

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:

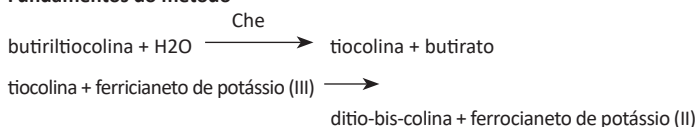
1) Constitui um índice de função hepática, especialmente nas hepatopatias crônicas. Observa-se uma boa correlação entre o aumento de GOT (AST) e a redução da Che, nas hepatites infecciosas.

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 pós-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 à 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, triglicerídeos 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, suas instruções de trabalho 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 segundos 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) = $\Delta A_{\text{amostra}} \times \text{Fator} = -0,138 \times -48645 = 6688 \text{ U/l}$

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.

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

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.



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

Cholinesterase

Fin y uso

Para la determinación de colinesterasa en suero o plasma

Significación clínica

Se ha demostrado la existencia de dos colinesterasas: una es la acetilcolinesterasa o colinesterasa verdadera (acetil colina hidrolasa, EC. 3.1.1.7) que se encuentra en eritrocitos y terminaciones de nervios colinérgicos, y la otra es la butirilcolinesterasa o pseudocolinesterasa (EC. 3.1.1.8) que se encuentra en plasma, hígado, músculo liso y adipocitos.

La colinesterasa del suero o plasma (Che) o pseudocolinesterasa está asociada a las siguientes condiciones clínicas:

- 1) Constituye un índice de función hepática, especialmente en hepatopatías crónicas. Se observa una buena correlación entre el aumento de GOT (AST) y la disminución de Che, en hepatitis infecciosas.
- 2) Su disminución indica intoxicación por insecticidas organofosforados, inhibidores de la Che.
- 3) En algunos individuos sensibles a la succinilcolina, relajante muscular administrado durante la anestesia, se observa una apnea post-anestésica prolongada y en algunos casos, fatal. Esto coincide con la presencia de una variante genética de la Che ("atípica") incapaz de hidrolizar a la succinilcolina. En sujetos normales, esta droga es hidrolizada "in vivo" por la Che, en 1 a 4 minutos, por eso la apnea también se relaciona con bajos niveles de Che total. Existen métodos de inhibición diferencial que permiten detectar a sujetos portadores de colinesterasa atípica.

Fundamentos del método



Reactivos provistos

A. Reactivo A: buffer pirofosfato 73 mM, ferricianuro de potasio (III) 2,4 mM, pH 7,7.

B. Reactivo B: solución de buffer de Goods 10 mM, butiriltiocolina 92 mM, pH 4,0.

Reactivos no provistos

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

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones. Proteger de la luz.

Muestra

Suero o plasma heparinizado o plasma con EDTA

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma como muestra, se recomienda el uso de heparina o EDTA como anticoagulantes para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 500 mg/l, triglicéridos hasta 14 g/l, hemoglobina hasta 1000 mg/dl. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C) o 1 año a -20°C, sin agregado de conservadores.

Material requerido (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático

Procedimiento

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para **Cholinesterase** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador	4 ul
Reactivo A	150 ul

Incubación durante 300 segundos a 37°C

Reactivo B	30 ul
------------	-------

Incubación durante 120 segundos a 37°C. Lectura de absorbancia inicial a 405 nm (A_1). A los 90 segundos exactamente medidos con cronómetro, se registra una segunda lectura (A_2). Para obtener el resultado de colinesterasa en U/l, se multiplica la diferencia de absorbancia ($\Delta A = A_2 - A_1$) por el factor.

Calibración

El **Laborcal** es procesado de la misma manera que las muestras. A partir de él se calcula el factor correspondiente. Ingresar el valor de concentración del calibrador, cada vez que se cambie de lote.

Obtención del factor de calibración:

Ejemplo:

Concentración de colinesterasa en el calibrador: 3843 U/l

A_1 : 0,629

A_2 : 0,550

Δ Absorbancia del Calibrador: 0.550 - 0,629 = - 0.079

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

Muestra

A_1 : 0,365

A_2 : 0.227

Δ Absorbancia de la muestra: 0.227 - 0,365 = - 0.138

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

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2**) con actividades conocidas de colinesterasa, con cada determinación.

Valores de referencia

Suero o plasma

Niños, hombres y mujeres > 40 años: 5320 - 12920 U/l

Mujeres entre 16 y 39 años, no embarazadas y que no toman anticonceptivos orales: 4260 - 11250 U/l

Mujeres entre 18 y 41 años, embarazadas o tomando anticonceptivos orales: 3650 - 9120 U/l

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, teniendo en cuenta sexo, edad, hábitos alimenticios, medición y otros factores propios de la población.

Conversión de unidades al sistema SI

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

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

Se recomienda utilizar **Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

Performance

a) Precisión: basado en el protocolo EP15A del CLSI, se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación como estimadores de la precisión intraensayo (CV_I) y total (CV_T):

Nivel	CV	CV _t
2553 U/l	1,4%	1,5%
4283 U/l	2,8%	2,5%
6791 U/l	1,5%	1,5%

b) Límite de detección: 70 U/l.

c) Límite de cuantificación: 262 U/l.

d) Linealidad: la reacción es lineal hasta 14000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación, consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe utilizarse **Laborcal** de Laborlab.

Presentación

30 ml:

- 1 x 25 ml **Reactivo A**

- 1 x 5 ml **Reactivo B**

(Código 1770570)

Bibliografía

- 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 N° 25, 2004.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- den Blaauwen DH, Poppe WA, Tritschler W. - J Clin Chem Clin Biochem 21:381-386, 1983.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo