

Cholinesterase - Dibucaine

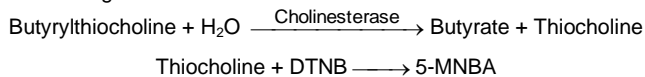
Ancillary reagent. Dibucaine inhibition

Quantitative determination of cholinesterase with dibucaine inhibition. IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Butyrylthiocholine kinetic method using dibucaine as inhibitor. Cholinesterase hydrolysed butyrylthiocholine to butyrate and thiocholine. Thiocholine reacts with 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) to form 5-mercapto-2-nitrobenzoic acid (5-MNBA), according the following reactions:



The rate of 5-MNBA formation, measured photometrically, is proportional to the enzymatic activity of cholinesterase in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Cholinesterase is an enzyme present in plasma and synthesized by the liver. Its true physiological function is unknown, so its function may be to hydrolyze choline in plasma. Cholinesterase activity is usually measured for liver function, is a sensitive test of exposure to pesticides organophosphorus and identification of patients with the atypical form of enzyme whose presents high sensitivity to succinylcholine.

The dibucaine percent inhibition is determined in addition to total activity cholinesterase to detect the presence of an abnormal genetic variant of cholinesterase^{1,5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

CHOLINESTERASE Ref: 1001100		
R 1 Buffer	Phosphate pH 7.7	50 mmol/L
R 2 Substrate	5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (5,5 DTNB) Butyrylthiocholine	0.25 mmol/L 7 mmol/L

CHE-DIBUCAINE		
R 3 Inhibitor	Dibucain Chlorhidrate	2.6 mmol/L

PREPARATION

Working reagent (WR):
Dissolve (→) one tablet of R 2 Substrate in one vial of R 1.
Cap vial and mix gently to dissolve contents.
Inhibition (WR-I):
Add 105 µL of R 3 Inhibitor to working reagent (WR).
Stability: 2 hours at 2-8°C.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.
Do not use the tablets if appears broken.
Do not use reagents over the expiration date.
Signs of reagent deterioration:
- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 405 nm ≥ 0.70.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C o 37°C (± 0.1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment (Note 1).

SAMPLES

Serum or heparinized plasma¹: Stability 7 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 405 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature 25°C /30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.

- Pipette into a cuvette:

	25 - 30°C	37°C
Without inhibitor WR (mL)	1.5	1.5
With inhibitor WR-I (mL)	1.5	1.5
Sample (µL)	10	--
Sample diluted 1/2 with NaCl 9 g/L (µL)	--	10

- Mix. Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 30 seconds intervals thereafter for 1.5 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per 30 seconds (ΔA/30 s).

CALCULATIONS

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 22537^* = \text{U/L}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 45074^* = \text{U/L}$$

* $\frac{\text{Tv} \times 1000}{\epsilon \times \text{LP} \times \text{Sv}}$	Tv= Total volumen in mL ε DTNB = 13.5 at 405 nm LP= Light path Sv= Sample volum in mL
--	--

$$\text{Percent inhibition (\%): } 100 - \frac{\text{Activity with inhibitor (U/L)}}{\text{Activity without inhibitor (U/L)}} \times 100$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES^{1,2}

Percent inhibition of cholinesterase activity by dibucaine:

Normal 70-90% Heterozygotes 30-70% Homozygotes 0-20%

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: Up to linearity limit of 0.250 ΔA/30 s.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x). The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Moderate hemolytic will not interfere in the results^{1,2}. A list of drugs and other interfering substances with cholinesterase determination has been reported by Young et. al^{3,4}.

NOTES

- Use glass containers only. Inhibitors may be extracted from some plastics.

BIBLIOGRAPHY

- King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- Whittaker M. et al. Comparison of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase Variants. Clin. Chem 1983;(29/10); 1746-1760.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001101

Cont.

