



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Ago/24)

CK MB

Método cinético UV

FINALIDADE

O conjunto CK MB é um sistema que se destina à determinação das subunidades B da creatina quinase no soro humano. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A determinação da CK MB por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade de ação das enzimas com a simplicidade operacional envolvida. No presente método, as subunidades M da creatina quinase (CK MM e CK MB) são inibidas por um anticorpo específico, permitindo a determinação das subunidade B da CK MB (assumindo a ausência de CK-BB). A CK MB catalisa a reação entre a creatina fosfato e ADP, formando ATP, o qual fosforila a glicose sob a ação da hexoquinase formando a glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato-desidrogenase oxida a glicose-6-fosfato em presença de NADP, que é reduzido a NADPH. A velocidade de aumento da concentração de NADPH no meio pode ser seguida por espectrofotometria a 340 nm, sendo proporcional à concentração de CK MB na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Creatina Quinase (CK) é uma enzima que está presente no músculo cardíaco, cérebro e músculo esquelético. Assim, um aumento da CK circulante, deve estar associado a infarto agudo do miocárdio, doença cerebrovascular aguda e trauma ou doença do músculo esquelético. Após o infarto agudo do miocárdio, a CK aumenta entre 4 a 6 horas após o início dos sintomas, sendo o pico entre 18 a 30 horas e retorna ao nível normal em aproximadamente 72 horas, se não houver a ocorrência de novos episódios. Para um diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade, recomenda-se a dosagem seriada ao longo de um período de 8 a 12 horas. A CK está presente em três isoenzimas que são separadas por eletroforeses e são formadas por diferentes tecidos corporais. A isoenzima CK BB é a forma predominante no cérebro e no músculo liso, a CK MM está presente no coração e músculo esquelético e a CK MB é chamada de isoenzima cardíaca porque está especificamente no músculo cardíaco. Em alguns casos, a dosagem da CK MB poderá apresentar valor mais alto que a CK TOTAL, devido a presença de isoenzimas macromoleculares: a macro CK tipo 1 que é um complexo de CK BB ou CK MM ligado a Iminoglobulina G ou Iminoglobulina A e a macro CK tipo 2, um complexo polimérico de origem mitocondrial com algum grau de associação com neoplasias.

REAGENTES

1. Tampão: 1 frasco com 48 mL, contendo Imidazol pH 6,7, anticorpo anti-CK MM capaz de inibir até 2000 U/L de CK MM, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, glicose 25 mmol/L, Hexoquinase > 6800 U/L, NADP 2,5 mmol/L e NAC 25 mmol/L.

2. Enzimas 1 frasco de 12 mL, contendo ADP 15,2 mmol/L, AMP 25 mmol/L, Diadenosina pentafosfato 103 mmol/L, tampão imidazol PH 6,7 e G6-PDH > 8800 U/L.

3. Controle de CK MB: 01 frasco contendo CKMB liofilizado. **A concentração está impressa no rótulo do frasco.** Conservar entre 2 e 8°C.

MAERIAS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Centrífuga
Banho-maria
Cronômetro
Vidraria
Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- 1.As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
- 2.Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- 3.Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C.
- 4.Não congelar.
- 5.Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.
- 6.Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1.Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- 2.Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- 3.O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- 4.Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- 5.Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- 6.Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- 7.Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado. Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- 8.O desempenho do ensaio pode ser afetado se este reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
- 9.Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
- 10.Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- 11.Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.
- 12.Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- 13.As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- 14.Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro

Sob refrigeração (2-8°C), a CK MB no soro é estável por 1 dia. Não usar amostras hemolisadas.

Nota: A atividade da creatina quinase MB perde 2% de sua atividade dentro de 7 dias entre 2 e 8°C ou dentro de 24 horas à temperatura ambiente.

PROCEDIMENTO

Preparo do Controle: Deixar o frasco do Controle em temperatura ambiente por 10 minutos. Adicionar 1,0 mL de água destilada ao conteúdo do frasco. Aguardar 10 minutos e homogeneizar com movimentos circulares. Após reconstituição o controle é estável por 30 dias entre 2-8°C, para maiores períodos, recomendamos separar o controle em alíquotas e armazenar a -20°C. Após descongelar, homogeneizar antes da utilização. O material congelado deve ser degelado uma única vez.

Nota: É fundamental que a água utilizada para a reconstituição do controle seja de boa qualidade, para evitar a deteriorização do mesmo e alteração dos resultados analisados.

Preparo do Reagente de Trabalho: Misturar 1 (uma) parte de reagente 2 a 4 (quatro) partes de reagente 1 em um frasco, quimicamente limpo e agitar suavemente por inversão. Este reagente é estável 14 dias, se mantido ao abrigo da luz direta e fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens.

