

CORMAY CHOLINESTERASE

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ



Название набора	Кат. №
CORMAY CHOLINESTERASE 500	2-060
CORMAY CHOLINESTERASE "bulk"	2-061

ВВЕДЕНИЕ

Различают два типа холинэстеразы (CHE и ACHE), которые различны по специфичности субстрата, тканевому происхождению и биологической роли. Холинэстеразу ACHE, также известную как ацетилхолин ацетилгидролазу, выявляют в эритроцитах, легких, селезенке и сером веществе мозга. Псевдохолинэстераза (CHE), также известная как ацилхолин ацилгидролаза присутствует в сыворотке, печени, поджелудочной железе, сердце и белом веществе мозга. Определение уровня сывороточной холинэстеразы (CHE) целесообразно для диагностики расстройств печени: гепатитов, цирроза, новообразований с метастазами, чувствительности к введению сукцинилхолина, а также отравлений пестицидами. Уровни фермента снижаются во всех перечисленных случаях.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Оптимизированный кинетический метод, разработанный в соответствии с рекомендациями Немецкого Общества Клинической Химии (DGKC).

Метод использует бутирилтиохолин как специфический субстрат для холинэстеразы (CHE). Холинэстераза катализирует гидролиз бутирилтиохолинового субстрата с образованием бутирата и тиохолина. Тиохолин восстанавливает гексацианоферрат (III) до гексацианоферрата (II). Уменьшение абсорбции прямо пропорционально активности CHE в пробе.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

	CORMAY CHOLINESTERASE 500	CORMAY CHOLINESTERASE "bulk"
1-REAGENT	3 x 400 ml	--*
2-REAGENT	1 x 300 ml	--*

*объем реагента напечатанный на этикетке.

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. Стабильность реагентов на борту анализатора зависит от типа используемого анализатора. Не замораживать реагенты. Защищать от света, избегать испарения и контаминации!

Приготовление и прочность рабочего раствора

Определение можно выполнить используя отдельные 1-REAGENT и 2-REAGENT либо рабочий реагент.

Для приготовления рабочего реагента следует аккуратно смешать 4 части 1-REAGENT с 1 частью 2-REAGENT.

Прочность рабочего раствора: 4 недели при 2-8°C

Концентрация компонентов в реагентах

1-REAGENT	
пирофосфатный буфер, pH 7,7	65 ммоль/л
гексацианоферрат (III)	2 ммоль/л
2-REAGENT	
Goods буфер pH 4,0	20 ммоль/л
бутирилтиохолин йодид	65 ммоль/л

Предупреждения и примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты могут быть использованы только по назначению, квалифицированным лабораторным персоналом, при соответствующих лабораторных условиях.
- Закупорьте флакон сразу же после использования и храните при температуре 2-8°C.
- Не использовать после истечения срока годности.
- Не взаимозаменять крышки флаконов.
- Перед использованием все реактивы следует аккуратно перемешать, вращая флаконы.
- Помутнение растворов или непопадание результатов измерений контрольного материала в референтный диапазон, рекомендованный производителем, указывает на нестабильность реагентов.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Свежая сыворотка, плазма (ЭДТА, гепарин) без гемолиза. Эритроциты следует максимально быстро отделить от сыворотки / плазмы. Не используйте цитратов, боратов, оксалатов и фторидов в качестве антикоагулянта, т.к. он ингибирует активность холинэстеразы. При взятии биологического материала и дальнейшей работе с ним рекомендуется соблюдение процедур CLSI.

Пробы могут храниться до 15 суток при 2-8°C, или до 12 месяцев при -20°C.

Тем не менее, рекомендуется производить исследования на свежем взятом биологическом материале!

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор или фотометр, дающий возможность отчитать результаты при длине волны 405 нм (400 – 440 нм);
- термостат на 37°C;
- общее лабораторное оборудование;

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Набор предназначен для проведения анализа как мануальным методом (метод Sample Start и Reagent Start), так и на автоматических анализаторах. Адаптации для них предоставляются сервисной службой по запросу.

Мануальное определение

длина волны	405 нм (400 – 440 нм)
температура	37°C
кювета	1 см
тип реакции	Кинетическая

Метод Sample Start

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	исследуемый образец (ИО)
рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

	15 мкл	-
дистиллированная вода	15 мкл	-
исследуемый материал	-	15 мкл

Тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту при температуре 37°C определить коэффициент поглощения А бланка по реагенту (БР) и исследуемого образца (ИО) относительно воздуха. Повторить измерение после очередных 1, 2, 3 минут относительно бланка по реагенту А(БР).

Посчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Метод Reagent Start

Определение можно также провести используя отдельно 1-REAGENT и 2-REAGENT:

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	исследуемый образец (ИО)
1-REAGENT	800 мкл	800 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

	15 мкл	-
дистиллированная вода	15 мкл	-
исследуемый материал	-	15 мкл

Тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту при температуре 37°C, затем добавить:

	250 мкл	250 мкл
2-REAGENT	250 мкл	250 мкл

Тщательно перемешать, инкубировать 4 минуты при температуре 37°C определить коэффициент поглощения А бланка по реагенту (БР) и исследуемого образца (ИО) относительно воздуха. Повторить измерение после очередных 1, 2, 3 минут относительно бланка по реагенту А(БР).

Посчитать среднее изменение коэффициента поглощения за минуту ($\Delta A/\text{мин.}$).

Расчет результатов

активность холинэстеразы [Ед/л] = $\Delta A/\text{мин.}$ x 66844

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ 4,5

сыворотка / плазма	37°C	
женщины	4000 – 12600 Ед/л	67 – 210 мккат/л
мужчины	5100 – 11700 Ед/л	85 – 195 мккат/л

У детей в возрасте до 6 месяцев активность холинэстеразы на 40-50% выше, чем у взрослых. У молодых, взрослых женщин (< 35 лет) активность фермента составляет около 64-74% от активности мужчин. При беременности активность снижается.

Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля рекомендуется использовать контрольные сыворотки CORMAY SERUM HN (Кат.№ 5-172) и CORMAY SERUM HP (Кат.№ 5-173) для каждой серии измерений.

Для калибровки автоматических анализаторов рекомендуется использовать CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Кат.№ 5-174; 5-176).

Периодичность калибровки зависит от типа используемого анализатора. Калибровочную кривую рекомендуется составлять при каждой смене лота реагента или в случае необходимости, например, если результаты контроля качества не попадают в референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Данные метрологические характеристики были получены с использованием автоматического анализатора Biolis 24i Premium. Результаты, полученные на других анализаторах и вручную, могут отличаться.

▪ **Чувствительность:** 223 Ед/л (3,717 мккат/л).

▪ **Линейность:** до 21000 Ед/л (350 мккат/л).

В случае более высоких активности, разбавьте пробу 0,9% NaCl и повторите исследование. Результат умножьте на фактор разведения.

▪ **Специфичность / Интерференции**

Гемоглобин до 5 г/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, билирубин до 20 мг/дл и триглицериды в концентрации до 1000 мг/дл не влияют на результаты определений.

▪ **Точность**

Повторяемость (между сериями) n = 10	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	4832	18,70	0,39
уровень 2	6966	64,96	0,93

Воспроизводимость (изо дня в день) n = 10	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	7167	113,19	1,58
уровень 2	4905	77,94	1,59

Сравнение метода

Сравнение результатов между реагентом CORMAY (y) и другим коммерчески доступным тестом (x) с использованием 77 проб дало следующие результаты:

$y = 1,1039 x - 566,16$ Ед/л;

$R = 0,999$

(R – коэффициент корреляции)

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

- Burtis C.A., Ashwood E.R., ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 708-11, (1999).
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders., 250-251, (2006).
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO. Publication WHO/DIL/LAB/99.1 (Rev.2. Jan. 2002).
- Kaplan LA. Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. 967, (1996).
- Внутренние исследования референтного диапазона для холинэстеразы.

Дата создания: 01. 2017.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.

Ул. Вёсэна 22,
05-092 Ломянки, ПОЛЬША
тел.: +48 (0) 22 751 79 10
Факс: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.cormay.pl>

01/17/01/17