R3: 1 x 5 mL

Colinesterasa - Dibucaina

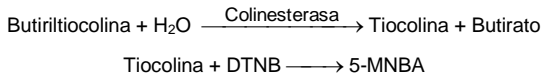
Reactivo auxiliar. Inhibición de la dibucaina

Determinación cuantitativa de colinesterasa con inhibición de dibucaina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Método de butirilcolina cinética usando la dibucaina como inhibidor. La colinesterasa hidroliza la butiriltiocolina a tiocolina y butirato. La tiocolina reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) y forma ácido 5-mercapto-2-nitrobenzoico (5-MNBA), según el siguiente esquema de reacción:



La velocidad de formación de 5-MNBA, determinado fotométricamente, es proporcional a la actividad enzimática de colinesterasa en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

La colinesterasa es una enzima presente en el plasma, sintetizada en el hígado. Su función fisiológica no se conoce claramente, aunque se le atribuye un papel importante como regulador de la concentración de la colina en el plasma.

La determinación de su actividad nos ayuda a evaluar la función hepática, detectar la exposición excesiva a pesticidas organofosforados e identificar pacientes con formas atípicas de la enzima que presentan una sensibilidad aumentada al anestésico succinilcolina^{1,5,6}.

El porcentaje de inhibición de la dibucaina se determina complementariamente a la actividad de la colinesterasa para detectar la presencia de variantes anormales de colinesterasa^{1,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

CHOLINESTERASE Ref: 1001100		
R 1 Tampón	Fosfato pH 7,7	50 mmol/L
R 2 Substrato	Ác. 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico (5,5 DTNB) Butiriltiocolina	0,25 mmol/L 7 mmol/L
CHE-DIBUCAINE		
R 3 Inhibidor	Clorhidrato de Dibucaina	2,6 mmol/L

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT):
Disolver (→) un comprimido de R 2 Substrato en un vial de R 1 Tampón. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Inhibición (RT-I):
Añadir 105 µL de R 3 Inhibidor al reactivo de trabajo (RT).
Estabilidad: 2 horas a 2-8°C.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar las tabletas si aparecen fragmentadas. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.
Indicadores de deterioro de los reactivos:
- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 405 ≥ 0,70.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1).

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

	25° - 30°C	37°C
Sin inhibidor RT (mL)	1,5	1,5
Con inhibidor RT-I (mL)	1,5	1,5
Muestra (µL)	10	--
Muestra diluida 1/2 con CIna 9 g/L (µL)	--	10

- Mezclar. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada 30 segundos durante 1,5 min.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por intervalo de 30 segundos (ΔA/30 s).

CALCULOS

$$25^\circ - 30^\circ\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 22537^* = \text{U/L}$$

$$37^\circ\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 45074^* = \text{U/L}$$

* $T_v \times 1000$ ε x LP x Sv	Tv= Volumen total en mL ε DTNB = 13.5 a 405 nm LP= Paso de luz Sv= Volumen muestra mL
------------------------------------	--

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = 100 - \frac{\text{Actividad con inhibidor (U/L)}}{\text{Actividad sin inhibidor (U/L)}} \times 100$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^{1,2}

Porcentaje de inhibición de la actividad de colinesterasa por la dibucaina:

Normal 70-90% Heterocigotos 30-70% Homocigotos 0-20%

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Hasta el límite de linealidad 0.250 ΔA / 30 s. Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.
Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis moderada no interfiere en los resultados^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la colinesterasa^{3,4}.

NOTAS

- Usar solo material de vidrio. Los inhibidores pueden liberarse de algunos plásticos¹.

BIBLIOGRAFIA

- King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- Whittaker M. et al. Comparasion of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase Variants. Clin. Chem 1983;(29/10); 1746-1760.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref:1001101 Cont. R3: 1 x 5 mL

Cholinestérase - Dibucaïne

Réactif auxiliaire. Inhibition de la dibucaïne

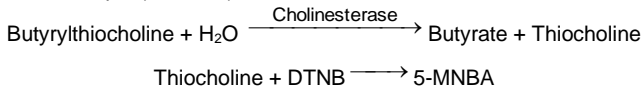
Détermination quantitative de la cholinestérase avec inhibition de la dibucaïne. IVD

Conserver entre 2-8 °C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Méthode cinétique de la butyrylthiocholine utilisant la dibucaïne en tant qu'inhibiteur.

La cholinestérase hydrolyse la butyrylthiocholine en butyrate et thiocholine. La thiocholine réagit avec l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) pour former l'acide 5-mercapto-2-nitrobenzoïque (5-MNBA), selon les réactions suivantes :



Le taux de formation de 5-MNBA, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité enzymatique de la cholinestérase dans l'échantillon^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La cholinestérase est une enzyme présente dans le plasma et synthétisée par le foie. Sa véritable fonction physiologique est inconnue, sa fonction pourrait donc être d'hydrolyser la choline dans le plasma. L'activité de la cholinestérase est généralement mesurée pour la fonction hépatique. Il s'agit d'un test sensible d'exposition aux pesticides organophosphorés et d'identification des patients atteints de la forme atypique de l'enzyme qui présente une sensibilité élevée à la succinylcholine.

Le pourcentage d'inhibition de la dibucaïne est déterminé en plus de l'activité totale de la cholinestérase afin de détecter la présence d'une variante génétique anormale de la cholinestérase^{1,5,6}.

Un diagnostic clinique ne doit pas être établi en fonction du résultat d'un seul test, mais doit être inclus dans les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

CHOLINESTÉRASE Réf : 1001100

R 1 Tampon	Phosphate pH 7,7	50 mmol/l
R 2 Substrat	Acide 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoïque (5,5 DTNB) Butyrylthiocholine	0,25 mmol/l 7 mmol/l

CHE- DIBUCAÏNE

R 3 Inhibiteur	Chlorhydrate de dibucaïne	2,6 mmol/l
--------------------------	---------------------------	------------

PRÉPARATION

Réactif de travail (WR) :

Dissoudre (→) un comprimé de substrat R2 dans un flacon de R1. Boucher le flacon et mélanger doucement pour dissoudre le contenu.

Inhibition (WR-I) :

Ajouter 105 µl d'inhibiteur R3 au réactif de travail (WR).

Stabilité : 2 heures entre 2 et 8 °C.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette lorsqu'ils sont conservés hermétiquement fermés entre 2 °C et 8 °C, protégés de la lumière et que leur contamination est évitée lors de leur utilisation.

Ne pas utiliser de comprimés s'ils semblent brisés.

Ne pas utiliser de réactifs après leur date d'expiration.

Signes de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance du blanc (A) à 405 nm ≥ 0,70.

ÉQUIPEMENT SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant à 405 nm.
- Bain thermostatique à 25 °C, 30 °C ou 37 °C (± 0,1 °C).
- Cuvettes appariées avec 1,0 cm de trajet lumineux.
- Matériel général de laboratoire (remarque 1).

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma hépariné¹ : Stabilité pendant 7 jours entre 2 et 8 °C.

PROCÉDURE

- Conditions d'essai :
Longueur d'onde : 405 nm
Cuvette : 1 cm de trajet lumineux
Température constante : 25°C / 30°C / 37°C

- Ajuster l'instrument à zéro à l'aide d'eau distillée ou air.
- Pipeter dans une cuvette :

	25 - 30°C	37°C
Sans inhibiteur WR (ml)	1,5	1,5
Avec inhibiteur WR-I (ml)	1,5	1,5
Échantillon (µl)	10	--
Échantillon dilué 1/2 avec NaCl 9 g/l (µl)	--	10

- Mélanger. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, démarrer le chronomètre et la relire à des intervalles de 30 secondes par la suite pendant 1,5 minute.
- Calculer la différence entre absorbances et les différences d'absorbance moyennes par 30 secondes (ΔA/30 s).

CALCULS

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 22537^* = \text{U/L}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 45074^* = \text{U/L}$$

$\frac{T_v \times 1000}{\varepsilon \times LP \times Sv}$	Tv= Volume total en ml ε DTNB = 13,5 à 405 nm LP= Trajet lumineux Sv= Volume d'échantillon en ml
---	---

Activity w ithinhibitor (U/L)

Activity w ithoutinhibitor (U/L) x100

Pourcentage d'inhibition (%) : 100- Activity w ithoutinhibitor (U/L) x100

Unités : Une unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui transforme 1 µmole de substrat par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre d'échantillon (U/L).

