

## الجلسة العملية الثامنة

### قياس نشاط انزيم الاسيتيل كولين استراز في الدم

ان قياس نشاط ChE في الدم يفيد في تشخيص و مراقبة التسممات بمبيدات الحشرات الفوسفورية العضوية و الكاربامات و غازات الاعصاب مثل السارين

هذه المركبات تثبط ChE الحقيقية ( توجد في الكريات الحمراء و النسيج العصبي ) , و الكاذبة ( توجد في البلازما ) و تثبيط الانزيمين يكون بدرجات متفاوتة حسب المبيد الفوسفوري العضوي , و ذلك يؤدي الى تراكم الاسيتيل كولين في مستوى الجهاز العصبي المركزي , و الجملة نظيرة الودية , و على مستوى الصفائح المحركة للعضلات المخططة . التسمم بمثبطات الكولين استراز يبدي انخفاضاً في مستوى الكولين استراز الدموية , و يلاحظ ذلك عند العمال الزراعيين الذين يستعملون تلك المبيدات , اذ يمكن أن نلاحظ نقص في نسبة نشاط الكولين استراز قد يتجاوز 40% و اذا زاد النقص عن 50-60% يجب ابعاد الشخص عن عمله .

farmers

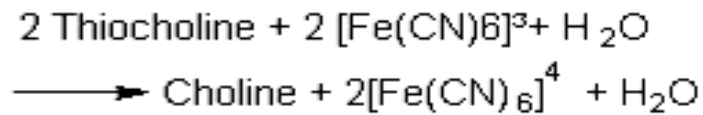
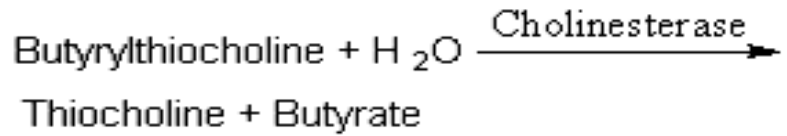
| Interpretation | Cholinesterase levels (units / ml.)* |
|----------------|--------------------------------------|
| Normal         | ≥ 100                                |
| Safe           | 87.5-99.9                            |
| Risky          | 75-87.4                              |
| Unsafe         | <75                                  |

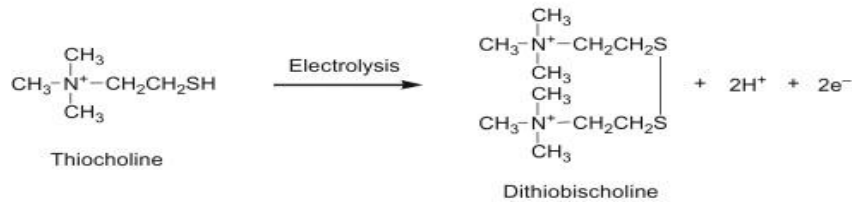
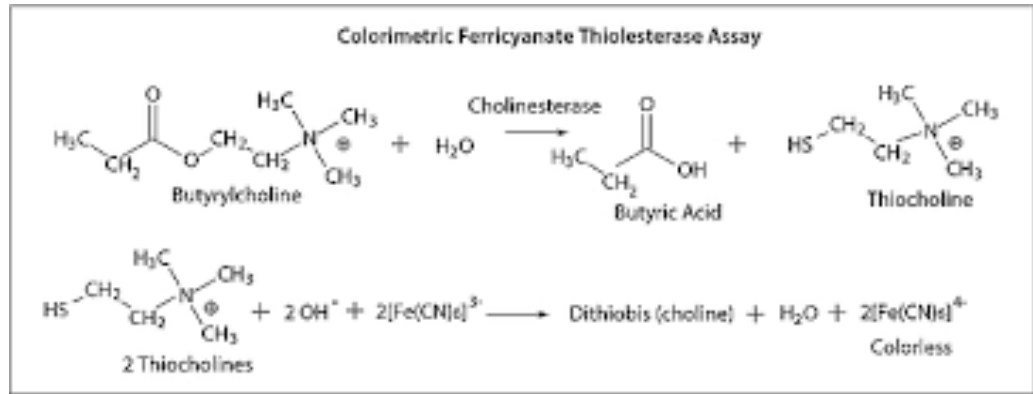
طرق المعايرة :

الطريقة الاولى :

تعتمد على :

- اضافة الدم الذي يحتوي على الأسيتيل كولين استراز الى محلول يحوي بوتيريل ثيوكولين ( R1 )
- يتحلل البوتيريل ثيوكولين الى ثيوكولين و بوتيريك اسيد
- يفاعل الثيوكولين مع شوارد هيكساسيانوفيرات في وسط قلوي ليعطي الكولين ( R2 )
- يكون الناتج بلون أصفر له امتصاصية عند طول موجة 405 نانومتر , و كثافة هذا اللون تتناسب طرذا مع نشاط الكولين استراز المراد تحديد فعاليتها في الدم المفحوص .





الكواشف :

## REAGENT COMPOSITION

### Reagent 1:R1

Pyrophosphate pH 7.6 ≤ 77 mmol/L

Potassium

Hexacyanoferrate (III) ≤ 2.4 mmol/L

### Reagent 2:R2

Butyrylthiocholine ≤ 18 mmol/L

**Sensitivity (LOD):** The lower limit of detection is 40 U/L

العينة :

Sample : Serum or Heparin plasma

Linearity : 50 U/L - 25000 U/L

- يتم جمع عينة الدم في انبوب يحوي هيبارين
- يتم الحضان بدرجة حرارة 37 ( ضمن الكف )

## SAMPLE

Serum and heparin plasma are collected by standard procedures.

Specimens should be protected from direct exposure to light. Samples are stable for 15 days at 2-8°C.

## TEST PARAMETERS

Method : Kinetic

Wavelength : 405 nm

Temperature : 37°

طريقة العمل :

## REAGENT PREPARATION

Working reagents are stable at 2-8°C in case of closed vials and avoiding contamination after preparation.

For manual working procedures; if working reagent will be used; shake the Reagent 2 vial gently before pouring its contents into the Reagent 1 bottle. It is advisable to wash the Reagent 2 vial with a small volume of the prepared mixture in order

او يمكن اتباع ما يلي :

- يضاف الى 10 ميكروليتر من الدم 500 ميكروليتر من الكاشف R2
- يحضن لمدة 5 دقائق
- ثم يضاف 100 ميكروليتر من الكاشف R1 و يحضن لمدة دقيقة واحدة
- تؤخذ الامتصاصية عند طول موجة 405 نانومتر ( A0 )
- تؤخذ الامتصاصية ثلاث مرات أخرى بفوارق زمنية 60 ثانية و تحدد ( A1,A2,A3 )
- يلاحظ أن الامتصاصية تتناسب طرذا مع الزمن
- تحسب الفعالية الانزيمية كما يلي :
- $$(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1) + (A_1 + A_0) / 3 = A$$
- فعالية الكولين استراز ( وحدة دولية / ل )  $A \cdot F =$
- حيث F هو عامل الفعالية و يقدر في درجة حرارة 37  $65800 \text{ U/L} =$

## CALCULATION

$$\Delta A / \text{Min} \times 65800 = \text{Che Activity in U/L}$$

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The test has been developed to determine CHE activities.

**Low linearity:** 50 U/L

**High Linearity:** The method is linear up to up to 25000 U/L.

If these values are exceeded the sample should be diluted 1+5 with NaCl solution (9 g/L) and results multiplied by 6.

بعض المخابر تقول بانه يكون التفاعل خطي حتى قيمة فعالية للكولين استراز 32900 U/L , فاذا كانت القيمة اكبر يجب تمديد العينة بكلوريد الصوديوم محلول 0.9% ( 3+1 ) و يضرب الناتج ب 4 .

## REFERENCE INTERVAL (NORMAL VALUES)\*

Women 3930 U/L 10800 U/L

Men 4620 U/L 11500 U/L

## NOTES

1. For in vitro diagnostic use only. Do not pipette by mouth. Avoid contact with skin and mucous membranes.
2. All the calibrators and controls must be considered as human & animal sample, so potentially infectious; all the protection actions must be applied to avoid any potential biological risk.
3. Material safety data sheet will be supplied on request.
4. Exercise the normal precautions required for handling laboratory reagents.
5. Caps of the reagents bottles cannot be used between two different kind of reagent and between R1&R2.
6. Reagents with different lot numbers should not be interchanged or mixed.

