

CHOLINESTERASE

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00066	CHE 120	R1: 2 x 50 ml, R2: 1 x 20 ml



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of cholinesterase in human serum and plasma.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Two related enzymes have the ability to hydrolyze acetylcholine. One is acetylcholinesterase, which is called true cholinesterase, or choline esterase I. True cholinesterase is found in erythrocytes, in the lungs and spleen, in nerve endings, and in the gray matter of the brain. The other cholinesterase is acylcholine acylhydrolase, it is usually called pseudocholinesterase, benzoyl cholinesterase, or choline esterase II. Although it is found in the liver, pancreas, heart, white matter of the brain, and serum, its biological role is unknown. The serum enzyme is the one whose assay is clinically useful. Cholinesterase levels in serum are useful as a test of liver function, as an indicator of possible insecticide poisoning, or for the detection of patients with atypical forms of the enzyme. Decreased levels of serum enzyme are also found in patients with acute infections, pulmonary embolism, muscular dystrophy, chronic renal disease and in pregnancy.

PRINCIPLE

Cholinesterase (CHE) catalyses the hydrolysis of butyrylthiocholine substrate forming butyrate and thiocholine. Thiocholine reduces hexacyanoferrate (III⁺) to hexacyanoferrate (II⁺). The decrease of absorbance at 405 nm is proportional to the activity of CHE in the sample.

REAGENT COMPOSITION

R1	
Pyrophosphate buffer, pH 7.6 (37 °C)	92 mmol/l
Hexacyanoferrate (III ⁺)	2.5 mmol/l
R2	
Butyrylthiocholine	91 mmol/l

REACTION MIXTURE

Pyrophosphate buffer, pH 7.6 (37 °C)	75.41 mmol/l
Hexacyanoferrate (II ⁺)	2.05 mmol/l
Butyrylthiocholine	14.92 mmol/l

REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid, ready to use.

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8 °C.

Two reagents method

Reagents R1 and R2 are liquid, ready to use.

After first opening, reagents are stable for 90 days at 2–8 °C if stored at appropriate conditions, closed carefully and without any contamination.

SPECIMEN COLLECTION & HANDLING

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Fresh serum, plasma (heparin, EDTA), not haemolysed and promptly separated from the red blood cells.

Do not use sodium fluoride as an anticoagulants because it inhibits cholinesterase.

Stability of cholinesterase in serum and plasma is 7 days at 4–8 °C.

Stability

in serum /plasma:	7 days	at 2–8 °C
	1 year	at -20 °C

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

Calibration with LYONORM CALIBRATOR, Cat. No. BLT00069 is recommended.

QUALITY CONTROL

For quality control LYONORM HUM N, Cat. No. BLT00070 and Lyonorm HUM P, Cat. No. BLT00071 are recommended.

UNIT CONVERSION

U/l x 0.017 = μ kat/l

EXPECTED VALUES

fS CHE (μ kat/l) 37 °C
 Male 85 – 195
 Female 66.7 – 210

In infants up to 6 months of age, cholinesterase activity is 40% to 50% higher than in adults. In young women, the enzyme activity is approximately 64% to 74% higher than in adult males. The activity decreases in pregnancy.

The range of reference values is only approximate; it is recommended that each laboratory verify the extent of the reference interval for their particular examined population.

PERFORMANCE DATA

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification: 5.7 μ kat/l

Linearity: 330 μ kat/l

Measuring range: 5.7 – 330 μ kat/l

PRECISION

Intra-assay (n=20)	Mean (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Sample 1	50.9	0.59	1.16
Sample 2	73.3	0.87	1.19
Inter-assay (n=20)	Mean (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Sample 1	57.45	2.29	3.99
Sample 2	99.9	2.38	2.38

COMPARISON

A comparison between XL-Systems Cholinesterase (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results:

N = 40

r = 0.998

y = 1.032 x – 1.06 μ kat/l

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:

haemoglobin up to 5 g/l, bilirubin up to 15 mg/dl, triglycerides up to 500 mg/dl.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagent 1 is not classified as dangerous. It contains <0.1% sodium azide, which is classified as toxic and dangerous substance for the environment.

Reagent 2 contains <0.5% maleic acid, which is a skin sensitiser.



Warning

Hazard statement:

H317 May cause an allergic skin reaction.

Precautionary statement:

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water and soap.

P333+P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice.

FIRST AID

In case of an accidental ingestion, wash up the mouth and drink about 0.5 l of water. On eye contact rinse the eye quickly and thoroughly with the jet of tap of water. Contaminated skin should be washed with warm water and soap. In all serious cases of health damage consult a physician.

WASTE DISPOSAL

All tested samples should be treated as potentially infectious and with an eventual rest of reagents should be disposed in accordance with the internal regulations for dangerous waste, in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of dangerous materials. Paper packing and others should be handed over for recycling or discarded as sorted waste (paper, glass, plastic).

ASSAY PROCEDURE

Wavelength: 405 nm

Cuvette: 1 cm

Temperature: 37 °C

Serum/reaction mixture ratio 1/61

Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio.

Two reagents method – substrate start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent 1	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml
Sample	-	-	0.020 ml
Calibrator	-	0.020 ml	-
Distilled water	0.020 ml	-	-
Mix and incubate for 5 minutes at 37 °C. Then add:			
Reagent 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml

Mix and incubate for 90 seconds at 37 °C and read initial absorbance of sample, calibrator and reagent blank. Repeat the reading after exactly 30, 60 a 90 seconds. Calculate the mean 30 seconds absorbance change ($\Delta A/30s$).

CALCULATION

$$1. \text{Cholinesterase } (\mu\text{kat/l}) = C_{\text{cal}} \times \frac{\Delta A_{\text{sam}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}{\Delta A_{\text{cal}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}$$

C_{cal} = calibrator concentration

2. Using factor

Cholinesterase (μ kat/l) = f x $\Delta A/30s$

f = factor:

405 nm	Serum / plasma
Substrate start	2193

Applications for automatic analysers are available on request.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
 e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

ХОЛИНЭСТЕРАЗА

Кат. №	Название на упаковке	Фасовка
BLT00066	ХЭ 120	R1: 2 x 50 мл, R2: 1 x 20 мл



Применение

Реагент предназначен для количественной *in vitro* диагностики холинэстеразы (ХЭ) в сыворотке и плазме.

Клиническое значение

Существует две разновидности фермента холинэстеразы, которые обладают способностью гидролизовать ацетилхолин. Они различаются по типу субстрата, локализации в органах и тканях и биологической роли в организме. Одна разновидность ацетилхолинэстеразы называется истинной холинэстеразой, или холинэстераза I. Истинная холинэстераза находится в эритроцитах, в легких, в селезенке, в нервных окончаниях, в сером веществе головного мозга.

Другой разновидностью холинэстеразы является ацилхолинацилгидролаза, которую называют псевдохолинэстераза, бензоилхолинэстераза, или холинэстераза II. Она содержится в печени, поджелудочной железе, сердце, в белом веществе головного мозга, сыворотке. Определение сывороточной холинэстеразы является клинически важным.

Определение холинэстеразы в сыворотке крови используют для диагностики функции печени, в качестве индикатора отравлений инсектицидами, или для выявления пациентов с атипичными формами фермента. Снижение уровня сывороточного фермента ХЭ также наблюдается у пациентов с острыми инфекциями, легочной эмболией, мышечной дистрофией, с хроническими заболеваниями почек и при беременности.

Принцип реакции

Холинэстераза катализирует гидролиз бутирилтиохолина до масляной кислоты и тиохолина. Тиохолин восстанавливает гексациано-(III⁺) – феррат калия (красная кровяная соль) до бесцветного гексациано-(II⁺) – феррата калия (желтая кровяная соль). Изменение поглощения при 405 нм пропорционально активности холинэстеразы в образце.

Реагенты

R1		
Пирофосфатный буфер, pH 7,6 (37°C)		92 ммоль/л
Гексациано- (III ⁺) - феррат калия		2,5 ммоль/л
R2		
Бутирилтиохолин		91 ммоль/л

Состав реакционной смеси

Пирофосфатный буфер, pH 7,6 (37°C)	75,41 ммоль/л
Гексациано- (III ⁺) - феррат калия	2,05 ммоль/л
Бутирилтиохолин	14,92 ммоль/л

Приготовление рабочих реагентов

Реагенты (R1 и R2) жидкие, готовые к использованию.

Хранение и стабильность рабочих реагентов

Двухреагентный метод – старт субстратом

Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, при хранении 2–8°C. После вскрытия, реагенты стабильны 90 дней, если хранятся при 2–8°C, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.

Образцы

Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов). Свежеприготовленная сыворотка, плазма (гепаринизированная, ЭДТА). Избегать гемолиза! Образцы крови после сбора, отцентрифугировать в максимально короткие сроки. Не использовать флюорат натрия (антикоагулянт), т.к. он ингибирует активность холинэстеразы.

Стабильность:

в сыворотке / плазме
7 дней при 2–8°C
1 год при –20°C
Загрязненные образцы не использовать.

Калибровка

Для калибровки рекомендуется использовать Лионорм Калибратор, Кат. № BLT00069.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка: Лионорм ГУМ Н, Кат. № BLT00070 и Лионорм ГУМ П, Кат. № BLT00071.

Коэффициент пересчета

Е/л x 0,017 = мккат/л

Нормальные величины

Сыворотка / Плазма при 37°C
Мужчины 85 – 195 мккат/л (5000 - 11471 Е/л)
Женщины 66,7 – 210 мккат/л (3924 - 12353 Е/л)
У детей до 6 месяцев активность холинэстеразы выше на 40 – 50%, чем у взрослых.
У молодых женщин активность холинэстеразы выше на 64 – 74%, чем у взрослых мужчин. Активность холинэстеразы снижается при беременности.

Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Значения величин

Значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах серии ERBA XL. Результаты могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.

Рабочие характеристики

Чувствительность: 5,7 мккат/л (335 Е/л)
Линейность: до 330 мккат/л (19412 Е/л)
Диапазон измерений: 5,7 - 330 мккат/л (330 -19412 Е/л)

Воспроизводимость

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Образец 1	20	50,9	0,59	1,16
Образец 2	20	73,3	0,87	1,19

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Образец 1	20	57,45	2,39	3,99
Образец 2	20	99,9	2,38	2,38

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: Холинэстераза (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).
Результаты:
y = 1,032 x - 1,06 мккат/л r = 0,998

Специфичность / Влияющие вещества

Билирубин до 15 мг/дл, Гемоглобин до 5 г/л, и Триглицериды до 500 мг/дл не влияют на результаты анализа.

Предупреждения и меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.
Реагент 1 не классифицируется как опасный. Он содержит <0,1% азид натрия, который является токсичным и опасным для окружающей среды.
Реагент 2 содержит <0,5% малеиновой кислоты, которая является сенсibilизирующим агентом.



Предупреждение

Обозначение опасности:
H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

Меры предосторожности:

P280 Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз.
P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды и мыла.
P333+P313 При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться, как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов. Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Проведение анализа

Длина волны: 405 нм
Оптический путь: 1 см
Температура: 37 °C

Объемное соотношение

Сыворотка, плазма / реакционная смесь 1/61
Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагент/образец

Двухреагентный метод – старт субстратом

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Реагент 1	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
Образец	-	-	0,02 мл
Калибратор	-	0,02 мл	-
Дистил. вода	0,02 мл	-	-
Смешать, инкубировать 5 мин при 37 °C. Добавить:			
Реагент 2	0,2 мл	0,2 мл	0,2 мл

Смешать, инкубировать 90 сек при 37 °C, измерить поглощение образца, калибратора и реагента бланка. Повторить измерение через 30, 60 и 90 секунд. Рассчитать среднее значение изменения поглощения за 30 сек (ΔA/30сек).

Расчеты

Рассчитайте активность холинэстеразы в пробе, используя

1. Калибратор

$$\text{Холинэстераза (Е/л; мккат/л)} = C_{\text{кал}} \times \frac{\Delta A_{\text{обр}}/30_{\text{сек}} - \Delta A_{\text{бланк}}/30_{\text{сек}}}{\Delta A_{\text{кал}}/30_{\text{сек}} - \Delta A_{\text{бланк}}/30_{\text{сек}}}$$

C_{кал} – значение активности холинэстеразы в калибраторе

2. Фактор

Холинэстераза = Ф x ΔA/30 сек

Ф – фактор пересчета, см. нижеследующую таблицу

Фактор	37 °C	
	Е/л	мккат/л
405 нм	129000	2193

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

CHOLINESTERASE

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00066	CHE 120	R1: 2 x 50 ml, R2: 1 x 20 ml



POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení katalytické koncentrace cholinesterasy v lidském séru a plazmě.

KLINICKÝ VÝZNAM

Existují dva typy cholinesteráz (CHE a ACHE) lišící se v substrátové specifitě, tkáňovém původu a biologické funkci. Cholinesteráza (ACHE), známá také pod názvem acetylcholinacetylhydroláza EC 3.1.1.7, se nachází v erytrocytech, plicích, slezině a šedé hmotě mozku. Pseudocholinesteráza (CHE), také nazývaná acetylcholinacetylhydroláza EC 3.1.1.8, se nachází v séru, játrech, slinivce břišní, srdci a bílé hmotě mozku. Stanovení sérové cholinesterázy (CHE) je užitečné při určení diagnózy: onemocnění jater, hepatitidy, cirhózy, karcinomu s metastázemi, citlivosti na podávání sukcinylcholinu a otravě pesticidy. Hladiny cholinesterázy klesají ve všech výše zmíněných případech.

PRINCIP METODY

Optimalizovaná metoda DGKCh „new 94“. Cholinesterasa katalyzuje hydrolyzu butyrylthiocholinu za tvorby butyrátu a thiocholinu. Thiocholin redukuje hexakynoželezitan (III⁺) na hexakynoželezitan (II⁺). Pokles absorbance při 405 nm je přímo úměrný katalytické koncentraci cholinesterasy ve vzorku.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1		
Pyrofosfátový pufr, pH 7,6 (37 °C)	92 mmol/l	
Hexakynoželezitan	2,5 mmol/l	
R2		
Butyrylthiocholin	91 mmol/l	

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

Pyrofosfátový pufr, pH 7,6 (37 °C)	75,41 mmol/l
Hexakynoželezitan	2,05 mmol/l
Butyrylthiocholin	14,92 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla R1 a R2 jsou kapalná a určená k přímému použití. Skladovaná před otevřením při 2–8 °C a chráněná před světlem a kontaminací jsou stabilní do data expirace, uvedeného na obalu. Po prvním otevření lahvičky je stabilita činidel 90 dní, pokud jsou skladována při 2–8 °C a chráněná před kontaminací.

VZORKY

Čerstvé sérum nebo plazma (heparin, EDTA), nehemolyzované a rychle oddělené od červených krvinek. Nepoužívejte fluorid sodný jako antikoagulant, protože ten inhibuje cholinesterázu.

Doporučujeme postupovat dle NCCLS (nebo podobných standardů).

Stabilita cholinesterasy v séru, plazmě:

7 dní	při 2–8 °C
1 rok	při -20 °C

Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje LYONORM CALIBRATOR, kat. č. BLT00069.

KONTROLA KVALITY

Ke kontrole se doporučuje LYONORM HUM N, kat. č. BLT00070, LYONORM HUM P, kat. č. BLT00071.

PŘEPOČET JEDNOTEK

U/l x 0,017 = μ kat/l

REFERENČNÍ HODNOTY

fS CHE (μ kat/l) 37 °C

Muži 85 – 195

Ženy 66,7 – 210

U dětí do 6-ti měsíců věku bývají hodnoty cholinesterasy o 40-50 % vyšší než u dospělých. U mladých žen bývá enzymatická aktivita přibližně o 64 až 74 % vyšší než u dospělých mužů. Aktivita klesá v těhotenství.

Referenční rozmezí je pouze orientační, doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatických analyzátořech ERBA XL. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

Dolní mez stanovitelnosti: 5,7 μ kat/l

Linearity: 330 μ kat/l

Pracovní rozsah: 5,7 – 330 μ kat/l

PŘESNOST

Intra-assay (n=20)	Průměr (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorek 1	50,9	0,59	1,16
Vzorek 2	73,3	0,87	1,19

Inter-assay (n=20)	Průměr (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorek 1	57,45	2,29	3,99
Vzorek 2	99,9	2,38	2,38

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU

Lineární regrese:

N = 40 r = 0,998 y = 1,032 x - 1,06 μ kat/l

INTERFERENCE

Následující analyty neinterferují:

hemoglobin do 5 g/l, bilirubin do 15 mg/dl, triglyceridy do 500 mg/dl

BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odborně způsobilou osobou.

Činidlo 1 není klasifikované jako nebezpečné. Obsahuje však <0,1% azidu sodného, který je látkou toxickou a nebezpečnou pro životní prostředí.

Činidlo 2 obsahuje <0,5% kyseliny maleinové, která je látkou senzibilizující.



Varování

Standardní věty o nebezpečnosti:

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

Pokyny pro bezpečné zacházení:

P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle.

P302+P352 PŘI STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.

P333+P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhleďte lékařskou pomoc.

PRVNÍ POMOC

Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Při potřísnění omyt pokožku teplou vodou a mýdlem. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potenciálně infekční a spolu s případnými zbytky činidel je likvidovat podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech. Papírové a ostatní obaly se likvidují podle druhu materiálu jako tříděný odpad (papír, sklo, plasty).

POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka: 405 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37 °C

Objemový poměr sérum/reakční směs 1/61

Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

Dvoureagenční metoda – start substrátem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo 1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Vzorek	-	-	0,02 ml
kalibrátor	-	0,02 ml	-
Destilovaná voda	0,02 ml	-	-
Promíchá se, inkubuje se 5 minut při 37 °C a pak se přidá			
Činidlo 2	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml

Promíchá se, inkubuje se 90 sekund při 37 °C a měří se počáteční absorbance vzorku, kalibrátoru a reagenčního blanku. Měření se opakuje po 30, 60 a 90 sekundách. Vypočte se průměrná změna absorbance za 30 sekund ($\Delta A/30s$).

VÝPOČET

$$1. \text{Cholinesterasa } (\mu\text{kat/l}) = C_{\text{kal}} \times \frac{\Delta A_{\text{vz}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}{\Delta A_{\text{kal}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}$$

C_{kal} = koncentrace kalibrátoru

2. V případě kalibrace pomocí kalibračního faktoru přes molární absorbanci:

Cholinesterasa (μ kat/l) = $f \times \Delta A/30s$

f = faktor:

405 nm

405 nm	Serum / plazma
Start substrátem	2193

Aplikace na automatické analyzátoř jsou dodávány na vyžádání.



CHOLINESTERASE

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00066	CHE 120	R1: 2 x 50 ml, R2: 1 x 20 ml



POUŽITIE

Diagnostická súprava na kvantitatívne *in vitro* stanovenie cholinesterázy v ľudskom sére a plazme.

KLINICKÝ VÝZNAM

Existujú dva typy cholinesteráz (CHE a AChE), ktoré sa odlišujú v substrátovej špecificite, tkanivovom pôvode a biologickej funkcii. Cholinesteráza (AChE) známa tiež pod názvom acetylcholinacetylhydroláza EC 3.1.1.7, sa nachádza v erytrocytoch, pľúcach, slezine a šedej hmote mozgovaj.

Pseudocholinesteráza (CHE) taktiež nazývaná acetylcholinacetylhydroláza EC 3.1.1.8 sa nachádza v sére, pečeni, pankrease, srdci a bielej hmote mozgovaj.

Stanovenie sérovej cholinesterázy (CHE) je užitočné pri určení diagnózy:

ochorenie pečeni, hepatitídy, cirhózy, karcinómu s metastázami, citlivosti na podávanie sukcinylcholínu a otravy pesticídami.

Hladiny cholinesterázy klesajú vo všetkých vyššie uvedených prípadoch.

PRINCÍP METÓDY

Optimalizovaná metóda DGKCh „new 94“. Cholinesteráza katalyzuje hydrolyzu butyrylthiocholínu za tvorby butyrátu a thiocholínu. Thiocholin redukuje hexakynoželozitan (III⁺) na hexakynoželozitan (II⁺). Pokles absorpcie pri 405 nm je priamo úmerný katalytickej koncentrácii cholinesterázy vo vzorke.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1		
Pyrofosfátový pufer, pH 7,6 (37 °C)	92 mmol/l	
Hexakynoželozitan	2,5 mmol/l	
R2		
Butyrylthiocholin	91 mmol/l	

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI

Pyrofosfátový pufer, pH 7,6 (37 °C)	75,41 mmol/l
Hexakynoželozitan	2,05 mmol/l
Butyrylthiocholin	14,92 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené na použitie.

STABILITA A PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá R1 a R2 sú kvapalné, určené na priame použitie. Skladované pred otvorením pri 2–8 °C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na obale. Po prvom otvorení fľaštičky je stabilita činidiel 90 dní, pokiaľ sú skladované pri 2–8 °C a chránené pred kontamináciou.

VZORKY

Čerstvé sérum alebo plazma (heparín, EDTA), nehemolyzované a rýchlo oddelené od červených krviniek. Nepoužívajte fluorid sodný ako antikoagulant, pretože ten inhibuje cholinesterázu.

Doporučujeme postupovať podľa NCCLS (alebo podobných štandardov).

Stabilita cholinesterázy v sére, plazme:

7 dní pri 2–8 °C

1 rok pri -20 °C

Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu sa doporučuje LYONORM CALIBRATOR, kat. č. BLT00069.

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu sa doporučuje LYONORM HUM N, kat. č. BLT00070, LYONORM HUM P, kat. č. BLT00071.

PREPOČET JEDNOTIEK

U/l x 0,017 = μ kat/l

REFERENČNÉ HODNOTY

fS CHE (μ kat/l) 37 °C

Muži 85–195

Ženy 66,7–210

U detí do 6-tich mesiacov veku bývajú hodnoty cholinesterázy o 40-50 % vyššie ako u dospelých. U mladých žien býva enzymatická aktivita približne o 64 až 74 % vyššia než u dospelých mužov. Aktivita klesá v tehotenstve.

Referenčné rozmedzie je iba orientačné, doporučuje sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zabezpečuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatických analyzátoroch ERBA XL. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt líšiť.

Dolná medza stanoviteľnosti:	5,7 μ kat/l
Linearita:	330 μ kat/l
Pracovný rozsah:	5,7 – 330 μ kat/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	50,9	0,59	1,16
Vzorka 2	73,3	0,87	1,19

Inter-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	57,45	2,29	3,99
Vzorka 2	99,9	2,38	2,38

POROVNANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU

Lineárna regresia:

N = 40 r = 0,998 y = 1,032 x - 1,06 μ kat/l

INTERFERENCIE

Nasledujúce analyty neinterferujú:

hemoglobín do 5 g/l, bilirubín do 15 mg/dl, triglyceridy do 500 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Určené na *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a odborne spôsobilou osobou.

Činidlo 1 nie je klasifikované ako nebezpečné. Obsahuje však <0,1% azidu sodného, ktorý je klasifikovaný ako toxický a nebezpečný pre životné prostredie.

Činidlo 2 obsahuje <0,5% kyseliny maleinovej, ktorá je látkou senzibilizujúcou.



Pozor

Výstražné upozornenie:

H317 Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

Bezpečnostné upozornenie:

P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare.

P302+P352 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydlom.

P333+P313 Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc.

PRVÁ POMOC

Pri náhodnom požití vypláchnuť ústa a vypiť asi 0,5 l vody, pri vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Pri postriekaní umyť pokožku teplou vodou a mydlom. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadať lekársku pomoc.

NAKLADANIE S ODPADMI

Všetky spracované vzorky je nutné považovať ako potenciálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidiel ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákonom o odpadoch.

Papierové a ostatné obaly sa likvidujú podľa druhu materiálu ako triedený odpad (papier, sklo, plasty).

POSTUP MERANIA

Vlnová dĺžka: 405 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37 °C

Objemový pomer sérum/reakčná zmes 1/61

Objem pracovných roztokov a vzoriek je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Činidlo 1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Vzorka	-	-	0,02 ml
Kalibrátor	-	0,02 ml	-
Destilovaná voda	0,02 ml	-	-
Premieša sa, inkubuje sa 5 minút pri 37 °C a potom sa pridá			
Činidlo 2	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml

Premieša sa, inkubuje sa 90 sekúnd pri 37 °C a meria sa počiatočná absorbanca vzorky, kalibrátora a reagenčného blanku. Meranie sa opakuje po 30, 60 a 90 sekundách. Vypočíta sa priemerná zmena absorpcie za 30 sekúnd ($\Delta A/30s$).

VÝPOČET

$$1. \text{ Cholinesteráza } (\mu\text{kat/l}) = C_{\text{kal}} \times \frac{\Delta A_{\text{vz}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}{\Delta A_{\text{kal}}/30 \text{ s} - \Delta A_{\text{bl}}/30 \text{ s}}$$

C_{kal} = koncentrácia kalibrátora

2. V prípade kalibrácie pomocou kalibračného faktora cez molárnu absorpciu:

Cholinesteráza (μ kat/l) = f x $\Delta A/30s$

f = faktor:

405 nm	Sérum / plazma
Štart substrátom	2193

Aplikácie na automatické analyzátoory sú dodávané na vyžiadanie.





REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA

1. Kaplan, L.A., Pesce A.J.: „Clinical Chemistry“, Mosby Ed. (1996)
2. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie: Proposal of standard methods for determination of enzyme catalytic concentration in serum and plasma at 37 °C II. Cholinesterase (acylcholine acylhydrolase, E.C.3.1.1.8.). Eur.J.Clin.Chem. Biochem 30, 163 (1992).

SYMBOLS USED ON LABELS / СИМВОЛЫ, ИСПОЛЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ / SYMBOLY, POUŽITÉ NA ETIKETÁCH


REF Catalogue Number
Каталожный №
Katalogové číslo
Katalógové číslo


 Manufacturer
Производитель
Výrobce
Výrobca

 See Instruction for Use
Перед использованием
внимательно изучайте инструкцию
Čtěte návod k použití
Čítajte návod k použitiu

LOT Lot Number
Номер партии
Číslo šarže


CE CE Mark -
Device comply with
the Directive 93/79/EC
Знак CE - соответствие
Директиве 98/79/EC

 Storage Temperature
Температура хранения
Teplota skladování
Teplota skladovania


 Expiry Date
Срок годности
Datum expirace
Dátum expirácie

IVD In Vitro Diagnostics
Для in vitro диагностики
In vitro Diagnostikum

CONT Content / Содержание / Obsah

 Национальный знак
соответствия для Украины
Ukrainian quality mark

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

 Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com