COLINESTERASE

MÉTODO:
Enzimático Colorimetrico (DGKC).

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa da atividade da colinesterase em amostras biológicas de soro humano em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A colinesterase se refere a duas enzimas, em bioquímica: acetilcolinesterase (ACHE), também conhecida como colinesterase verdadeira, é encontrada nas hemácias, terminações nervosas e músculo estriados; e, pseudocolinesterase (BCHE), também chamada de colinesterase sérica, butirilcolinesterase, é encontrada no fígado, plasma, pâncreas e intestino delgado. A colinesterase hidrolisa os esteres de colina, como a acetilcolina, um importante neurotransmissor cujas sinapses são reguladas pela ACHE, auxiliando o funcionamento correto do sistema nervoso. Pesticidas da classe organofosforados e carbamatos inibem a ação das colinesterases, provocando acúmulo de acetilcolina e consequente dano neuromuscular. Níveis reduzidos da atividade da colinesterase no soro podem indicar a diminuição da função hepática, um possível envenenamento por pesticidas e diagnosticar pacientes com risco de exposição prolongada ao uso de anestésicos em procedimentos cirúrgicos.

FUNDAMENTO:
A colinesterase (COL) hidrolisa o substrato butiriltiocolina a ácido butírico e tiocolina. A tiocolina, por sua vez, reduz o hexacianoferrato III (amarelo) a hexacianoferrato II (incolor). A diminuição da absorbância a 405 nm é diretamente proporcional à atividade da colinesterase presente na amostra.

$$Butiriltiocolina + H_2O \xrightarrow{COL} Tiocolina + Ácido\ Butírico$$

$$2\ Tiocolina + 2\ OH^- + Fe(CN)_6^{3-} \rightarrow Ditio\text{-}Bis\text{-}Colina + H_2O + Fe(CN)_6^{4-}$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C ao abrigo de luz.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Pirofosfato	≤1	mmol/L
Hexacianoferrato III	≤10	mmol/L
R2:		
Butiriltiocolina	>12	mmol/L
Estabilizantes		

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para o uso e não dependem de preparo.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C. Após aberto, o reagente é estável por até 28 dias se armazenado entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 25 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 07 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

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:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (EDTA, heparina) livres de hemólise.
Não usar citrato, borato, oxalato e fluoreto como anticoagulante pois inibem a atividade da colinesterase.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A amostra de soro pode ser armazenada por até 7 dias entre 2 e 8 °C ou 1 ano a -20 °C.
Descartar amostras contaminadas.

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	50 mg/dL
Bilirrubina	50 mg/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda primário (λ): 405 nm.
Comprimento de onda secundário (λ): 660 nm.
Temperatura: 37 °C.
Tipo de reação: Cinética decrescente.
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco.

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Água	20 µl	---	---
Calibrador/Padrão	---	20 µl	---
Amostra	---	---	20 µl
Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C, então adicione:			
R2	200 µl	200 µl	200 µl

2- Homogeneizar bem e incubar por 90 segundos a 37 °C.
3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs) por 100 segundos.

D-Cálculo com padrão:
Calcular a variação da absorbância média por 1 minuto (ΔA/min).

$$\Delta Abs/min_{\ Amostra/Calibrador} = \frac{A1 - A2}{1{,}7\ min}$$

$$Atividade\ da\ Colinesterase\ (U/L) = \frac{\Delta Abs/min_{\ Amostra}}{\Delta Abs/min_{\ Calibrador}} \times Concentração\ do\ Calibrador/Padrão$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\ Amostra}$: 0,139
$\Delta Abs_{\ Calibrador}$: 0,135
Concentração do calibrador/padrão: 4953 U/L

$$Atividade\ da\ Colinesterase\ (U/L) = \frac{0{,}139}{0{,}135} \times 4953\ U/L$$

Atividade da Colinesterase (U/L) = **5100 U/L**

E-Cálculo com fator:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{Concentração\ do\ Calibrador}{\Delta Abs/min\ do\ Calibrador}$$

$$Atividade\ da\ Colinesterase\ (U/L) = \Delta Abs/min_{\ Amostra} \times Fator\ de\ calibração$$

Exemplo:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{4953\ U/L}{0{,}135}$$

Fator de calibração = 36689

COLINESTERASE

Atividade da Colinesterase (U/L) = 0,139 × 36689
Atividade da Colinesterase (U/L) = **5100 U/L**

VALORES DE REFERÊNCIA:

Mulher	4000 – 12600 U/L	(67 – 210 µkat/L)
Homem	5100 – 11700 U/L	(85 – 195 µkat/L)

Em crianças de até 6 meses de idade, a atividade da colinesterase é 40% a 50% maior que em adultos. A atividade diminui durante a gravidez.

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L = 0,0167 µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 20.000 U/L (334 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 55 U/L (0,9167 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 20*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	5162	52,70	1,02
Amostra 2	8232	35,03	0,43

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 4 dias consecutivos, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 20*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	5161	57,67	1,12
Amostra 2	8194	76,00	0,93

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 142 amostras comparando-se o reagente COLINESTERASE (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 1{,}0046x + 18{,}212$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9992

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO	
			R1	R2
COLINESTERASE (Universal)	HMG010308757EN	48 mL	1 x 40 mL	1 x 8 mL
COLINESTERASE (BM SERIES I)	HMG010308297EN	48 mL	1 x 40 mL	1 x 8 mL
COLINESTERASE (BM SERIES III)	HMG010308300EN	60 mL	1 x 50 mL	1 x 10 mL

ANVISA: 81692610183

BIBLIOGRAFIA:

1. Wilson BW, Henderson JD. Determination of cholinesterase in blood and tissue. Curr Protoc Toxicol. 2007.
2. 2- Rifai, N., Horvath, A. R., & Wittwer, C. 1. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 6th Ed. Missouri: Elsevier, 2018.
3. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
4. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co. 1122, 1997
5. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
6. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
8. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
9. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 2017, 18, 1158–1176
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

- Data de Fabricação
- Data de Validade
- Limite de Temperatura
- REF — Código do Produto
- Consultar Instruções de Uso
- LOT — Número do Lote
- IVD — Produto para Diagnóstico In Vitro