



## Kit per la determinazione della colinesterasi nel siero o plasma Metodo colorimetrico ottimizzato DGKC\*

\*Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie

### PRINCIPIO

La colinesterasi (CHE) catalizza l'idrolisi della butiriltiocolina a tiocolina in presenza di ferri(III)cianuro di potassio che viene ridotto a ferro(II)cianuro di potassio. La velocità di diminuzione dell'estinzione è proporzionale all'attività della colinesterasi nel campione.

### REATTIVI - Concentrazione iniziale

**R1** Pirofosfato pH 7.7 65.0 mmol/l; ferri(III)cianuro di potassio 2.0 mmol/l  
**R2** Tampone di Goods pH 4.0 20.0 mmol/l;  
butiriltiocolina ioduro 65.0 mmol/l

### 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	Adulti (a 37°C)
Maschi:	5100 - 11700 U/l
Femmine:	4000 - 12600 U/l

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 del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Dopo l'apertura, i flaconi **R1** ed **R2** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se chiusi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.
- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1**+ **R2**): 30 giorni a 2-8°C.

### PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") aggiungere ogni 4 ml del reattivo **R1**, 1 ml del reattivo **R2**. Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

### 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 < 1.000 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 decremento)

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

### - PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO DI LAVORO	1000 µl	1000 µl
ACQUA DISTILLATA	15 µl	--
CAMPIONE	--	15 µl

Agitare poi incubare per 1 min.. Leggere l'estinzione in decremento del campione (EC) e del bianco (EB) dopo 30, 60 e 90 sec. Calcolare la variazione media di estinzione al minuto (ΔE/min)

### - PROCEDIMENTO BIREATTIVO "substrato starter"

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO R1	800 µl	800 µl
ACQUA DISTILLATA	15 µl	--
CAMPIONE	--	15 µl

Miscelare poi incubare per 1 min., quindi aggiungere:  
REATTIVO R2 200 µl 200 µl

Agitare poi incubare per 1 min. Leggere l'estinzione in decremento del campione (EC) e del bianco (EB) dopo 30, 60 e 90 sec. Calcolare la variazione media di estinzione al minuto (ΔE/min)

### CALCOLO

$$\text{Colinesterasi [U/l]} = (\Delta E/\text{min C} - \Delta E/\text{min B}) \times 72000$$

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 al valore di 12000 U/l (corrispondente ad un ΔE/min di 0.160 a 405 nm). 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 = 3709.00	N = 5387.43	H = 7487.07
D.S.		65.67	81.87	65.49
C.V.%		1.77	1.52	0.87

#### 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 = 3691.91	N = 5399.84	H = 7455.38
D.S.		76.76	59.41	68.41
C.V.%		2.08	1.10	0.92

#### Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 97 U/l.

#### 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).  
Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).  
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).

#### 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

### Colorimetric method optimized DGKC\*

\*Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie

#### PRINCIPLE

Cholinesterase catalyzes the butyrylthiocholine hydrolysis at thiocholine in presence of potassium hexacyanoferrate (III) which is reduced into potassium hexacyanoferrate (II). The reduction absorbance velocity is proportional to the cholinesterase activity in the sample.

#### REAGENTS

**R1** Pirophosphate pH 7.7 65.0 mmol/l; hexacyanoferrate (III) 2.0 mmol/l  
**R2** Goods buffer pH 4.0 20.0 mmol/l;  
butyrylthiocholine iodide 65.0 mmol/l

#### 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 inhibit the enzyme activity.
- The cholinesterase is stable in the samples up to 15 days at 2-8°C.

#### REFERENCE VALUES

Serum - plasma	Adults (to 37°C)
Males:	5100 - 11700 U/l
Females:	4000 - 12600 U/l

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

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

#### STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1** and **R2** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1**+ **R2**): 30 days at 2-8°C.

#### PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent (sample-starter procedure) add to every 4 ml of **R1** reagent, 1 ml of **R2** reagent. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

#### 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 < 1.000 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 singles 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" (decreasing)

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

#### - MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

	BLANK	SAMPLE
WORKING REAGENT	1000 µl	1000 µl
DISTILLED WATER	15 µl	--
SAMPLE	--	15 µl

Mix, then incubate for 1'. Measure the absorbance of sample (EC) and blank (EB) in decreasing after 30", 60" and 90". Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).

#### - BIREAGENT PROCEDURE "substrate starter"

	BLANK	SAMPLE
REAGENT R1	800 µl	800 µl
DISTILLED WATER	15 µl	--
SAMPLE	--	15 µl

Mix, incubate for 1' and add:

	BLANK	SAMPLE
REAGENT R2	200 µl	200 µl

Mix, then incubate for 1'. Measure the absorbance of sample (EC) and blank (EB) in decreasing after 30", 60" and 90". Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).

#### CALCULATION

$$\text{Cholinesterase [U/l]} = (\Delta E/\text{min C} - \Delta E/\text{min B}) \times 72000$$

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 value of 12000 U/l (corresponding to a ΔE/min of 0.160 at 405 nm). 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 = 3709.00	N = 5387.43	H = 7487.07
S.D.		65.67	81.87	65.49
C.V.%		1.77	1.52	0.87

##### "Inter-Assay" precision (between-run)

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

Results:

MEAN	[U/l]	L = 3691.91	N = 5399.84	H = 7455.38
S.D.		76.76	59.41	68.41
C.V.%		2.08	1.10	0.92

##### Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 97 U/l.

##### 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).  
Kaplan, L.A., Pesce, A..J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).  
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).

##### SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Cholinesterase LR

30192 Rev. 2 del 2012/01