



CK MB

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

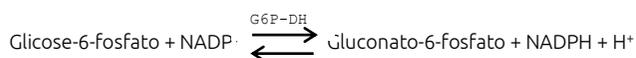
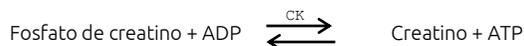
Teste Cinético-UV com imunoinibição.

FINALIDADE:

Kit destinado à determinação quantitativa da atividade enzimática da creatina quinase subunidade B (CK-MB) no soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O método baseia-se na determinação da atividade da CK-MB na presença de um mix de anticorpos contra o monômero M. Esses anticorpos inibem totalmente as isoenzimas CK-MM e metade da atividade da CK-MB, sem afetar o monômero B. Em geral a CK-BB não se encontra no sangue, dessa forma a quantificação do monômero B é praticamente específica para a forma CK-MB. A creatina quinase (CK) catalisa a fosforilação do ADP pelo fosfato de creatino, obtendo-se creatina e ATP. A glicose é fosforilada pelo ATP sob ação da hexoquinase, formando a glicose-6-fosfato. Esse composto é oxidado pela glicose-6-fosfato desidrogenase, formando o gluconato-6-fosfato. Nessa última reação, uma quantidade equimolar de NADP⁺ é reduzida a NADPH. A partir da velocidade de formação do NADPH, medido a 340 nm, é determinada a concentração catalítica da creatina quinase fração B que é a metade da atividade global da CK-MB.



SIGNIFICADO CLÍNICO:

A CK é um dímero composto de duas subunidades B (brain) e M (muscle) que formam as três frações principais. Estas duas cadeias B e M podem combinar-se de três formas, formando as chamadas isoenzimas da CK: CK-MM, CK-MB, e CK-BB. A CK-MM é encontrada em grande quantidade principalmente na musculatura estriada esquelética. A CK-BB é a isoenzima que se encontra predominantemente no cérebro. A CK-MB está presente no miocárdio, onde representa cerca de 20% da CK total presente.

A isoenzima CK-MB é considerada o marcador bioquímico de referência para diagnóstico da lesão do miocárdio. Apesar de ser específica para lesão no miocárdio, o músculo esquelético pode ter até 4% de CK-MB. Isso pode reduzir a especificidade do teste, especialmente em paciente com lesões concomitantes na musculatura esquelética. A elevação da CK-MB no infarto ocorre entre 3 a 6 horas do início dos sintomas e atinge seu pico com 24 horas.

O retorno a normalidade ocorre entre 48 e 72 horas se não ocorrerem novos quadros de infarto do miocárdio.

A fração MB por ser específica do músculo cardíaco apresenta grande significado na monitoração do infarto do miocárdio.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8 °C

R1-Tampão: Tampão Imidazol 100 mm pH 6,7, EDTA 2 mm, acetato de magnésio 10 mm, D-glicose 20 mm, Azida Sódica 0,09% p/v, anticorpo monoclonal Anti-CKMM 5,5mL/L.

R2-Substrato: Creatino-fosfato 30 mm, ADP 2 mm, AMP 5 mm, Diadenosina 5 penta-fosfato 10 mm, NADP 2 mm, N-acetilcisteína 20 mm, EDTA 2 mm, Hexoquinase > 3.000 U/L, Glicose-6-fosfato desidrogenase > 2.500 U/L, Azida Sódica 0,09% p/v.

R3-Controle: Preparação liofilizada contendo tampão fosfato, 100mmol/L, cloreto de sódio 0,9 g/L, albumina bovina 5%, azida sódica 0,1%, enzimas CKMM e CKMB de origem humana. Vide rótulo do frasco para o valor da atividade enzimática.

PREPARO DOS REAGENTES

Misturar 4 partes do R1 a uma parte do R2. Homogeneizar suavemente.