Dosagem (Soro):

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C ± 0,5 °C
Comprimento de onda	340 nm

- 1-Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 3 minutos a 37°C.
- 2-Acertar o zero do aparelho com água destilada.
- 3-Pipetar em um tubo de ensaio:

Volume	
Reagente de Trabalho	1,0 mL
Amostras ou Controle	40 µL

- 4-Homogeneizar e transferir de imediato para uma cubeta termostatizada a 37°C. Acionar o cronômetro.
- 5-Depois 3 minutos, anotar a absorbância inicial A0 e efetuar novas leituras após 1, 2, 3 minutos (A1, A2 e A3 respectivamente). A média das diferenças entre as leituras, ΔA média, será usada nos cálculos abaixo.

CÁLCULOS

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

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)}{3}$$

A atividade de CK-MB na amostra é calculada pela multiplicação do ΔA/min, utilizando-se o seguinte fator:

$$\text{CKMB (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 8254$$

Exemplo:

$$A_0 = 0,934 \quad A_1 = 0,965 \\ A_2 = 0,996 \quad A_3 = 1,027$$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(0,965 - 0,934) + (0,996 - 0,965) + (1,027 - 0,996)}{3} = 0,031$$

$$\text{CKMB (U/L)} = 0,031 \times 8254 = 256 \text{ U/L}$$

OBS: Para cálculo de Fator nas adaptações em analisadores automáticos utilizar coeficiente de absorvidade do NAD = 6,3. Em seguida, multiplicar o Fator por 2.

PROCEDIMENTO PARA DOSAGEM DE CK MB COM VALOR SUPERIOR A CK TOTAL

Nota: Deve-se suspeitar da presença das isoenzimas macromoleculares quando a medida da atividade de CK MB exceder em 20% a atividade de CK TOTAL.

- 1-Realizar a dosagem de CK TOTAL e CK MB antes do aquecimento do soro.
- 2-Aquecer o soro a 45°C por 20 minutos.
- 3-Dosar a CK MB novamente.

CÁLCULOS

Valor de CK MB (U/L) = CK MB inicial – CK MB (após aquecimento)

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	37°C
Adultos	<24 U/L

A CK MB corresponde 5,5 a 20% da CK TOTAL.

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

LINEARIDADE

A reação é linear até valores de $\Delta A/\text{min}$ igual a 0,0727 em 340 nm. Para valores de $\Delta A/\text{min}$ acima de 0,0727 (600 U/L) diluir a amostra com solução de NaCl 0,9% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%.

Exatidão: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,99 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi : $y=0,9966x+1,319$, que representa uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	10,55
Desvio Padrão	0,93
Coefficiente de Variação (%)	8,8

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	10,35
Desvio Padrão	0,89
Coefficiente de Variação (%)	8,6

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorvância em 340 nm igual a 0,0005 na concentração de CK MB. O limite de detecção do método é igual a 4,13 U/L.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Anticoagulantes: Todos os anticoagulantes interferem na dosagem.

Hemólise, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina ≥ 200 mg/dL; Bilirrubina ≥ 35 mg/dL;

Triglicérides ≥ 900 mg/dL; CK-MM ≥ 2000 U/L

Nota: Valores aumentados de CK sem correlação clínica com IM podem ainda ser encontrados na ocorrência de macro CK (isoenzima que pode cruzar com os ensaios de CK-MB). Nesses casos o valor de CKMB chega a ser maior que o valor de CK total.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.SCIENTIFIC DIVISION, WORKING GROUP ON ENZYMES. International Federation of Clinical Chemistry IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. **Clin. Chim. Acta.** v. 281, v.1-2, p.S5-S39, 1999.
- 2.WU, A.H ; BOWERS, JR., G.N. Evaluation and comparison of immunoinhibition and immunoprecipitation methods for differentiating MB and BB from macro forms of creatine kinase isoenzymes in patients and healthy individuals. **Clin. Chem.** v.28, p.2017-2021, 1982.
- 3.BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz textbook of clinical chemistry**, 4 ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1994. 836p.
- 4.YOUNG, D.S. **Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2**, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 5.WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. **Clin. Chem.** v.27 p.493-501, 1981.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Volume
1. Tampão	1 x 40 mL
2. Enzimas	1 x 10 mL
3. Calibrador	1 x 1 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- 1.A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga – CRBio 076936/04-D

ANVISA 10377390243

Data da última revisão: 01/08/2024

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico "In Vitro"
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote