



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
 Тел: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+ 37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-38623324-002:2002

Cholin - DAC

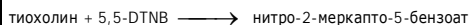
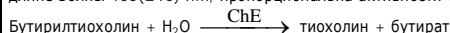
ХОЛИНЭСТЕРАЗА КИНЕТИЧЕСКИЙ-ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Только для диагностики «in vitro»
 Хранить при 2-8°C

Код 2030C60 20x3 мл
 Код 2030C150 50x3 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Холинэстераза (ChE) катализирует гидролиз бутирилтио-холина. Образующийся тиохоллин взаимодействует с дитио-бис-нитробензоатом (5,5-DTNB) с образованием нитро-2-меркапто-5-бензоата¹. Интенсивность окраски раствора, измеренная при длине волны 405(±10) nm, пропорциональна активности ChE.



СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	pH 7,7
Фосфатный буфер	50 mmol/l
Reagent B	таблетки
После разведения	
5,5-DTNB	0,25 mmol/l
бутирилтиохолин	7 mmol/l

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка, плазма.
 В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать гепарин.
 Холинэстераза при 2-8°C стабильна 7 дней.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Температура реакции	25°C	30°C	37°C
Активность ChE (U/l)	3000-9300	3714-11513	4659-14443

Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных референтных величин в каждой лаборатории.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр 25, 30 или 37°C, с фильтром 405(±10) nm.
 Дозаторы на 10 µl и 1,5 ml.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.
 Образцы анализов пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические Контрольные сыворотки.
 Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Рабочий Реагент:
 Растворите 1 таблетку Reagent B в 3 ml Reagent A.
Рабочий Реагент стабилен в течение 2 часов при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: кинетический
 Длина волны: 405(±10) nm
 Температура: 25/30°C/37°C
 Бланк: по воздуху или дистиллированной воде
 1. Доведите температуру **Рабочего Реагента** и фотометра до температуры реакции.
 2. Внесите пипеткой в кювету:

25/30°C 37°C

Рабочий Реагент 1.5 ml 1.5 ml

Образец 10 µl

Образец, разбавленный физраствором в соотношении 1:2 10 µl

3. Тщательно перемешайте.
 4. Измерьте начальную абсорбцию, включите секундомер, измерьте абсорбцию через 30, 60 и 90 секунд относительно воздуха или дистиллированной воды.
 5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 30 секунд ($\Delta A/30 \text{ сек}$).

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Для вычисления активности ChE (U/l) в образце выведены следующие формулы:

$$\begin{aligned} \text{Температура реакции } 25\text{-}30^\circ\text{C} & (\Delta A/30 \text{ сек}) \times 22710 = U/l \\ & (\Delta A/30 \text{ сек}) \times 45420 = U/l \\ & 37^\circ\text{C} \end{aligned}$$

Для вычисления активности ChE при другой необходимой температуре, полученные значения следует умножить на коэффициент температурного фактора, указанный в таблице:

Температура реакции	Необходимая температура
25°C	30°C
30°C	37°C
25°C	1.00
30°C	0.81
37°C	0.64
1.00	1.24
1.00	1.55
1.00	1.26
0.80	1.00

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 7 U/l.
Предел линейности: 9084 U/l. При более высокой концентрации разведите образец физраствором в соотношении 1:5, повторите измерение, а результат умножьте на 5.

Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV	n
5992 U/l	1,17%	20
3087 U/l	1,82%	20

Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV	n
6277 U/l	0,8%	25
3254 U/l	2,03%	25

* CV – коэффициент вариации; n – количество определений.

Чувствительность: 1 U/l = 0,0002 $\Delta A/30 \text{ s}$.

Влияние:

Гемолиз и повышенное содержание билирубина в образце, а также некоторые лекарственные препараты могут повлиять на результат^{1,2,3,4}.

Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Холинэстераза синтезируется в печени и определяется для оценки функции печени. Понижение активности ChE говорит о нарушении ее синтеза.

Определение активности холинэстеразы особо важно при диагностике атипичных форм ферментов и при отравлении фосфорорганическими инсектицидами^{2,3}.

Активность сывороточной холинэстеразы понижена при острых инфекциях, легкой эмболии, мышечной дистрофии и инфаркте миокарда^{2,3}.

Клинический диагноз должен устанавливаться в результате интеграции лабораторных и клинических данных.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chisinau, str. Armeneasca 47, ap. 64
 Tel: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+ 37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-38623324-002:2002

Cholin - DAC

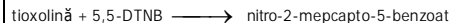
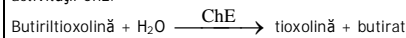
HOLINESTERAZA CI NETI C-FOTOMETRIC METODA

Numai pentru diagnosticare «in vitro»
 A se păstra la 2-8°C

Cod 2030C60 20x3 ml
 Cod 2030C150 50x3 ml

PRINCIPUL METODEI

Holinesteraza (ChE) catalizează hidroliza butiriltio-holinei. Tioxolina, formată în rezultatul hidrolizei, reacționează cu ditiobis-nitrobenzoat (5,5-DTNB) formind nitro-2-mecapto-5-benzoat¹. Intensitatea culorii, măsurată la 405(±10) nm, este proporțională activității ChE.



COMPONENTA SETULUI

Reagent A	pH 7,7
Тампон, fosfați	50 mmol/l
Reagent B	Comprimat
La diluare	
5,5-DTNB	0,25 mmol/l
Butiriltioxinolă	7 mmol/l

ПĂСТРАРЕА ШИ СТАБИЛІТАТЕА РЕАГЕНТІ ЛОР

Реагенти стабильны при 2-8°C до даты, указанной на этикетке.

PROBE

Ser, plasmă.
 Se recomandă de utilizat în calitate de anticoagulant heparină.
 Holinesteraza este stabilă la 2-8°C 7 zile.

VALORI DE REFERINȚĂ

Температура реакции	25°C	30°C	37°C
Активность ChE (U/l)	3000-9300	3714-11513	4659-14443

Аэте валоу суноориентиве. Се рекомандă стабилизация диапозонулуй де референță в лабораторулуй дат.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu termostat 25, 30 sau 37°C, cu filtrul 405(±10) nm.
 Dozatoare 10 µl și 1,5 ml.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro.
 Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase.
 La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit Seruri pentru control nivelului I și II. Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Reagentul de lucru: Se va dizolva 1 comprimat de Reagent B în 3 ml Reagent A. Reagentul de lucru este stabil la 2-8°C 2 ore.

MOD DE LUCRU

Metoda: cinetic
 Lungimea de undă: 405(±10) nm
 Temperatura: 25/30°C/37°C
 Instalarea zero: după aer sau apă distilată
 1. Reagentul de lucru și fotometrul se vor încălzi până la temperatura reacției.
 2. Se va pipeta în cuvă:

25/30°C 37°C

Reagent de lucru 1.5 ml 1.5 ml

Proba 10 µl

Proba, duluată cu soluție fiziologică 10 µl

3. Se va amesteca bine.
 4. Se va măsura absorbția inițială. Se va declanșa cronometrul apoi se va măsura absorbția peste 30, 60 și 90 secunde contra apei distilate sau aerului.
 5. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe 30 secunde ($\Delta A/30 \text{ sec}$).

CALCUL

Activitatea ChE (U/l) în probă se va calcula utilizând formulele:

$$\begin{aligned} \text{Temperatura reacției } 25\text{-}30^\circ\text{C} & (\Delta A/30 \text{ sec}) \times 22710 = U/l \\ & (\Delta A/30 \text{ sec}) \times 45420 = U/l \\ & 37^\circ\text{C} \end{aligned}$$

În cazul altor temperaturi activitate ChE se va calcula înmulțind valorile obținute la coeficientul factorului de temperatură, indicat în tabel:

Temperatura reacției	Temperatura necesară
25°C	30°C
30°C	37°C
1.00	1.24
0.81	1.00
0.64	0.80
1.00	1.55
1.00	1.26
0.80	1.00

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 7 U/l.
 Limita linearității: 9084 U/l. Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluție fiziologică în raportul 1:5 și se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulți la 5.

Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentrația medie	CV*
5992 U/l	1,17 %
3087 U/l	1,82 %

- Reproducibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentrația medie	CV*
6277 U/l	0,80 %
3254 U/l	2,03 %

* CV – coeficientul de variație; n – numărul de determinări.

- Sensibilitatea: 1 U/l = 0,0002 $\Delta A/30 \text{ s}$.

- Interferențe:

Hemoliza și conținutul înalt de bilirubină în probă influențează rezultatul. Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe^{1,2,3,4}.

Caracteristicile metrologice date au fost obținute utilizând analizorul. Rezultatele pot varia în dependență de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Holinesteraza se sintetizează în ficat și se determină în scopul aprecierii funcției ficatului. Nivelul scăzut al activității ChE indică la dereglări în sinteză.

Determinarea activității holinesterazei este importantă în diagnosticarea formelor atipice a fermenților cit și în caz de otrăviri cu insecticide fosfororganice^{2,3}.

Nivelul scăzut al holinesterazei în ser se atestă în caz de infecții acute, embolie pulmonară, distrofie musculară și infarct miocardic^{2,3}.

Diagnosticul clinic se va stabili în baza integrării datelor clinice și de laborator.



DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com

www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

Cholin – DAC

Cholinesterase

Kinetic method with Butyrylthiocholine

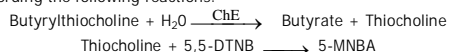
For « in vitro » use only

Store at 2 - 8°C

Cod 2030C60 20x3 ml
Cod 2030C150 50x3 ml

PRINCIPLE

Cholinesterase hydrolyzed butyrylthiocholine to butyrate and thiocholine. Thiocholine reacts with 5, 5' - dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) to form mercapto-2-nitrobenzoic acid (5-MNBA) according the following reactions:



CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A pH 7.7
Phosphate buffer 50 mmol/l
Reagent B tablets
After dilution
5,5-DTNB 0.25 mmol/l
Butyrylthiocholine 7 mmol/l

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label when stored tightly closed and if contaminations are prevented during their use.

Indications of deterioration:

Reagents: Presence of particulate material, turbidity, absorbance of the blank over 1,200 at 405 nm (1 cm cuvette).

SAMPLES

Serum or heparinized plasma collected by standard procedures.
Cholinesterase in serum is stable for 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Assay temperature	25°C	30°C	37°C
ChE activity (U/l)	3000-9300	3714-11513	4659-14443

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with cell holder thermostatable at 25, 30 or 37°C and able to read at 405(±10) nm
Cuvettes with 1 cm light path. Doser at 20 µl and 3.0 ml.
General laboratory equipment

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only. Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious.
Precautions established for work with caustic and toxic substances should be observed while using the reagents.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N (cod. 2055S5) and Sera P (cod. 2057S5) to verify the performance of the measurement procedure. Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

REAGENT PREPARATION

Working Reagent:

Dissolve one tablet of Reagent B in 3 ml of Reagent A.

Cap vial and mix gently to dissolve contents.

Stability of Working Reagent – 2 hours at 2-8°C.

PROCEDURE

Method: kinetic
Wavelength: 405(±10) nm
Temperature: 25/30/37°C
Blank: air or distillate water

1. Bring the Working Reagent and the instrument to reaction temperature.

2. Pipette into a cuvette: 25/30°C 37°C

Working Reagent, ml 1.5 1.5

Sample, µl 10

Sample, diluted 1:2 with NaCl 9 g/l, 10 µl

3. Mix and insert the cuvette into the photometer.

4. Record initial absorbance and measure absorbance at 30, 60 and 90 seconds relative to air or distillate water

5. Calculate the difference between consecutive absorbencies, and the average absorbance difference at 30 second (ΔA/30second).

CALCULATIONS

The ChE concentration in the sample (U/l) is calculated using the following general formula:

$$25\text{-}30^\circ\text{C} \quad (\Delta A/30 \text{ sec}) \quad \times \quad 22710 \quad = \quad \text{U/l}$$

$$37^\circ\text{C} \quad (\Delta A/30 \text{ sec}) \quad \times \quad 45420 \quad = \quad \text{U/l}$$

To correct results to other temperatures multiply by temperature conversion factors shown in the following table:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.24	1.55
30°C	0.81	1.00	1.26
37°C	0.64	0.80	1.00

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 7 U/l

Linearity limit: 9084 U/l

For higher values dilute sample 1/5 with distilled water and repeat measurement. Multiply result by 5.

Repeatability (within run):

Mean Concentration CV n
5992 U/l 1,17% 20
3087 U/l 1,82% 20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration CV n
6277 U/l 0,8% 25
3254 U/l 2,03% 25

Sensitivity: 1 U/l = 0.0002 ΔA/30 sec

Interferences:

Haemolysis and hyperbilirubinemia may affect the results. Some drugs and substances may interfere⁴.

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer.

Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Cholinesterase is synthesized by the liver and useful for estimation of its function. Low level of cholinesterase indicates failure of protein synthetical function of liver.

Cholinesterase determination is of great importance for identification of patients with atypical form of enzymes and exposure to pesticides organophosphorus.

Cholinesterase activity reduced during acute infections, pulmonary embolism, myodystrophy and myocardial infarct.

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test

BIBLIOGRAPHY

1. King M, Colineresterase, Kaplan A et al. Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Lous. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
2. Whitaker M, et al Comperason of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Collinesterase Variants. , Clin Chem 1983; (29/10); 1746-1760.
3. Young DS, Effects of drugs on Clinical Lab. Tests 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS, Effects of disease on Clinical Lab. Tests 4th ed AACC Press, 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3rd ed. AACC Press, 1997.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC Press, 1995.

result, but should integrate both clinical and laboratory data.