

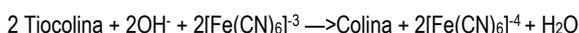
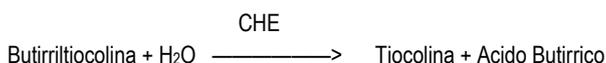
Determinazione quantitativa dell'attività della Colinesterasi nel siero o plasma. Metodo cinetico colorimetrico alla Butiriltiocolina ottimizzato DGKC.

REF CC1140 R1:3x20 mL + R2: 1x15 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo cinetico colorimetrico ottimizzato second la DGKC (German Society of Clinical Chemistry).

La Colinesterasi (CHE) catalizza l'idrolisi della Butiriltiocolina in butirrato e Tiocolina, quest'ultima riduce l'Esacianoferrato (III) in Esacianoferrato (II). La velocità di diminuzione dell'assorbanza, misurata a 405 nm, è proporzionale all'attività della Colinesterasi (CHE) presente nel campione in esame.



SIGNIFICATO CLINICO

La Colinesterasi è un enzima epatico che idrolizza la acetilcolina ed altri esteri della colina. La sua concentrazione sierica aumenta nelle epatopatie acute e croniche, nelle sindromi nefrotiche, nei disordini intestinali con perdita di proteine (enteropatia essudativa). Una diminuzione invece si verifica nelle intossicazioni da pesticidi. Il dosaggio della Colinesterasi è altresì utile nella diagnostica pre operatoria poiché essa ha attività di eliminazione dell'anestetico miorilassante adoperato per l'anestesia del paziente.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

Pirofosfato, pH 7,6	75 mmol/L
Esacianoferrato (III)	2 mmol/L

Reagente R2:

Butiriltiocolina	15 mmol/L
------------------	-----------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, Plasma da EDTA o eparina. Evitare altri anti coagulanti. Non utilizzare campioni emolisati.

Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile.

L'enzima nel siero è stabile per 8 ore a temperatura ambiente, 15 giorni a 2-8°C, e 3 mesi a -20°C

Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	405 nm (400 – 420 nm)
Temperatura:	37°C
Misura:	contro acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 µL
Campione /Calibratore	20 µL

Miscelare, incubare 1 minuto, quindi aggiungere:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

Miscelare, trasferire in lettura, attendere 1 minuto di lag-phase e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs 1) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i Δ Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

CALCOLO

Fattore di Calcolo (lettura a 405 nm in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

$$\text{CHE (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times 68500$$

Calibratore Multiparametrico:

Ricavare il Fattore di Calcolo dall'uso di un Calibratore Multiparametrico.

$$\text{Fattore Calcolo} = \frac{\text{Concentrazione Calibratore}}{\text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto Calibratore}}$$

$$\text{CHE (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times \text{Fattore Calcolo}$$

Fattore di conversione: U/L x 0,0167 = µKat/L = µmol/sec/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Adulto Donna:	3930 - 10800 U/L
Adulto Uomo:	4620 - 11500 U/L
Bambini	2300 - 5750 U/L
Giovani	3200 - 8000 U/L

Nei neonati fino a 6 mesi di età, l'attività della colinesterasi è dal 40% al 50% superiore rispetto agli adulti. Nelle giovani donne, l'attività enzimatica è circa dal 64% al 74% di quella nei maschi adulti. L'attività diminuisce durante la gravidanza.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 4188; D.S. = 39,8; CV = 0,95%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 8808; D.S. = 44,3; CV = 0,50%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1.013x-0.56 \text{ con } r=0.992$$

SENSIBILITÀ: 50 U/L

LINEARITÀ: 50 - 20.000 U/L

INTERFERENZA E SPECIFICITÀ

Valori di Emoglobina fino a 1000 mg/dL, di Bilirubina fino a 20 mg/dL, di Trigliceridi fino a 1000 mg/dL non hanno influenzato i risultati ottenuti.

Altre sostanze possono interferire.

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio

PRECAUZIONI

R2 contiene BUTYRYLTHIOCOLINE 15 mmol/L - CAS 1866-16-6 - Xi R36/37/38 (H319 - H335 - H315);

R36/37/38 (H319 - H335 - H315): Irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la pelle.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di

laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 - P351 - P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 - P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 - P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 - P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of Cholinesterase activity. J ClinChemClinBiochem 1992;30:163-70.

Thomas L, Clinical laboratory diagnostics. 1st ed Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998. p.65-71.

Hallbach J, KlinischeChemiefür den Einstieg. 1st ed Stuttgart: Thieme;2001. p. 143-4.