

 DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTIÓN DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 1 de 6

1. OBJETIVO

Describir las etapas para la determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en suero y plasma para la vigilancia epidemiológica de plaguicidas organofosforados y carbamatos por el método cinético en el Laboratorio de Salud Pública Departamental del Córdoba.

2. DEFINICIONES

- **ACETILCOLINESTERASA:** enzima que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina, el neurotransmisor de la sinapsis neuromuscular a nivel central de la memoria y de muchas sinapsis interneuronales, a colina y acetato terminando así la acción del neurotransmisor liberado a la hendidura sináptica.
- **CARBAMATOS:** derivados del ácido carbónico, actúan sobre la acetilcolinesterasa por carboxilación de forma reversible.
- **MÉTODO CINÉTICO:** método cuya señal analítica está determinada por la velocidad de una reacción que involucra al analito o por un proceso en estado no estacionario, como resultado la concentración del analito cambia durante el tiempo que monitoreamos la señal.
- **MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO (MRC):** material de referencia acompañado de un certificado cuyo valor de las propiedades es certificado por un procedimiento que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual los valores de propiedad son expresados y para la cual cada valor certificado está acompañado de una incertidumbre aun nivel de confiabilidad indicado. (Fuente: OAE G04 R00).
- **ORGANOFOSFORADOS:** sustancias clasificadas químicamente como ésteres de derivados del ácido fosfórico utilizadas como plaguicidas, actúan sobre la acetilcolinesterasa fosforilándola de forma irreversible, perdiendo actividad sobre la acetilcolina que se acumula en la hendidura sináptica y sobrestimando al SNC.

3. RESPONSABLE

El responsable de ejecutar el procedimiento es el profesional especializado del programa de plaguicidas del Laboratorio de Salud Pública Departamental adscrito a la Secretaría de Desarrollo de la Salud.

4. GENERALIDADES O POLÍTICAS DE OPERACIÓN:

- El método enzimático butiriltiocolina. La colinesterasa cataliza la hidrólisis de la butiriltiocolina en tiocolina y ácido butírico. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de desaparición del hexacianoferrato (III), medida a 405 nm.

 DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTIÓN DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 2 de 6

- **Tipo de muestra:** las muestras de suero o plasma recogidos con anticoagulante heparina, EDTA mediante procedimiento estándar. La colinesterasa en suero o plasma es estable durante 14 días a 2-8°C y 6 meses a -20°C.
- **Manejo de reactivos:** Reactivo A y B listos para uso. Una vez abiertos los reactivos deben manejarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminaciones químicas o microbianas.
- **Equipos:** equipo espectrofotómetro con cubeta termo estabilizada a 37°C para lecturas a 405 nm, micropipeta de volumen variable de 10 a 100 µL, micropipeta de volumen variable de 100 a 1000 µL, termómetro y/o termohigrómetro, refrigerador-Congelador, micro espátula, balanza analítica y cronómetro.
- **Materiales:** Celdas ópticas de 1cm de paso de luz, Gradilla para tubos de ensayo, Frasco lavador de 250 ml, Tubos de ensayo de vidrio de 13 x 100 mm, Puntas para micropipeta de 100 a 1000 µL, Puntas para micropipeta de 10 a 100 µL, Tubos con vacío para extracción de sangre.
- **Materiales de referencia certificado (MRC):** material de Referencia Certificado de plaguicida OF y/o C, Inhibidor de la Colinesterasa.
- **Control de calidad.** Control positivo NIVEL 1: COD 18042 Y NIVEL 2 COD 18043 listo para uso. Establecer un control de calidad propio con sangre de un individuo normalmente sano con adición de plaguicida. Control negativo: Sangre de un individuo normalmente sano no expuesto a plaguicidas.
- **Interferencias:** concentraciones de bilirrubinas hasta 20 mg/dl, hemoglobina hasta 200mg/dl y triglicéridos hasta 1200mg/dl no producen interferencia significativa.

5. CONTENIDO

No.	DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES	RESPONSABLE	DOCUMENTOS Y REGISTROS
1	Leer detenidamente las instrucciones de la casa matriz del reactivo a utilizar y verificar el certificado de análisis del lote de reactivo a utilizar.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Documentos: Certificado de análisis e instrucciones de reactivos Formato de control de condiciones ambientales Formato de control de temperatura de neveras
2	Permitir que el reactivo alcance la temperatura ambiental y vaciar el contenido del reactivo B en el frasco del reactivo A, agitar suavemente.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	No aplica

 <p>DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA</p>	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTION DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 3 de 6

