

CHOLINESTERASE CE

REF 1119005

2 x 50 mL

CONTENU

Réactif R1. 2 x 25 mL

Réactif R2. 1 x 2 mL

Réactif R3. 1 x 3 mL

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

CHOLINESTERASE

TOTALE ET INHIBÉE

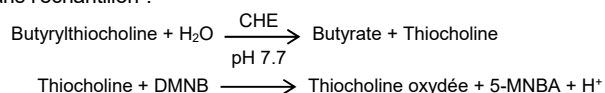
Méthode Enzymatique colorimétrique

CINETIQUE

PRINCIPE

La Cholinestérase (CHE) catalyse l'hydrolyse du substrat butyrylthiocholine en formant le butyrate et la thiocholine. La thiocholine est réduite par l'acide 5,5'-mercaptobis-2-nitrobenzoïque (DMNB) en 5-mercapto-2-nitrobenzoate (5-MNBA), un composé coloré.

La réaction mesurée cinétiquement à 405 nm, par la formation de la coloration jaune produite, est proportionnelle à l'activité de la CHE dans l'échantillon¹.



L'inhibition de la dibucaïne peut être estimée en exécutant des essais concomitants dans lesquels la dibucaïne est présente dans le mélange du substrat. Le pourcentage d'inhibition est évalué par comparaison de l'activité dans le système inhibé avec celle du système sans inhibition. Le nombre de dibucaïne résultant permet classer et de déterminer l'identité de l'homozygote et des variantes de l'hétérozygote.

COMPOSITION DES REACTIFS

- R1** **Tampon/Chromogène.** Tampon Phosphate 50 mmol/L pH 7,7, DMNB 0,25 mmol/L. Poudre.
- R2** **Substrat.** Iodure de Butyrylthiocholine 7 mmol/L. Sec-gelé.
- R3** **Dibucaïne.** Chlorhydrate de Dibucaïne 2,6 mmol/L.

CONSERVATION ET STABILITE

✂ Conserver à 2-8°C.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption.

Conserver les flacons hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière et éviter les contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 405 nm > 0,700 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur contre l'eau distillée.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail.

1. **Tampon/Chromogène.** Ajouter 25 mL d'eau distillée dans le flacon **R1**. Fermer. Secouer. Attendre pendant 15 min. avant d'utiliser. Stable pendant 6 semaines à 2-8°C.
2. **Substrat.** Ajouter 2,0 mL d'eau distillée dans le flacon **R2**. Mélanger. Stable pendant 6 semaines à 2-8°C. Pour une conservation au-delà de 6 semaines le substrat doit être congelé une fois.
3. **Réactif d'inhibition.** Mélanger 9 volumes de Tampon/Chromogène à 1 volume de **R3**.

ECHANTILLONS

Sérum, plasma sur EDTA ou héparine. Une hémolyse modérée n'interfère pas.

La Cholinestérase dans sérum ou plasma est stable pendant plusieurs semaines si l'échantillon est stocké à température ambiante ou sous réfrigération, et pendant 3 mois à -20°C.

INTERFERENCES

- La Lipémie (intralipides), 20 g/L n'interfère pas.
- La Bilirubine, 40 mg/dL n'interfère pas.
- L'Hémoglobine, 16 g/L n'interfère pas.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer⁴⁻⁵.

MATRIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou colorimètre avec compartiment de mesure thermostable à 25/30/37°C, capable de lire à 405 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimant.
- Cuvettes de 1-cm de trajet optique.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Préincuber les réactifs de travail, les échantillons et contrôles à la température de réaction (Voir Notes).
2. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
3. Pipeter dans des cuves:

Température	25/30°C		37°C	
Traitement	Sans inhibiteur	Avec inhibiteur	Sans inhibiteur	Avec inhibiteur
Tampon/chromogène	1,5 mL	—	1,5 mL	—
Réactif d'inhibition	—	1,5 mL	—	1,5 mL
Echantillon	10 µL	10 µL	—	—
Echantillon dil 1:2 avec l'eau physiologique	—	—	10 µL	10 µL
Substrat	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL

4. Mélanger doucement par retournements. Mettre la cuve dans le compartiment de lecture de l'appareil, démarrer le chronomètre et lire l'absorbance initiale.
5. Répéter les lectures d'absorbances exactement après 30, 60 et 90 secondes.
6. Calculer la différence entre les absorbances.
7. Calculer la moyenne des différences d'absorbances et en déduire la variation moyenne d'absorbances par seconde ($\Delta A/30$ sec).



CALCULS

Cholinestérase totale

$$U/L = \Delta A / 1 \text{ min} \times 23111 \text{ (37°C)}$$

$$U/L = \Delta A / 30 \text{ sec} \times 46222 \text{ (37°C)}$$

$$U/L = \Delta A / 30 \text{ sec} \times 23111 \text{ (25/30°C)}$$

Les échantillons ayant une $\Delta A/\text{min}$ supérieures à 0,250 à 405 nm doivent être dilués dans la proportion de 1:10 avec le sérum physiologique, puis refaire l'analyse. Multiplier les résultats obtenus par 10.

Pour exprimer les résultats en unités SI, appliquer:

$$U/L \times 16.67 = \text{nkat/L}$$

Cholinestérase inhibée

Pour exprimer le nombre de dibucaïne appliquer:

$$\text{Pourcentage inhibition} = \left[1 - \frac{U/\text{mL avec inhibiteur}}{U/\text{mL sans inhibiteur}} \right] \times 100$$

VALEURS DE REFERENCE

Cholinestérase totale³

Sérum, plasma

Enfants Hommes et femmes > (40 ans)	3,5-8,5 KU/L (58,3-141,7 $\mu\text{kat/L}$)
Femmes, (16-39 ans) Non enceintes, ne prenant pas de contraceptifs	2,8-7,4 KU/L (46,7-123,3 $\mu\text{kat/L}$)
Femmes, (18-41 ans) Enceintes et prenant des contraceptifs	2,4- 6,0 KU/L (40,0-100,0 $\mu\text{kat/L}$)

Cholinestérase inhibée

Nombre de Dibucaïne	Pourcentage d'inhibition
Homozygotes normaux	70-90
Hétérozygotes	35-75
Homozygotes Atypiques	0-20

CONTROLE DE QUALITE

Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Évalué comme niveau normal de cholinestérase.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Évalué comme niveau élevé de cholinestérase.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont en dehors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

La cholinestérase du sérum (CHE) a été référée comme la pseudo cholinestérase pour la distinguer de la vraie acétylcholinestérase (AcCHE) des cellules rouges et des tissus nerveux. Les valeurs de la Cholinestérase dans sérum sont utilisées comme test hépatique indicateur d'un possible empoisonnement par un insecticide et d'identification des malades avec formes atypiques de l'enzyme.

Comme test de mesure de la fonction hépatique, il paraît s'ajouter comme un petit plus dans les tests de laboratoire communément utilisés. La CHE est un paramètre sensible dans la détection de l'empoisonnement par inhalation ou contact avec des composés phospho-organiques inhibant l'activité de la cholinestérase. Parmi eux on retrouve beaucoup d'insecticides organiques comme le Parathion, le Sarin et le tetraethylpyrophosphate⁴.

Le contrôle génétique de l'activité de la CHE sérique a une importance pratique. Deux formes de CHE sont connues. L'une appelée « Normal » et l'autre « Atypique ». Les Individus homozygotes pour le gène « atypique » peuvent être facilement distingués des individus homozygotes du gène « normal ». Chez l'homozygote anormal les valeurs de la CHE sont basses et la CHE n'est pas inhibée par la dibucaïne. L'homozygote normal a des valeurs de CHE sérique plus élevées, inhibée par la dibucaïne, cependant l'hétérozygote a des valeurs intermédiaires de CHE restant sans de réponse aux inhibiteurs. Cette distinction a de d'importance clinique quant à la l'administration de myorelaxants (Succinylcholine). En effet, les sujets homozygotes anormaux peuvent développer une apnée prolongée après avoir reçu le succinylcholine.

NOTES

1. Le **Tampon/Chromogène** et le **Substrat** peuvent être proportionnellement mélangés dans les tests ou analyseurs utilisant le sérum comme starter. Le mélange est stable pendant 2 heures à 15-25°C.
2. Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
3. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

ANALYTICAL PERFORMANCE

- **Limite de détection:** 244 U/L
- **Linéarité :** Jusqu'à 10000 U/L
- **Précision:**

KU/L	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	5,11	8,01	5,11	8,01
SD	0,04	0,106	0,091	0,227
CV%	0,79	1,36	1,78	2,84
N	10	10	10	10

- **Sensibilité :** 0,08 mA/min/ U/L de cholinestérase.

- **Corrélation:** Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:
N = 50 r = 0,995 y = 0,987 x – 0,005

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

BIBLIOGRAPHIE

1. Knedel, M. y Böttger. Klin. Wschr. 45 : 325 (1967).
2. Poppe, W.A. and Tritsler. J. Clin. Chem. Biochem. 21 : 381 (1983).
3. Clinical Chemistry. Kaplan, L.A. y Pesce, A.S. The C.V. Mosby Co. 3rd Ed. (1996).AACC
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3th Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA.1995.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed Press, 2000.

B1119-3/0901
R1.fr

