

COD 11588 1 x 50 mL	COD 11589 4 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C	
Reactivos para medir la concentración de colinesterasa Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico	

CHOLINESTERASE (CHE)

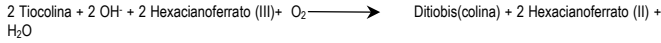
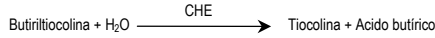


COLINESTERASA (CHE) BUTIRILTIOCOLINA



FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La colinesterasa cataliza la hidrólisis de la butiriltiocolina en tiocolina y ácido butírico. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de desaparición del hexacianoferrato (III), medida a 405 nm por medio de las siguientes reacciones^{1,2,3}.



El isoenzima atípico de la colinesterasa (AA) puede ser estimado mediante el "número de dibucaina", que indica el porcentaje de inhibición de la actividad enzimática en presencia de dibucaina^{2,3}.

CONTENIDO

	COD 11588	COD 11589
A. Reactivo	1 x 40 mL	4 x 40 mL
B. Reactivo	1 x 10 mL	4 x 10 mL

COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. Pirofosfato 95 mmol/L, Hexacianoferrato (III) 2,5 mmol/L, pH 7,6.
B. Reactivo. Butiriltiocolina 60 mmol/L.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserve bien cerrado y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco inferior a 1,300 a 405 nm (cubeta de 1 cm).

REACTIVOS AUXILIARES

- C. Reactivo (cod 11578): Dibucaina 0,3 mmol/L, una vez reconstituido. 10 x 15 mL.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo para colinesterasa total: vaciar el contenido del Reactivo B en el frasco de Reactivo A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 3 días a 2-8°C.

Reactivo de trabajo con dibucaina (Nota 1): reconstituir el contenido de un vial de Reactivo C con 15 mL del Reactivo de trabajo para colinesterasa total. Agitar suavemente. Estable 3 días a 2-8°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 405 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso de luz.

MUESTRAS¹

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. Se recomienda usar EDTA o heparina como anticoagulantes.

La colinesterasa en suero o plasma es estable durante 14 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
- Pipetear en una cubeta (Nota 2):

Reactivo de Trabajo (Nota 3)	1,5 mL
Muestra	25 µL

- Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
- A los 90 segundos, anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada 30 segundos durante 90 segundos.
- Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

La concentración de colinesterasa en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

El coeficiente de absorción molar (ϵ) del cromógeno a 405 nm es 927, el paso de luz (l) es 1 cm, el volumen total de reacción (Vt) es 1,525, el volumen de muestra (V_s) es 0,025, y 1 U/L equivale a 0,0166 µkat/L. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 65804 = \text{U/L}$ $\times 1097 = \mu\text{kat/L}$
-----------------------	--

Número de dibucaina (%) = $100 - (100 \times \text{CHE no inhibida} / \text{CHE total})$

VALORES DE REFERENCIA

Colinesterasa (37°C):

Hombres	4620-11500 U/L = 76,9-191 µkat/L
Mujeres	3930-10800 U/L = 65,5-180 µkat/L

Número de dibucaina (%):

Homocigotos normales:	> 75%
Heterocigotos intermedios:	45-72 %
Homocigotos atípicos:	< 30 %

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 123 U/L = 2,05 µkat/L.
- Límite de linealidad: 25000 U/L = 417 µkat/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media	CV	n
5416 U/L = 90,27 µkat/L	1,0 %	20
11279 U/L = 188,0 µkat/L	0,7 %	20

- Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media	CV	n
5416 U/L = 90,27 µkat/L	1,0 %	25
11279 U/L = 188,0 µkat/L	0,6 %	25

- Sensibilidad: 0,015 $\Delta\text{mA} \cdot \text{L} / \text{U} \cdot \text{min} = 0,91 \Delta\text{mA} \cdot \text{L} / \mu\text{kat} \cdot \text{min}$.
- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: La lipemia (triglicéridos 10 g/L) y la bilirrubina (20 mg/dL) no interfieren. La hemólisis puede afectar a los resultados. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁵.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La colinesterasa sérica es también denominada pseudocolinesterasa para diferenciarla de la colinesterasa presente en los eritrocitos y en las terminaciones nerviosas. Es sintetizada en el hígado, por lo que su medición puede usarse como test de función hepática. Una disminución en su actividad refleja una síntesis alterada.

Su determinación es de gran valor en el diagnóstico de pacientes con la forma atípica de la enzima y en intoxicaciones por insecticidas organofosforados. Los pacientes con la forma atípica del enzima presentan elevada sensibilidad frente al suxametonio, un fármaco usado como relajante muscular en cirugía. Su identificación, mediante el número de dibucaina, es importante para prevenir la apnea prolongada causada por la administración de dicho medicamento^{4,6}.

También pueden darse cambios en la concentración sérica de colinesterasa en otras condiciones. Está disminuida en infecciones agudas, embolismo pulmonar, distrofia muscular e infarto de miocardio^{4,6}. El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- El reactivo de trabajo con dibucaina es necesario sólo para determinar el número de dibucaina.
- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
- Utilizar el reactivo sin dibucaina para medir la colinesterasa total y el reactivo de trabajo con dibucaina para medir la colinesterasa no inhibida.

BIBLIOGRAFÍA

- DGKC. Proposal of standard methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37°C. II Cholinesterase. *Eur J Clin Chem Chim Biochem* 1992; 30: 163-170.
- Panteghini M and Bonora R. Evaluation of a new continuous colorimetric method for determination of serum pseudo-cholinesterase catalytic activity and its application to a centrifugal fast analyser. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 671-676.
- Whittaker M, Britten JJ and Dawson PJ. Comparison of a commercially available assay system with two reference methods for the determination of plasma cholinesterase variants. *Clin Chem* 1983; 29: 1746-1751.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.