



Cholinesterase

Finalidade

Para a determinação de colinesterase em soro ou plasma

Significado clínico

Foi demonstrada a existência de duas colinesterases: uma é a acetilcolinesterase ou colinesterase verdadeira (acetil colina hidrolase, EC.3.1.1.7) que encontra-se nos eritrócitos e terminação dos nervos colinérgicos e a outra, é a butirilcolinesterase ou pseudocolinesterase (EC.3.1.1.8) que encontra-se no plasma, fígado, músculo liso e adipócitos.

A colinesterase do soro ou plasma (Che) ou pseudocolinesterase associa-se às seguintes condições clínicas:

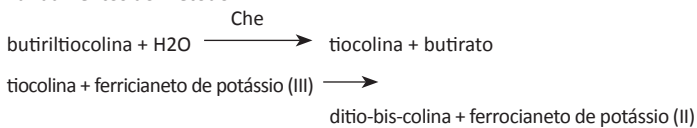
1) Constitui um índice de função hepática, especialmente nas hepatopatias crônicas. Observa-se uma boa correlação entre o aumento de GOT (AST) e a redução da Che, nas hepatites infecciosas.

2) Sua redução indica intoxicação por inseticidas organofosforados, inibidores da Che.

3) Em indivíduos sensíveis à succinilcolina, relaxante muscular ministrado durante a anestesia, observa-se uma apneia post-anestésica prolongada e em alguns casos, fatal. Isto coincide com a presença de uma variante genética da Che ("atípica") que não pode hidrolisar a succinilcolina. Em pessoas normais, a succinilcolina é hidrolisada "in vivo" pela Che, em 1 a 4 minutos, relacionando-se a apneia com baixos níveis da Che total.

Existem métodos de inibição diferencial que permitem detectar sujeitos portadores de colinesterase atípica.

Fundamentos do método



Reagentes fornecidos

A. Reagente A: tampão pirofosfato 73 mM, ferricianeto de potássio (III) 2,4 mM, pH 7,7.

B. Reagente B: solução de tampão de Goods 10 mM, butiriltiocolina 92 mM, pH 4,0.

Reagentes não fornecidos

- Laborcal de Laborlab.
- Solução fisiológica (NaCl 9 g/l)

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos, não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações. Proteger da luz.

Amostra

Soro ou plasma heparinizado ou plasma com EDTA

a) Coleta: obter soro da maneira habitual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, é recomendável o uso de heparina ou EDTA para sua obtenção.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Pode ser conservada até uma semana sob refrigeração (2-10°C) ou um ano a -20°C, sem o acréscimo de conservantes.

Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 500 mg/l, triglicérides até 14 g/l, e hemoglobina até 1000 mg/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático

Procedimento

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para Cholinesterase em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas.

| | |
|-----------------------|--------|
| Amostra ou Calibrador | 4 ul |
| Reagente A | 150 ul |

Incubação durante 300 segundos a 37°C.

| | |
|------------|-------|
| Reagente B | 30 ul |
|------------|-------|

Incubação durante 120 segundos a 37°C. Leitura de absorbância inicial a 405 nm (A_1). Transcorridos 90 minutos exatamente medidos com cronômetro, registrar a segunda leitura (A_2). Para obter o resultado de colinesterase em U/l, multiplicar a diferença de absorbância ($\Delta A = A_2 - A_1$) pelo fator.

Calibração

O Laborcal é processado da mesma maneira que as amostras. A partir dele é calculado o fator correspondente. Ingressar o valor de concentração do calibrador quando mudar o lote.

Obtenção do fator de calibração

Exemplo:

Concentração de colinesterase no calibrador: 3843 U/l

A_1 : 0,629

A_2 : 0,550

Δ Absorbância do Calibrador: 0.550 - 0,629 = - 0.079

$$\text{Fator} = \frac{[\text{Colinesterase}]_{\text{Calibrador}}}{\Delta A_{\text{Calibrador}}} = \frac{3843 \text{ U/l}}{- 0.079} = - 48645$$

Amostra

A_1 : 0,365

A_2 : 0.227

Δ Absorbância da amostra: 0.227 - 0,365 = - 0.138

Colinesterase (U/l) = $\Delta A_{\text{Amostra}} \times \text{Factor} = -0,138 \times -48645 = 6688 \text{ U/l}$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2**) com atividades conhecidas de colinesterase, com cada determinação.

Valores de referência

Soro ou plasma

Crianças, homens e mulheres > 40 anos: 5320 - 12920 U/l

Mulheres entre 16-39 anos, que não estejam grávidas nem tomem pílula anticoncepcional: 4260 - 11250 U/l

Mulheres entre 18-41 anos, grávidas ou tomando pílula anticoncepcional: 3650 - 9120 U/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência, levando em consideração sexo, idade, hábitos alimentares, medicação e outros fatores próprios da população.

Conversão de unidades ao sistema SI

Colinesterase (kU/l) = Colinesterase (U/l) x 0,001

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitada, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas.

Recomenda-se utilizar **Laborcontrol 1 e 2** da Laborlab como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida, porque os mesmos são dependentes do método.

Desempenho

a) **Precisão:** processando segundo o protocolo EP15A do CLSI, obtiveram-se os seguintes coeficientes de variação como estimadores da precisão intra-ensaio (CV_i) e total (CV_t):

| Nível | CV_i | CV_t |
|----------|--------|--------|
| 2553 U/l | 1,4% | 1,5% |
| 4283 U/l | 2,8% | 2,5% |
| 6791 U/l | 1,5% | 1,5% |

b) **Limite de detecção:** 70 U/l.

c) **Limite de quantificação:** 262 U/l.

d) **Linearidade:** a reação é linear até 14000 U/l. Para valores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração, deve ser utilizado **Laborcal** da Laborlab.

Apresentação

30 ml:

- 1 x 25 ml **Reagente A**

- 1 x 5 ml **Reagente B**

(Código 1770570)

Referências

- Young D. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, second edition, 1997.
- Young D. and Friedman R. Effects of Disease on Clinical Laboratory Test, editado por AACC, third edition, 1997.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Test, AACC, editado por AACC, fourth edition, 2001.
- Burtis - Ashwood. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, editado por W.B. Saunders Co., fifth edition, United States of America, 2001.
- Bergmeyer H. U. Methods of Enzymatic Analysis, Vol V 3rd. Edition.
- User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP15-A2 Vol. 24 NO.25 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 NO.16 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 NO.19 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 NO.34 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. Cholinesterase (EC 3.1.1.8) mit Butyrylthiocholin-iodid als Substrat: Referenzwerte in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht unter Berücksichtigung hormonaler Einflüsse und Schwangerschaft. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21:381-386.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado na Comunidade Européia

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após da reconstituição

Conteúdo

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibrador

Controle

Controle Positivo

Controle Negativo

Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br