Kahn or hemolysis tubes.
- Water bath at selected reaction temperature.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 405 nm
 - Reaction temperature: 25, 30 or 37°C. The temperature of the reaction should be strictly maintained at the selected temperature. See the corresponding REFERENCE VALUES for each temperature.
 - Reaction time: 3 minutes
 - Sample volume: 10 µl
 - Final reaction volume: 1.51 ml
- Sample and reagent volumes may be proportionally changed, without altering calculation factors.

PROCEDURE

Preincubate the necessary volume of reconstituted Reagent B at the selected temperature for a few minutes. In a cuvette at the selected temperature, add:

Reconstituted Reagent A	1.2 ml
--------------------------------	--------

Pre-incubate for 2 minutes. Then add:

Sample	10 µl
---------------	-------

Homogenize and immediately add:

Reconstituted Reagent B	0.3 ml
--------------------------------	--------

Mix, incubate for 15 seconds and read the absorbance with simultaneous stopwatch start. Reread after exactly 30 and 60 seconds. Determine absorbance's average difference every 30 seconds ($\Delta A/30$ sec) subtracting each reading from the previous one and averaging values. Use this mean for calculations.

CALCULATIONS

Cholinesterase (U/l) = $\Delta A/30$ sec x 22210

REFERENCE VALUES

25°C	30°C*	37°C
Children, men and women over 40 years old:		
3500-8500 U/l	4300-10500 U/l	5500-13400 U/l
Women between 16-39 years old, not pregnant and not ingesting oral contraceptives:		
2800-7400 U/l	3450-9100 U/l	4400-11700 U/l
Women between 18-41 years old, pregnant or ingesting oral contraceptives:		
2400-6000 U/l	3000-7400 U/l	3800-9500 U/l

* Values calculated using the following temperature conversion factors:

25-30°C: 1.23

25-37°C: 1.58

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

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

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known cholinesterase activity.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE. Reagents are particularly sensitive to contamination. Use only thoroughly clean and dry micropipettes for measurements.

PERFORMANCE

a) Precision: processing according to EP5A protocol of NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), the following values were obtained:

Within-run precision

Level	S.D.	C.V.
8863 U/l	± 100.75 U/l	1.14 %
4811 U/l	± 46.69 U/l	0.97 %

Total-run precision

Level	S.D.	C.V.
8863 U/l	± 177.68 U/l	2.00 %
4811 U/l	± 94.79 U/l	1.97 %

b) Detection limit: depends on the photometer used and the wavelength. In spectrophotometer with 1 cm optical length square cuvettes, for a $\Delta A/30$ sec of 0.001, the minimum detectable activity change will be of 22 U/l.

c) Dynamic range: if $\Delta A/30$ sec is over 0.400, repeat assay with Sample diluted 1/2 with saline solution. Correct results accordingly.

d) Linearity: the reaction is linear up to 17000 U/l. For higher values, dilute the sample with saline solution, repeat the test and multiply the result by the dilution factor.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions of other analyzer, check the user manual of the analyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

78 ml: 3 x → 20 ml Reagent A

3 x → 6 ml Reagent B

1 x 60 ml Reagent C

1 x 20 ml Reagent D

(Cat. N° 1241403)


REFERENCES

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, M. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).
- Dietz, A.S. et al. - Clin. Chem. 19/11:1309 (1973).
- den Blaauwen, D.H. et al. - J. Clin. Chem. Biochem. 21/6:381 (1983).
- Ellman, G. - Archives of Biochemistry and Biophysics 82:70 (1959).

- Newman, M.A., Que Hee S.S. - Clin. Chem. 30/2:308 (1984).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (3^o Edition) WB Saunders, 1999.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 3rd ed., 1990.
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).


SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device

 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks


 Volume after reconstitution

 Contents


 Batch code

 Manufactured by:


 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



Colinesterasa

AA

Nr kat. 1241403

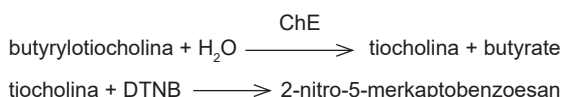
Do oznaczania cholinesterazy w surowicy krwi i osoczu

WSTĘP

Wykazano obecność dwóch cholinesteraz. Acetylocholinesteraza lub "prawdziwa cholinesteraza" (Hydrolaza acetylocholino, E.C. 3.1.1.7), która znajduje się w erytrocytach i zakończeniach nerwowych cholinergicznym. Druga z nich to esteraza byturylocholiny lub pseudoacetylocholinesteraza (E.C. 3.1.1.8), odnajdywana w osoczu, wątrobie, mięśniówce gładkiej i komórkach tłuszczowych. Cholinesteraza (ChE) lub pseudocholinesteraza w surowicy krwi lub osoczu związana jest z następującymi stanami klinicznymi:

- 1) Jako wskaźnik funkcji wątroby szczególnie w chorobach przewlekłych. Zaobserwowano dobrą korelację pomiędzy wzrostem GOT (AST) i obniżeniem się ChE w infekcyjnych zapaleniach wątroby.
- 2) Obniżenie ChE wskazuje na zatrucie organicznymi fosforanami - pestycydami, które hamują aktywność ChE.
- 3) U niektórych osób z nadwrażliwością na sukcylocholinę, środek rozluźniający mięśnie stosowany w anestezji, powoduje długotrwały bezdech po znieczuleniu ogólnym z niekorzystnymi powikłaniami. Fakt ten związany jest z obecnością genetycznie uwarunkowanych odmienności ChE (atypowa) niezdolnej do rozkładu sukcylocholino. W ogólnej populacji lek ten jest hydrolizowany in vivo przez ChE w ciągu 1-4 min. Stąd wydłużony bezdech jest również czynnikiem związanym z niskim poziomem całkowitej ChE. Istnieją metody różnicowania hamowania aktywności co pozwala na wykrycie nosicieli atypowej ChE.

ZASADA DZIAŁANIA



DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: fiołki zawierające kwas 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoesowy (DTNB) w buforze fosforanowym dla końcowego pH 7,7.

B. Odczynnik B: fiołki zawierające jodek S-butyrylotiocholiny.

C. Odczynnik C: wodny roztwór rozpuszczalnika do Odczynnika A z niezbędnymi substancjami konserwującymi.

D. Odczynnik D: wodny roztwór rozpuszczalnika do Odczynnika B z niezbędnymi substancjami konserwującymi.

Końcowe stężenia

Jodek S-butyrylotiocholiny.....6 mmol/l
DTNB.....0,25 mmol/l
bufor fosforanowy..... 50 mmol/l; pH 7,7

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Roztwór soli fizjologicznej.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A: rozpuścić w określonych objętościach Odczynnika C. Homogenizować przez odwrócenie do całkowitego rozpuszczenia i odatować.

Odczynnik B: rozpuścić w określonych objętościach Odczynnika D. Homogenizować przez odwrócenie do całkowitego rozpuszczenia i odatować.

Odczynniki C i D: gotowe do zastosowania.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia "in vitro".

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na etykiecie.

Rozpuszczony Odczynnik A: trwały przez 6 tygodni w lodówce (2-10°C). Chronić przed bezpośrednią ekspozycją na światło.

Rozpuszczony Odczynnik B: trwały przez 6 tygodni w lodówce (2-10°C). Przechowywać ściśle zamknięty.

Odczynniki C i D: Po otwarciu nie powinien pozostawać bez zamknięcia i poza lodówką przez dłuższy czas. Unikać zanieczyszczenia.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pobrać w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: osocze pobrać na heparynę lub antykoagulanty oparte na EDTA (Wiener lab.'s Anticoagulate W).

c) Znane interakcje: nie obserwowano wpływu hemoglobiny do poziomu 1000 mg/dl, trójglicerydów do 25 g/l, bilirubiny do 200 mg/l i heparyny do 50 U/ml.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał powinien być świeży. Przechowywany do tygodnia w lodówce (2-10°C) bez dodatku substancji konserwujących.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.

- Mikropipety i pipety do pomiaru określonych objętości.
- Kwadratowe kuwety spektrofotometryczne.
- Probówki do hemolizy lub Kahn'a.
- Łażnia wodna o wybranej temperaturze reakcji.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 405 nm
- Temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C. Utrzymać ściśle określoną wybraną temperaturę reakcji. Patrz odpowiednie WARTOŚCI REFERENCYJNE dla wybranej temperatury.
- Czas reakcji: 3 minuty
- Objętość materiału badanego: 10 ul
- Objętość reakcji końcowej: 1,51 ml
- Objętości Materiału badanego i Odczynnika mogą być zmieniane proporcjonalnie bez zmiany współczynnika do obliczeń.

PROCEDURA

Inkubować wstępnie niezbędną objętość rozpuszczonego Odczynnika B w wybranej temperaturze przez kilka minut. W kuwecie o wybranej temperaturze umieścić:

Rozpuszczony Odczynnik A	1,2 ml
---------------------------------	--------

Inkubować wstępnie przez 2 minuty. Następnie dodać:

Materiał badany	10 ul
------------------------	-------

Homogenizować i natychmiast dodać:

Rozpuszczony Odczynnik B	0,3 ml
---------------------------------	--------

Zamieszać, inkubować przez 15 sekund i odczytać absorbancję równocześnie włączając stoper. Dokonać powtórnego odczytu dokładnie w 30 i 60 sekundzie ($\Delta A/30$ sek.) odejmując każdy z odczytów od poprzedniego uśredniając wartości. Średnią zastosować do obliczeń.

OBLICZENIA

Cholinesteraza (U/l) = $\Delta A/30$ sek. x 22210

WARTOŚCI REFERENCYJNE

25°C	30°C*	37°C*
Dzieci, mężczyźni i kobiety powyżej 40 rż.		
3500-8500 U/l	4300-10500 U/l	5500-13400 U/l
Kobiety pomiędzy 16-39 rż., nieciążarne i nie przyjmujące doustnych środków antykoncepcyjnych:		
2800-7400 U/l	3450-9100 U/l	4400-11700 U/l
Kobiety pomiędzy 18-41 rż., w ciąży lub przyjmujące doustne środki antykoncepcyjne:		
2400-6000 U/l	3000-7400 U/l	3800-9500 U/l

* Wartości obliczono z użyciem następujących współczynników konwersji temperatury:

25-30°C: 1,23

25-37°C: 1,58

Dla każdego laboratorium zaleca się ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

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

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie wykonywania badania, za każdym razem należy przeprowadzić analizę jakości na dwóch poziomach (Standardol S-E 2 niveles) ze znaną aktywnością cholinesterazy.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz Znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ. Odczynniki są szczególnie wrażliwe na zanieczyszczenia. Stosować dokładnie umyte czyste i suche mikropipety do pomiarów.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Precyzja: postępując zgodnie z protokołem EP5A NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), otrzymano następujące wartości:

Precyzja w trakcie badania

Poziom	S.D.	C.V.
8863 U/l	± 100,75 U/l	1,14 %
4811 U/l	± 46,69 U/l	0,97 %

Precyzja całkowita

Poziom	S.D.	C.V.
8863 U/l	± 177,68 U/l	2,00 %
4811 U/l	± 94,79 U/l	1,97 %

b) Granica wykrywalności: zależy od zastosowanego fotometru i długości fali. W spektrofotometrze z kuwetą o długości optycznej 1cm dl $\Delta A/30$ sek = 0.001, najmniejsza wykrywalna zmiana aktywności wynosi 22 U/l.

c) Zakres dynamiczny: jeżeli $\Delta A/30$ sek. > 0.400, należy powtórzyć badanie z rozcieńczonym materiałem 1/2 solą fizjologiczną. Uwzględnić w obliczeniach.

d) Linijność: reakcja jest linijna do 17000 U/l. Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć materiał badany solą fizjologiczną i powtórzyć badanie, uzyskane wyniki pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania innych analizatorów należy zapoznać się z podręcznikiem użytkownika zastosowanego urządzenia.

WIENER LAB. DOSTARCZA

78 ml (Nr kat. 1241403): 3 x → 20 ml Odczynnik A
 3 x → 6 ml Odczynnik B
 1 x 60 ml Odczynnik C
 1 x 20 ml Odczynnik D


ŹRÓDŁA

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, M. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).


- Dietz, A.S. et al. - Clin. Chem. 19/11:1309 (1973).
- den Blaauwen, D.H. et al. - J. Clin. Chem. Biochem. 21/6:381 (1983).
- Ellman, G. - Archives of Biochemistry and Biophysics 82:70 (1959).
- Newman, M.A., Que Hee S.S. - Clin. Chem. 30/2:308 (1984).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (3rd Edition) WB Saunders, 1999.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 3rd ed., 1990.
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość


 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 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.
 Cert. N°: 4760/03

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina