



Набор для определения ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Кат. № : C511
Производитель: Teco Diagnostics (США)

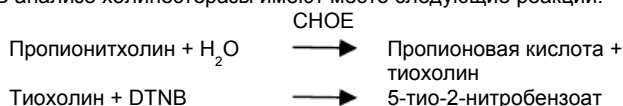
Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Реагент холинэстеразы используется для диагностики *in vitro* в количественном кинетическом определении холинэстеразы в человеческой сыворотке, плазме или цельной крови.

ПРИНЦИП

В анализе холинэстеразы имеют место следующие реакции:



Холинэстераза гидролизует пропионитхолин (PTC), образуя тиохолин, который взаимодействует с 5,5'-дителибис-2-нитробензойной кислотой (DTNB), образуя желтый 5-тио-2-нитробензоат с максимальной мерой поглощения света при 405 нм. Поэтому, коэффициент изменения в мере поглощения света при 405 нм прямо пропорционален действию холинэстеразы.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Реагент холинэстераза (PTC), при перерастворении согласно указаниям, имеет следующие активные компоненты. Приблизительная концентрация каждого компонента следующая: Пропионитхолина 4мМ, DTNB 0.4 мм, буфера и неактивных стабилизаторов и наполнителей.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагент холинэстеразы (PTC) предназначен для диагностического использования *in vitro*.

Необходимо соблюдать обычные предосторожности при использовании лабораторных реагентов.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Храните сухой реагент охлажденным (2 - 8°C). Реагент стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Перерастворенный реагент стабилен в течение 6 часов при комнатной температуре (15 - 30°C) или 3 дня при 2 - 8°C.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

ПОЛНАЯ АКТИВНОСТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ:

Перерастворите реагент холинэстеразы (PTC) с объемом деионизированной воды, указанным на этикетке. После добавления воды закройте флакон и немедленно переверните несколько раз.

ДИБУКАИНОВЫЙ ИНГИБИТОР:

Перерастворите одну пробирку реагента холинэстеразы (PTC) с раствором дибукана вместо деионизированной воды.

ФТОРИСТЫЙ ИНГИБИТОР:

Перерастворите одну пробирку реагента холинэстеразы (PTC) с фтористым раствором, вместо деионизированной воды.

УХУДШЕНИЕ РЕАГЕНТА

Реактив должен быть забракован если:

1. Влажность проникла во флакон и произошло слипание.
2. Перерастворенный реагент имеет меру поглощения света против воды больше 1.2 при 405 нм.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦА

Активность холинэстеразы стабильна в неразбавленной сыворотке целых 2 недели при 2 - 8°C и до 3 месяцев при 20°C. Сгусток должен быть удален из сыворотки немедленно. ЭДТА не ингибирует активность холинэстеразы.

Подготовка образца для измерения активности холинэстеразы в цельной крови проводится следующим образом. Внесите кровь, содержащую ЭДТА как противосвертывающее средство. Тщательно смешайте цельную кровь. Часть крови удаляется для определения гематокрита. Приготовьте гемолизат крови путем смешивания 0.1

мл крови с 1.9 мл дистиллированной воды. Смешивайте до завершения гемолиза. Центрифугируйте остающуюся кровь, чтобы получить чистую плазму. Определите действия холинэстеразы в плазме и гемолизате, следуя указаниям в разделе "Процедура". Образцы для определения активности холинэстеразы гемолизата устойчивы в течение 8 часов во время хранения при 2 - 8°C.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Образцы гемолизированной сыворотки не должны использоваться. Известны определенные лекарства и другие вещества, которые влияют на активность холинэстеразы.

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Анализатор, с секцией контроля температуры, способен точно измерять меру поглощения света при 405 нм.
2. Пробирки для анализа с оптическими свойствами, подходящими для использования при 405 нм.
3. Пипетирующие устройства для точного распределения объемом, необходимых для анализа.
4. Таймер.
5. Растворы дибукана и фторида натрия.

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ ПРОЦЕДУРА

Обратитесь к располагаемой аппликации.

РУЧНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Перерастворите реагент согласно инструкциям.
2. Пипетируйте 1.0 мл реагента в соответствующие пробирки и доведите до 30°C или 37°C.
3. Обнулите спектрофотометр водой при 405 нм.
4. Добавьте 10 мкл образца (сыворотки, плазмы или гемолизата). Хорошо перемешать.
5. Через 15 секунд измерьте меру поглощения света (A1). Возвратите пробирку в 30°C или 37°C еще на 30 секунд измерьте другую меру поглощения света (A2).
6. Вычислите ΔA 30 секунд, вычитая A1 от A2, Умножьте на 2, чтобы получить ΔA в минуту.
7. Вычислите активность холинэстеразы (Е/л) образца, умножив ΔA /мин. на 7426.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ОБЪЕМЫ

Активность холинэстеразы может также быть определена использованием 10 мкл образца и 3 мл реагента. Должны использоваться различные калибровочные коэффициенты, если объемы образца и реагента отличаются от объемов, требуемых в процедурах.

АНАЛИЗЫ ИНГИБИРОВАНИЯ ДИБУКАИНА И ФТОРИДА

При следовании тех же самых этапов, поданных в Процедуре, определите активность холинэстеразы в образцах, использующих реагенты с содержанием дибукана и фторида, подготовленных согласно инструкциям, предоставленных в Подготовке Реагентов. Для определения процента активности ингибирования см. Калькуляции.

ВЫЧИСЛЕНИЯ (КИНЕТИЧЕСКИЕ)

$$\text{Активность холинэстеразы (Е/л)} = \frac{\Delta A/\text{мин.} \times TV \times 1000}{13.6 \times LP \times SV}$$

$\Delta A/\text{min.}$	= изменение абсорбции в минуту.
TV	= Общий объем (1.01 мл)
SV	= Объем образца (0.01 mL)
13.6	= Абсорбция DTNB миллимолях
LP	= Световая дорожка (1 см)
1000	= Переведение Е/мл в Е/л

$$\text{Активность холинэстеразы (Е/л)} = \frac{\Delta A/\text{мин.} \times TV \times 1000}{13.6 \times 1.0 \times 0.01}$$

ПРИМЕЧАНИЕ: Подготовка гемолизата предусматривает 20-кратное разбавление образца; поэтому, активность холинэстеразы в гемолизате, вычисленная формулой выше, должна быть умножена на 20, чтобы компенсировать разбавление.

$$\begin{array}{l} \text{Пример:} \quad A_1 = 0.316 \quad A_2 = 0.491 \\ A_2 - A_1 = 0.491 - 0.316 = 0.175 \\ \Delta A/\text{мин.} = \Delta A/30 \text{ секунд} \times 2 = 0.350 \end{array}$$

Активность холинэстеразы (Е/л) в образце = $0.350 \times 7426 = 2599$

ИНГИБИРОВАНИЕ ДИБУКАИНА И ФТОРИДА

Вычислите процент ингибирования активности холинэстеразы (Е/л) следующим образом:

$$\text{Ингибирование активности холинэстеразы дибукаином (\%)} = 100 - \frac{(\text{CHE} - \text{D}) \times 100}{\text{CHE}}$$

$$\text{Ингибирование активности холинэстеразы фторидом (\%)} = 100 - \frac{(\text{CHE} - \text{F}) \times 100}{\text{CHE}}$$

Где:

CHE = активность холинэстеразы в образце определяется использованием реагента без содержания дибукаина и фторида.

CHE-D = активность холинэстеразы в образце определяется использованием реагента, содержащего 0.3 ммоль/л дибукаина.

CHE-F = активность холинэстеразы в образце определяется использованием реагента, содержащего 40 ммоль/л фторида натрия.

Активность холинэстеразы эритроцитов:

Активность холинэстеразы эритроцитов (EChE) высчитывается из результатов, полученных для значения активности холинэстеразы эритроцитов плазмы (PChE), гемолизата холинэстеразы (HChE) и гематокрита (Hct) в образце.

$$(\text{HChE}) = (\text{EChE} \times \text{Hct}^*) + (\text{PChE} \times (1 - \text{Hct}^*))$$

$$\text{EChE} = \frac{\text{HChE} - (\text{PChE} \times (1 - \text{Hct}^*))}{\text{Hct}^*}$$

* Значение гематокрита, выраженное как десятичное число.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. С чрезвычайно липемической или иктерической сывороткой необходимо провести коррекцию бланком.
2. Эта процедура не включает изучений дибукаина или фторида на сопротивление.

КАЛИБРОВКА

Процедура калибровки делается посредством миллимолярной поглотительной способности 5-тио-2-нитробензойной кислоты, которая составляет 13.6 при 405 нм. Диапазон линейности этого реагента изменяется в зависимости от соотношения образца к реагенту. Верхний предел линейности согласно этой процедуре - 8,000 Е/л с соотношением образца к реагенту 1:100.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется, чтобы высокие и низкие значения холинэстеразы были включены в каждый набор анализа.

Для контроля качества может использоваться имеющийся в продаже контрольный материал с установленными значениями холинэстеразы.

Коэффициент преобразования температуры для человеческой сыворотки

Assay Temp.	Желаемая температура		
	25	30	37
25	1.00	1.20	1.55
30	0.83	1.00	1.29
37	0.65	0.77	1.00

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемый диапазон активности холинэстеразы сыворотки при 30°C был определен в следующем виде:

Сыворотка	3100-7700 Е/л
Плазма	1700-4100 Е/л
Цельная кровь	3300-5500 Е/л
Эритроциты	4400-8200 Е/л

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Линейность: 8000 МЕ/л при 30°C.
2. Чувствительность: изменение меры поглощения света 0.001/мин. при 405 нм соответствует 7.4 Е/л активности холинэстеразы при указанных условиях этой системы анализа.
3. Сравнение: изучение, проведенное между данной процедурой и одним из товарных изделий на цельной крови привело к коэффициенту корреляции 0.96 с регрессией $y = 1.00 \times -103$ (к-

во = 20), и на сыворотке / плазме привело к коэффициенту 0.99 с регрессией $y = 0.96 \times + 63$ (к-во = 47).

4. Изучения точности:

В пределах процедуры			Между процедурами		
Среднее (Е/л)	СО	КВ (%)	Среднее (Е/л)	СО	КВ (%)
4539	173	3,8	4603	153	3,3
3717	162	4,4	3760	151	4,0

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»

Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122 Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.com