No.	DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES	RESPONSABLE	DOCUMENTOS Y REGISTROS
	Nota: si se desea cambiar la proporción mezclar 4 ml del reactivo A + 1 ml de reactivo B en un recipiente limpio y con tapa. El reactivo de trabajo es estable por 3 días de 2-8°C.		
3	Preparar el material de referencia (Solución Patrón de plaguicida OF y/o C con una concentración 0.061 % (P/V)), al emplear un vaso de precipitado de 5-10 ml y una micro espátula.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de preparación de reactivos
4	Pesar en la balanza analítica la cantidad necesaria de Material de Referencia Certificado (Plaguicida Organofosforado y/o Carbamato), teniendo en cuenta la concentración y pureza del MRC de partida.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de preparación de reactivos
5	Disolver adicionando un poco de etanol grado analítico al Material de Referencia Certificado de Plaguicida pesado anteriormente en la balanza analítica.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de preparación de reactivos
6	Trasferir a un balón aforado de volumen específico (10 mL), y adicionar etanol hasta la marca de graduación o aforo para obtener la concentración final esperada de 0,061% (p/v).	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de preparación de reactivos
7	Homogenizar por inversión suave por 50 veces aproximadamente.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de preparación de reactivos
8	Establecer un control de calidad propio con sangre de un individuo normalmente sano (no expuesto a plaguicidas de tipo OF y/o C con 100% de actividad de la acetilcolinesterasa).	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de control de técnicas
9	Homogenizar el control suavemente en un vortex para evitar la formación de burbujas y por ende la incorporación de CO ₂ . Adicionar estándar de plaguicida. El resultado de las lecturas debe oscilar entre 25% y 50% en metodología Lovinbond. NOTA: Este control positivo es estable por dos meses. Control negativo: Sangre de un individuo normalmente sano (no expuesto a plaguicidas de tipo OF y/o C con 100% de actividad de la acetilcolinesterasa) sin adición de plaguicida y lecturas de 100% en métodos Lovinbond.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de control de técnicas

 DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTION DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 4 de 6

No.	DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES	RESPONSABLE	DOCUMENTOS Y REGISTROS
10	Precalentar el reactivo de trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción (37°C).	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
11	Pipetear en una cubeta con capacidad de 2 ml. Agregar 1,5 ml de reactivo de trabajo y dispensar 25 ul de muestra. Procesar las muestras antes de dos horas.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
12	Mezclar e insertar la cubeta en el espectrofotómetro, poner el cronometro en marcha, a los 90 segundos anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas las lecturas cada 30 segundos, durante 90 segundos.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
13	Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio (DA/min).	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
14	Procesar los controles y el material de referencia en las mismas condiciones que las muestras.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
15	<p>Calcular la concentración de colinesterasa en la muestra, se debe calcular a partir de la siguiente fórmula general:</p> <p>El coeficiente de absorción molar (e) del cromógeno a 405 nm es 927, el paso de luz (l) es 1 cm, el volumen total de reacción (Vt) es 1,525, el volumen de muestra (Vs) es 0,025, y 1 U/L equivale a 0,0166 µkat/L. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:</p> $V \text{ A/min} \times 65804 = U/l$	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios
16	Evaluar los resultados obtenidos y correlacionarlos con los valores de referencia del inserto del reactivo o los que el laboratorio establezca para la población de hombres y mujeres analizada.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	Registro: Formato de datos primarios Informe de resultados

 <p>DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA</p>	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTION DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 5 de 6

No.	DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES	RESPONSABLE	DOCUMENTOS Y REGISTROS
17	<p>Realizar la verificación secundaria teniendo en cuenta las características metrológicas del método declarados por el fabricante y un tamaño de muestra entre 20 y 25 muestras. Determine repetibilidad, reproducibilidad y veracidad.</p> <p>Nota: La calidad de las muestras seleccionadas es más importante que la cantidad (se prefiere pocas muestras en concentración clínicamente relevante a tener muchas muestras agrupadas en concentraciones sin interés clínico).</p>	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	<p>Registro:</p> <p>Informe de validación</p>
18	Realizar informe de validación para métodos cuantitativos, según recomendaciones de contenido y frecuencia norma CLSI EP 15-A para verificación secundaria de métodos e instrucciones del inserto de reactivos.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	<p>Documentos:</p> <p>Norma CLSI EP 15-A</p> <p>Instrucciones del lote de reactivos.</p> <p>Registro:</p> <p>Informe de validación</p>
19	Actualizar la base de datos con la información recopilada en las actividades.	Profesional especializado (equipo de plaguicidas)	<p>Registro:</p> <p>Base de datos</p>
20	Organizar el expediente documental de acuerdo con las tablas de retención documental. Se deberán anexar la totalidad de evidencias en todos los medios de almacenamiento.	Técnico administrativo (Laboratorio de salud pública departamental)	<p>Registro:</p> <p>Archivo</p>
21	Identificar y documentar las acciones de mejora conforme al procedimiento establecido en el Sistema de Gestión de la Calidad – SGC (cuando aplique).	Profesional especializado (Laboratorio de salud pública departamental)	<p>Registro:</p> <p>Acciones de mejora documentadas</p>

6. NORMATIVIDAD

- Resolución 1646 del 2018: por medio del cual se definen los exámenes de interés en salud pública y Anexo técnico N° 1.
- Decreto 1843 de 1991 por el cual se reglamenta los títulos III V VI VII Y XI DE la ley 9 de 1979, norma completa.
- NTC-ISO-IEC 17025:2017, norma completa.

 DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA	PROCEDIMIENTO	CÓDIGO: GDS-P107
	DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SUERO O PLASMA POR METODOLOGÍA CINÉTICA	VERSIÓN: 1
	PROCESO DE GESTION DEL DESARROLLO SOCIAL	FECHA: 26/12/2023
		PÁGINA 6 de 6

- CLSI EP15-A3

7. CONTROL DE CAMBIOS

Versión	Descripción del cambio	FECHA
01	Se crea documento para la determinación de colinesterasa en suero o plasma por metodología cinética.	26/12/2023

Elaborado por: Francisca López Diz, Maireth Gómez Negrete – Valentina Jiménez Barrios Cargo: Profesionales especializados - Contratista	Revisado por: Luis Fernando Pupo Cargo: Secretario de Desarrollo de la Salud.	Aprobado por: Camilo Mejía Padilla Cargo: Director Departamento administrativo de Planeación
---	---	---