

Manual de Instruções



Sistema Test-mate ChE Modelo 400



Sistema Test-mate ChE Modelo 400

Para determinação quantitativa de colinesterase em sangue total para monitorar exposição à pesticidas.

Para uso em diagnóstico in vitro. Somente para uso no laboratório por técnicos de laboratório treinados.

Fabricado:
EQM Research Inc.
2814 Urwiler Avenue
Cincinnati, Ohio 45211
ESTADOS UNIDOS

Importado e distribuído
CMW Saúde e Tecnologia, Importação e Exportação Ltda.
Av. João Pedro Cardoso, 183 - Jardim Aeroporto
CEP. 04355-000 - São Paulo-SP - BRASIL - Fone: 11 5031-9337
CNPJ. 07.430.231/0001-84
Resp. Técnico - Dr. Acylino de Queiroz Oliveira - CRF-SP 19.415
Registro N°: 80430080001

CONSERVAR A TEMPERATURA AMBIENTE.

Índice

• Finalidade	04
• Explicação do Test-mate ChE	05
• Princípios do Test-mate ChE	06
• Configuração do Test-mate ChE (Instalação)	07
• O Analisador Fotométrico Test-mate ChE	09
• Realizando o procedimento de ensaio	11
• Testando grandes grupos	17
• Calibração e Controles de Qualidade	18
• Valores esperados e interferências com o Test-mate ChE	19
• Acurácia, Precisão e Linearidade do Test-mate ChE ...	20
• Variabilidade entre operadores do Test-mate ChE	21
• Interpretação de Resultados	22
• Precauções operacionais e limitações	23
• Riscos	24
• Manutenção e Informação de Serviço	25
• Apêndice A - Esquema do procedimento de teste	26
• Apêndice B - Coleta de amostras e especificações dos reagentes	27
• Apêndice C - Especificações do Analisador Fotométrico	29
• Apêndice D - Mensagens de Erro do Analisador Fotométrico	30

Finalidade

O Test-mate ChE é utilizado na avaliação e diagnóstico de intoxicação assintomática por pesticidas. A maioria dos pesticidas organofosforados ou carbamatos inibem as enzimas eritrocitárias sanguíneas acetilcolinesterase (AChE) e/ou a colinesterase plasmática (PChE).^{1,2} O grau de inibição enzimática é proporcional à extensão da exposição. AChE é geralmente preferida pela sua baixa variabilidade biológica e falta de interferentes relativos ao PChE. Medidas pré exposição (basal) de AChE e/ou PChE devem ser obtidas para reduzir o efeito da variabilidade biológica.¹ O método de tratamento a curto prazo é simplesmente remover o paciente da exposição aos pesticidas. O método de tratamento em longo prazo é promover procedimentos seguros de manuseio dos pesticidas para evitar exposições futuras. O tratamento de emergência de pacientes seriamente intoxicados com pesticida deve sempre ser baseado primariamente nos sintomas físicos do paciente em vez de adiar o tratamento por resultados de testes pendentes.

O Test-mate ChE é utilizado em laboratório clínico por um técnico treinado, sob a supervisão do responsável pelo laboratório. Antes que o operador começar a usar o sistema em amostras de sangue de pacientes, é necessário treinar o procedimento de ensaio completo várias vezes para produzir resultados consistentes e confiáveis. Os resultados do Sistema de Teste Test-mate ChE devem ser avaliadas por um profissional de saúde qualificado, como um médico, enfermeiro ou um trabalhador de saúde pública treinado.

Apesar de o ensaio de colinesterase ser de grande valor no diagnóstico da sensibilidade a succinilcolina e no diagnóstico de disfunção hepática, este sistema não se destina para ser usado para esta finalidade.

DECLARAÇÃO

ATENÇÃO - Os kits reagentes Colinesterase eritrocitária e Colinesterase plasmática são comercializados em separado e tem registro em separado na ANVISA.

Explicação do Test-mate ChE

Test-mate ChE é útil no monitoramento da exposição ocupacional a pesticidas. Medindo rotineiramente os níveis de colinesterase sanguínea, estes trabalhadores podem ser protegidos da sobre-exposição antes que se torne sintomática. Também programas de manuseio seguro de pesticidas podem ser avaliados pela sua efetividade e cumprimento, levando a melhora na proteção dos trabalhadores a longo prazo.



Figura 1 - Sistema de Teste de Colinesterase Test-mate ChE (Modelo 400)

O **Test-mate ChE** é um sistema completo para o ensaio da colinesterase. Todos os suprimentos e equipamento necessários para realizar 96 testes são adequadamente acondicionados em um estojo de armazenamento. O sistema requer apenas 10 μL de amostra para cada teste sanguíneo, o qual pode ser facilmente obtido a partir de uma amostra coletada com uma lanceta, da ponta do dedo. O ensaio total pode ser completado em menos de 4 minutos, facilitando uma rápida avaliação do estado da intoxicação.

O componente principal do sistema **Test-mate ChE** é o analisador fotométrico. O analisador fotométrico é um aplicativo dedicado compacto, com fotômetro de absorção de comprimento de onda fixo, fonte de alimentação de uma

bateria de 9 Volt ou adaptador de energia. Este equipamento analítico guia o operador passo a passo durante o procedimento de ensaio. O analisador fotométrico mede absorbâncias durante o procedimento do ensaio, calcula a concentração final do analito, compensa a temperatura destas concentrações usando um sensor de temperatura embutido, e então mostra o resultado final do teste.

Princípio do **Test-mate ChE**

O Sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** baseia-se no método de Ellman. Acetilcolina (AcTC) ou butirilticolina (BuTC) é hidrolisada pela AChE ou PChE, respectivamente, produzindo ácido carboxílico e tiocolina que reagem com o reagente de Ellman (DTNB, ácido ditionitrobenzóico) para formar uma coloração amarela que é medida espectrofotometricamente a 450 nm. A taxa de formação da cor é proporcional à quantidade de AChE ou PChE.

