



Colinesterasa

AA

Para la determinación de colinesterasa en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Se ha demostrado la existencia de dos colinesterasas: una es la acetilcolinesterasa o colinesterasa verdadera (acetil colina hidrolasa, EC. 3.1.1.7) que se encuentra en eritrocitos y terminaciones de nervios colinérgicos, y la otra es la butirilcolinesterasa o pseudocolinesterasa (EC. 3.1.1.8) que se encuentra en plasma, hígado, músculo liso y adipocitos. La colinesterasa del suero o plasma (Che) o pseudocolinesterasa está asociada a las siguientes condiciones clínicas:

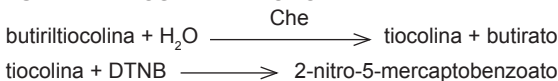
1) Constituye un índice de función hepática, especialmente en hepatopatías crónicas. Se observa una buena correlación entre el aumento de GOT (AST) y la disminución de Che, en hepatitis infecciosas.

2) Su disminución indica intoxicación por insecticidas organofosforados, inhibidores de la Che.

3) En algunos individuos sensibles a la succinilcolina, relajante muscular administrado durante la anestesia, se observa una apnea post-anestésica prolongada y en algunos casos, fatal. Esto coincide con la presencia de una variante genética de la Che ("atípica") incapaz de hidrolizar a la succinilcolina. En sujetos normales, esta droga es hidrolizada "in vivo" por la Che, en 1 a 4 minutos, por eso la apnea también se relaciona con bajos niveles de Che total.

Existen métodos de inhibición diferencial que permiten detectar a sujetos portadores de colinesterasa atípica.

FUNDAMENTOS DEL METODO



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) en buffer fosfatos para un pH final de la mezcla de reacción de 7,7.

B. Reactivo B: viales conteniendo yoduro de S-butiltiocolina (IBTC).

C. Reactivo C: solución acuosa reconstituyente del Reactivo A, con conservantes apropiados.

D. Reactivo D: solución acuosa reconstituyente del Reactivo B, con conservantes apropiados.

Concentraciones finales

IBTC	6 mmol/l
DTNB	0,25 mmol/l
Buffer fosfatos	50 mmol/l; pH 7,7

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: agregar la cantidad de Reactivo C indicada en el rótulo. Homogeneizar por inversión hasta disolución completa y fechar.

Reactivo B; preparación: agregar la cantidad de Reactivo D indicada en el rótulo. Homogeneizar por inversión hasta disolución completa y fechar.

Reactivos C y D: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 6 semanas en refrigerador (2-10°C). Conservar protegido de la luz.

Reactivo B reconstituido: estable 6 semanas en refrigerador (2-10°C). No debe permanecer destapado.

Reactivos C y D: una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma como muestra, se recomienda el uso de heparina o EDTA (Anticoagulante W de Wiener lab.) como anticoagulantes para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 200 mg/l, triglicéridos hasta 25 g/l, hemoglobina hasta 1000 mg/dl ni heparina hasta 50 U/ml de sangre entera.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta una semana en el refrigerador (2-10°C), sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.

- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
 - Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. La temperatura de la mezcla de reacción debe ser estrictamente mantenida a la temperatura seleccionada. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
 - Tiempo de reacción: 3 minutos
 - Volumen de muestra: 10 ul
 - Volumen final de reacción: 1,51 ml
- Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

Preincubar la cantidad necesaria de Reactivo B reconstituido, a la temperatura seleccionada durante algunos minutos. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Reactivo A reconstituido	1,2 ml
---------------------------------	--------

Preincubar 2 minutos. Luego agregar:

Muestra	10 ul
----------------	-------

Homogeneizar e inmediatamente agregar:

Reactivo B reconstituido	0,3 ml
---------------------------------	--------

Mezclar, incubar 15 segundos y leer la absorbancia disparando simultáneamente el cronómetro. Volver a leer luego de 30 y 60 segundos exactos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia cada 30 segundos ($\Delta A/30$ seg) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Colinesterasa (U/l) = $\Delta A/30$ seg x 22210

VALORES DE REFERENCIA

25°C	30°C*	37°C*
Niños, hombres y mujeres de más de 40 años:		
3500-8500 U/l	4300-10500 U/l	5500-13400 U/l
Mujeres entre 16-39 años, no embarazadas y que no toman anticonceptivos orales:		
2800-7400 U/l	3450-9100 U/l	4400-11700 U/l
Mujeres entre 18-41 años, embarazadas o tomando anticonceptivos orales:		
2400-6000 U/l	3000-7400 U/l	3800-9500 U/l

* Valores calculados empleando los siguientes factores de conversión de temperaturas:

25-30°C: 1,23 25-37°C: 1,58

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Colinesterasa (kU/l) = Colinesterasa (U/l) x 0,001

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de colinesterasa, con cada determinación.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

PERFORMANCE

a) Precisión: procesando de acuerdo al protocolo EP5A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
8863 U/l	± 100,75 U/l	1,14 %
4811 U/l	± 46,69 U/l	0,97 %

Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
8863 U/l	± 177,68 U/l	2,00 %
4811 U/l	± 94,79 U/l	1,97 %

b) Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/30$ seg de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 22 U/l.

c) Rango dinámico: si $\Delta A/30$ seg es superior a 0,400, se debe repetir la determinación con Muestra diluida 1/2 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 17000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica, repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación, consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

78 ml: 3 x → 20 ml Reactivo A

3 x → 6 ml Reactivo B

1 x 60 ml Reactivo C

1 x 20 ml Reactivo D

(Cód. 1241403)


BIBLIOGRAFIA

- Szasz, G. - Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Knedel, M. y Böttger, R. - Klin. Wochr. 45/325 (1967).

- Dietz, A.S. et al. - Clin. Chem. 19/11:1309 (1973).
- den Blaauwen, D.H. et al. - J. Clin. Chem. Biochem. 21/6:381 (1983).
- Ellman, G. - Archives of Biochemistry and Biophysics 82:70 (1959).
- Newman, M.A., Que Hee S.S. - Clin. Chem. 30/2:308 (1984).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (3° Edition) WB Saunders, 1999.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 3rd ed., 1990.
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).
- NCCLS (National Committee for Clinical Chemistry Standards) - Document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices", EP5-A (1999).

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4760/03



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina