Набор реагентов для определения холинэстеразы (CHE)

# Метод: кинетический метод

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Кат.№** | **Упаковка** | **Анализатор** |
| EGS0811G | R1:4×20 мл  R2:1×16 мл | Для Hitachi917 и OlympusAU640/40 0/600 |
| EGB0801G | R1:2×40 мл  R2:1×16 мл | Для Hitachi 717 и ShimadzuCL7200/8 000 |
| EGH081G | R1:2×40 мл  R2:1×16 мл | Для Hitachi902 |
| EGD081G | R1:30×4,3 мл  R2: 6×4,3 мл | Для Siemens Dupont/Siemens Behring Series |
| EGCHE460 BS | R1:2×40 мл  R2:1×16 мл | Для Mindray BS120/180/190/200/ 220/230/240/430/460  /830 |
| EGGCHE | R1:2×40 мл  R2:1×16 мл | Для Semi Auto Analyzer |

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Для количественного *in vitro* определения холинэстеразы в сыворотке.

# КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Сывороточные холинэстеразы (ХЭ) можно разделить на два типа: один находится в сером веществе центральной нервной системы, симпатических нервных узлах, двигательных концевых пластинках, эритроцитах и др. и действует главным образом на ацетилхолин, аутентичным или ацетилхолинэстеразой (АХЭ). Второй тип находится в белом веществе центральной нервной системы, плазме, печени, поджелудочной железе, брыжейке, матке и т.д.

Помимо действия на ацетилхолин, он также может действовать на другие эфиры холина. Его специфичность к гидролизу ацетилхолина слабее, чем у ацетилхолинэстеразы, поэтому этот тип называется псевдо-холинэстеразой (псевдо-ХЭ). Сывороточная ХЭ относится к псевдохолинэстеразe, которая синтезируется в печени. Снижение уровня ХЭ имеет патологическое значение. Холинэстераза часто используется для выявления отравления фосфорорганическими пестицидами и является наиболее важным показателем для наблюдения за тяжестью отравления и выздоровлением после отравления. При остром отравлении содержание холинэстеразы может быть значительно снижено.

Холинэстераза в настоящее время в основном используется для определения функции печени. Уровень сывороточной холинэстеразы у больных с тяжелым гепатитом сильно снижен, до 60% от нормы, а у больных в критическом состоянии может быть снижен до менее 10% или даже ниже. Хронический активный гепатит и цирроз печени снижают уровень холинэстеразы в стадии декомпенсации, поэтому ее измерение имеет определенное референтное значение для оценки функции печени и прогноза заболевания печени. Уровень ХЭ также снижается при голодании, недоедании и ожогах.

Кроме того, сукцинилхолин является миорелаксантом, используемым в хирургии, и может гидролизоваться холинэстеразой. У пациентов с низким уровнем холинэстеразы или атипичными генными мутациями продуцируемые слабоактивные изоферменты не могут гидролизовать препарат, вызывая у пациента состояние постоянного удушья и паралича дыхательных мышц после применения препарата. Поэтому перед операцией

проверяют чувствительность пациента к препарату, измеряя уровень ХЭ и ингибирующее действие дибукаина и фторида на ХЭ.

# ПРИНЦИП ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Холинэстераза может гидролизовать бутирилтиохолин до масляной кислоты и тиохолина. Тиохолин восстанавливает гексацианоферрат (III) до гексацианоферрита (II).

Изменение оптической плотности отслеживается при 405 нм, и скорость снижения плотности прямо пропорциональна уровню ХЭ в пробе.

# СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

|  |  |
| --- | --- |
| **Состав** | **Концентрация** |
| **Реагент 1 (R1)** | |
| Пирофосфат pH 7.6 | 75 ммоль/л |
| Fe(CN)63- | 2 ммоль/л |
| **Реагент 2 (R2)** | |
| Бутирилтиохолин | >12 |
| Стабилизатор | ммоль/л |

**СТАБИЛЬНОСТЬ И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

1. Невскрытые реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности при 2-8℃.
2. Дата производства и срок годности указаны на

этикетке.

1. После вскрытия реагенты стабильны 28 дней при хранении охлажденными в анализаторе или холодильнике.
2. Реагенты не должны быть загрязнены.

# ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ

Набор теоретически подходит для любых биохимических анализаторов и спектрофотометров с длиной волны не менее 405 нм.

Рекомендуется выполнять тесты с использованием биохимических анализаторов в условиях лаборатории.

**ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ПРОБ**

Сыворотка, плазма (с ЭДТА или гепарином). Пробы сыворотки стабильны в течение 7 дней при температуре хранения 2-8· C и 1 год при -20 °C.

# МЕТОДИКА ТЕСТА

На примере Hitachi 917

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Основная длина волны | 405 нм | Проба (S) | 4 мкл |
| Дополнительная длина волны | 660 нм | Реагент 1 (R1) | 200 мкл |
| Температура реакции | 37℃ | Reagent 2 (R2) | 40 мкл |
| Диаметр кюветы | 1 см | Тип реакции | Кинетика |

Процедура

|  |  |
| --- | --- |
| Добавить в кювету: | |
| Проба (S) | 4 мкл |
| Реагент 1 (R1) | 200 мкл |
| Хорошо перемешать и инкубировать 5 минут при 37℃ | |
| Реагент 2 (R2) | 40 мкл |
| Хорошо перемешать и инкубировать 90 сек Оптическая плотность измеряется непрерывно в течение 100 с, рассчитать скорость изменения оптической плотности ΔА/мин. | |

Примечание: Приведенные выше параметры относятся только к Hitachi 917, взятого в качестве примера.

Параметры различных биохимических анализаторов несколько различаются. Перед установкой параметров внимательно изучите Руководство к используемому прибору.

**КАЛИБРОВКА**

Для калибровки набора рекомендуется использовать калибровочную сыворотку GCell. Калибратор работает по кинетическому методу с использованием субстрата бутирилтиохолина.

1. Согласно требованиям процедуры калибровки, описанной в Руководствам к биохимическим анализаторам, каждая лаборатория устанавливает свои собственные процедуры, в зависимости от особенностей работы.
2. Калибратор - лиофилизированный порошок. Калибратор нулевой точки представляет собой сверхчистую воду. Сухой порошок необходимо развести сверхчистой водой.
3. Режим калибровки: двухточечная линейная калибровка.
4. Частота калибровки: рекомендуется проводить калибровку каждые две недели. Также рекомендуется проводить перекалибровку при возникновении следующих ситуаций: смена лота реагентов, непрохождение внутреннего контроля качества, проведение существенного технического обслуживания анализатора или замена его основных частей, таких как источник света или кювета.

# КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля качества рекомендуется использовать контрольную сыворотку GCell. Полученные значения должны попадать в указанный диапазон. Если полученные значения выходят за рамки диапазона, следует выполнить следующие действия:

1. Проверить настройку параметров и источник света.
2. Проверить правильность установки температуры реакции.
3. Проверить срок годности набора.

4 Проверить чистоту воды. Бактериальный рост может привести к некорректным результатам.

5. Проверить чистоту кюветы и иглы пробоотборника.

# РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТА

В соответствии с данным режимом калибровки прибор автоматически создает калибровочную кривую и рассчитывает содержание измеряемого аналита на основе изменения значения его оптической плотности в пробе.

# РЕФЕРЕНСНЫЕ НОРМЫ

Female: 4.0 - 12.6 KU/L

Male: 5.1 - 11.7 KU/L

Рекомендуется устанавливать референсные нормы в каждой лаборатории с учетом вида животных, возраста, пола и места проживания.

# ВЗАИМОВЛИЯНИЕ

Влияние триглицеридов в концентрации ≤2000 мг/дл, билирубина ≤ 50 мг/дл, гемоглобина ≤ 1000 мг/дл, аскорбиновой кислоты ≤ 50 мг/дл, глюкозы ≤ 1000 мг/дл составляет менее 10%.

# ТОЧНОСТЬ

Тест на воспроизводимость: определенное количество раствора с калибратором добавляется в клиническую пробу для измерения. Процент воспроизводимости достигает 90%

~ 110%.

# ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

При концентрации пробы 5000 ед./л изменение оптической плотности составляет -0,1100～-0,0300.

# ЛИНЕЙНОСТЬ

В диапазоне 100-14000 ед./л коэффициент корреляции линейности r ≥0,99; в диапазоне 100-4000 ед./л абсолютное отклонение ≤ 400 ед./л. В диапазоне 4000-14000 ед./л относительное отклонение ≤ 10%.

Примечание: Линейные вещества представляют собой сыворотки с аномально высокими значениями, разбавленные сверхчистой водой для придания линейности.

**ТОЧНОСТЬ (ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ)**

Воспроизводимость проверялась путем 20 повторных измерений контрольного образца или пробы пациента. Внутрилабораторная прецизионность проверялась путем измерений пробы пациента или контрольных проб из 2лотов в день, каждый лот измерялся по 2 раза утром и днем в течение 20 дней. Получены следующие результаты:

А) Воспроизводимость (N=20)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Среднее (ед./л) | CV(%) |
| Уровень 1 | 5392 | 0.61 |
| Уровень 2 | 4795 | 0.66 |

Б) Внутрилабораторная прецизионность (N=80)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Среднее (ед./л) | CV(%) |
| Уровень 1 | 5442,08 | 0,9 |
| Уровень 2 | 4489,44 | 3,1 |

# МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. Реагент содержит консерванты. Избегайте попадания внутрь и контакта с кожей и слизистыми. При попадании на кожу промойте место контакта большим количеством воды, при попадании в глаза или внутрь немедленно обратитесь к врачу.
2. Содержащиеся в реагентах консерванты могут реагировать со свинцом, медью и другими металлами с образованием потенциально опасных азидов. При утилизации подобных реагентов следует промыть слив большим количеством воды во избежание образования отложений. Металлические поверхности необходимо обработать10% гидроксидом натрия.
3. Все пробы, используемые при выполнении данного теста следует рассматривать как потенциально инфицированные. При применении реагентов и проб в процессе анализа и при утилизации отходов следует руководствоваться правилами утилизации медицинских отходов.
4. Вскрытые реагенты следует плотно закрыть и хранить в соответствии с инструкцией. Не используйте реагенты по истечении срока годности.
5. При применении реагентов и проб в процессе анализа и

при утилизации отходов следует руководствоваться следующими рекомендациями: Используйте автоклав для обработки при 121℃ в течение 15 минут (не автоклавируйте отходы, содержащие гипохлориды) или замочите пробирки и другие инструменты, контактировавшие с пробами, в растворе гипохлорида (с концентрацией выше 0,1%) как минимум на один час.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Knedel, M., and R. Bottger. Klin. Wschr. 1967; 45: 325. 2.Han Zhijun, Huang Zhifeng, etc. Automatic analysis method for commonly used items in clinical chemistry. Liaoning: Liaoning Science and Technology Press, 2005. 1066-1103.

# ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ СИМВОЛЫ

Производитель Каталожный номер Номер лота



Дата производства Cрок годности



Только для in vitro диагностики Хранить при 2-8С



**REP**

**EC**

См. инструкцию к реагенту Представитель в ЕС