Ester de tiocolina (AcTC/BuTC) \longrightarrow tiocolina

Tiocolina + DTNB \longrightarrow TNB-tiocolina + TNB (amarelo)

A atividade da colinesterase medida é calculada pelo analisador fotométrico usando a seguinte equação:

$$U/mL \text{ sangue} = \frac{(A/min) (mL \text{ volume do ensaio})}{(e, mM-1cm^{-1}) (caminho \text{ óptico}) (mL \text{ sangue})}$$

Além disso, a atividade da colinesterase medida é refinada seguindo ajustes para derivar o valor final de colinesterase exibido:

Ajuste de "blank" de reagente: um pequeno (aproximadamente 15%) não específico "blank" de reação é subtraído da atividade da colinesterase medida.

Ajuste de temperatura: usando o sensor de temperatura do

analisador fotométrico, a atividade da colinesterase medida e a atividade do "blank" de reagente são normalizados para 25°C.

Ajuste pela Hemoglobina: Para a AChE, a hemoglobina normaliza variando o volume da amostra e o estado do Ferro, portanto AChE é mais precisamente expressada como U/g Hgb.

Configuração do Test-mate ChE (Instalação) _____

Para abrir o estojo de armazenamento embalado à vácuo, girar a válvula de expurgo uma volta no sentido horário. Isso equaliza qualquer vácuo causado por mudanças de altitude durante o transporte. Com a tampa do estojo voltada para cima, pressionar sobre a tampa com uma mão enquanto libera cada uma das duas travas com o polegar da outra mão. Uma força considerável pode ser necessária para mover as travas.



Figura 2 - Caixa que contém o equipamento

A caixa contém:

- Analisador fotométrico
- Ferramenta de reagentes



O analisador fotométrico encontra-se dentro do suporte de embalagem para resíduos de risco biológico.

Não descartar a embalagem polibolha da ferramenta de reagente e do analisador fotométrico. A ferramenta de reagente sempre deve ser retornada a embalagem polibolha reutilizável para armazenamento. Isto impede que a mesma se movimente dentro estojo. O analisador fotométrico deve também sempre ser colocado novamente em sua polibolha reutilizável. Esta embalagem polibolha contém um forro anti-estática para auxiliar a proteger o analisador da eletricidade estática. Assegurar-se de colocar o analisador dentro do forro anti-estática antes de selar a embalagem polibolha. Sempre colocar o suporte de bolsa biológico em volta do analisador quando colocar no estojo de armazenamento. Este suporte fornece uma proteção adicional ao equipamento.

O kit de ensaio para AChE é usado para a medida da colinesterase eritrocitária e o kit de ensaio para PChE é usado para a medida da colinesterase plasmática. O tipo de inibidor de colinesterase a que os pacientes foram expostos determina qual kit usar. Frequentemente monitorar ambos os tipos de colinesterase é útil. O sistema **Test-mate ChE** é inicialmente suprido com o kit de ensaio para AChE.

ATENÇÃO - Os kits reagentes Colinesterase eritrocitária e Colinesterase plasmática são comercializados em separado e tem registro em separado na ANVISA.

O Analisador Fotométrico Test-mate ChE

O Analisador Fotométrico **Test-mate ChE** é um equipamento que contém um microprocessador muito fácil de usar. Usando uma tecnologia de fonte de luz LED (diodo emissor de luz) patenteada, nenhuma manutenção de usuário ou recalibração é necessária. O sensor de temperatura interno do analisador compensa precisamente os resultados finais para a temperatura ambiente. Uma tela de cristal líquido (LCD) de 16 caracteres guia o operador passo a passo através do procedimento de ensaio. O equipamento é alimentado por uma bateria de 9 Volts auto-suficiente ou por conector no lado direito da unidade (não fornecido com o sistema).



Figura 3 - Analisador Test Mate ChE

Para usar o analisador, instalar a bateria de 9 Volts da caixa três do kit de ensaio no compartimento de bateria localizado no fundo do equipamento. Uma bateria de 9 Volts provê força suficiente para realizar os 96 testes do kit de ensaio. (A função de economia de bateria do analisador desliga o equipamento se o mesmo for deixado sem uso por mais de 10 minutos.)

Uma bateria carregada é enviada com cada reposição de kit de ensaio e deve sempre ser usada mesmo que a bateria atual esteja em boas condições.

Desligar o analisador no interruptor do lado direito na frente do equipamento. Um sinal sonoro curto (**BIP**) irá soar e a revisão do "software" interno do sistema será exibida por aproximadamente 3 segundos. Durante este período de tempo, o microprocessador faz o diagnóstico interno para assegurar que o equipamento está em condições de operar apropriadamente.

Depois do período de autodiagnóstico interno, uma mensagem do sistema é exibida. Esta mensagem mostra o modo de teste atual, a temperatura atual em graus Celsius e a voltagem da bateria ou da fonte externa de eletricidade. AChE indica que o analisador está pronto para o teste de Colinesterase eritrocitária enquanto que o PChE indica que o equipamento está ajustado para testar colinesterase plasmática. A temperatura do equipamento é exibida em incrementos de um décimo de graus Celsius. Se a temperatura estiver fora do intervalo de operação recomendada (menos do que 15 ou maior do que 35 graus Celsius), a seção de temperatura da tela de mensagens piscará. A voltagem da bateria é exibida em incrementos de um décimo de Volts. Se a voltagem cair para menos do que 6.0 V, a seção de voltagem da tela de mensagens pisca. O equipamento ainda provê resultados acurados quando a seção de voltagem da tela de mensagens estiver piscando. Uma vez que a voltagem se tornar muito baixa para uma operação confiável, o equipamento exibira uma mensagem de erro da bateria.

O analisador Test-mate é controlado usando três botões. O botão **MODE** é usado para selecionar entre as funções de ensaio de AChE e PChE. Pressionar o botão **MODE** desde a tela de mensagens faz com que o modo de ensaio mude. O analisador permanecerá neste modo - mesmo que o interruptor seja desligado - até que o botão **MODE** seja pressionado de novo. O botão **DONE** é usado para retornar a tela de mensagens, uma vez que os resultados do procedimento de ensaio tenham sido registrados. O botão

DONE também pode ser usado para abortar um procedimento de ensaio, se um erro ocorrer durante o ensaio. O botão **TEST** é usado para iniciar os passos pelo procedimento de ensaio.

Realizando o procedimento de ensaio

Após desembalar o sistema, organize todo o equipamento seguindo este modo acessível. Na esquerda do operador colocar o suprimento de coleta de amostra e os tubos de ensaio. Na frente do operador colocar o suporte para embalagem para resíduos de risco biológico (com uma embalagem para resíduos de risco biológico instalada), a placa de reagente, a ferramenta de reagente, o frasco contagotas transparente de 15 mL com água destilada e uma pipeta de transferência. Na direita do operador colocar o analisador fotométrico, o livro de registro e a caneta.

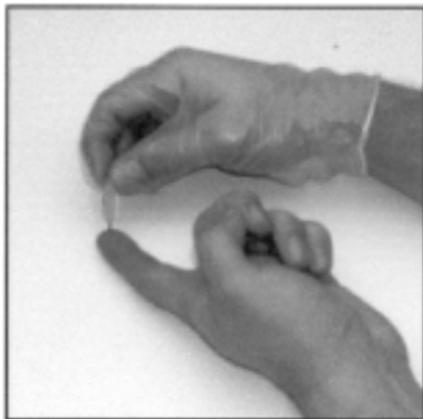


Figura 4. Analisador e acessórios

Ligar o analisador **Test-mate** deslizando o interruptor à frente. Selecionar o modo de ensaio correto (AChE para colinesterase eritrocitária ou PChE para colinesterase plasmática) usando o botão mode. Anotar a data e a hora juntamente com o nome do paciente no livro de registro. Anotar também a temperatura atual como relatada no centro da seção da tela de mensagens.

Pressionar o botão **TEST** e o analisador mostrará uma mensagem para inserir um novo tubo. Segurar o tubo de ensaio pela tampa preta superior e deslizar dentro do analisador. Nunca tocar a metade inferior do frasco de vidro, que deve ser mantido limpo para que o analisador fotométrico opere corretamente! Pressionar o botão **TEST** e uma mensagem de "**BLANKING**" se apresenta por 15 segundos, seguida de uma mensagem para remover o tubo.

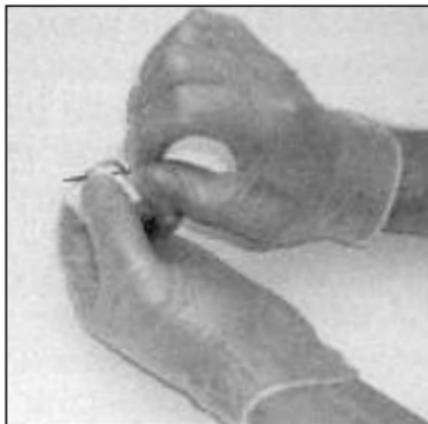
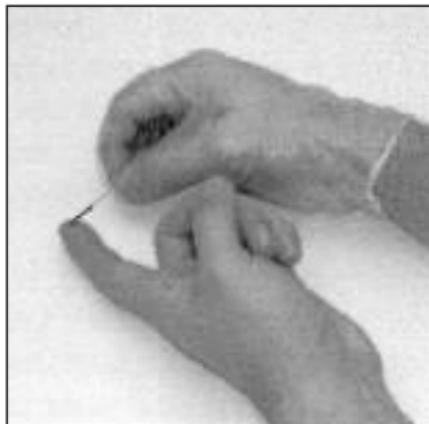
Deslizar o tubo fora do analisador e, enquanto segurar o tubo pela parte superior do frasco de vidro, desatarraxe a tampa preta. Deixar o frasco de vidro e a tampa à parte. Pressionar o botão **TEST** e o analisador mostrará a mensagem para adicionar sangue.



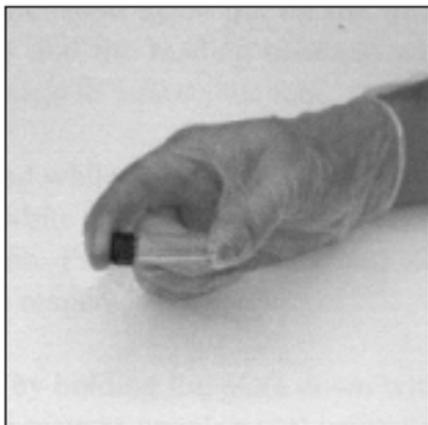
Sempre usar as luvas de vinil sem talco quando manusear amostras de sangue! Para impedir danos ao sistema óptico dentro do analisador, recomendamos evitar o uso de luvas com talco com o sistema Test-mate ChE. Repouse a palma da mão do paciente para cima com o dedo indicador estendido. Prepare-se para coletar a amostra de sangue limpando a ponta do dedo com algodão e álcool e depois deixando secar ao ar por 30 segundos.

Lancetar a ponta do dedo com uma lanceta estéril, desenroscando sua capa protetora. Então espetar a ponta do dedo limpo na lanceta. Deixar formar uma gota de sangue no

dedo e limpar com uma gaze. Esperar alguns segundos para deixar a segunda gota de sangue se formar na ponta do dedo, para a coleta. *Nunca aperte o dedo para obter o sangue! Se a segunda gota de sangue não se formar prontamente, é necessário lancetar de novo a ponta do dedo do paciente.*



Selecionar um tubo capilar e inverter cuidadosamente o recipiente de capilares. Antes que o primeiro capilar em um novo kit de ensaio seja obtido, a selagem branca embaixo da tampa de rosca prateada deve ser removida e descartada. Segurar o capilar horizontalmente entre os dedos polegar e indicador. Inserir a ponta final do capilar na gota de sangue do dedo do paciente. Lentamente o sangue preenche o capilar. Uma vez que o capilar esteja completamente preenchido, retirar o capilar. Cuidadosamente enxugue qualquer sangue fora do capilar puxando o capilar sobre uma gaze desde o meio até o final. Colocar a gaze no dedo do paciente e peça para ele segurar até que o dedo lancetado pare de sangrar. Inserir o capilar no frasco de tubo de ensaio e rosqueie firmemente. Segurar o tubo de ensaio pelas extremidades entre o polegar e o indicador e agitar vigorosamente por 15 segundos para dispersar o sangue.



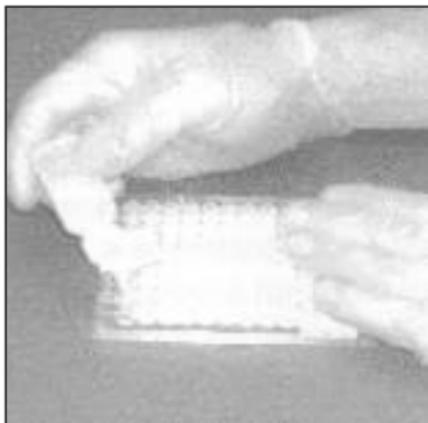
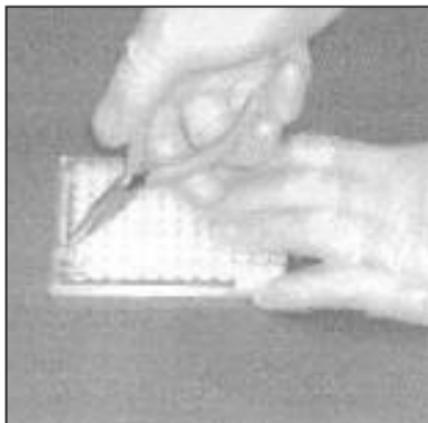
O capilar deve estar orientado corretamente antes que o tubo de ensaio seja inserido de volta no analisador. Segurar o tubo de ensaio pela tampa, na horizontal e deixar o capilar se acomodar no fundo do frasco. Virar delicadamente o tubo de ensaio para a vertical de uma maneira que o capilar fixo no lado do frasco esteja agora voltado para o operador. Inserir o tubo no analisador de modo que o capilar esteja em direção ao pequeno ponto preto na frente do painel do analisador. Pressionar o botão **TEST** e uma mensagem de leitura se apresenta por 15 segundos, seguida de uma mensagem para remover o tubo.

Deslizar o tubo para fora do analisador enquanto segura o tubo pela porção superior do vidro, desatarraxe a tampa preta. Colocar o frasco de vidro e a tampa a parte, em um lugar onde o frasco não pode ser derrubado acidentalmente. Pressionar o botão **TEST** e o analisador apresenta a mensagem para adicionar o reagente.

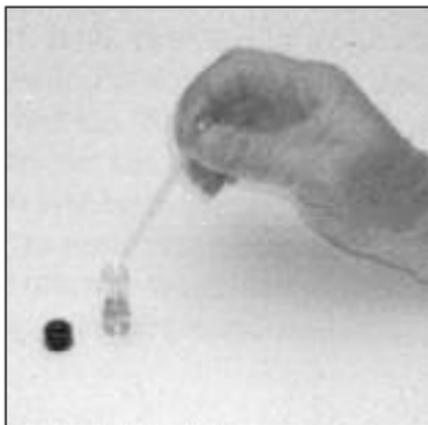
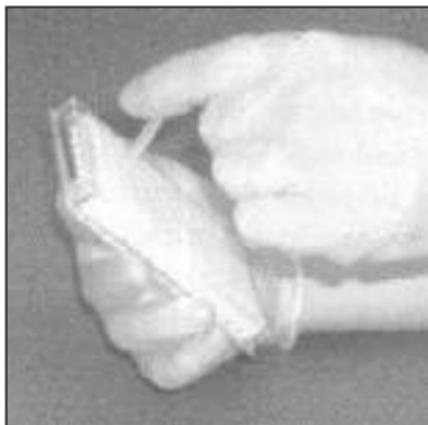
Desconectar um único micropoço da placa de reagente segurando a placa para baixo com uma mão enquanto segura a abinha com a ferramenta de reagente usando a outra mão. Puxar a abinha e descartar na embalagem de risco biológico.

Adicionar 3 gotas de água destilada do frasco transparente ao micropoço de reagente. Usando uma pipeta de transferência,

misture o conteúdo do micropoço até que o reagente esteja completamente dissolvido. Observar que o reagente em pó pode mudar da cor branca para amarelada com o envelhecimento. Esta mudança de cor não tem efeito no ensaio.



Enquanto se mantém a placa ligeiramente inclinada em uma mão, transferir todo o reagente dissolvido para a pipeta. Pipetar o reagente dissolvido no tubo de ensaio e imediatamente aperte o botão **TEST**. Após o botão **TEST** ser pressionado, o analisador exibirá uma mensagem para agitar o tubo de ensaio.



Rosquear firmemente a tampa preta novamente no frasco e agite vigorosamente por 5 segundos, para misturar as soluções. De novo, o capilar deve estar orientado

corretamente antes que o tubo de ensaio seja inserido de volta no analisador. Segurar o tubo de ensaio pela tampa, na horizontal e deixar o capilar se acomodar no fundo do frasco. Cuidadosamente virar o tubo de ensaio para a vertical de uma maneira que o capilar fixo no lado do frasco esteja agora voltado para o operador. Inserir o tubo no analisador de modo que o capilar esteja em direção ao pequeno ponto preto na frente do painel do analisador. Pressionar o botão **TEST**: uma mensagem de incubação se apresenta por cerca de um minuto (máximo 80 segundos desde o tempo em que o botão **TEST** foi pressionado após adicionar o reagente). Em seguida, a mensagem de leitura se apresenta por 50 segundos, seguida por uma mensagem para remover o tubo. Remover o do analisador e descartar na embalagem para resíduos de risco biológico. Pressionar o botão **TEST** e a primeira mensagem de resultado se apresenta .

O analisador Test-mate provê seis mensagens de resultados no modo AChE e quatro mensagens de resultados no modo PChE. Os livros de registro da AChE e PChE tem o número correspondente de campos de dados. Entre a primeira mensagem de resultado no livro de registro e então pressionar o botão **TEST**. Repetir este processo até que todas as mensagens de resultados tenham sido anotadas no livro de registro. Quando a última mensagem de resultado for exibida, apertando o botão **TEST** retornará o analisador à primeira mensagem de resultado. Depois que todos os resultados estiverem anotados no livro de registros, pressionar o botão **DONE**, para retornar ao "**SYSTEM PROMPT**".

Testando grandes grupos

O sistema de teste de colinesterase **Test-mate ChE** contém provisões para reduzir o tempo necessário quando forem testados grandes grupos de pacientes. Para acelerar o procedimento de ensaio, toda a placa de reagente deve ser dissolvida de uma só vez. Assim que o reagente estiver dissolvido, ele permanecerá estável por 1 semana quando protegido da luz. O reagente permanece estável por 1 mês se for mantido no refrigerador quando não estiver em uso.

Para dissolver toda a placa de reagente, começar destacando todos os 96 micropoços da placa com a ferramenta de reagente. Adicionar 3 gotas de água destilada do frasco gotejador transparente de 15 mL em cada um dos 96 micropoços. Usando uma pipeta de transferência, misture o conteúdo de cada micropoço até que todo o reagente esteja completamente dissolvido. Enquanto segurar a placa ligeiramente inclinada com uma mão, aspire o reagente dissolvido de um micropoço com uma pipeta de transferência e então pipete o reagente no frasco "blank" de 15 mL. Repetir este procedimento para cada um dos 96 micropoços. Adicionar 12 gotas adicionais de água destilada do frasco gotejador transparente de 15 mL para o frasco "blank" de 15 mL. Desrosquear a tampa gotejadora do frasco transparente e transferir a mesma para o frasco "blank". Descartar o frasco transparente e a água destilada remanescente. Agitar o frasco "blank" por cerca de 10 segundos para assegurar-se a mistura completa.

Para executar o procedimento de ensaio com este reagente pré dissolvido, simplesmente adicionar 3 gotas de reagente do frasco gotejador "blank" de 15 mL, ao invés da etapa da pipeta de transferência. Imediatamente após adicionar as 3 gotas pressionar o botão **TEST**. Tampar e agitar o tubo de ensaio e prosseguir com o procedimento de ensaio normal.

Calibração e Controles de Qualidade

Calibração: O analisador fotométrico **Test-mate ChE** é calibrado na fábrica. Nenhuma calibração adicional é necessária

Controle de Qualidade: O uso de um operador não exposto é melhor, a variabilidade intra individual da colinesterase eritrocitária e plasmática é menos do que 5% por semana e menos do que 10% por mês.⁸ Alternativamente, sangue venoso refrigerado (com anticoagulante EDTA) é estável por pelo menos um mês. Devem ser analisados controles em cada dia de rotina de trabalho.

Valores esperados e interferências com o Test-mate ChE

Os valores a seguir foram determinados usando sangue normal de homens e mulheres do banco de doadores, entre 20 e 60 anos de idade, localizados no centro-oeste dos Estados Unidos

	N	Média	DP	Intervalo
AChE, U/mL	40	3.68	0.47	2.77 - 5.57
AChE, U/g Hgb	40	27.1	2.9	21.9 - 37.3
PChE, U/mL	40	2.03	0.40	1.35 - 3.23

Interferências Fisiológicas: AChE está deprimida na hemoglobinúria paroxística noturna (HPN)⁴. Em anemias macrocíticas ou microcíticas severas, a razão hemoglobina/colinesterase pode interferir na correção da hemoglobina e conseqüentemente, na atividade da AChE. PChE está deprimida na falência hepática, má nutrição, aumentada nas hepatites virais/alcoólicas e infecções.³

Interferências analíticas: Drogas que inibem a colinesterase tais como piridostigmina, vão diminuir a colinesterase. Resíduos de pesticidas adsorvidos na pele podem diminuir os valores por artefato. Lavar a pele com detergente que contenha amônia quaternária, tais como cloreto de benzetônio que pode diminuir os valores por artefato, cheque a etiqueta do detergente antes do uso.

Acurácia, Precisão e Linearidade do Test-mate ChE

Acurácia: o **Test-mate ChE** foi comparado com o kit da Boehringer Mannheim Cholinesterase No. 450035 no Analisador Hitachi 704 (BM/H).¹⁰ O método BM/H foi realizado no plasma (PChE) ou em sangue total diluído (AChE) corrigido pelo hematócrito, por isso em contraste com o **Test-mate ChE** de U/mL em sangue total a 25°C ou U/g Hgb a 25°C, os resultados da BM/H foram expressos como U/L plasma (PChE) a 37°C ou U/L hemácias (RBCs) (AChE) a 37°C

Doadores normais: (X, BM/H, punção venosa) vs. (Y, Test-mate, ponta do dedo)

	N	r	Pendente	Intercepto	Intervalo
AChE, U/L RBC vs U/g Hgb	44	0.78	0.000894	108	±25%CV
PChE, U/L plasma VS. U/L sangue	44	0.96	0.253	440	±50%CV

Pesticida dosado e doadores normais (X, BM/H, punção venosa) vs. (Y, Test-mate, punção venosa)

	N	r	Pendente	Intercepto	Intervalo
AChE, U/L RBC vs U/g Hgb	86	0.98	0.00158	322	±100%CV
PChE, U/L plasma VS. U/L sangue	87	0.98	0.457	-210	±100%CV

Nota: r, o coeficiente de correlação, é extremamente sensível ao intervalo (aumenta com a %CV do intervalo).

Precisão:

Intra-ensaio, N=40, 1 - 5 U/mL: 3 - 5% CV. Entre-ensaios, N=40, 1 - 5 U/mL: 5 - 7% CV.

Linearidade:

AChE eritrocitária: 0 - 7 U/mL; 0 - 50 U/g Hgb.

PChE plasmática: 0 - 7 U/mL

Variabilidade entre operadores do Test-mate ChE

Dez operadores diferentes realizaram dez medidas em amostras normais e anormais de punção venosa (N=100). As amostras anormais foram preparadas pela dosagem conhecida com pesticida (paraoxon).

	Normal				Anormal			
	AChE	AChE	PChE	Hgb	AChE	AChE	PChE	Hgb
	U/mL	U/g	U/mL	g/dL	U/mL	U/g	U/mL	g/dL
Média	5.63	33.8	1.72	16.8	1.38	9.7	1.03	14.3
SD	0.21	0.8	0.15	0.5	0.12	0.8	0.08	0.3
%CV	3.7	2.4	8.5	2.7	9.0	7.9	7.5	2.2

Esta variabilidade entre operadores do **Test-mate ChE** está de acordo com os critérios de proficiência do grupo de usuários do CAP (Colégio Americano de Patologistas) de $\pm 20\%$ da média para todas as análises enzimáticas (incluindo colinesterase) e compara favoravelmente com os dados de pesquisa do CAP 1996 para o teste de colinesterase (Pesquisa Bioquímica p. 84, amostra C7-02) entre todos os equipamentos. A Organização Mundial de Saúde, assim como os estados da Califórnia e do Texas, fizeram recomendações específicas para o teste de colinesterase eritrocitária (AChE corrigida pela hemoglobina) quando testar para intoxicação por pesticida. A precisão entre operadores da AChE corrigida pela hemoglobina, reportada neste estudo (N = 100, CV = 2.4%) é superior a média de qualquer grupo de usuários de equipamento/sistema de reagentes de colinesterase no CAP 1996.

Interpretação de Resultados

No modo de AChE o analisador fotométrico exibe os seguintes resultados:

- AChE (colinesterase eritrocitária) em U/mL (unidades por mililitro)
- AChE em %N (porcentagem normal) relativa a 3.79 U/mL
- Hgb (hemoglobina) em g/dL (gramas por decilitro)
- Hgb em %N relativo a 14.4 g/dL
- Q (quociente) em U/g (unidades por grama)
- Q em %N relativo a 26.3 U/g

Q é o valor da colinesterase eritrocitária corrigida pela hemoglobina. Q é computado pela divisão do resultado de AChE pelo resultado da Hgb. Se o nível de hemoglobina for abaixo de 5g/dL, o Q não é calculado.

No modo de PChE o analisador fotométrico exibe os seguintes resultados:

- PChE (colinesterase plasmática) em U/mL
- PChE em %N (porcentagem normal) relativa a 3.01 U/mL
- Hgb em g/dL
- Hgb em %N relativo a 14.4 g/dL

Diminuição da colinesterase a <50% do normal indica possível intoxicação a pesticidas, exigindo a remoção da exposição e/ou tratamento com anti-colinérgicos tais como atropina e pralidoxima. Os casos suspeitos de intoxicação podem ser confirmados pelo monitoramento da colinesterase pelo subsequente aumento de platô da atividade 1 - 3 meses depois da exposição. Se os valores base foram obtidos, diminuição da colinesterase a <70% do valor base pode ser indicativo de uma possível intoxicação por pesticida.

Precauções operacionais e limitações

O sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** é somente para uso em diagnóstico in vitro. O sistema é somente para uso de laboratório por técnicos de laboratório treinados.

O sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** é usado apenas para determinação quantitativa de colinesterase em sangue total para monitorar exposição à pesticidas. Apesar de o ensaio de colinesterase ser de grande valor no diagnóstico da sensibilidade a succinilcolina e no diagnóstico de disfunção hepática, este sistema não se destina para ser usado para esses propósitos.

O analisador fotométrico fornecido como parte do Sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** é para uso somente com o kit de Ensaio de Colinesterase Eritrocitária AChE e com o kit de ensaio de Colinesterase Plasmática PChE e **NÃO** se destina para uso com nenhum outro kit reagente.

O kit de Ensaio de Colinesterase Eritrocitária AChE e o kit de ensaio de Colinesterase Plasmática PChE são para uso somente com o analisador fotométrico suprido como parte do Sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** e não são destinados para uso com nenhum outro método manual ou automatizado ou equipamento.

O analisador fotométrico não é a prova de água. Evitar respingos de líquidos no equipamento.

Nunca TOCAR a metade inferior dos frascos de vidro quando manusear os tubos de ensaio, os mesmos devem permanecer limpos para que o analisador fotométrico opere adequadamente. Para impedir danos ao sistema óptico dentro do analisador fotométrico, usar somente luvas sem talco e evitar usar luvas com talco com o Sistema **Test-mate ChE**.

O **Test-mate ChE** é seguro para o operador e para o paciente, desde que os procedimentos de segurança sejam seguidos cuidadosamente, principalmente no que diz respeito ao uso de luvas e do descarte dos resíduos. Lembre que amostras de sangue podem transmitir doenças infecciosas tais como hepatite e AIDS, e, portanto tais amostras devem ser manuseados com o cuidado apropriado. Para impedir danos no sistema óptico dentro do analisador fotométrico, usar somente luvas sem talco e evitar usar luvas com talco com o Sistema Test-mate ChE.

O tratamento de emergência de pacientes seriamente intoxicados deve basear-se primariamente nos sintomas físicos do paciente, do que nos resultados de colinesterase.

O (Physicians' Desk Reference for Generics) índice terapêutico de 1995 lista apenas dois tratamentos para intoxicação por pesticidas: atropina (páginas 248 - 249) e pralidoxima (páginas 2303-2306). Na última referência (pag. 2304) é declarado que "O tratamento de intoxicação por organofosforados deve ser iniciada imediatamente sem esperar pelos resultados de testes de laboratório. Células vermelhas sanguíneas, colinesterase plasmática e ... [outros testes] devem ser úteis na confirmação do diagnóstico e para seguir o curso da doença."

No capítulo 4 de Avaliações de Drogas de 1995, publicado pela Associação Médica Americana, "Drogas Usadas no Gerenciamento de Intoxicações" páginas 66-67, "Diagnóstico de intoxicações. Exposições conhecidas associadas com sintomas compatíveis é o suficiente para se iniciar a terapia com atropina. Se os efeitos nicotínicos persistirem, pralidoxima deve ser administrada (Murphy, 1986; Minton and Murray, 1988). A terapia não deve ser adiada por resultados pendentes de testes de laboratório; células vermelhas eritrocitárias e colinesterase plasmática ... ajudam a confirmar o diagnóstico." Mesmo se usada inapropriadamente, nem a atropina ou a pralidoxima são significativamente tóxicas se usadas das doses recomendadas.

Manutenção e Informação de Serviço

Sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** não requer nenhuma manutenção rotineira. Diferentemente de outros equipamentos fotométricos, o analisador fotométrico do **Test-mate ChE** emprega um diodo emissor de luz (LED) de estado sólido como a fonte de energia analítica. Este LED não se queima e não está sujeito a quebras.

Se o painel frontal do analisador fotométrico tornar-se embaçado com impressões digitais, simplesmente limpe o painel com um papel toalha levemente úmido. Não usar limpadores abrasivos ou soluções de limpeza no painel do equipamento.

Se algum componente do Sistema de Teste de Colinesterase **Test-mate ChE** não funcionar apropriadamente, por favor contate a EQM Research ou seu distribuidor para assistência, antes de retornar ao sistema. Se o componente avariado precisar de serviço de fábrica, um número de autorização de retorno de mercadoria (RMA) será emitido. Envie o **Test-mate ChE** com a descrição do problema para a EQM Research, a postagem e o seguro são pré pagos. Por favor marque claramente o número RMA fora da caixa de envio. A EQM Research não pode assumir nenhuma responsabilidade por danos durante o trajeto. Garantias de reparo são sem custo. Serviços que não tem garantia são cobrados baseados no tempo e nos materiais. O **Test-mate ChE** será devolvido, postagem e seguros serão pré pagos.

Apêndice A - Esquema do procedimento de teste

1. Ligar o analisador fotométrico. Pressionar o botão **MODE** para selecionar o procedimento de ensaio de AChE ou o procedimento de ensaio PChE. Pressionar o botão **TEST** para começar o ensaio.
2. Inserir o novo tubo de ensaio no analisador. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
3. Quando avisado pelo analisador, remover o tubo de ensaio. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
4. Preencher um capilar com 10 μL de sangue e colocar no tubo de ensaio. Agitar o tubo de ensaio vigorosamente por 15 segundos. Alinhar o capilar e então inserir o tubo de ensaio no analisador. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
5. Quando avisado pelo analisador, remover o tubo de ensaio. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
6. Dissolva o reagente com 3 gotas de água destilada. Adicionar o reagente dissolvido no tubo de ensaio usando a pipeta de transferência. Imediatamente pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
7. Agitar o tubo de ensaio por inversão por 10 segundos. Alinhar o capilar e então inserir o tubo de ensaio no analisador. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
8. Quando avisado pelo analisador, remover o tubo de ensaio. Pressionar o botão **TEST** para continuar o ensaio.
9. Registrar as leituras do analisador usando o botão **TEST** para avançar os números exibidos. Pressionar o botão **DONE** quando terminar o ensaio.

Apêndice B - Coleta de amostras e especificações dos reagentes

Coleta de amostras: Sangue fresco da ponta do dedo ou sangue venoso (anticoagulado com EDTA) podem ser usados. O lugar da punção deve ser totalmente lavado antes de coletar a amostra para minimizar uma possível contaminação da amostra de resíduo de pesticida adsorvido na pele. Para evitar coagulação, o capilar deve ser colocado no tubo de ensaio dentro de 10 segundos. Colinesterase pode se reativar, principalmente com inibição de pesticida carbamato durante armazenagem prolongada. Tal reativação pode produzir um "falso negativo".⁷

Especificações dos reagentes: Para uso em diagnóstico in vitro. Para determinação quantitativa de colinesterase em sangue total para monitorar exposição à pesticida. Para uso somente de laboratório por técnicos de laboratório treinados.

1. Tampão: 2 mL por tubo de ensaio. Contem fosfato, surfactante, corante e conservante EDTA
2. Água destilada: 15 mL em frasco plástico gotejador
3. Reagente AChE para Colinesterase eritrocitária: liofilizado, 96 testes por placa. Armazene o reagente liofilizado a 15 - 30°C, protegido da luz. Reconstituir com 3 gotas de água destilada. Estável por 72 horas a 15 - 35°C depois da reconstituição. O ensaio final inclui: 1 mM AcTc, 0.3 mM DTNB, 20 μ M As1397, 50 mM de fosfato de potássio e 0.1% de Triton X-100, pH 7.6.
4. Reagente PChE para Colinesterase plasmática: liofilizado, 96 testes por placa. Armazene o reagente liofilizado a 15 - 30°C, protegido da luz. Reconstituir com 3 gotas de água destilada. Estável por 72 horas a 15 - 35°C depois da reconstituição. O ensaio final inclui: 2 mM BuTC, 0.3 mM

DTNB, 50 mM de fosfato de potássio e 0.1% de Triton X-100, pH 7.6.

O reagente de AChE é >95% específico devido a adição de um inibidor específico de PChE, As1397 (10-(3-dietilaminopropionil)-fenotiazina).

O reagente de PChE é >95% específico devido a especificidade do BuTC.

Apêndice C - Especificações do Analisador Fotométrico

Dimensões	14,6 x 8,9 x 4,5 cm
Peso	284 g
Requerimentos elétricos	9 VDC, 0.025 Amp. (Bateria ou cabo)
Fonte de Luz	Diodo Emissor de Luz (LED) azul
Detector de luz	Fotodiodo único
Monocromador	Filtro de interferência
Comprimento de onda	450 nm
Largura da banda	12.0 nm
Caminho óptico	13 mm
Linearidade ótica	Até 3.000A
Resolução ótica	0.001 ^a
Estabilidade ótica	<0.005 A/hora
Acurácia da Temperatura	0.2oC
Resolução da Temperatura	0.12oC
Linearidade da Temperatura	0.12oC

Abreviaturas

A, absorbância, LED, diodo emissor de luz

Apêndice D - Mensagens de Erro do Analisador Fotométrico

O analisador fotométrico Test-mate ChE contém um microprocessador sofisticado. Este computador executa várias checagens na parte eletrônica, ótica, condições relativas ao meio e reações de ensaio. Se um problema for detectado, uma mensagem de erro será exibida. Para limpar a mensagem de erro, o analisador deve ser desligado e depois ligado de novo.

ADC ERROR: o conversor analógico-digital não está funcionando apropriadamente. Contate EQM Research, Inc. para assistência.

BATTERY ERROR: A bateria de 9 Volts que alimenta o analisador precisa ser trocada. Substitua a bateria velha por uma nova.

COOL ERROR: O teste de temperatura foi muito frio para o analisador compensar a temperatura da reação. Vá para um ambiente mais quente.

FULL ERROR: Não foi detectada luz suficiente durante o "blank". Assegurar-se que um tubo de ensaio novo esteja no local.

RAM ERROR: O armazenamento de dados interno do microprocessador foi danificado. Contate EQM Research, Inc. para assistência.

REACTION ERROR: Nenhuma reação foi detectada durante o ensaio. Tente o ensaio novamente o assegurar-se de adicionar reagente.

ROM ERROR: O armazenamento interno de programas do microprocessador foi danificado. Contate EQM Research, Inc. para assistência.

SAMPLING ERROR: O valor da hemoglobina está fora do intervalo plausível. Tente o ensaio novamente verificando as técnicas de coleta de sangue.

WARM ERROR: O teste de temperatura foi muito quente para o analisador compensar a temperatura da reação. Vá para um ambiente mais fresco.

ZERO ERROR: Foi detectada muita luz durante o "blank". Contate EQM Research, Inc. para assistência.

Referências Bibliográficas

1. Coye MJ, Lowe JÁ, Maddy KT. Biological monitoring of agricultural workers exposed to pesticides. I. Cholinesterase activity determinations. *J Occup Med* 1986;28:619-27
2. Magnotti RA, Dowling K, Eberly JP, McConnell RS. Field measurement of plasma and erythrocyte cholinesterases. *Clin ChimActa* 1988;176:315-332
3. Whitaker M. Cholinesterase. In: *Monographs in Human Genetics* Vol. 11. Base:Karger, 1986.
4. Lawson AA, Barr RD. Acetylcholinesterase in red blood cells. *Am J Hematol* 1987;26:101-12
5. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961;7:88-95
6. Augustinsson KB, Eriksson H, Fajjersson Y. A new approach to determining cholinesterase activities in samples of whole blood. *Clin ChimActa* 1978;89:239-52
7. Smith RL, The estimation of serum cholinesterase in the presence of anticholinesterase insecticides. *Clin Chim Acta* 1974;52:315-19
8. Sidell FR, Kaminskis A. Temporal intrapersonal physiological variability of cholinesterase in human plasma and erythrocytes. *Clin Chem* 1975;21:1961-63
9. Rasmussen WA, Jensen JA, Stein WJ, Hayes WJ. Toxicological studies of DDVP for disinsection of aircraft. *Aero Med*: July 1963, pp.593 - 600.

10. Cholinesterase: Catalog No. 450035. Package insert and application sheet for the Hitachi 704 Analyzer (1992). Boehringer Mannheim Corporation. Indianapolis Indiana.
11. Coeland BE. Quality control. In: Kaplan LA, Pesce, AJ, eds. Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation. St. Louis: CV Mosby, 1984:323

GARANTIA

A CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME garante a qualidade do SISTEMA TEST-MATE CHE contra qualquer defeito de material ou de fabricação pelo prazo de 12 (doze) meses a partir da data de recebimento e instalação do produto.

Constatado o eventual defeito pela Assistência Técnica da CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME, serão tomadas todas as providências para o conserto gratuito ou substituição das peças defeituosas, se o laudo pericial constatar o defeito de fabricação.

A CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME declara esta garantia nula e sem efeito se o equipamento sofrer danos resultantes de negligência, omissão, acidente, uso indevido, ter sido instalado de acordo com as instruções fornecidas pela CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME, operar com utilidades fora das especificações ou ainda se o equipamento apresentar sinais de ter sido violado, alterado, ajustado ou consertado por pessoal não autorizado pela CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME. A garantia é igualmente nula caso sejam utilizadas partes e peças, outras que aquelas fabricadas ou supridas pela CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME ou distribuidores autorizados ou que sejam consideradas equivalentes em termos de qualidade e compatíveis com o equipamento, ou ainda uso de consumíveis e acessórios que não preencham as especificações para o equipamento.

Esta garantia não engloba os consumíveis, reparos ou substituições de partes reparadas.

A garantia não cobre peças danificadas devido a acidente de

transporte ou manuseio inadequado.

A CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME obriga-se, sempre que possível, a prestar os serviços acima citados no local onde o produto estiver instalado. Caso o conserto, no local não for possível, o custo do transporte do produto até as instalações da CMW SAUDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.-ME e de volta ao local onde está sendo usado, é de responsabilidade do consumidor.

Para efeito da prestação de serviço em garantia, deverá ser apresentada a documentação original que acompanha o produto.



CMW Saúde & Tecnologia Imp. e Exp. Ltda.
Av. João Pedro Cardoso, 183 - Jd. Aeroporto
CEP: 04355-000 - São Paulo - SP
Tel.: (11) 5031-9337 - Fax: (11) 5034-3489
www.cmwsaude.com.br