

# COLINESTERASE

## MÉTODO

Enzimático Cinético (DGKC).

## FINALIDADE

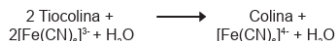
Reagentes para a determinação da atividade enzimática da colinesterase em amostras de soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

## FUNDAMENTO

Sobre a ação catalítica de Colinesterase, a Butirilcolina é hidrolisada em Tiocolina e Butirato:



A Tiocolina reduz o Hexacianoferrato (III), amarelo, em Hexacianoferrato (II), incolor. O decréscimo da absorvância é medido a 405 nm.



## SIGNIFICADO CLÍNICO

A colinesterase é uma enzima com a função de catalisar a hidrólise da acetilcolina e outras colinas, regulando a transmissão do impulso nervoso na sinapse do nervo e na junção neuromuscular. Dois tipos de colinesterase são determinados: acetilcolinesterase (colinesterase verdadeira) e pseudocolinesterase. Enquanto a acetilcolinesterase (acetil colina hidrolase) é encontrada nas hemácias e terminações de nervos colinérgicos, a pseudocolinesterase (butirilcolinesterase) encontra-se no plasma, fígado, músculo liso e adipócitos. A colinesterase sérica é também denominada de pseudocolinesterase e a sua dosagem é de grande valor para o diagnóstico de pacientes com a forma atípica da enzima e em intoxicações por inseticidas organofosforados.

**Valores diminuídos:** São encontrados nas seguintes situações: no envenenamento por inseticidas organofosforados, doença hepatocelular, desnutrição, infecções agudas, embolismo pulmonar, distrofia muscular e infarto do miocárdio.

## IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO

Conservar entre 2 e 8°C.

### Reagentes

**BUF** – Tampão: Pirofosfato < 200 mmol/L e Hexacianoferrato de potássio ≥ 10 mmol/L, estabilizantes e conservantes.

**SUB** – Substrato: Butirilcolina < 100 mmol/L, tampão < 30 mmol/L, estabilizantes e conservantes.

### PREPARO DO REAGENTE DE USO

Os reagentes estão prontos para uso.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso. Manter ao abrigo de luz e evitar umidade. Não congelar. Condições de armazenamento após abertura: conservar entre 2 a 8 °C.

### TRANSPORTE

O transporte em temperaturas até 30°C não deverá exceder 5 dias.

### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original

### PRECAUÇÕES

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas com materiais potencialmente infectantes.
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

### AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Tipo de amostra: SORO, PLASMA (heparina ou EDTA). Não usar amostras hemolisadas e nem com sinais de contaminação bacteriana. Não utilizar anticoagulantes que contém fluoreto pois há inibição da atividade da colinesterase neste caso. Estabilidade da amostra: Soro e plasma são estáveis até 1 semana a temperatura ambiente, 2 semanas entre 2 e 8°C e 6 meses a -20°C.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C)

desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

## MÉTODO DE ANÁLISE

### A. Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda 405 nm

Temperatura: 37°C

Tipo de reação: Cinética contínua decrescente

### B. Procedimento de teste:

	Branco	Amostra
Amostra	---	10 µL
Água Destilada	10 µL	---
Tampão <b>BUF</b>	400 µL	400 µL
Homogeneizar e incubar durante aproximadamente 3 minutos a 37°C.		
Substrato <b>SUB</b>	100 µL	100 µL

Homogeneizar novamente, incubar por exatamente 2 minutos em uma cubeta termostabilizada a 37°C e realizar a leitura em absorvância (405nm). Disparar o cronômetro e repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Desde que sejam observadas as limitações de cada equipamento, os volumes de amostras e reagentes podem ser modificados proporcionalmente sem prejudicar o desempenho do teste.

### CÁLCULOS

Considerando caminho óptico de 1cm e a temperatura de reação 37°C, o cálculo será:  $\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min da Amostra}] - [\Delta A/\text{min do Branco}]$   
Atividade (U/L) =  $\Delta A/\text{min} \times 62000$

### Cálculos através do Fator Teórico

Calcular o decréscimo médio de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$  médio) e usar este valor para o cálculo da atividade da Colinesterase na amostra.

U/L de Colinesterase (CHE) em 405 nm =  $\Delta A/\text{minuto}$  médio  $\times$  74400

Onde:  $\Delta A/\text{min}$  = Variação média da absorvância por minuto

O fator 74400 é calculado com base nas condições da reação cinética contínua.

Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação. Ver método para cálculo do fator.

### Exemplo

Se  $\Delta A/\text{minuto}$  médio do teste = 0,129

Atividade CHE em U/L =  $\Delta A$  teste  $\times$  74400

Atividade CHE = 0,129  $\times$  74400 = 9597 U/L

### Cálculo do Fator

$$\text{Fator} = \frac{Vt \times 1000}{\epsilon \times Va \times d}$$

Vt = volume total do ensaio = 1270 µL

Va = volume da amostra = 20 µL

1000 = conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

$\epsilon$  = Coeficiente de absorvabilidade milimolar do cromógeno em 405 nm e na via de luz de 1 cm = 0,853

Fator =  $\frac{1270 \times 1000}{0,853 \times 20 \times 1}$  = 74400

Fator = 74400

### C. Técnica de Análise com calibrador **STD**

#### Notas

1. Utilizar o calibrador **STD** não incluso no kit.

Ver Instruções de Uso e valor tabelado para Colinesterase.

2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

### Dosagem do Calibrador e do Teste

**1. Calibrador:** Pipetar em uma cubeta ou tubo:

400 µL de Tampão (1) + 10 µL de calibrador.

**2. Teste:** Seguir o mesmo procedimento da Técnica de Análise sem Calibrador (Item B).

### Cálculos através do Fator de Calibração Experimental

Calcular o decréscimo médio de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$  médio) do Teste e do Calibrador e usar os valores para o cálculo da atividade da Colinesterase na amostra.

Ver Linearidade.

$\Delta A/\text{minuto}$  médio = Variação média da absorvância por minuto.

AC = Atividade de CHE do Calibrador = (Verificar o valor de CHE na tabela do Calibrador)

AT = Atividade de CHE do Teste em U/L =  $\Delta A/\text{minuto}$  do Teste  $\times$  FC

FC = Fator de Calibração =  $AC \div \Delta A/\text{minuto}$  médio do Calibrador

### Exemplo

Se  $\Delta A/\text{minuto}$  médio do Calibrador = 0,055

Se  $\Delta A/\text{minuto}$  médio do Teste = 0,044

Se AC = 3670 U/L (Valor de CHE na tabela do Calibrador)

FC =  $AC \div \Delta A/\text{minuto}$  médio do Calibrador =  $3670 \div 0,055$  = 66727

AT = Atividade de CHE do Teste em U/L =  $\Delta A/\text{minuto}$  médio do Teste  $\times$  FC

AT = Atividade de CHE do Teste em U/L =  $0,044 \times 66727$  = 2936 U/L

### Conversão de Unidades

Unidade Convencional (U/L) x 0,0167 = Unidade SI (Kat/L)

### CALIBRAÇÃO

Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A estabilidade de calibração do kit Colinesterase instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 21 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:

- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

### VALOR DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Colinesterase em populações sadias do sexo masculino e feminino.

**Homens:** 4620 - 11500 U/L

**Mulheres:** 3930 - 10800 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

### CONTROLE DE QUALIDADE

Todo soro controle contendo valores determinados para o método cinético-colorimétrico para a colinesterase pode ser empregado.

### AUTOMAÇÃO

Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

#### Exatidão

O kit Colinesterase foi comparado com outro método para dosagem de Colinesterase comercialmente disponível. Foram realizadas 40 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi  $Y = 1,0028X - 170,85$  e o coeficiente de correlação 0,9964. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

#### Precisão

##### Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	2464,27	8602,94	3561,00
Desvio Padrão (U/L)	13,88	114,28	32,90
Coefficiente de Variação (%)	0,56	1,33	0,92

##### Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	2419,81	8400,17	3506,55
Desvio Padrão (U/L)	43,80	224,10	66,36
Coefficiente de Variação (%)	1,81	2,67	1,89

#### Sensibilidade

O limite mínimo de detecção é 50 U/L.

#### Linearidade

A reação é linear até 20000 U/L.

#### Interferências

Não produz interferência significativa: Ácido Ascórbico até 30 mg/dL, Bilirrubina até 45 mg/dL, Hemoglobina até 1000 mg/dL e lipemia até 1400 mg/dL equivalentes de Triglicérides. Em casos raros, amostras de pacientes com gamopatias podem apresentar resultados falsos.

### APRESENTAÇÃO DO KIT

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
06430-1	BUF	1 x 24 mL	60
	SUB	1 x 6 mL	
611	BUF	1 x 24 mL	Varia de acordo com o equipamento
	SUB	1 x 6 mL	

### BIBLIOGRAFIA

1. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed – Guanabara Koogan SA; 1998.
2. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico - Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte - Analisa Diagnóstica, 2000.
3. Mota VT. Bioquímica Clínica: Métodos e Interpretações. Porto Alegre, Ed. Médica Missau. 1999: 147-152.
4. Okabe H. et al. New enzymatic assay of cholinesterase activity. Clin Chim Acta 80: 87-94, 1977.
5. Panteghini M and Bonora R. Evaluation of a new continuous colorimetric method for determination of serum pseudo-cholinesterase catalytic activity and its application to a centrifugal fast analyser. J Clin Chem Biochem 22: 671-676, 1984.

6. Whittaker M et al. Comparison of a commercially available assay system with two reference methods for the determination of plasma cholinesterase variants. Clin Chem 29: 1746-1751, 1983.

7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPress, 1997.

### DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.

Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

**Fabricado e Regularizado por:** In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460549 Classe de Risco: II

### SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a 2 – 8°C)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação