CE CHE -Bi

Colinesterasa bi

Butiriltiocolina. Cinética

Determinación cuantitativa de colinesterasa (CHE)
IVD

Conservar a 2-8ºC

PRINCIPIO DEL METODO
La colinesterasa hidroliza la butiriltiocolina a tiocolina y butirato.
La tiocolina reacciona con el ácido 5.5'-ditiobis-2-nitrato (DTNB) y formado 2-nitromercaptobenzoato, según el siguiente esquema de reacción:

$$\text{Butiriltiocolina} + H_2O \xrightarrow{\text{Colinesterasa}} \text{Tiocolina} + \text{Butirato}$$

$$\text{Tiocolina} + \text{DTNB} \longrightarrow \text{2-nitromercaptobenzoato}$$

La velocidad de formación de 2-nitromercaptobenzoato, determinado fotometricamente, es proporcional a la actividad enzimática de colinesterasa en la muestra ensayada[1,2].

SIGNIFICADO CLINICO
La colinesterasa es una enzima presente en el plasma y sintetizada en el hígado. Su función fisiológica no se conoce claramente, aunque se le atribuye un papel importante como regulador de la concentración de la colina en el plasma.
La determinación de su actividad nos ayuda a evaluar la función hepática, detectar la exposición excesiva a pesticidas organofosforados e identificar pacientes con formas atípicas de la enzima que presentan una sensibilidad aumentada al anestésico succinilcolina[1,5,6].
El diagnostico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Fosfato pH 7,7 5,5 DTNB	50 mmol/L 0,25 mmol/L
R 2 Substrato	Butiriltiocolina	7 mmol/L

PREPARACION
- Reactivo de trabajo (RT_1):
  Disolver (→) el contenido del vial R1 en 50 mL de agua destilada.
- Reactivo de trabajo (RT_2):
  Disolver (→) el contenido del vial R2 en 3 mL de agua destilada.

Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Estabilidad: 8 semanas a 2-8ºC, protegidos de la luz.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD
Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8ºC, protegidos de la luz y se evita su contaminación.
No usar reactivos fuera de la fecha indicada.
Indicadores de deterioro de los reactivos:
- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 405 ≥ 1,20.

MATERIAL ADICIONAL
- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25ºC, 30ºC ó 37ºC (± 0,1ºC)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS
Suero o plasma heparinizado o con EDTA [1]. Estabilidad: 7 días a 2-8ºC.

PROCEDIMIENTO
1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: . . . . . 405 nm
   Cubeta:. . . . . 1 cm paso de luz
   Temperatura constante . . . . . 25ºC / 30ºC / 37ºC
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
3. Pipetear en una cubeta:

	25 - 30ºC	37ºC
RT_1 (mL)	1,5	1,5
RT_2 (µL)	50	50
Muestra (µL)	10	--
Muestra diluida 1/2 con ClNa 9 g/L (µL)	--	10

4. Mezclar y esperar 30 segundos.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada 30 segundos durante 1,5 min.
6. Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por intervalo de 30 segundos (ΔA/30 s).

CALCULOS

25º- 30ºC ΔA / 30 s x 23460 = U/L

37ºC ΔA / 30 s x 46920 = U/L

El factor de cálculo en analizadores automáticos (ΔA/min) es 23460 a 37ºC.

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de substrato por minuto. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas:
Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25ºC	30ºC	37ºC
25ºC	1,00	1,24	1,55
30ºC	0,81	1,00	1,26
37ºC	0,64	0,80	1,00

CONTROL DE CALIDAD
Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).
Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.
Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA[2]

25ºC	30ºC	37ºC
3000 – 9300 U/L	3714 – 11513 U/L	4659 – 14443 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO
Rango de medida: Desde el *limite de detección* 6 U/L hasta el *limite de linealidad* 9000 U/L.
Si la concentración de la muestra es superior al limite de linealidad, diluir 1/5 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 5.
Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	6571	3309	6557	3342
SD	45,7	24,6	53,4	43,5
CV (%)	0,70	0,74	0,81	1,30

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00006 ΔA / 30 s.
Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS
Hemólisis moderada no interfiere en los resultados[1,2]. Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la colinesterasa[3,4].

NOTAS
SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

1. King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
2. Whittaker M. et al. Comparasion of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase 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 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 1001102	Cont.	R1: 4 → 50 mL R2: 4 → 3 mL

IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
TEL : 01 (55) 5360-6772 Y 01 800 500 SPIN (7746)
www.spinreact.com.mx asesoriatecnica@spinreact.com.mx