



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Dez/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 Imunoglobulina G ou Imunoglobulina A e a macro CK tipo 2, um complexo polimérico de origem mitocondrial com algum grau de associação com neoplasias.

REAGENTES

Apresentação com 60 mL:

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 pentaofosfato 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.

MATERIAIS 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- Após 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:

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

Exemplo:

A₀ = 0,934 A₁ = 0,965
A₂ = 0,996 A₃ = 1,027

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

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

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: AACCPress, 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

60 mL	Volume
1. Tampão	1 x 48 mL
2. Enzimas	1 x 12 mL
3. Controle de CK MB	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: 17/12/2024

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