

NUMERO DI DIBUCAINA

Metodo cinetico (Butiriltiocolina)

Kit per la determinazione quantitativa del Numero di Dibucaina

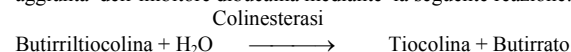


IVD Per uso diagnostico in vitro

REF 0029 - 6x10mL

PRINCIPIO:

Metodo cinetico per la determinazione della colinesterasi con e senza aggiunta dell'inibitore dibucaina mediante la seguente reazione:



Tiocolina + 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico \longrightarrow nitro-2- mercapto - 5-benzoato.

Viene poi calcolato il Numero di Dibucaina secondo la seguente formula:

$$\text{N.D} = 100 - \frac{\text{Attività della reazione con inibitore}}{\text{Attività della reazione senza inibitore}} \times 100$$

CAMPIONE:

Siero.

L'attività nel siero è stabile per almeno 7 giorni a +2/8°C.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

REATTIVI:

Reattivo	Dibucaina idroclorica	6 mmol/L
Liquido-Vol. 10mL		

CONFEZIONE: Conservazione e stabilità

Conservare in frigo a +2/8°C. protetto dalla luce.

Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Dopo l'apertura e il prelievo del reattivo, si consiglia di richiudere immediatamente il flacone, al fine di evitare contaminazione batterica, luce diretta ed evaporazione.

PRECAUZIONI / SIMBOLI DI PERICOLOSITA':

Non pipettare con la bocca.

Il preparato, secondo la normativa vigente, è classificato: non pericoloso.

La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti, stabilizzanti) è inferiore ai limiti richiesti per la citazione.

Maneggiare tuttavia il prodotto con cautela, secondo le norme di buona pratica di laboratorio, evitando l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le mucose. Tutti i campioni devono essere trattati come potenzialmente infetti da HIV o Epatite.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI:

Strumentazione e attrezzatura generale da laboratorio.

PREPARAZIONE E STABILITA' DEL REATTIVO DI LAVORO:

Reattivo liquido da portare a T.A. (+15/25°C) prima dell'uso.

Il Reattivo si presenta limpido e incolore.

Preparazione del reattivo con inibitore:

Miscelare secondo il fabbisogno giornaliero 9 parti di reattivo(A) Colinesterasi (REF. 4053) e 1 parte di Dibucaina idroclorica.

PROCEDIMENTO:

Lunghezza d'onda:	405nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	+25/30/37°C
Letture:	Contro acqua distillata
Reazione:	Cinetica in incremento
Campione/Reattivo:	1/300

Qualora non venisse utilizzata la Colinesterasi Giesse Diagnostics (REF. 4053) procedere con la propria, tenendo presente che la reazione va eseguita in presenza e in assenza dell'inibitore Dibucaina. Utilizzare il fattore previsto nella colinesterasi in uso.

CON KIT COD: 4053:

Pipettare nelle provette:

RAZIONE	CON INIBITORE	SENZA INIBITORE
Reatt.(A) con Dibucaina	1.5 ml	-----
Reatt.(A) senza Dibucaina	-----	1.5 ml
Campione	5 µl	5 µl

Azzerare lo strumento con acqua distillata.

Agitare, trasferire in cuvetta e dopo incubazione di 30" a +37°C. (T.O"); leggere l'incremento d'estinzione del campione al tempo 0" e dopo 30" Calcolare $\Delta E/\text{min}$ a 405 nm

CALCOLO/FATTORE:

405 nm CHE (U/L) = $\Delta E/\text{min}$ Campione x 22537

Su campioni diluiti 1:2 con soluzione fisiologica, utilizzare un fattore di 45074.

FATTORE DI CONVERSIONE PER LA TEMPERATURA:

Temperature di utilizzo	Fattori di conversione		
	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

$$\text{Numero di Dibucaina} = 100 - \frac{\text{Attività con inibitore}}{\text{Attività senza inibitore}} \times 100$$

VALORI DI RIFERIMENTO (DIBUCAINA):

Soggetti normali	70 - 90%
Soggetti eterozigoti	30 - 70 %
Soggetti omozigoti	0 - 20 %

VALORI DI RIFERIMENTO (COLINESTERASI):

25°C	2590 - 6850 U/L
30°C	2730 - 7780 U/L
37°C	4015 - 10617 U/L

I valori sopra riportati devono essere considerati indicativi, in quanto si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica, secondo il protocollo IFCC.

SMALTIMENTO RIFIUTI:

Il prodotto dev'essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

CONTROLO DI QUALITA':

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del Kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'utilizzo dei sieri di controllo REF.6000(Normale) e REF.6001(Patologico).

BIBLIOGRAFIA:

- 1) King M. Cholinesterase. Klapman A et al. Clin. Chem. The C.V. Mosby Co. St. Louis Toronto. Princeton 1984; 1108-1111.
- 2) Wittaker 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
- 3) Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44, 686, (1986).

PRESTAZIONI DEL METODO: (ANALIZZATORE COBAS MIRA)

I risultati delle prestazioni dipendono dall'analizzatore usato.

INTERVALLO DI MISURA:	7 - 18000 U/L
LIMITE MISURABILE:	7 U/L
SENSIBILITA'	1U/L = 0.0002 $\Delta E/30''$

PRECISIONE NELLA SERIE: n=20

LIVELLO MEDIO	M=3815 U/L	C.V.= 3.5%
LIVELLO ALTO	M=8430 U/L	C.V.= 2.5%

PRECISIONE TRA LE SERIE: n=20

LIVELLO MEDIO	M=3800 U/L	C.V.= 2.53%
LIVELLO ALTO	M=8450 U/L	C.V.= 4.22%
CORRELAZIONE	r = 0.986	n=50
INTERV. MISURATO	3456-9540U/L	
REGRESSIONE LIN.	y = 0.954x - 0.254	n=50

INTERFERENZE: (IN ACCORDO RACCOMANDAZIONI SFBC)

Per una completa valutazione delle sostanze interferenti vedi Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).
Una moderata emolisi non interferisce nei risultati.

LIMITI DEL METODO:

Per concentrazioni superiori a 18000 U/L, ripetere l'analisi su campione diluito 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

