

A-400 CHOLINESTERASE

Cat. No **7-456** (EN)

INTENDED USE

Diagnostic kit for determination of cholinesterase activity intended to use in automatic analyzer: BS-400

The reagents must be used only for *in vitro* diagnostic, by suitably qualified laboratory personnel, only for the intended purpose, under appropriate laboratory conditions.

INTRODUCTION

There are two cholinesterases (CHE and ACHE) differing in substrate specificity, tissue of origin and biological role. The term cholinesterase (ACHE), also known as acetylcholine acetylhydrolase, is found in erythrocytes, in the lungs, spleen and in grey matter of the brain. The pseudocholinesterase (CHE), also referred to as acylcholine acylhydrolase, is found in serum, the liver, pancreas, heart and in the white matter of brain. The assay of serum cholinesterase (CHE) is useful to diagnose: liver disorders, hepatitis, cirrhosis, carcinoma with metastasis, sensitivity to succinylcholine administration and pesticide poisoning. Levels decrease in all of the diseases above.

METHOD PRINCIPLE

Optimized kinetic method according to Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC).

The method uses butyrylthiocholine as the specific substrate for cholinesterase (CHE). Cholinesterase catalyses the hydrolysis of butyrylthiocholine substrate forming butyrate and thiocholine, in presence of potassium hexacyanoferrate (III). Thiocholine reduces potassium hexacyanoferrate (III) (yellow colour) to potassium hexacyanoferrate (II) (colourless). The decrease in absorbance is directly proportional to the CHE activity in the sample.

REAGENTS

Package

1-Reagent 1 x 42.5 ml
 2-Reagent 1 x 11.5 ml

The reagents when stored at 2-8°C are stable up to expiry date printed on the package. The reagents are stable for 12 weeks on board the analyser at 2-10°C.

Concentrations in the test

1-Reagent
 pyrophosphate buffer, pH 7.7 65 mmol/l
 hexacyanoferrate (III) 2 mmol/l
2-Reagent
 Good's Buffer pH 4.0 20 mmol/l
 butyrylthiocholine iodide 65 mmol/l

Warnings and notes

- Do not freeze reagents!
- Protect from direct sunlight, evaporation and avoid contamination!
- Immediately after use, recap the bottles and store at 2-8°C.
- Do not use after expiry date.
- Do not interchange caps.

- Reagents should be mixed before use by gentle inverting the bottle several times.
- The appearance of turbidity or control sera values outside the manufacturer's acceptable range may indicate of reagent instability.

SPECIMEN

Fresh serum free from haemolysis, plasma (EDTA, heparin) not hemolyzed.

Serum / plasma should be separated from red blood cells as soon as possible after blood collection.

Do not use citrate, borate, oxalate and fluoride as an anticoagulant because it inhibits cholinesterase activity. It is recommended to follow CLSI procedures regarding specimen collecting and handling.

Sample may be stored for up to 15 days at 2-8°C or 12 months at -20°C.

Nevertheless it is recommended to perform the assay with freshly collected samples!

PROCEDURE

1-Reagent and 2-Reagent are ready to use.

For reagent blank deionized water is recommended.

REFERENCE VALUES ^{4,5}

serum / plasma	37°C	
female	4000 – 12600 U/l	67 – 210 µkat/l
male	5100 – 11700 U/l	85 – 195 µkat/l

In infants up to 6 months of age, cholinesterase activity is 40% to 50% higher than in adults. In young adult (< 35 years) women, the enzyme activity is approximately 64% to 74% of that in adult males. The activity decreases during pregnancy.

It is recommended for each laboratory to establish its own reference ranges for local population.

QUALITY CONTROL

For internal quality control it is recommended to use the CORMAY SERUM HN (Cat. No 5-172) and CORMAY SERUM HP (Cat. No 5-173) with each batch of samples.

For the calibration of automatic analysers systems the CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Cat. No 5-174; 5-176) or CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 2 (Cat. No 5-175; 5-177) is recommended depending on the calibrator lot number.

Calibrator and deionised water should be used for calibration.

The calibration curve should be prepared every 12 weeks, with change of reagent lot number or as required e.g. quality control findings outside the specified range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

These metrological characteristics have been obtained using the automatic analyser BS-400. Results may vary if a different instrument or a manual procedure is used.

- Sensitivity:** 98 U/l (1.633 µkat/l).
- Linearity:** up to 21000 U/l (350 µkat/l).

For higher activity dilute the sample with 0.9% NaCl and repeat the assay. Multiply the result by dilution factor.

Specificity / Interferences

Haemoglobin up to 5 g/dl, ascorbate up to 62 mg/l, bilirubin up to 20 mg/dl and triglycerides up to 1000 mg/dl do not interfere with the test.

Precision

Repeatability (run to run)	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
n = 10			
level 1	4848	16.42	0.34
level 2	7029	31.34	0.45

Reproducibility (day to day)	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
n = 10			
level 1	7137	46.19	0.65
level 2	4942	39.43	0.80

Method comparison

A comparison between CORMAY reagent (y) and another commercially available assay (x) using 78 samples gave following results:

$$y = 1.0814x - 271.51 \text{ U/l};$$

$$R = 0.999$$

(R – correlation coefficient)

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

LITERATURE

- 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).
- Internal reference range studies.

Date of issue: 11.2018.

A-400 CHOLINESTERASE

Кат.№ 7-456

(RUS)

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Диагностический набор для определения активности холинэстеразы, предназначен для использования на автоматическом анализаторе BS-400.

Реагенты должны использоваться только для диагностики *in vitro*, квалифицированным лабораторным персоналом, в целях, для которых они предназначены, в соответствующих лабораторных условиях.

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 присутствии гексацианоферрата калия (III) (желтого цвета). Тиохолин восстанавливает гексацианоферрат калия (III) до гексацианоферрата калия (II) (бесцветный). Уменьшение абсорбции прямо пропорционально активности CHE в пробе.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

1-Reagent 1 x 42,5 мл
2-Reagent 1 x 11,5 мл

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. На борту анализатора при 2-10°C реагенты стабильны 12 недель. Не замораживать реагенты.

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

- Защищать от света, избегать испарения и контаминации!
- Закупорьте флакон сразу же после использования и храните при температуре 2-8°C.
- Не использовать после истечения срока годности.
- Не взаимозаменять крышек 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. они ингибируют 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!

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

1-Reagent и 2-Reagent готовы к использованию.

В качестве бланк-реагента рекомендуется использовать деионизованную воду.

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) или CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 2 (Кат.№ 5-175; 5-177) в зависимости от номера серии калибраторов.

Для калибровки следует использовать калибратор и деионизованную воду.

Калибровочную кривую рекомендуется составлять каждые 12 недель, 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 BS-400. Результаты, полученные на других анализаторах и вручную, могут отличаться.

- Чувствительность:** 98 Ед/л (1,633 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	4848	16,42	0,34
уровень 2	7029	31,34	0,45

Воспроизводимость (изо дня в день) n = 10	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	7137	46,19	0,65
уровень 2	4942	39,43	0,80

Сравнение метода

Сравнение между реагентом CORMAY (y) и другим коммерчески доступным тестом (x) с использованием 78 проб дало следующие результаты:

$y = 1,0814x - 271,51$ 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 I.A. Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. 967, (1996).
- Внутренние исследования референтного диапазона для холинэстеразы.

Дата создания: 11.2018.



A-400 CHOLINESTERASE

PROGRAM NA ANALIZATOR / APPLICATION for / АДАПТАЦІЯ для:

- BS-400

BASIC

Test information		Reagent volume	
No.	62	R1	200
Test	CHE	R2	50
Full Name	Cholinesterase	R3	
Std. No.	62	R4	

Sample volume			
Standard	4	15	10
Increased	8	15	10
Decreased	2	15	10

Reaction Parameters			
Reac. Type	Kinetic	Direction	Decrease
Pri. Wave	412	Rgt. Blank	0 0
Sec. Wave	700	Reac. Time	53 75

Result Setup			
Decimal	1	Slope	1
Unit	U/l	Inter	0

Judgment Criteria			
Absorbance	0	0	Lin. Range 98 21000
Incre. Test	0		Lin. Limit
Decre. Test	0		Subs. Limit

□ Prozone		○ Rate		○ Antigen	
Q1	0	Q2	0	Q3	0
PC	0			ABS	0

CALIBRATION

Calibration	
Rule	Two-Point Linear
Replicate	3
K	

Judgment Criteria	
Sensitivity	Blank Abs.
Factor Diff.	Error Limit
SD	Corr. Coeff.

Data wydania / Date of issue / Дата создания: 11.2018.