### الطريقة الثانية : ( معقد لوني )

يتم قياس الفعالية الانزيمية على مرحلتين :

- حلمهة الاسيتيل كولين بواسطة كولين استراز الدم

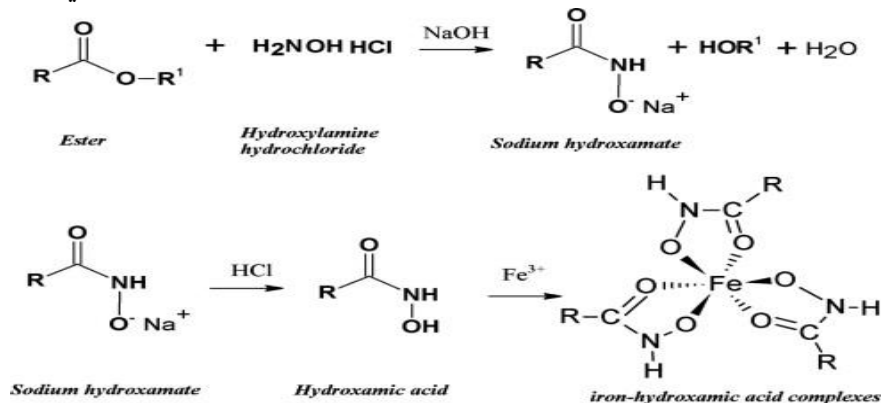
- ثم معايرة لونية لزيادة الأسيتيل كولين غير المتحللة

هذه الطريقة تعتمد على تشكيل معقد صوديومي لحمض الاسيتيل هيدروكساميك ( ينتج من تفاعل زيادة الاسيتيل كولين مع الهيدروكسيلاتمين في وسط قلوي ) , يعطي معقد ذو لون احمر بنفسجي عند تفاعله مع فوق كلور الحديد في وسط حمضي . اللون الناتج يتناسب مع كمية الاسيتيل كولين المتبقية و هو قابل للمعايرة لونية , فكلما كانت كمية الاسيتيل كولين الزائدة كبيرة كلما نقص نشاط او فعالية الكولين استراز ( شدة اللون تتناسب عكسا مع فعالية الكولين استراز )

أسيتيل كولين + هيدروكسيلاتمين ← صوديوم اسيتيل هيدروكساميك ( يتم في وسط قلوي )

صوديوم اسيتيل هيدروكساميك ← اسيتيل هيدروكساميك ( وسط حمضي )

اسيتيل هيدروكساميك + فوق كلور الحديد ← معقد احمر بنفسجي



يمكن تعريف فعالية الكولين استراز : هو عدد المولات من الاسيتيل كولين التي تختفي في الاخيدة خلال حضانها فترة من الزمن بوجود 50 ميكروليتر من الدم .  
التداخلات :

- السوائل المستخدمة في التفاعلات
- المعالجة بالاستروجينات و مانعات الحمل الفموية
- الحمل
- بعض الادوية يمكن أن تنقص من الفعالية مثل ( الاتروبيين , الكافيين , الكوديين , كبريتات المورفين )

#### القيم الطبيعية :

|                  |                |                                              |
|------------------|----------------|----------------------------------------------|
| 3900-10800 U/L   |                | البالغين ( رجال )                            |
| 4600 – 11500 U/L |                | البالغين ( نساء )                            |
| 4300 – 11200 U/L | 39-16 سنة      | نساء غير حوامل<br>أو لا تتناول مانع حمل فموي |
| 3600 – 9100 U/L  | 40-18 سنة      | نساء حوامل<br>أو تتناول مانع حمل فموي        |
| 5300 – 12900 UL  | أكبر من 40 سنة | نساء أو رجال                                 |
| 5300 – 12900 UL  |                | أطفال                                        |

## This image shows a blank sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and extend across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.