

Colinesterase

Cholinesterase / Colinesterase
Ref. 11.010.00

Responsável Técnico:

Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG – 5310
MS 80027310238

FINALIDADE

Kit destinado à determinação da atividade da enzima Colinesterase em amostras de soro e plasma. Uso em diagnóstico *in vitro*.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E PREPARO DO PRODUTO

- Conservar de 2 a 8 °C, permanecendo fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes. Manter ao abrigo da luz.
- Reagente pronto para uso.
- Após aberto, o produto em uso é estável até a validade impressa no rótulo, desde que seguidas as condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Método: Butirilcolina Cinético

A Colinesterase hidrolisa a butirilcolina formando butirato e tiocolina. A tiocolina reduz o hexacianoferrato III (amarelo) para hexacianoferrato II (incolor). O decréscimo da absorbância é espectrofotometricamente determinado em 405 nm, sendo diretamente proporcional à atividade enzimática.

AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: soro e plasma (EDTA e heparina).

Coleta e Manuseio: realizar a coleta da amostra conforme as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Todas as amostras devem ser tratadas como material biológico potencialmente infectante.

Preservação:

	Temperatura	Período de Estabilidade
Soro e Plasma	4 a 8 °C	7 dias
	-20 °C	1 ano

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

R 1 Pirofosfato de sódio ≥ 20 mmol/L; Ferricianeto de potássio ≥ 0,5 mmol/L e estabilizante.

R 2 S-Butirilcolina ≥ 20 mmol/L e estabilizantes.

Rastreável à absorvidade específica do cromógeno hexacianoferrato III utilizando pipetas calibradas e espectrofotômetro manual que fornecem valores absolutos.

CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial, recomenda-se o uso do controle abaixo:

Controle Patológico – Quantial **REF** 13.004.00

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 405 nm.
- Banho de água termostatizado a 37 °C e tubos de ensaio.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas, relógio ou cronômetro.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Amostra
Água purificada	20 µL	-
Amostra	-	20 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL
Homogeneizar e incubar a 37 °C durante 3 minutos		
R2	200 µL	200 µL

2. Homogeneizar e inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C, zerado com água purificada em 405nm. Acionar o cronômetro.

3. Após 90 segundos, anotar a absorbância inicial A0 e efetuar novas leituras após 30, 60 e 90 segundos (A1, A2 e A3 respectivamente).

B) CÁLCULOS

Utilizando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA/min):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_0 - A_1) + (A_1 - A_2) + (A_2 - A_3)}{3} \times 2$$

A atividade da Colinesterase na amostra é calculada com a seguinte equação:

Colinesterase (U/L) = [(ΔA/min da Amostra - ΔA/min do Branco)] x 65800

Automação: Este procedimento pode ser aplicado na maioria dos analisadores automatizados. Os protocolos estão disponíveis em www.biotechnica.ind.br.

C) INTERPRETAÇÃO

A colinesterase é uma enzima encontrada no fígado, pâncreas, coração, soro e na substância branca do cérebro, mas o seu papel fisiológico é desconhecido. A medida da colinesterase no soro é útil como indicador de uma possível intoxicação por inseticidas, para a detecção de pacientes com forma atípica da enzima, ou como um teste da função hepática. Níveis diminuídos de colinesterase são encontrados em casos de intoxicação com compostos organofosforados, cirrose, infarto do miocárdio, infecções agudas e fenótipos atípicos da enzima.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Intervalo Operacional
348,08 a 15000 U/L

Para valores acima do intervalo operacional, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Sensibilidade	
Limite de Detecção	Limite de Quantificação
5,71 U/L	348,08 U/L

Especificidade Analítica		
Hemoglobina	Bilirrubina	Triglicérides
1000 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL

Concentrações de substâncias interferentes até os valores apresentados acima não causam alterações significativas nos resultados. Para medicamentos, consultar a referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

Exatidão	
Número de Amostras	40 em duplicata
Equação de Regressão	y = 1,000x - 6,190
Coefficiente de Correlação (R)	0,9944

Utilizando a equação de regressão obtida, o erro sistemático total estimado para níveis de decisão de 6000 U/L e 14000 U/L foi, respectivamente, de -0,100% e -0,044%.

Precisão:

Os estudos foram realizados em duas corridas por dia, em duplicata, durante 20 dias.

Amostras (U/L)	Repetições	Precisão Intra-Corrida		Precisão Total	
		SD (U/L)	CV (%)	SD (U/L)	CV (%)
1520,40	80	7,300	0,50	27,790	1,80
4101,98	80	71,458	1,70	76,446	1,90
7163,69	80	37,637	0,50	45,814	0,60

CV: Coeficiente de variação; SD: Desvio padrão.

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's e realizar os procedimentos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Seguir os requisitos preconizados nas Boas Práticas de Laboratório Clínico para a água utilizada no Laboratório.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes ou trocar as tampas dos frascos, a fim de evitar contaminação cruzada. Não usar o reagente quando ele apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evite deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contêm as reações.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

37 °C	4900 - 11900 U/L
-------	------------------

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (µkat/L):

Colinesterase (U/L) x 0,0167 = Colinesterase (µkat/L)

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotechnica.ind.br ou pelo telefone +55 35 3214-4646.
- Descartar os resíduos das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Os produtos Biotécnica são produzidos conforme as diretrizes das Boas Práticas de Fabricação e demais regulamentações sanitárias vigentes. Seu desempenho é assegurado desde que seguidas as instruções da Biotécnica. Em caso de dúvida na utilização do produto, entre em contato com a Assessoria Científica Biotécnica através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotechnicaltda.com.br

ENGLISH

INTENDED USE

Kit intended to determine the activity of Cholinesterase in serum and plasma samples. Diagnostic use only.

STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C and protect from light. The product must remain out of the specified temperature only the time required for testing.
- Reagent ready for use.
- Once opened, the product is stable until the expiration date printed on the label, as long as the recommended storage conditions (2 to 8°C) are followed.
- Do not use reagents whose shelf life has expired.

WORKING PRINCIPLE

Method: Butyrylthiocholine Kinetic

Cholinesterase hydrolyzes butyrylthiocholine to form butyrate and thiocholine. Thiocholine reduces hexacyanoferrate III (yellow) to hexacyanoferrate II (colorless). The decrease in absorbance is spectrophotometrically determined at 405 nm, being directly proportional to the enzymatic activity.

SAMPLE: TYPE, COLLECTION, HANDLING AND STABILITY

Sample Type: serum and plasma (heparin and EDTA)

Collection and handling: collect the sample in accordance with the Good Laboratory Practices. All samples should be treated as potentially infectious material.

Preservation:

	Temperature	Stability Period
Serum and Plasma	4 to 8 °C	7 days
	-20 °C	1 year

PRODUCT DESCRIPTION

R 1 Sodium pyrophosphate ≥ 20 mmol / L; Potassium ferricyanide ≥ 0.5 mmol / L and stabilizer.

R 2 S-butrylcholine ≥ 20 mmol / L and stabilizers.

Traceable to specific absorptivity of chromogen hexacyanoferrate III using calibrated pipettes and handheld spectrophotometer that provide absolute values.

QUALITY CONTROL

The use of controls should be a routine practice in the laboratory. For the internal laboratorial quality control, it is recommended the use of the control below:

Pathological Control – Quantial **REF** 13.004.00

NECESSARY EQUIPMENT FOR TESTING

- Spectrophotometer or photometer for reading at 405 nm.
- Thermostatic water bath at 37 °C and test tubes.
- Glass pipettes and/or automatic, clock or chronometer.

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE

1. Pipette in the test tubes:

	Blank	Sample
Purified water	20 µL	-
Sample	-	20 µL
R1	-	1.0 mL
Homogenize and incubate at 37 °C for 3 minutes		
R2	200 µL	200 µL

2. Homogenize and insert into the cuvette holder thermostated at 37 °C, zeroed with purified water at 405nm. Set the stopwatch.
3. After 90 seconds, measure the initial absorbance A0 and read it again after 30, 60 and 90 seconds (A1, A2 and A3, respectively).

B) CALCULATIONS

Using the measured absorbances, calculate the mean variation of absorbance per minute (ΔA/min):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_0 - A_1) + (A_1 - A_2) + (A_2 - A_3)}{3} \times 2$$

The Cholinesterase activity is calculated by multiplying with the following equation:

Cholinesterase (U/L) = [(ΔA/min of Sample - ΔA/min of White)] x 65800

Automation: this product is compatible to most types of automatic analyzers. Instrument settings are available at www.biotechnicaltda.ind.br

C) INTERPRETATION

Cholinesterase is an enzyme found in the liver, pancreas, heart, serum and the white matter of the brain, but its physiological role is unknown. Measurement of cholinesterase in serum is useful as an indicator of possible insecticide intoxication, for the detection of patients with atypical form of the enzyme, or as a liver function test. Decreased levels of cholinesterase are found in cases of organophosphorus poisoning, cirrhosis, myocardial infarction, acute infections and atypical phenotypes of the enzyme.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Operating range
348.08 to 15000 U/L

For concentrations above the operating range, dilute the sample with NaCl 150 mM (0.9%), proceed with a new dosage and multiply the result by the dilution factor.

Sensitivity	
Detection Limit	Quantification Limit
5.71 U/L	348.08 U/L

Analytical Specificity		
Hemoglobin	Bilirubin	Triglycerides
1000 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL

Interfering substances up to the values presented above do not cause significant alterations in the results. For drugs, consult the recommended reference (Young, 2000).

Accuracy	
Number of Samples	40 in duplicate
Regression Equation	$y = 1.000x - 6.190$
Correlation Coefficient (R)	0.9944

By applying the regression equation, the total systematic error estimated for decision levels of 6000 U/L and 14000 U/L was -0.100% and -0.044%, respectively.

Precision:

Determined with two runs in duplicate per day for 20 days.

Samples (U/L)	Replicate s	Within-Run Precision		Total Precision	
		SD (U/L)	CV (%)	SD (U/L)	CV (%)
1520.40	80	7.300	0.50	27.790	1.80
4101.98	80	71.458	1.70	76.446	1.90
7163.69	80	37.637	0.50	45.814	0.60

CV: Coefficient of variation; SD: Standard deviation

RESIDUAL RISKS, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use protective equipment in accordance with the Good Laboratory Practices.
- Follow the Good Laboratory Practices' instructions to establish the quality of water.
- Do not mix reagents from different lots or exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination. Do not use the reagent if it displays any signs in disagreement with the ones specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents outside the specified storage conditions.
- The level of the water bath must be greater than that of the test tubes containing the reaction.

REFERENCE RANGES

37 °C	4900 - 11900 U/L
-------	------------------

These values are intended for orientation only. It is recommended that each laboratory establishes its own reference ranges.

Conversion to the International System of Units (µKat/L):

Cholinesterase (U/L) x 0,0167 = Cholinesterase (µkat/L)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reactions surplus, according to the Good Laboratory Practices, in a proper place for potentially infectious material.
- The information for Disposal, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product, available at www.biotechnica.ind.br or calling +55 35 3214 4646

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

All Biotécnica products are made according to the Good Manufacturing Practices and other current sanitary regulations. Their performance is assured as long as all Biotécnica instructions are followed. In case of doubt while using the product, contact our Scientific Advisory team by calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail to sac@biotechnicaltda.com.br.

ESPAÑOL

FINALIDAD

Kit destinado a la determinación de Colinesterasa em muestras de suero y plasma. Uso en diagnóstico *in vitro*.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 2 a 8 °C, permaneciendo fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos. Mantener al abrigo de la luz.
- Reactivo listo para uso.

- Después de abierto, el producto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja, desde que almacenado en las condiciones recomendadas (2 a 8 °C).

- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método: Butiriltiocolina Cinética

La colinesterasa hidroliza la butiriltiocolina para formar butirato y tiocolina. La tiocolina reduce el hexacianoferrato III (amarillo) a hexacianoferrato II (incoloro). La disminución de absorbancia se determina espectrofotométricamente a 405 nm, siendo directamente proporcional a la actividad enzimática.

MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: suero y plasma (EDTA y heparina).

Recolección y manipulación: realizar la recolección de muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Todas las muestras deben ser tratadas como materiales potencialmente infectantes.

Conservación:

	Temperatura	Período de Estabilidad
Suero y Plasma	4 a 8 °C	7 días
	-20 °C	1 año

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

R 1 Pirofosfato de sodio ≥ 20 mmol/L; ferricianuro de potasio ≥ 0,5 mmol/L y estabilizante.

R 2 S-Butirilcolina ≥ 20 mmol/L y estabilizantes. 

Rastreable a la absorción molar específica del cromógeno hexacianoferrato III utilizando pipetas calibradas y espectrofotómetro manual que producen valores absolutos.

CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles debe ser práctica rutinera en el laboratorio. Para Calibración y Control Interno de Calidad del laboratorio se recomienda el uso del control siguiente:

Control Patológico – Quantialt **REF** 13.004.00

MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 405 nm.
- Baño de agua termostático a 37 °C y tubos de ensayo.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas, reloj o cronómetro.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Muestra
Agua Purificada	20 µL	-
Muestra	-	20 µL
Reactivo de Trabajo	1,0 mL	1,0 mL
Mezclar y incubar a 37 °C durante 3 minutos.		
R2	200 µL	200 µL

- Homogeneizar e inserir en la porta cubetas termostatizado a 37 °C, ajustando a cero el aparato con agua purificada en 405 nm. Accionar el cronómetro.

- Después de 90 segundos, medir la absorbancia inicial A0 y realizar nuevas lecturas después 30, 60 y 90 segundos (A1, A2 e A3, respectivamente).

B) CÁLCULOS

Usando las lecturas de las absorbancias, calcular la media de variación de absorbancia por minuto (ΔA/min):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_0 - A_1) + (A_1 - A_2) + (A_2 - A_3) \times 2}{3}$$

La actividad de la Colinesterasa en la muestra es calculada con la siguiente ecuación:

$$\text{Colinesterasa (U/L)} = [(\Delta A/\text{min la Muestra} - \Delta A/\text{min del Blanco})] \times 65800$$

Automación: Este producto es automatizado en la mayoría de los analizadores. Los protocolos están disponibles en www.biotechnica.ind.br

C) INTERPRETACIÓN

La colinesterasa es una enzima presente en el hígado, páncreas, corazón, suero y en la sustancia blanca del cerebro, su verdadera función fisiológica es desconocida. Su determinación es útil como indicador de una posible intoxicación con insecticidas, para la detección de pacientes portadores de la forma atípica de la enzima o como un ensayo para evaluar la función hepática. Niveles disminuidos de colinesterasa son encontrados en casos de intoxicación con compuestos organofosforados, cirrosis, infarto de miocardio, infecciones agudas y fenotipos atípicos de la enzima.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Intervalo Operacional
348,08 a 15000 U/L

Para valores superiores al del intervalo operacional, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Sensibilidad	
Límite de Detección	Límite de Cuantificación
5,71 U/L	348,08 U/L

Especificidad Analítica		
Hemoglobina	Bilirrubina	Triglicéridos
1000 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL

Concentraciones de sustancias interferentes hasta los valores presentados anteriormente no provocan cambios significativos em los resultados. Para medicamentos, consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

Exactitud	
Número de Muestras	40 en duplicado
Ecuación de Regresión	$y = 1,000x - 6,190$
Coefficiente de Correlación (R)	0,9944

Utilizando la ecuación de regresión adquirida, el error sistemático total para los niveles de decisión de 6000 U/L y 14000 U/L fue, respectivamente, de -0,100% y de -0,044%.

Precisión:

Los estudios se realizaron en dos determinaciones diarias, en duplicado, durante 20 días.

Muestras (U/L)	Repeticiones	Precisión Intra-Corrida		Precisión Total	
		SD (U/L)	CV (%)	SD (U/L)	CV (%)
1520,40	80	7,300	0,50	27,790	1,80
4101,98	80	71,458	1,70	76,446	1,90
7163,69	80	37,637	0,50	45,814	0,60

CV: Coeficiente de variación; SD: Desviación estándar

RIESGOS RESIDUALES, CUIDADOS E PRECAUCIONES

- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- Seguir los requisitos establecidos en las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico para el agua utilizada en el laboratorio.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes o cambiar las tapas de los frascos, a fin de evitar contaminación cruzada. No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la FISPQ del producto.
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas.
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.

INTERVALO DE REFERENCIA

37 °C	4900 - 11900 U/L
-------	------------------

Estos valores son únicamente para orientación, siendo recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Conversión para la Unidad del Sistema Internacional (µKat/L):

Coesterasa (U/L) x 0,017 = Coesterasa (µkat/L)

ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO

- Las informaciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (FISPQ) de este producto, disponible en www.biotechnica.ind.br o por el teléfono +55 35 3214 4646.
- Desechar las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).

GARANTIA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Los reactivos Biotécnica son producidos de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación e otras regulaciones vigentes. Su desempeño es asegurado siempre que se siga las instrucciones de la Biotécnica. Cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el email sac@biotechnicaltda.com.br.

APRESENTAÇÕES / PRESENTATIONS / PRESENTACIONES

1	R1 R2	1 x 25 mL 1 x 5 mL
---	----------	-----------------------

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENABENT, M. et al. Cholinesterase assay by an efficient fixed time endpoint method. **MethodsX** 1, 258-263 (2014).
- BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. Tietz: Fundamentos de Química Clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 836 p.
- ELLMAN, G.L, et al. A New Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. **Biochemical Pharmacology**, 7, 88-95 (1961).
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. **Clin. Chem.** v.27 p.493-501, 1981.
- YOUNG, D.S. **Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2**, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.

TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES		
	Consultar as instruções para utilização Consult instructions for use Consultense las instrucciones de uso	 Descartar corretamente Dispose properly Desechar adecuadamente
REF	Número de catálogo Catalog number Número de catálogo	R <N> Reagente Reagent Reactivo
LOT	Código do lote Batch code Código de lote	 Limite de temperatura Temperature limitation Limite de temperatura
IVD	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> In Vitro Diagnostic medical device Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Validade Use by date Fecha de Caducidad
STD	Padrão Standard Patrón	 Nocivo / Irritante Harmful / Irritant Nocivo / Irritante