Adicionar ao frasco do controle o volume de água tipo II indicada no rótulo. Recolocar a tampa de borracha, deixar em repouso por 30 minutos. Homogeneizar por inversão. Se não for utilizado imediatamente, o controle deve ser alíquotado e congelado. Utilizar as alíquotas em até 5 dias após seu preparo. Após congelado o material só deve ser descongelado uma vez.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Não congelar, evitar exposição prolongada a luz. Manter os reagentes em temperatura ambiente somente o tempo necessário para execução dos testes.

O reagente de uso é estável por até 2 semanas após seu preparo se armazenado sob temperatura de 2 a 8 °C. Manter o reagente de uso ao abrigo da luz.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. Os reagentes R1, R2 e R3 possuem azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação 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;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO.

A CK-MB no soro é estável por 24 horas se a amostra for conservada em temperatura de 2 a 8 °C. Não utilizar amostras hemolisadas.

INTERFERÊNCIAS

Todos os anticoagulantes interferem na dosagem. Não devem ser utilizados soros ictericos e amostras com Triglicérides \geq 900 mg/dL, hemoglobina \geq 200 mg/dL e bilirrubina \geq 35 mg/dL.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- 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;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostizador para 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 340 nm;

Cubeta: 1 cm;

Temperatura: 37 °C;

Medição: Zerar a absorbância contra branco (água deionizada). É necessário apenas um branco por bateria de testes.

4. Procedimento

Preparo do reagente: O reagente para o teste deve ser preparado na proporção de 4 partes de R1-TAMPÃO e 1 parte de R2-SUBSTRATO, homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável por até 02 semanas em temperatura de 2 a 8 °C.

Pipetar na Cubeta	Amostra/Controle
Amostra/Controle	40 μ L
Reagente	1000 μ L

Procedimento: Pipetar o reagente em um tubo de ensaio, homogeneizar e imediatamente incubar a 37 °C. Acionar o cronômetro. Após 3 minutos ler a absorbância inicial (A₀). Efetuar novas leituras a cada 60 segundos, por 03 minutos (A₁, A₂ e A₃).

5. Cálculos:

Após efetuadas as leituras das absorbâncias, calcular a média de variação das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

$$\Delta A/\text{min} = [(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)] / 3$$

Para calcular a atividade da CK-MB (U/L), deverá ser usado o fator:

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

Exemplo: (A₀=0,937) (A₁=0,966) (A₂=0,994) (A₃=1,029)

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(0,966-0,937) + (0,994-0,966) + (1,029-0,994)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,031$$

$$\text{CK-MB (U/L)} = 0,031 \times 8254$$

$$\text{CK-MB (U/L)} = 253,1 \text{ U/L}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 600 U/L.

Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 2 em solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

2. Valores de referência

Valores Normais:	37 °C
Adulto	< 24 U/L

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

Conversão para SI: CK-MB (U/L) x 0,017 = CK-MB (Ukat/L)

3. Sensibilidade

1,764 U/L

4. Comparação de métodos

O kit para dosagem de CK-MB foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de CK-MB da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	30	16,21	0,31	1,91
SC2	30	79,66	0,73	0,92
SC3	30	753,41	3,32	0,44

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	12,19	0,81	6,64
SC2	10	76,91	1,19	1,55
SC3	10	873,42	7,43	0,85

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de CK-MB da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	45,20	44,72	99%
SC2	543,84	547,29	101%
SC3	851,87	856,78	101%

Todo soro controle com valores determinados para o CK-MB, pelo método Cinético, pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/221-050	R1-TAMPÃO	1 x 40 mL	50
	R2-SUBSTRATO	1 x 10 mL	
	R3-CONTROLE	1 x 0,5 mL	
100/221-100	R1-TAMPÃO	2 x 40 mL	100
	R2-SUBSTRATO	2 x 10 mL	
	R3-CONTROLE	1 x 0,5 mL	

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- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 3- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536;

Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;

dsa@vidabiotecnologia.com.br

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070057

Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	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
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote