

Kit per la determinazione della colinesterasi nel siero o plasma Metodo cinetico alla butiriltiocolina

PRINCIPIO

La colinesterasi catalizza l'idrolisi della butiriltiocolina a tiocolina che con l'acido 2,2-dinitro-5,5-ditiobenzico forma un composto giallo che assorbe a 405 nm. L'incremento dell'estinzione nell'unità di tempo è proporzionale all'attività della colinesterasi nel campione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Acido 2,2'-dinitro-5,5' ditiobenzico 0.26 mmol/l ;
tamponi fosfato 42.0 mmol/l .

R2 Butiriltiocolina ioduro 420.0 mmol/l.

Nel test unitario i componenti sono in unico flacone.

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina o EDTA.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati.
- Separare al più presto siero e plasma dai globuli rossi dopo la raccolta poiché l'attività della CHE può aumentare fin del 25% se il siero viene lasciato per un giorno a contatto con la parte corpuscolata.
- Non utilizzare fluoruro di sodio come anticoagulante perché inibisce l'attività dell'enzima.
- La colinesterasi è stabile nei campioni fino a 15 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero - plasma (U/l) 37°C	4850 -12000
------------------------------	-------------

I bambini fino a 6 mesi di età hanno un'attività della colinesterasi dal 40 al 50% più alta di quella degli adulti.

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati dei test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto del flacone **R1** e quello del flacone **R2** con la quantità di acqua deionizzata indicata sull'etichetta. Miscelare una parte di **R2** con 20 parti di **R1**.

Nel caso di **test unitario** (Ref. 10067) sciogliere il contenuto del flacone **R1** con 3 ml di acqua deionizzata.

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- I reattivi **R1-R2** ricostituiti sono stabili 28 giorni a 2-8°C.
- La soluzione di lavoro è stabile 3 ore a 15-25°C.
- Nel caso di test unitario il reattivo **R1** ricostituito è stabile 3 ore a 15-25°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.400 a 405 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda	λ: 405 (400-440) nm
Temperatura di lavoro	37°C
Cammino ottico	1 cm
Tipo di reazione	"cinetica" (in incremento)

Portare i reattivi a 15 -25°C prima del loro utilizzo.

REATTIVO DI LAVORO	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	1000 µl	1000 µl
CAMPIONE	5 µl	--
	--	5 µl

Agitare poi incubare per 1 min.. Leggere l'estinzione in incremento del campione (EC) e del bianco (EB) rispettivamente dopo 30-60-90 sec. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ($\Delta E/\text{min}$).

Nel caso di test unitario (Ref. 10067):

CAMPIONE	15 µl
REATTIVO	3000 µl

CALCOLO

$$\text{Colinesterasi [U/l]} = \Delta E/60\text{sec} \times 15113$$

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 405 nm e 37°C.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 200 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 1000 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 12000 U/l. Campioni superiori a 12000 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA [U/l]	L = 3721.47	N = 5464.37	H = 7548.67
D.S.	42.48	71.08	132.65
C.V.%	1.14	1.30	1.76

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA [U/l]	L = 3728.84	N = 5549.87	H = 7649.94
D.S.	63.92	66.55	71.02
C.V.%	1.71	1.21	0.93

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione $r = 1.00$

BIBLIOGRAFIA

- Knedel B., Boettger R., Klin. Wschr., 45, 325, (1967).
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 (Acylocholine Acylhydrolase)". Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 30, 163 (1992).
Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

Kit for measurement of cholinesterase in serum or plasma Kinetic butyrylthiocholine method

PRINCIPLE

Cholinesterase catalyzes the butyrylthiocholine hydrolysis into thiocoline, which, in the presence of 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, forms a yellow compound which absorbs at 405 nm. The increase of absorbance is proportional to the cholinesterase activity in the sample.

REAGENTS

- R1** 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 0.26 mmol/l;
phosphate buffer 42.0 mmol/l
R2 Butyrylthiocholine iodide 420.0 mmol/l

In case of unitary test the components are joined in a single vial.

SAMPLE

- Serum -heparinized plasma or EDTA plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis.
- Separate, as soon as possible, serum and plasma from red cells after picking because the cholinesterase activity can increase till 25% if the serum is left one day into contact with the corpuscolate part.
- Do not use sodium fluoride as anticoagulant because it inhibits the enzyme activity.
- The cholinesterase is stable in the samples up to 15 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Serum - plasma (U/l) 37°C	4850 -12000
------------------------------	-------------

Children till 6 months have a cholinesterase activity higher than the adults from 40% to 50%.

Reference values are considered indicative since each laboratory should establish reference ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of **R1** and **R2** vials with deionized water according to the quantity indicated on the label. Mix a portion of **R2** reagent with 20 parts of **R1** solution.

In case of **unitary test (Ref. 10067)** dissolve the content of **R1** reagent with 3 ml of deionized water.

Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Once reconstituted, the **R1-R2** reagents are stable 28 days at 2-8°C.
- Working solution is stable 3 hours at 15-25°C.
- In case of unitary test the **R1** reagent, once reconstituted, is stable 3 hours at 15-25°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.400 at 405 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the single vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances. However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength	λ: 405 (400-440) nm
Working temperature	37°C
Optical path	1 cm
Reaction	"kinetic" (increasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

	BLANK	SAMPLE
WORKING REAGENT	1000 µl	1000 µl
DISTILLED WATER	5 µl	--
SAMPLE (*)	--	5 µl

Mix, then incubate for 1'. Measure the absorbance of sample (EC) and blank (EB) in increasing after 30", 60" and 90". Calculate the average absorbance difference per minute ($\Delta E/\text{min}$).

In case of unitary test: (Ref. 10067):

SAMPLE REAGENT	15 µl 3000 µl
-----------------------	------------------

CALCULATION

$$\text{Cholinesterase [U/l]} = \Delta E/60\text{sec} \times 15113$$

The factor and the reagent performances are related to 405 nm and 37°C.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 200 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 1000 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 12000 U/l. Samples with values exceeding 12000 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN [U/l]	L = 3721.47	N = 5464.37	H = 7548.67
S.D.	42.48	71.08	132.65
C.V.%	1.14	1.30	1.76

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

MEAN [U/l]	L = 3728.84	N = 5549.87	H = 7649.94
S.D.	63.92	66.55	71.02
C.V.%	1.71	1.21	0.93

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 1.00**

BIBLIOGRAPHY

- Knedel B., Boettger R., Klin. Wschr., 45, 325, (1967).
 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 (Acylcholine Acylhydrolase)". Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 30, 163 (1992).
 Kaplan, L.A., Pesce, A..J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer