

PRESENTACIÓN

Ref.: 101-0286	Cont.: 20 x 2.5 mL
----------------	--------------------

Conservar a 2-8°C

SIGNIFICADO CLÍNICO

La colinesterasa es una enzima presente en el plasma, 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.

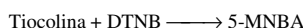
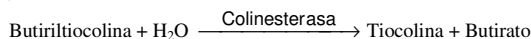
La determinación de su actividad nos ayuda a evaluar la función hepática, detectar la exposición excesiva a pesticidas organofosforados e identificar pacientes con formas atípicas de la enzima que presentan una sensibilidad aumentada al anestésico succinilcolina^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La colinesterasa hidroliza la butiriltilcolina a tiocolina y butirato.

La tiocolina reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) y forma ácido 5-mercapto-2-nitrobenzoico (5-MNBA), según el siguiente esquema de reacción:



La velocidad de formación de 5-MNBA, determinado fotométricamente, es proporcional a la actividad enzimática de colinesterasa en la muestra ensayada^{1,2}.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Fosfato pH 7,7	50 mmol/L
R 2 Substrato	Ác. 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico (5,5 DTNB) Butiriltilcolina	0,25 mmol/L 7 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Disolver un comprimido de R2 Substrato en un vial de R1 Tampón.

Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 2 horas a 2-8°C.

CONSERVACIÓN 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 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

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 $\geq$ 1,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatisable a 25°C, 30°C ó 37°C ($\pm$ 0,1°C).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

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

	25° - 30° C	37° C
RT (mL)	1,5	1,5
Muestra (μ L)	10	--
Muestra diluida 1/2 con CINA 9 g/L (μ L)	--	10

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

CÁLCULOS

$$25^\circ - 30^\circ \text{ C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 22710 = \text{U/L}$$

$$37^\circ \text{ C} \quad \Delta A / 30 \text{ s} \times 45420 = \text{U/L}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. 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		
	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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

Contro-N (Ref. 101-0083 y 101-0252) y Contro-P (Ref. 101-0084 y 101-0253).

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 REFERENCIA²

25° C	30° C	37° C
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.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida (a 37° C): Desde el límite de detección 7 U/L hasta el límite de linealidad 9084 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	5992	3087	6277	3254
SD	70	56	51	66
CV (%)	1,17	1,82	0,80	2,03

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0002 $\Delta A/30$ s.

Exactitud: Los reactivos CHRONOLAB (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r^2): 0,9799

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,994x + 3,463$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis moderada no interfiere en los resultados^{1,2}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la colinesterasa^{3,4}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- King M. Cholinesterase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- Whittaker M. et al. Comparison of a Commercially Available Assay System with Two Reference Methods for the Determination of Plasma Cholinesterase Variants. Clin. Chem 1983;(29/10); 1746-1760.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.