

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

	Codice	Composizione
OPEN KONELAB INDIKO	REF B75182541	n° 10 flaconi x 10 mL n° 10 flaconi liofilii

DESTINAZIONE D'USO

Determinazione quantitativa in vitro del "numero di dibucaina" della Colinesterasi, mediante valutazione dell'attività colinesterasica con e senza inibizione della dibucaina nel siero o plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. SOLO PER USO PROFESSIONALE.

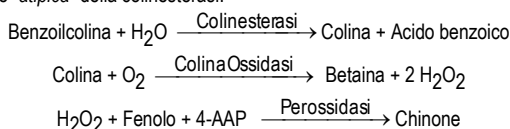
SIGNIFICATO CLINICO

L'acetilcolinesterasi, detta anche colinesterasi vera, è uno dei due enzimi capace di idrolizzare l'acetilcolina. La colinesterasi vera si localizza negli eritrociti, nel polmone, nella milza, nelle terminazioni nervose e nella materia grigia cerebrale. L'altra colinesterasi è l'acilcolina acilidrolasi (SChE), enzima presente in vari organi del corpo come fegato, pancreas, cuore, materia bianca cellulare e siero. La funzione diagnostica della colinesterasi è indirizzata quale indicatore da possibile avvelenamento da insetticidi, per il riconoscimento, sul paziente, di forme atipiche dell'enzima o come test della funzionalità epatica. Anche la succinilcolina (suxanmetonio), un farmaco miorelaxante nell'anestesia chirurgica, viene idrolizzata dalla colinesterasi ed il suo effetto farmacologico perdura soltanto per il tempo sufficiente a portare a termine l'intervento chirurgico. Nei soggetti con bassi livelli di attività dell'enzima o in coloro con varianti debolmente attive, il farmaco non viene smaltito in modo sufficientemente rapido ed il paziente può entrare in un periodo di apnea prolungata richiedente ventilazione meccanica sino a completa eliminazione del farmaco per altre vie. Il gene che controlla la sintesi della SChE può esistere in più forme alleliche. Quattro, le più comuni, si riconoscono dalle seguenti sigle: E₁^u, E₁^a, E₁^f, e E₁^s. Il fenotipo normale più comune è indicato con la sigla E₁^u. Il gene E₁^a viene indicato come gene atipico; il siero di individui omozigoti è attivo soltanto debolmente verso la maggior parte dei substrati della colinesterasi. Il gene E₁^f si dimostra particolarmente resistente all'inibizione del fluoro. Il gene E₁^s (silente) è associato all'assenza di enzima o alla presenza di una proteina con attività catalitica minima o nulla. In presenza dell'anestetico locale dibucaina, l'attività delle SChE viene inibita in misura più elevata rispetto alle varianti della SChE atipica. I pazienti possono essere assegnati ad uno dei seguenti tre gruppi sulla base del grado di inibizione:

- I° gruppo-inibizione > 70% : si tratta di individui omozigoti per la SChE normale in entrambi i geni.
- II° gruppo-inibizione 40/70%: si tratta di individui eterozigoti con un gene per la SChE normale ed uno per la SChE atipica.
- III° gruppo-inibizione < 30% : si tratta di individui omozigoti per la variante atipica per ambedue i geni.


PRINCIPIO DEL METODO

Metodo Benzoilcolina. Questa procedura utilizza benzoilcolina come substrato. Il reagente contiene dibucaina come inibitore per la differenziazione della forma "normale" e "atipica" della colinesterasi.



Il chinone che si forma assume un colore rosso, l'intensità del quale viene letta a 510 nm ed è proporzionale alla concentrazione della colinesterasi non inibita presente nel campione.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2 - 8°C evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta.

Concentrazioni

Reagente pronto per l'uso	Conc.	U.M.
Tampone Fosfato pH 7,9	100	mmol/L
Fenolo	10,0	mmol/L
Benzoilcolina	1,00	mmol/L
4-aminofenazone (4-AAP)	0,40	mmol/L
Colina ossidasi	1300	IU/L
Perossidasi	150	IU/L
Dibucaina	0,35	mmol/L

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato.

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

1. Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
2. I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
3. Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
4. Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
5. Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
6. Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
7. Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
8. Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
9. Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui è stabilito l'utente e/o paziente, dei casi di incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni di incidenti gravi devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. Segnalando incidenti gravi, aiuti a fornire maggiori informazioni sulla sicurezza del dispositivo medico diagnostico in vitro.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Sieri di controllo a titolo noto contenenti CHE Inibita sono commercialmente reperibili per il controllo qualità, correlati di certificati di analisi. Sono disponibili i sieri di controllo normali e patologici Sclavo Diagnostics Clinicontrol N 5x5mL cod. B35181700 e Clinicontrol A 5x5 mL cod. B35181701. I valori ottenuti devono essere contenuti entro il range di accettabilità o del proprio CQL.

Calibrazione

Per la calibrazione utilizzare il kit Siero di calibrazione Sclavo cod. B35181702.

Tracciabilità

La Tracciabilità della CHE Inibita è visibile nell'insero della confezione del siero di calibrazione.

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Utilizzare campioni di siero fresco privo di emolisi. Usare siero o plasma con eparina o EDTA. La pseudocolinesterasi è stabile nel siero per 5 settimana a 4 - 20°C e 1 mese a - 20°C.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Travasare il contenuto del Flacone Reagente A all'interno del Flacone Liofilo Reagente B agitare delicatamente per inversione sino a completa dissoluzione quindi ritrasvasare il tutto nel contenitore reagente A. Lasciar riposare la soluzione per 15 minuti prima dell'uso. Il reattivo così preparato è stabile 5 giorni se chiuso e mantenuto ad una temperatura di 2-8°C. Una loro leggera variazione nella colorazione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test.

Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R1/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko®. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dell'utente.

METODO MANUALE

Il kit, nel formato Open, può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizioni di reazione

Lunghezza d'onda (primaria): 510 nm
 Temperatura: 37°C
 Reazione: End Point (Incremento)



Tecnica – Procedura con Siero come starter

Portare i reattivi a temperatura ambiente e operare al riparo dalla luce diretta.

	U.M.	Siero di Calibrazione	Campione
Reagente	µL	1000	1000
Siero di Calibra.	µL	10	-
Campione	µL	-	10

Miscelare con delicatezza quindi incubare alla temperatura di reazione per 180 sec.

Dopo incubazione leggere l'assorbanza a 510 nm. Ripetere le letture ogni 30 secondi oppure ogni 60 secondi. Sono raccomandate almeno n° 3 ripetizioni di lettura nei tempi prescelti. Determinare la media tra i Δ D.O./min. I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente, restando invariato il calcolo.

Calcolo dei risultati ottenuti contro fattore di moltiplicazione

$\Delta D.O./min \times K\text{-factor}^* = U/L$ di CHE Inibita

Spiegazione della formula:

$$\frac{Vt \times 1000}{MEC. \times O.P. \times Vc} = K - \text{factor}^* \times \Delta D.O./min. = U/L \text{ CHE Inibita}$$

*K-factor = 14659

dove:

U/L = attività in unità internazionali per litro

Δ D.O./min. = variazione dell'assorbanza per minuto

Vt = volume totale della reazione (µL)

1000 = conversione della concentrazione al litro

C.M.E. = coeffic. micromolare di estin. del chinone dye 6,89 cm²/µmol a 510 nm

P.O. = percorso ottico (1,0 cm)

Vc = volume del campione nella miscela finale di reazione (µL)

Calcolo del Numero di Dibucaina

$$100 - \frac{\text{Attività CHE Inibita}}{\text{Attività CHE Totale}} \times 100 = \text{numero di dibucaina}\%$$

Automazione

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore in base alla retta di calibrazione. L'analizzatore esegue automaticamente la calibrazione nel rispetto del protocollo del metodo. La retta di calibrazione viene calcolata automaticamente dai singoli strumenti.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Numero di dibucaina % nel siero o plasma umani.

- Omozigoti normali: > 70 %
- Eterozigoti: 40 - 70 %
- Omozigoti atipici: < 30 %

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori normali in funzione della popolazione su cui opera.

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Linearità

La reazione è lineare sino a una concentrazione di 3500 IU/L ad una λ di 510 nm. Nel caso la concentrazione superi 3500 IU/L ripetere il test diluendo il campione con soluzione fisiologica moltiplicando il risultato ottenuto per il coefficiente di diluizione.

Esattezza

Sieri di controllo commerciali sono stati analizzati con il kit in oggetto seguendo le linee guida del protocollo CLSI. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva.

Livello	Replicati	Media (U/L)	DS	CV%	Recovery
Basso	5	1174	33,77	2,9	95,9%
Alto	5	1075	39,55	3,7	99%

Precisione

Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	U/L	688	7,40	1,07	30
Alto	U/L	325	3,70	1,13	30
Precisione totale (Within-lab precision)					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	U/L	691	1,90	0,27	20
Alto	U/L	345	2,70	0,78	20

Limite di sensibilità








Il limite di Sensibilità è stato misurato analizzando diluizioni scalari di un siero

concentrato. Alle condizioni stabilite per questo test la più bassa concentrazione rilevabile è di 37 U/L di Colinesterasi inibita.

Confronto tra metodi

Il metodo è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente, analizzando 200 sieri umani. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

Parametro	Stima
Intercetta	-33.231
Coeff. Correlazione (R)	0.982

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabbrikante
 Numero di catalogo	 Istruzioni per l'uso
 Numero del lotto	 Temperatura di conservazione
 Data di scadenza	

BIBLIOGRAFIA

1. H. U. Bergmeyer, G. N. Bowers, Jr., M. Hørdler, and D. W. Moss (1977) Provisional Recommendations on I.F.C.C. methods for measurement of catalytic concentrations of enzymes. Clin Chem, 23:5; 887-899.
2. Wroblewsky F., Ladue J.S., (1965). Proc. Soc. Exper. Biol and Med, 91:569
3. NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
4. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of good laboratory practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.
5. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2.
6. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2.
7. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3.
8. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition – EP17
9. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference Testing in Clinical Chemistry, – Third Edition. - EP07
10. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition - EP06.

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
Rev.A	01/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

