

Determinación cuantitativa de colinesterasa (CHE) en suero y plasma IVD

Conservar a v2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Método utiliza butirilticolina como sustrato específico para colinesterasa (CHE). La Colinesterasa cataliza la hidrólisis del sustrato de butirilticolina formando butirato y tiocolina. La tiocolina reduce el hexacianoferrato. La disminución en absorbancia es directamente proporcional a la actividad de CHE en la muestra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La colinesterasa es una enzima presente en el plasma y sintetizado por el hígado. Su verdadera función fisiológica se desconoce, por lo que su función sería hidrolizar colina en plasma. La actividad de la colinesterasa está regulada por la función del hígado, es una prueba sensitiva de la exposición de pesticidas organofósforos e identificación de pacientes con una forma atípica de la enzima que presenta una sensibilidad alta a la succinil-colina^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Pirofosfato pH 7,6	92 mmol/L
Tampón	Hexacianoferrato (III)	2,5 mmol/L
R 2	Butiriltilicolina	91 mmol/L
Substrato		

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación durante el uso.

No utilice reactivos fuera de la fecha indicada.

Estabilidad: 90 días a 2-8°C una vez abierto, si se evita la contaminación y los viales se tapan inmediatamente después de su uso.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero fresco, plasma (EDTA heparina) no hemolizado y separado rápidamente de los glóbulos rojos. No utilizar fluoruro de sodio como anticoagulante porque inhibe la colinesterasa. Estabilidad: 15 días a 2-8°C.

VALORES DE REFERENCIA¹

Adultos (37°C)	Hombres:	5100-11700 U/L
	Mujeres:	4000-12600 U/L

En niños menores de 6 meses, la actividad de la colinesterasa es del 40% al 50% mayor que en adultos. En mujeres jóvenes, la actividad de la enzima es de un 64% al 74% mayor que en hombres adultos. La actividad disminuye durante el embarazo.

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

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda monitorizar el rendimiento de los procedimientos de la prueba: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores de control están fuera del rango definido, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio deberá disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso que los controles no cumplan con las tolerancias.

APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E

PARAMETROS			
Nombre Abrev	CHE / CHE	R1	250 / 250
Numero	**	R2	50 / 50
Nombre	CHE / CHE	Volumen muestra	3 / 5
Num standard		Blanco R1	
Modo	Tiempo fijo / Cinet	Blanco mezcla reactivo	
Long onda primaria	405 / 412	Rango linealidad	160U/L 25000U/L
Long onda secundaria		Límite linealidad	*
Dirección	Dismin / Dismin	Límite Substrato	*
Tiempo reacción	6_12 / 5_12	Factor	*
Tiempo Incubación		Efecto Prozona	*
Unidades	U/L / U/L	q1	q2
Precision	Entero / Entero	q3	q4
		PC	Abs
CALIBRACIÓN			
Tipo curva	Lineal un punto / Lineal dos puntos		
Sensibilidad	1 / 1		
Replicados	2 / 2		
Intervalos (días)	0 / 0		
Límite aceptación			
Desviación Estandard			
Respuesta del Blanco			
Error Límite			
Coefficiente correlación			

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta **30 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 150 U/L hasta el límite de linealidad de 22000 U/L.

Si los resultados obtenidos fuesen mayores que el límite de linealidad, diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado por 10.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/L)	7122	5182	6966	5060
SD	127,1	67,9	168,9	110,6
CV (%)	1,78	1,31	2,42	2,19

Sensibilidad: 1 U/L = -0,000013 (A)

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,998.

Ecuación de la recta de regresión: y = 1,11 x + 384,58.

Las características del método varían según el analizador utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

- NCCLS Document: "Procedures for the Collection of Arterial Blood Specimens; Approved Standard - Third Edition (1999)".
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).
- EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.
- Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
- Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Proposal of Standard Methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37°C. II Cholinesterase (acetylcholine acylhydrolase, EC 3.1.1.8). Eur.J.Clin.Chem.Clin. Biochem 30, 163 (1992).

PRESENTACIÓN

Ref: MI41210

Cont.

R1: 2x30 mL R2: 1x15 mL

Détermination quantitative de cholinestérase (CHE) en sérum et plasma IVD

Conserver à 2 - 8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode utilise de la butyrylthiocholine comme substrat spécifique pour la cholinestérase (CHE). La Cholinestérase catalyse l'hydrolyse du substrat de butyrylthiocholine en formant du butyrate et de la thiocholine. La thiocholine réduit l'hexacyanoferrate. La diminution dans l'absorption est directement proportionnelle à l'activité de CHE dans l'échantillon^{7,8,9}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La cholinestérase est une enzyme présente dans le plasma, synthétisée par le foie. Sa véritable fonction physiologique est méconnue, sa fonction serait donc d'hydrolyser la choline dans le plasma. L'activité de la cholinestérase est régulée par le fonction du foie, c'est une preuve sensitive de l'exposition des pesticide organophosphorés et de l'identification des patients avec une forme atypique de l'enzyme qui présente une sensibilité élevée à la succinylcholine^{1,5,6}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R 1	Pyrophosphate pH 7.6	92 mmol/L
Tampon	Hexacyanoferrate (III)	2,5 mmol/L
R 2	Butyrylthiocholine	91 mmol/L
Substrat		

PRÉPARATION

Les réactifs sont prêts à être utilisés.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette, quand ils sont gardés bien fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et que leur contamination est évitée pendant l'utilisation.

Ne pas utiliser des réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Stabilité : 30 jours à 2-8°C une fois ouvert, si la contamination est évitée.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- La présence de particules et de turbidité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Auto-analyseur MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Équipement d'usage général pour laboratoire.

ÉCHANTILLONS^{1,2,3,4,5}

Sérum frais, plasma (EDTA héparine) non hémolysé et rapidement séparé des globules rouges. Ne pas utiliser de sodium comme anticoagulant car il inhibe la cholinestérase. Stabilité: 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Adultes (37°C)	Hommes:	5100-11700 U/L
	Femmes:	4000-12600 U/L

Chez les enfants âgés de moins de 6 mois, l'activité de la cholinestérase est de 40% au 50% plus élevée que chez les adultes. Chez les jeunes femmes, l'activité de la cholinestérase est de 64% au 74% plus élevée que chez les adultes. L'activité diminue pendant la grossesse.

Ces valeurs sont à titre indicatif. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé de suivre le rendement des procédures du test : SPINTROL H Normal et Pathologique (Réf. 1002120 y 1002210).

Si les valeurs de contrôle sont en dehors de la gamme de tolérance, vérifier s'il y a des problèmes avec l'instrument, les réactifs et la technique.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

APPLICATION AU MINDRAY BS-120 / BS-200E

PARAMETERS			
Test	CHE / CHE	R1	250 / 250
Nº	**	R2	50 / 50
Full Name	CHE / CHE	Sample volume	3 / 5
Standard Nº		R1 Blank	
Reac. Type	Fixed Time / Kinet	Mixed Rgt Blank	
Pri. Wavelength	405/412	Linearity Range	160U/L 25000U/L
Sec. Wavelength		Linearity Limit	*
Direction	Decrea / Decrea	Substrate Limit	*
Reac. Time	6_12 / 5_12	Factor	*
Incuba. Time		Prozone check	*
Units	U/L	q1	q2
Precision	Interger / Interger	q3	q4
		PC	Abs
CALIBRATION			
Rule	One-point Linear /Two-point Linear		
Sensitivity	1 / 1		
Replicates	2 / 2		
Interval (days)	0 / 0		
Difference Limit			
SD			
Blank Response			
Error Limit			
Correlation Coefficient			

Dans ce paramètre, le blanc est nécessaire pour obtenir des résultats corrects à l'écran principal de CALIB. L'étalonnage avec le blanc réactif est stable jusqu'à 30 jours. Passé ce délai, le blanc réactif doit de nouveau être utilisé pour faire valider l'étalonnage.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure : Depuis la limite de détection de 150 U/L jusqu'à la limite de linéarité de 22000 U/L.

Si les résultats obtenus étaient supérieurs à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision :

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/L)	SD	6966	5060
SD	127,1	67,9	168,9	110,6
CV (%)	1,78	1,31	2,42	2,19

Sensibilité: 1 U/L = -0,000013 (A)

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives quand ils sont comparés à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus étaient les suivants:

Coefficient de corrélation (r)² : 0,998.

Equation de la droite de régression: y= 1,11 x + 384,58.

Les résultats des caractéristiques de la méthode dépendent de l'analyseur utilisé.

BIBLIOGRAPHIE

1. NCCLS Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
2. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
3. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
4. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd Ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
5. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Third Edition (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

PRÉSENTATION

Réf. : MI41210

Cont.

R1 : 2x30 mL R2 : 1x15 mL

Determinação quantitativa da colinesterase (CHE) em soro e plasma IVD

Armazenar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

O método utiliza a butiriltiocolina como substrato específico para a colinesterase (CHE). A colinesterase catalisa a hidrólise do substrato de butiriltiocolina, formando butirato e tiocolina. A tiocolina reduz o hexacianoferrato (III) a hexacianoferrato (II).

A diminuição da absorção é diretamente proporcional à atividade de CHE na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A colinesterase é uma enzima presente no plasma e sintetizada pelo fígado. A sua verdadeira função fisiológica é desconhecida, pelo que a sua função poderá ser hidrolisar a colina no plasma. A atividade da colinesterase é geralmente medida para a função hepática. É um teste sensível de exposição a pesticidas organofosforados e de identificação de doentes com a forma atípica da enzima que apresenta uma elevada sensibilidade à succinilcolina^{1,5,6}.

O diagnóstico clínico não deve ser feito com base num único resultado de teste; deve integrar dados clínicos e outros dados laboratoriais.

REAGENTES

R 1	Pirofosfato pH 7,6	92 mmol/L
Buffer	Hexacianoferrato (III)	2,5 mmol/L
R 2	Butiriltiocolina	91 mmol/L
Substrato		

PREPARAÇÃO

Os reagentes estão prontos a usar.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo, desde que armazenados e hermeticamente fechados a 2-8°C, protegidos da luz e evitando contaminações durante a sua utilização.

Não utilizar reagentes após a data de validade.

Estabilidade: 30 dias a 2-8°C após a abertura, se for evitada contaminação.

Sinais de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turbidez.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Auto-analisador MINDRAY BS-120 / BS-200E.

- Equipamento geral de laboratório.

AMOSTRAS

Soro fresco, plasma (heparina EDTA) não hemolisado e prontamente separado dos glóbulos vermelhos. Não usar fluoreto de sódio como anticoagulante porque inibe a colinesterase. Estabilidade: 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

CONTROLO DE QUALIDADE

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

Se forem encontrados valores de controlo fora da gama definida, verificar o instrumento, os reagentes e a técnica em busca de problemas.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e ações corretivas, se os controlos não satisfizerem as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA¹

Adultos (37°C)	Masculino:	5100-11700 U/L
	Feminino:	4000-12600 U/L

Em bebés até aos 6 meses de idade, a atividade da colinesterase é 40% a 50% mais elevada do que em adultos. Nas mulheres jovens, a atividade enzimática é aproximadamente de 64% a 74% da verificada em homens adultos. A atividade diminui durante a gravidez.

Estes valores são para fins de orientação; cada laboratório deve estabelecer a sua própria gama de referência.

APLICAÇÃO AO MINDRAY BS-120 / BS-200E

PARAMETERS

Test	CHE / CHE	R1	250 / 250
Nº	**	R2	50 / 50
Full Name	CHE / CHE	Sample volume	3 / 5
Standard Nº		R1 Blank	
Reac. Type	Fixed time / Kinet	Mixed Rgt Blank	
Pri. Wavelength	405/412	Linearity Range	160U/L 25000U/L
Sec. Wavelength		Linearity Limit	*
Direction	Decrea / Decrea	Substrate Limit	*
Reac. Time	6_12 / 5_12	Factor	*
Incuba. Time		Prozone check	*
Units	U/L	q1	q2
Precision	Interger / Interger	q3	q4
		PC	Abs

CALIBRATION

Rule One-point Linear / Two-point Linear

Sensitivity	1 / 1
Replicates	2 / 2
Interval (days)	0 / 0
Difference Limit	
SD	
Blank Response	
Error Limit	
Correlation Coefficient	

Você precisa aplicar o branco neste parâmetro para obter resultados correctos na tela principal de CALIB. Calibração pelo branco de reagente é estável até **30 dias**. Após este período, é necessário voltar a aplicar o reagente em branco para validar a calibração.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Gama de medição: Desde o limite de deteção de 150 U/L até ao limite de linearidade de 22000 U/L.

Se os resultados obtidos forem superiores ao limite de linearidade, dilua a amostra 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplique o resultado por 10.

Precisão:

	Intra-ensaio (n=20)		Inter-ensaio (n=20)	
	Média (mg/L)	SD	CV (%)	
Média (mg/L)	7122	5182	69,66	5060
SD	127,1	67,9	168,9	110,6
CV (%)	1,78	1,31	2,42	2,19

Sensibilidade: 1 U/L = -0,000013 (A)

Exatidão: Os resultados obtidos usando reagentes SPINREACT (y) não mostraram diferenças sistemáticas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos foram os seguintes:

Coeficiente de correlação (r^2): 0,998.

Equação de regressão: $y = 1,11 x + 384,58$.

Os resultados das características de desempenho dependem do analisador utilizado.

BIBLIOGRAFIA

- Documento NCCLS: "Procedimentos para a Recolha de Espécimes de Sangue Arterial; Norma Aprovada - Terceira Edição (1999)".
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Química Clínica", Mosby Ed. (1996).
- EU-Dir 1999/11 Diretiva da Comissão de 8 de março de 1999, que adapta ao progresso técnico os princípios das Boas Práticas de Laboratório, tal como especificado na Diretiva 87/18/CEE do Conselho.
- Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp e Williams & Wilkins Ed. (2ª Edição - 1990).
- Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Proposta de Métodos Padrão para a determinação de concentrações catalises enzimáticas no soro e no plasma a 37°C. II Colinesterase (acil-hidrolase de acetilcolina, EC 3.1.1.8). Eur.J.Clin.Chem.Clin. Biochem 30,163 (1992).

EMBALAGEM

Ref: MI41210 Cont. R1: 2x30 mL R2: 1x15 mL