



CK-MB SC

## INSTRUÇÕES DE USO

### MÉTODO:

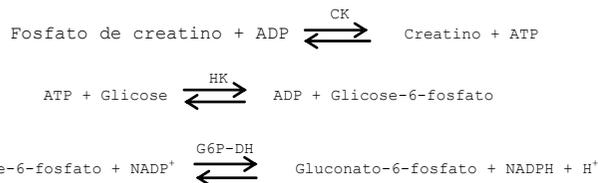
Teste Cinético-UV com imunoinibição.

### FINALIDADE:

Kit destinado à determinação quantitativa da atividade enzimática da creatina quinase subunidade B (CK-MB) no soro e plasma.

### 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<sup>+</sup> 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 pentafosfato 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.

### PREPARO DOS REAGENTES

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

### 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 07 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 sob as condições de temperatura descritas acima e em sua embalagem original.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. Os reagentes R1 e R2 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 ou trocar as tampas, evitando contaminação cruzada.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostático 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 ≥ 900 mg/dL, hemoglobina ≥ 200 mg/dL e bilirrubina ≥ 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 termostático para 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

#### 3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 340nm;

Cubeta: 1cm;

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 µL
Reagente	1000 µL

**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 (A<sub>0</sub>). Efetuar novas leituras a cada 60 segundos, por 03 minutos (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub>).

#### 5. Cálculos:

Após efetuadas as leituras das absorbâncias, calcular a média de variação das absorbâncias por minuto (ΔA/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:

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

Exemplo: (A<sub>0</sub>=0,937) (A<sub>1</sub>=0,966) (A<sub>2</sub>=0,994) (A<sub>3</sub>=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 orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

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

## 3. Sensibilidade

1,219 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.

## APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/220-050	R1-TAMPÃO	1 X 40mL	50
	R2-SUBSTRATO	1 x 10mL	
100/220-100	R1-TAMPÃO	2 X 40mL	100
	R2-SUBSTRATO	2 x 10mL	

## 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, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

## PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia

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](http://www.vidabiotecnologia.com.br)

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; [dsa@vidabiotecnologia.com.br](mailto:dsa@vidabiotecnologia.com.br)

Resp Técn.: Renato Silva CRBIO4 - 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070051

Rev: 02/2016

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