

Cholinesterase bi

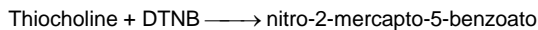
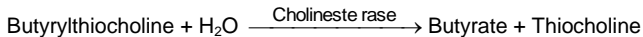
Butyrylthiocholine. Kinetic

Quantitative determination of cholinesterase (CHE) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Cholinesterase hydrolysed butyrylthiocholine to butyrate and thiocholine. Thiocholine reacts with 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) to form nitro-2-mercapto-5-benzoato according the following reactions:



The rate of nitro-2-mercapto-5-benzoato 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^{1,5,6}.

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

REAGENTS

R 1	Phosphate pH 7.7	50 mmol/L
Buffer	5,5 DTNB	0.25 mmol/L
R 2	Butyrylthiocholine	7 mmol/L
Substrate		

PREPARATION

- Working reagent (WR₁):
Dissolve (→) the contents of each vial of R 1 in 50 mL of distilled water.
 - Working reagent (WR₂):
Dissolve (→) the contents of each vial of R 2 in 3 mL of distilled water.
- Cap vial and mix gently to dissolve contents.
Stability: 8 weeks at 2-8°C. Avoid direct sunlight.

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 reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 405 nm ≥ 1.20.

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.

SAMPLES

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

PROCEDURE

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

	25 - 30°C	37°C
WR ₁ (mL)	1.5	1.5
WR ₂ (μL)	50	50
Sample (μL)	10	--
Sample diluted 1/2 with NaCl 9 g/L (μL)	--	10

4. Mix and wait 30 seconds.

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

CALCULATIONS

$$25^\circ - 30^\circ\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 23460 = \text{U/L}$$

$$37^\circ\text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 46920 = \text{U/L}$$

Calculating factor in automatic analyzers (ΔA/min.) is 23460 at 37°C.

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).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.24	1.55
30°C	0.81	1.00	1.26
37°C	0.64	0.80	1.00

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 VALUES¹

25°C 30°C 37°C

3000 – 9300 U/L 3714 – 11513 U/L 4659 – 14443 U/L

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 6 U/L to *linearity limit* of 9000 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/5 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 5.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (U/L)	6571	3309	6557	3342
SD	45.7	24.6	53.4	43.5
CV (%)	0.70	0.74	0.81	1.30

Sensitivity: 1 U/L = 0.00006 ΔA / 30 s.

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 hemolysis 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

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

1. King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
2. 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.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001102	Cont.	R1: 4 → 50 mL
		R2: 4 → 3 mL

Colinesterasa bi

Butyrylthiocholine. Cinétique

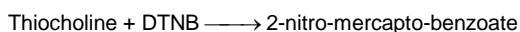
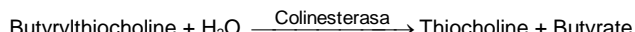
Détermination quantitative de cholinestérase (CHE) IVD

Conserver à 2 - 8 °C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La cholinestérase hydrolyse la butyrylthiocholine en thiocholine et butyrate.

La thiocholine réagit avec l'acide 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoïque, (DTNB) et forme le 2-nitro-mercapto-benzoate, selon le schéma de réaction suivant :



La vitesse de formation de 2-nitro-mercapto-benzoate, déterminée par photométrie, est proportionnelle à l'activité enzymatique de la cholinestérase dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La cholinestérase est une enzyme présente dans le plasma et synthétisée dans le foie. Sa fonction physiologique n'est pas clairement connue, bien qu'un rôle important lui est attribué comme régulatrice de la concentration de choline dans le plasma.

La détermination de son activité nous aide à évaluer la fonction hépatique, à détecter une exposition excessive à des pesticides organophosphorés et à identifier des patients ayant des formes atypiques de l'enzyme, présentant une sensibilité accrue à la succinylcholine, qui est un produit anesthésiant^{1,5,6}.

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

RÉACTIFS

R 1	Phosphate pH 7,7	50 mmol/L
Tampon	5,5 DTNB	0,25 mmol/L
R 2	Butyrylthiocholine	7 mmol/L
Substrat		

PRÉPARATION

- Réactif de travail (RT₁) :
Dissoudre (→) le contenu du flacon R1 dans 50 mL d'eau distillée.
 - Réactif de travail (RT₂) :
Dissoudre (→) le contenu du flacon R2 dans 3 mL d'eau distillée.
- Boucher le flacon et mélanger doucement jusqu'à en dissoudre le contenu.
- Stabilité : 8 semaines à 2-8 °C, protégés de la lumière.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon, lorsque les flacons sont maintenus bien fermés à 2-8 °C, protégés de la lumière et en évitant leur contamination. Ne pas utiliser les réactifs en-dehors de la date indiquée.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du Blanc à 405 ≥ 1,20.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 405 nm.
- Bain thermostatable à 25 °C, 30 °C ou 37 °C (±0,1 °C)
- Cuvettes de 1,0 cm de passage de lumière
- Équipement habituel de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma hépariné ou avec EDTA¹. Stabilité : 7 jours à 2-8 °C

PROCÉDURE

- Conditions d'essai :
Longueur d'onde : 405 nm
Cuvette : 1 cm passage de lumière
Température constante. 25 °C / 30 °C / 37 °C
- Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée ou à l'air.
- Pipeter dans une cuvette :

	25 - 30 °C	37 °C
RT ₁ (mL)	1,5	1,5
RT ₂ (μL)	50	50
Échantillon (μL)	10	--
Échantillon dilué 1/2 avec NaCl 9 g/L (μL)	--	10

- Mélanger et attendre 30 secondes.
- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre le chronomètre en marche et lire l'absorbance toutes les 30 secondes pendant 1,5 minutes.
- Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par intervalle de 30 secondes (ΔA/30 s).

CALCULS

$$25 \text{ °C} - 30 \text{ °C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 23460 = \text{U/L}$$

$$37 \text{ °C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 46920 = \text{U/L}$$

Le facteur de calcul dans des analyseurs automatiques (ΔA/min) est de 23460 à 37 °C.

Unités : L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 μmol de substrat par minute. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures :

Les résultats peuvent être transformés dans d'autres températures en multipliant par :

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,24	1,55
30 °C	0,81	1,00	1,26
37 °C	0,64	0,80	1,00

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser avec les échantillons des sérums de contrôle évalués :

SPINTROL H Normal et Pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs obtenues sont en-dehors de la plage de tolérance, l'instrument, les réactifs et la technique devront être vérifiés.

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

VALEURS DE RÉFÉRENCE²

25 °C 30 °C 37 °C

3000 – 9300 U/L 3714 – 11513 U/L 4659 – 14443 U/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Plage de mesure : Depuis la limite de détection de 6 U/L jusqu'à la limite de linéarité de 9000 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/5 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 5.

Précision :

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (U/L)	6571	3309	6557	3342
Écart-type	45,7	24,6	53,4	43,5
CV (%)	0,70	0,74	0,81	1,30

Sensibilité analytique : 1 U/L = 0,00006 ΔA / 30 s.

Exactitude : Les réactifs SPINREACT (y) n'ont pas montré de différences systématiques significatives par rapport aux autres réactifs commerciaux (x).

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFERENCES

L'hémolyse modérée n'interfère pas dans les résultats^{1,2}. Plusieurs drogues et autres substances ont été décrites comme interférant dans la détermination de la cholinestérase^{3,4}.

REMARQUES

SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

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. Comparation 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.

PRÉSENTATION

Réf : 1001102

Cont.

 R1 : 4 → 50 mL
R2 : 4 → 3 mL

Colinesterase bi

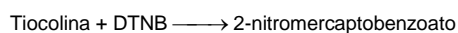
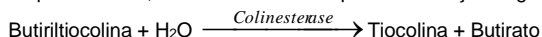
Butiriltiocolina. Cinética

Determinação quantitativa de colinesterase (CHE) IVD

Conservar a 2 – 8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

A colinesterase hidrolisa a butiriltiocolina em tiocolina e butirato. A tiocolina reage com o ácido 5.5'-ditiobis-2-nitrato (DTNB) e forma 2-nitromercaptobenzoato, de acordo com o esquema de reação seguinte:



A velocidade de formação de 2-nitromercaptobenzoato, determinado fotometricamente, é proporcional à atividade enzimática da colinesterase na amostra testada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A colinesterase é uma enzima presente no plasma e sintetizada no fígado. A sua função fisiológica não é claramente conhecida, embora se lhe atribua um papel importante como regulador da concentração de colina no plasma.

A determinação da sua atividade ajuda a avaliar a função hepática, detetar a exposição excessiva a pesticidas organofosforados e identificar doentes com formas atípicas da enzima que apresentam uma sensibilidade aumentada ao anestésico succinilcolina^{1,5,6}.

O diagnóstico clínico deve ser realizado tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R 1	Fosfato pH 7,7	50 mmol/L
Tampão	5,5 DTNB	0,25 mmol/L
R 2	Butiriltiocolina	7 mmol/L
Substrato		

PREPARAÇÃO

- Reagente de trabalho (RT₁): Dissolver (→) no conteúdo do frasco R1 em 50 mL de água destilada.
 - Reagente de trabalho (RT₂): Dissolver (→) no conteúdo do frasco R2 em 3 mL de água destilada.
- Tapar o frasco e misturar suavemente até dissolver o seu conteúdo.
Estabilidade: 8 semanas a 2 - 8 °C, protegidos da luz.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

Indicadores de degradação dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação
- Absorvâncias (A) do branco a 405 \geq 1,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 405 nm.
- Banho termostático a 25 °C, 30 °C ou 37 °C (\pm 0,1 °C)
- Cuvetes de 1,0 cm caminho de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma heparinizado ou com EDTA¹. Estabilidade: 7 dias a 2 – 8 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do teste:
Comprimento de onda: 405 nm
Cuvete: 1 cm caminho de luz
Temperatura constante 25 °C / 30 °C / 37 °C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.
- Pipetar numa cuvete:

	25 – 30 °C	37 °C
RT ₁ (mL)	1,5	1,5
RT ₂ (μL)	50	50
Amostra (μL)	10	--
Amostra diluída 1/2 com NaCl 9 g/L (μL)	--	10

- Misturar e esperar 30 segundos.
- Ler a absorvância (A) inicial da amostra, colocar o cronómetro em funcionamento e ler a absorvância a cada 30 segundos durante 1,5 min.

- Calcular a média da diferença de absorvância por intervalo de 30 segundos ($\Delta A/30$ s).

CÁLCULOS

$$25^\circ - 30^\circ \text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 23460 = \text{U/L}$$

$$37^\circ \text{C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 46920 = \text{U/L}$$

O fator de cálculo em analisadores automáticos ($\Delta A/\text{min}$) é 23460 a 37 °C.

Unidades: A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1 μmol de substrato por minuto. A concentração é expressa em unidades por litro (U/L).

Fatores de conversão de temperaturas:

Os resultados podem transformar-se para outras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medição	Fator para converter para		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,24	1,55
30 °C	0,81	1,00	1,26
37 °C	0,64	0,80	1,00

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soros controlo avaliados: SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Se os valores detectados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, deve-se rever o instrumento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA²

25 °C 30 °C 37 °C

3000 – 9300 U/L 3714 – 11513 U/L 4659 – 14443 U/L

Estes valores são indicativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Desde o limite de deteção 6 U/L até ao limite de linearidade 9000 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/5 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 5.

Precisão:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Média (U/L)	SD	6557	3342
SD	45,7	24,6	53,4	43,5
CV (%)	0,70	0,74	0,81	1,30

Sensibilidade analítica: 1 U/L = 0,00006 $\Delta A / 30$ s.

Exatidão: os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

As características do método podem variar em função do analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

A presença de hemólise moderada não interfere com os resultados^{1,2}. Foram descritos vários fármacos e outras substâncias que interferem na determinação da colinesterase^{3,4}.

NOTAS

A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.

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.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001102	Cont.	R1: 4 → 50 mL
		R2: 4 → 3 mL