



## MÉTODO

Cinético-UV ou Imunoinibição IFCC.

## FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da isoenzima CK-MB (CK-2) no soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

## FUNDAMENTO

As subunidades M tanto de CK-MM quanto de CK-MB são inibidas por um anticorpo específico anti-CK-M que não afeta as subunidades B da CK-BB e CK-MB. A atividade catalítica de CK-B que corresponde à metade da atividade da CK-MB é determinada pelas reações acopladas da hexoquinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). Uma quantidade equimolar de NADP<sup>+</sup> é reduzida para NADPH, havendo um aumento da absorvância em 340 nm proporcional à atividade da CK-MB. Nesta metodologia, pressupõe-se a ausência de CK-BB no plasma como é o normal.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinoquinase (CK) é encontrada no músculo cardíaco, na musculatura esquelética e no cérebro. Deste modo, qualquer lesão nas células desses órgãos poderá provocar um aumento nos níveis séricos de CK.

A CK é um dímero composto de duas subunidades: B (brain = cerebral) e M (muscle = muscular) que formam três 3 frações principais, denominadas de CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) e CK-MM (CK-3). Existe ainda a CK-Mt (mitocondrial) que difere das outras, tanto do ponto de vista imunológico quanto de sua mobilidade eletroforética.

### Isoenzimas da Creatinoquinase (CK)

**1. Isoenzima CK-BB:** É encontrada predominantemente no cérebro e no pulmão e praticamente inexistente no sangue periférico.

**2. Isoenzima CK-MM:** Compreende mais de 95% da CK dos músculos esqueléticos e cerca de 70-75% da enzima do miocárdio. Valores elevados de CK-MM podem ser encontrados em: distrofia muscular, miosite, convulsões recentes, cirurgia recente, hipotireoidismo, hipocalcemia, injeções intramusculares, e delirium tremens.

**3. Isoenzima CK-MB:** É uma fração híbrida composta de cadeias M e B, que é encontrada predominantemente no músculo cardíaco. A sua determinação é bastante específica para o diagnóstico do infarto do miocárdio. A CK-MB aumenta dentro de 3-6 horas após ocorrência do infarto, atingindo um valor máximo em 12 - 24 horas e retornando ao normal em 24 - 48 horas, caso não ocorra um novo infarto nesse período. Existe uma correlação grosseira entre o grau de elevação da enzima e a extensão do infarto.

**Valores elevados da Isoenzima CK-MB:** Infarto agudo do miocárdio, desfibrilação cardíaca, isquemia cardíaca, miocardite, cirurgia de aneurisma cardíaco, distrofia muscular e rhabdomiólise.

## QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A composição dos reagentes e o procedimento analítico obedecem às recomendações da IFCC.

## REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C

- 1. Tampão** - Contém tampão pH 6,1 de imidazol 125 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, D-glicose 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6800 U/L, NADP 2,4 mmol/L e Anti-CK-M humana capaz de inibir 2000 U/L de CK-M.
- 2. Substrato** - Contém creatinofosfato 250 mmol/L, ADP 15,2 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P<sub>1</sub>, P<sub>5</sub>-di(adenosina-5')-pentafosfato 103 μmol/L, glicose-6-fosfato desidrogenase 8800 U/L.
- 3. Calibrador** (liofilizado) - Contém tampão 50 mmol/L, cloreto de sódio 154 mmol/L, CKMB e CKMM de origem humana. O valor da atividade de CKMB está indicada no rótulo do frasco, que é rastreável ao Procedimento Primário de Referência da IFCC e ao Material de Referência ERM- AD455/IFCC.

## ESTABILIDADE

Os reativos são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com cubeta termostatizada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

## PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.

- O Tampão (1) e o Substrato (2) contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- O Calibrador (3) por ser derivado do sangue humano foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

## AMOSTRA

SORO ou PLASMA (EDTA, heparina).

O analito no soro é estável por 7 dias entre 2-8 °C.

Evitar exposição à luz solar intensa. Não usar amostras hemolisadas.

## Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

## INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

A atividade da CKMB pode estar aumentada em até 6% nos pacientes submetidos a grandes cirurgias.

Após realização de fortes exercícios a CKMB pode estar elevada, mesmo sem a ocorrência do infarto agudo do miocárdio.

## INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 20 mg/dL, lipemia (triglicérides até 1,25 g/L) e hemólise (hemoglobina até 2,5 g/L) não produzem interferências significativas.

## PROCEDIMENTO DO TESTE

### A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 340 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de reação: Cinética de 2 pontos crescente

**1. Preparo do Reagente de Trabalho:** De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) + 1 volume do Substrato (2). Estável por 15 dias entre 2-8 °C protegido da luz.

**2. Preparo do Calibrador:** Abrir cuidadosamente o frasco de Calibrador (3). Usando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar ao frasco do Calibrador o volume de água tipo II indicado no rótulo do frasco. Fechar o frasco com a tampa de borracha e deixar em repouso por 10 minutos. Homogeneizar suavemente por inversão para dissolver o liofilizado. Antes de usar, homogeneizar novamente e retirar a quantidade necessária para uso. Tampar imediatamente e armazenar bem vedado e protegido da luz. Estável por 30 dias entre 2-8 °C. O Calibrador dissolvido deverá ser mantido fora da temperatura recomendada somente pelo tempo mínimo para retirada do volume de análise. Para aumentar o período de conservação do Calibrador para 90 dias, sugerimos utilizar criotubos, dividir o volume em alíquotas menores e armazenar em temperatura inferior a 10 °C negativos.

## Notas

1. Antes de realizar a determinação de CK-MB, dosar previamente a CK Total usando o kit CK-NAC - PP - REF. 458. Quando o valor de CK-NAC for maior que 2000 U/L, dosar a CK-MB diluindo o soro a 1:2 ou 1:3 com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Multiplicar o resultado pela diluição empregada (2 ou 3).
2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

## B. Técnica de Análise com Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 μL
Amostra ou Calibrador	50 μL

2. Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.
3. Fazer a leitura da absorvância aos 5 minutos (A<sub>5</sub>) e aos 10 minutos (A<sub>10</sub>).
4. Calcular as diferenças de absorvância obtidas para o Calibrador e para o Teste:  
 $\Delta A = A_{10} - A_5$

## Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta A$  do Calibrador ou do Teste = A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>

$\Delta C$  = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Calibrador

$\Delta T$  = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Teste

AC = Atividade de CKMB do Calibrador = x U/L (Valor indicado no rótulo do Calibrador)

AT = Atividade de CKMB do Teste em U/L

FC = Fator de Calibração = AC ÷ ΔC

AT em U/L = FC x ΔT

**Exemplo**

Se A<sub>5</sub> Calibrador = 0,322      A<sub>10</sub> Calibrador = 0,378  
Se A<sub>5</sub> Teste = 0,359      A<sub>10</sub> Teste = 0,375  
ΔC = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Calibrador = 0,378 - 0,322 = 0,056  
ΔT = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Teste = 0,375 - 0,359 = 0,016  
Se AC = 72 U/L (valor de CKMB indicado no rótulo do frasco de Calibrador)  
FC = AC ÷ ΔC = 72 ÷ 0,056 = 1286  
AT = Atividade de CKMB do Teste = FC x ΔT = 1286 x 0,016 = 21 U/L

**C. Técnica de Análise sem Calibrador**

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	50 µL

- Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.
- Fazer a leitura de absorbância aos 5 minutos (A<sub>5</sub>) e aos 10 minutos (A<sub>10</sub>).
- Calcular a diferença de absorbância obtida para o Teste: ΔA = A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>

**Cálculos**

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADPH em 340 nm é 6,3 e as condições da reação, deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica:

U/L de CKMB em 340 nm = ΔT x 1333

Onde: ΔT = Variação da absorbância em 5 minutos

O fator 1333 é calculado com base nas condições da reação cinética de 2 pontos. Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

ΔT = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Teste

AT = Atividade de CKMB do Teste em U/L

**Exemplo**

Se A<sub>5</sub> Teste = 0,359  
Se A<sub>10</sub> Teste = 0,375  
ΔT = (A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>) do Teste = 0,375 - 0,359 = 0,016  
AT = Atividade de CKMB do Teste = ΔT x 1333 = 0,016 x 1333 = 21 U/L

**Cálculo do Fator**

Fator = (Vt x 1000 x 2) ÷ (ε x Va x d x 5)

Fator = (1050 x 1000 x 2) ÷ (6,3 x 50 x 1 x 5) = 1333

Vt = volume total do ensaio = 1050 µL

Va = volume da amostra = 50 µL

1000 = conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

ε = Absortividade milimolar do NADH em 340nm = 6,3

**Notas**

- A CKMB é composta pelas unidades M e B. Na dosagem, as subunidades M são inibidas pelo anticorpo anti-CKM, não afetando as subunidades B. O fator é multiplicado por 2 porque a atividade catalítica de CKMB dosada no ensaio corresponde à metade da concentração CKMB.
- O fator é dividido por 5 para corrigir o tempo de reação de 5 para 1 minuto.

**Índice de CK-MB**

Índice de CK-MB = (U/L de CK-MB x 100) ÷ (U/L de CK Total) = X%

**Atenção**

- As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de para leitura é igual ou menor do que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

**Conversão de Unidades**

Unidade convencional (U/L) x 0,0167 = Unidade SI (µKat/L)

**VALORES DE REFERÊNCIA**

CK-MB até 25 U/L

Índice de CK-MB até 6%.

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

**AUTOMAÇÃO**

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

**CONTROLE DA QUALIDADE**

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar amostra controle de origem humana.

**CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>7</sup>**

**Linearidade:** A reação é linear até 600 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

**Repetitividade:** A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de CKMB, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,1 e 2,5%.

**Reprodutibilidade:** A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de CKMB em dias diferentes, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,2 e 3,6%.

**OBSERVAÇÕES**

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Editora Guanabara Koogan SA; 1998.
- IFCC. Methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
- IFCC Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (6): 635-642.
- Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico- Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1988; 7:29-32.
- Szasz G, Gruber W, Bernt E. Clin Chem 1976;22:650.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

**APRESENTAÇÃO**

REF.	Reagentes	Volume
490	Tampão	1 x 40 mL
	Substrato	1 x 10 mL
	Calibrador	1 x 1 mL

**TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor**

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230085

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020











Home page: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

E-mail: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br)

**Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888**

**Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda**

**SIMBOLOGIA**

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco biológico		Liofilizado

Revisão: 01/19