



СР	9094/2009
	09.09.2011

Погоджено
Голова комісії з проведення реорганізації
Держлікинспекції МОЗ України
А.Д. Захараш
09 вересня 2011 р.

Інструкція з медичного використання набору реагентів для визначення активності холінестерази в сироватці або плазмі крові ХОЛІНЕСТЕРАЗА-кін. «СпЛ»

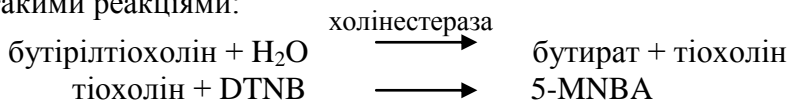
IN VITRO

P1	5 x 15 мл
P2	1 x 25 табл.

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Холінестераза гідролізує бутірилтіохолін до бутірата і тіохоліна. Тіохолін реагує з 5,5'-дітіобіс-2-нітробензойною кислотою (DTNB) до форми 5-меркапто-2-нітробензойної кислоти (5-MNBA) за такими реакціями:



Швидкість утворення 5-MNBA, вимірюється фотометричним та пропорційна активності ферменту холінестерази в зразку.

Клінічне значення

Холінестераза це фермент, який присутній в плазмі та синтезується печінкою. Його справжні фізіологічні функції невідомі, можливо, що його функція - гідролізувати холін в плазмі. Активність холінестерази, як правило, залежить від функції печінки, є найчутливішим тестом впливу фосфорорганічних пестицидів і виявлення хворих з атиповими формами ферментів, які представляють високу чутливість до сукциніл-холіну. Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Буфер: Фосфатний буфер - 50 ммоль/л.
- Реагент 2.** Субстрат: 5,5'-дітіобіс-2-нітробензойна кислота (5,5 ДТНБ) - 0.25 ммоль/л; бутірилтіохолін - 7 ммоль/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: від нижньої межі від 50 Од/л до 10 000 Од/л. Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:4 (в 5 разів) NaCl 9 г/л та помножте результат на 5.
- Чутливість не менш 30 Од/л.
- Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



Матеріал для дослідження

Сироватка або гепаринізована плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Стабільність зразків 7 днів при 2-8°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 405 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Лазня з термостатом з температурою 25°C / 30°C / 37°C.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**:

розчинити 5 таблеток **Р2** у флаконі **Р1** (15 мл). Закрити кришкою, перемішати.

РР стабільний 2 год. при 2-8°C.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі	405 нм
кювета з товщиною оптичного шару	1 см
температура.	25°C / 30°C / 37°C

2. Налаштувати прибор на нуль відносно дистильованої води або повітря.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити об'ємах, вказаних в таблиці.

	25 - 30°C	37°C
РР , мл	1,5	1,5
Зразок, мкл	10	--
Розведений зразок 1/1NaCl 9 г/л, мкл	---	10

Прим. Об'єми реагенту та зразків можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора

3. Змішати та інкубувати 30 сек.

4. Виміряти первинну оптичну щільність (E1) дослідного зразка. Включити секундомір і виміряти E2 кожні 30 сек протягом 1.5 хвилин.

5. Підрахуйте різницю між E1 та середній E2 (ΔE).

Розрахунок результатів

25-30°C $\Delta E \times 3280 = \text{Од/л}$

37°C $\Delta E \times 19700 = \text{Од/л}$

Одна міжнародна одиниця (МОд) це кількість ферменту, який перетворює один мкмоль субстрату за хвилину, у стандартних умовах. Концентрація виражається в одиницях на літр зразка (Од/л).

Для коректування результатів при інших температурах помножити на:

Температури вимірювань	Фактор перерахунку		
	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



Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користатися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

	25°C	30°C	37°C
Концентрація, Од/л	3000-9300	3714-11513	4559-14443

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» (Іспанія), контрольні сироватки «Lyonorm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці і запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Після відкриття, реагент стабільен протягом 60 днів, за умови, що він буде відразу ж закритий після кожного відкриття і буде зберігатися при +2-8°C.

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- Е холостого зразка при 405 нм ≥ 1.20 .



СР	9094/2009
	09.09.2011

ТОВ «Спайнлаб»
61050, м. Харків
вул.Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення активності
холінестерази в сироватці або плазмі крові
ХОЛІНЕСТЕРАЗА-кін. «СпЛ»

IN VITRO

Серія **30-209-1**

Дата виготовлення **16.10.2012**

Термін придатності **16.10.2013** Зберігати при 2-8°C

№ /п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Буфер: Фосфатний буфер - 50 ммоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Субстрат: 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойна кислота (5,5 ДТНБ) - 0.25 ммоль/л; бутирилтіохолін - 7 ммоль/л.	білі таблетки	відповідає
2. рН реагентів			
2.1	P1	7.7 ± 0.2	відповідає
3. Показники правильності визначення			
3.1	Чутливість не менш, Од/л	30	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, Од/л	50-1000 ± 5 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	± 5 %	відповідає
4. Комплектація			
4.1	P1	5 фл. х 15 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 25 табл	відповідає

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.