CONTRÔLE QUALITÉ

Les solutions de contrôle sont recommandées pour surveiller le rendement des procédures d'essai : SPINROL H Normal et Pathologique (réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs de contrôle se trouvent en dehors de la plage définie, vérifier l'instrument, les réactifs et la technique en vue d'éventuels problèmes.

Chaque laboratoire doit établir ses propres protocoles de contrôle qualité et actions correctives si les contrôles ne satisfont pas aux tolérances acceptables.

VALEURS DE RÉFÉRENCE^{1,2}

Pourcentage d'inhibition de l'activité de la cholinestérase par la dibucaïne :

Normal 70-90 % Hétérozygotes 30-70 % Homozygotes 0-20 %

Ces valeurs sont données à titre indicatif ; chaque laboratoire doit établir sa propre plage de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE RENDEMENT

Plage de mesure : Jusqu'à la limite de linéarité de 0,250 ΔA/30 s.

Si les résultats obtenus sont supérieurs à la limite de linéarité, diluer l'échantillon aux proportions 1/2 à l'aide de NaCl 9 g/l et multiplier le résultat par 2.

Précision : Les résultats obtenus à l'aide de ces réactifs de SPINREACT (y) n'ont pas montré de différences systématiques par rapport à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats des caractéristiques de performance dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFERENCES

Une hémolyse modérée n'interférera pas dans les résultats^{1, 2}. Une liste de médicaments et d'autres substances qui interfèrent avec la détermination de la cholinestérase a été rapportée par Young et al.^{3, 4}.

REMARQUES

- Utilisez uniquement des récipients en verre. Des inhibiteurs peuvent être extraits de certains plastiques.

BIBLIOGRAPHIE

- King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- Whittaker M. et al. Comparasion of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase Variants. Clin. Chem 1983;(29/10); 1746-1760.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

CONDITIONNEMENT

Réf. : 1001101 Cont. R3: 1 x 5 ml

Colinesterase - Dibucaína

Reagente auxiliar. Inibição da Dibucaína

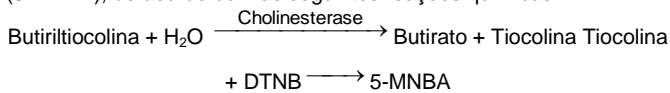
Determinação quantitativa de colinesterase com inibição de dibucaína IVD

Conservar entre 2 - 8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Método cinético da butiriltiocolina utilizando a dibucaína como inibidor.

A butiriltiocolina é hidrolisada pela colinesterase com produção de butirato e tiocolina. A tiocolina reage com ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB) para formar ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzoico (5-MNBA), de acordo com as seguintes reações químicas:



A velocidade de formação de 5-MNBA, medida por fotometria, é proporcional à atividade enzimática da colinesterase na amostra^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A colinesterase é uma enzima que existe no plasma e é sintetizada pelo fígado. A sua verdadeira função fisiológica é desconhecida, a sua função pode, no entanto, ser a de hidrolisar a colina existente no plasma. A atividade da colinesterase é geralmente medida para avaliar a função hepática, é um teste sensível de exposição a pesticidas organofosforados e identificação de doentes com a forma atípica da enzima que apresenta uma elevada sensibilidade à succinilcolina.

Adicionalmente à atividade total da colinesterase a percentagem de inibição de dibucaína é determinada para detetar a presença de uma variante genética invulgar da colinesterase^{1,5,6}.

O diagnóstico clínico não deve ser feito com base no resultado de um único ensaio, deve integrar dados clínicos e outros dados laboratoriais.

REAGENTES

COLINESTERASE Ref: 1001100		
R 1	fosfato pH 7,7	50 mmol/L
Tampão		
R 2	ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico (5,5 DTNB) Butiriltiocolina	0,25 mmol/L 7 mmol/L
Substrato		
CHE- DIBUCAÍNA		
R 3	Cloridrato de dibucaína	2,6 mmol/L
Inibidor		

PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (WR):

Dissolver (→) um comprimido de Substrato R 2 num frasco de R 1.

Colocar a tampa do frasco e misturar suavemente para dissolver o conteúdo.

Inibição (WR-I):

Adicionar 105 µL de Inibidor R 3 ao reagente de trabalho (WR).

Estabilidade: 2 horas a 2-8 °C.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta, quando armazenados bem fechados a uma temperatura entre 2-8 °C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação durante a utilização.

Não utilizar os comprimidos se parecerem partidos.

Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo de validade.

Sinais de deterioração do reagente:

- Presença de partículas e turbidez.

- Absorvância do branco (A) a 405 nm ≥ 0,70.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou colorímetro que permitam medições a 405 nm.

- Banho termostático a 25 °C, 30 °C ou 37 °C (± 0,1 °C)

- Cuvetes correspondentes de 1,0 cm de passagem de luz.

- Equipamento geral de laboratório (Nota 1).

AMOSTRAS

Soro ou plasma heparinizado¹: Estabilidade: 7 horas a 2-8 °C.

PROCEDIMENTO

1. Condições do teste:

Comprimento de onda: 405 nm

Cuvete: 1 cm de passagem de luz

Temperatura constante: 25 °C / 30 °C / 37 °C

2. Ajustar o instrumento a zero com água destilada ou ar.

3. Pipetar numa cuvete:

	25 - 30 °C	37 °C
Sem inibidor WR (ml)	1,5	1,5
Com inibidor WR-I (ml)	1,5	1,5
Amostra (µL)	10	--
Amostra diluída na proporção de 1/2 com NaCl 9 g/L (µL)	--	10

4. Misturar. Ler a absorvância inicial (A) da amostra, iniciar o cronómetro e, em seguida, ler as absorvâncias em intervalos de 30 segundos, durante 1,5 minutos.

5. Calcular a diferença entre as absorvâncias e as diferenças médias de absorvâncias em 30 segundos (ΔA/30 s).

CÁLCULOS

$$25 - 30 \text{ °C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 22537^* = \text{U/L}$$

$$37 \text{ °C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 45074^* = \text{U/L}$$

$\frac{Tv \times 1000}{\epsilon \times LP \times Sv}$	Vt= Volume total em ml ε DTNB = 13,5 a 405 nm PL= passagem de luz Sv= Volume da amostra em ml
---	--

$$\frac{\text{Activity with inhibitor (U/L)}}{\text{Activity without inhibitor (U/L)}} \times 100$$

Percentagem de inibição (%): 100 - $\frac{\text{Activity with inhibitor (U/L)}}{\text{Activity without inhibitor (U/L)}} \times 100$

Unidades: Uma unidade do Sistema Internacional (UI) é a quantidade de enzima que transforma 1 µmol de substrato por minuto, em condições padrão. A concentração é expressa em unidades por litro de amostra (U/L).

CONTROLO DE QUALIDADE

Os soros de controlo são recomendados para monitorizar o desempenho dos procedimentos do ensaio: SPINROL H Normal e Com patologia (Ref. 1002120 e 1002210).

Se forem encontrados valores de controlo fora do intervalo definido, verifique se o instrumento, os reagentes e a técnica apresentam algum problema.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade ações corretivas no caso de os controlos não cumprirem as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA^{1,2}

Percentagem de inibição da atividade da colinesterase realizada por dibucaína:

Normal 70-90% Heterozigotos 30-70% Homozigotos 0-20%

Estes valores destinam-se a orientação; cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Intervalo de medição: Até ao limite de linearidade de 0,250 ΔA/30 s.

Se os resultados obtidos forem superiores ao valor do limite de linearidade, diluir a amostra na proporção de 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado por 2.

Exatidão: Os resultados obtidos utilizando os reagentes da SPINREACT (y) não apresentaram diferenças sistemáticas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados das características de desempenho podem variar em função do analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

A hemólise moderada não irá interferir nos resultados^{1,2}. Uma lista de fármacos e outras substâncias que interfiram na determinação da colinesterase foi reportada por Young et. al^{3,4}.

NOTAS

1. Utilizar apenas recipientes de vidro. Podem ser extraídos inibidores a partir de alguns plásticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- Whittaker M. et al. Comparison of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase Variants. Clin. Chem 1983;(29/10); 1746-1760.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1001101 Cont. R3: 1 x 5 ml