

COD 11588 1 x 50 mL	COD 11589 4 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C	
Reagentes para medir a concentração de colinesterase Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos	

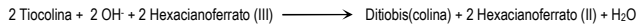
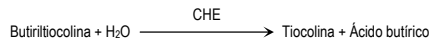
CHOLINESTERASE (CHE)



COLINESTERASE (CHE) BUTIRILTIOCOLINA

FUNDAMENTO DO MÉTODO

A colinesterase catalisa a hidrólise da butiriltiocolina em tiocolina e ácido butírico. A concentração catalítica determina-se a partir da velocidade do desaparecimento do hexacianoferrato (III), medida a 405 nm através das seguintes reacções^{1,2,3}.



O isoenzima atípico da colinesterase (AA) pode ser estimado mediante o "número de dibucaina", que indica a percentagem de inibição da actividade enzimática na presença e dibucaina^{2,3}.

CONTEÚDO

	COD 11588	COD 11589
A. Reagente	1 x 40 mL	4 x 40 mL
B. Reagente	1 x 10 mL	4 x 10 mL

COMPOSIÇÃO

- A. Reagente. Pirofosfato 95 mmol/L, Hexacianoferrato (III) 2,5 mmol/L, pH 7,6.
B. Reagente. Butiriltiocolina 60 mmol/L.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os Reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco inferior a 1,300 a 405 nm (cuvete de 1 cm).

REAGENTES AUXILIARES

- C. Reagentes (cod 11578): Dibucaina 0,3 mmol/L, uma vez reconstituído. 10 x 15 mL.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de trabalho para colinesterase total: esvaziar o conteúdo do Reagente B no frasco do Reagente A. Agitar suavemente. Se desejar preparar outros volumes, misturar na proporção: 4 mL de Reagente A + 1 mL do Reagente B. Estável 3 dias a 2-8°C.

Reagente de trabalho com dibucaina (Nota 1): reconstituir o conteúdo de um frasco de Reagente C com 15 mL do Reagente de trabalho para colinesterase total. Agitar suavemente. Estável 3 dias a 2-8°C.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Analizador, Espectrofotómetro ou fotómetro com a cuvete termostável a 37°C para leituras a 405 nm.
- Cuветes de 1 cm de passo de luz.

AMOSTRAS

Soro ou plasma recolhidos mediante procedimentos standard. Recomenda-se usar EDTA ou heparina como anticoagulantes.

A colinesterase no soro ou plasma é estável durante 14 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento à temperatura de reacção.
- Pipetar numa cuvete (Nota 2):

Reagente de Trabalho (Nota 3)	1,5 mL
Amostra	25 µL

- Misturar e inserir a cuvete no fotómetro. Ligar o cronómetro.
- Aos 90 segundos, anotar a absorvância inicial e efectuar novas leituras a cada 30 segundos durante 90 segundos.
- Calcular a razão do incremento da absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

A concentração de colinesterase na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

O coeficiente de absorção molar (ϵ) do cromógeno a 405 nm é 927, o passo de luz (l) é 1 cm, o volume total de reacção (Vt) é 1,525, o volume de amostra (Vs) é 0,025, e 1 U/L equivale a 0,0166 µkat/L. Deduz-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 65804 = \text{U/L}$ $\times 1097 = \mu\text{kat/L}$
-----------------------	--

Número de dibucaina (%) = $100 - (100 \times \text{CHE não inibida} / \text{CHE total})$

VALORES DE REFERÊNCIA

Colinesterase (37°C):

Homens	4620-11500 U/L = 76,9-191 µkat/L
Mulheres	3930-10800 U/L = 65,5-180 µkat/L

Número de dibucaina (%):

Homozigotos normais:	> 75%
Heterozigotos intermédios:	45-72%
Homozigotos atípicos:	< 30%

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controlos não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Limite de detecção: 123 U/L = 2,05 µkat/L.
- Limite de linearidade: 25000 U/L = 417 µkat/L. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.
- Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	N
5416 U/L = 90,27 µkat/L	1,0%	20
11279 U/L = 188,0 µkat/L	0,7%	20

- Reprodutibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
5416 U/L = 90,27 µkat/L	1,0%	25
11279 U/L = 188,0 µkat/L	0,6%	25

- Sensibilidade: 0,015 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{U}\cdot\text{min} = 0,91 \Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\mu\text{kat}\cdot\text{min}$.
- Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.
- Interferências: A lipemia (triglicéridos 10 g/L) e a bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. A hemólise pode afectar os resultados. Outros medicamentos e substâncias podem interferir².

Estes dados foram obtidos utilizando um analizador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A colinesterase sérica é também denominada pseudocolinesterase para diferenciá-la da colinesterase presente nos eritrócitos e nas terminações nervosas. É sintetizada no fígado, pelo que a sua medição pode usar-se como teste de função hepática. Uma diminuição na sua actividade reflete uma síntese alterada.

A sua determinação é um grande valor no diagnóstico de pacientes com a forma atípica da enzima e em intoxicações por insecticidas organofosforados. Os pacientes com a forma atípica da enzima apresentam elevada sensibilidade contra o suxametonio, um fármaco usado como relaxante muscular em cirurgia. A sua identificação, mediante o número de dibucaina, é importante para prevenir a apneia prolongada causada pela administração de dito medicamento^{4,6}.

Também se podem dar mudanças na concentração sérica de colinesterase noutras condições. Está diminuída em infecções agudas, embolismo pulmonar, distrofia muscular e infarte de miocárdio^{4,6}.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- O reagente de trabalho com dibucaina é necessário só para determinar o número de dibucaina.
- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
- Utilizar o reagente sem dibucaina para medir a colinesterase total e o reagente de trabalho com dibucaina para medir a colinesterase não inibida.

BIBLIOGRAFIA

- DGKC. Proposal of standard methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37°C. II Cholinesterase. *Eur J Clin Chem Chim Biochem* 1992; 30: 163-170.
- 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 Clin Biochem* 1984; 22: 671-676.
- Whittaker M, Britten JJ and Dawson PJ. Comparison of a commercially available assay system with two reference methods for the determination of plasma cholinesterase variants. *Clin Chem* 1983; 29: 1746-1751.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.