CK-MB UV - SNIBE

MÉTODO
Cinético UV

FINALIDADE
Reagente para a determinação da Creatina Quinase (CK) fração MB em amostras de soro ou plasma humano colhido com Heparina ou EDTA. Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO
O processo envolve a medida da atividade de CK na presença de um anticorpo contra a fração M. Este anticorpo inibe completamente a atividade do CK-MM e a fração M do CK-MB, sem, entretanto, afetar a atividade da subunidade B do CK-MB e do CK-BB. Partindo-se da premissa que o dímero BB praticamente inexiste no sangue periférico, a atividade enzimática residual encontrada será correspondente a apenas à fração B do CK-MB. Como a fração M e a fração B possuem atividades semelhantes, temos que a atividade de CK-MB corresponde ao valor encontrado multiplicado por dois.

Creatina Fosfato + ADP $\xrightarrow{CK}$ Creatina +ATP

ATP + Glicose $\xrightarrow{HK}$ Glicose-6-Fosfato + ADP

Glicose-6-Fosfato + $NADP^+$ $\xrightarrow{G\text{-}6PDH}$ Gluconolactona-6-Fosfato + NADPH + H^+

CK – Creatina Quinase
G-6-PDH – Glicose-6-Fosfato-Desidrogenase
HK – Hexoquinase
A velocidade da redução do $NADP^+$ a NADPH é proporcional a atividade do CK na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO
A Creatina quinase (CK) é uma enzima presente em diversos tecidos do corpo humano e em vários tipos celulares. Ela é encontrada em altas concentrações no músculo esquelético, músculo cardíaco, cérebro e trato gastrointestinal, sendo responsável pela catalisação da conversão da creatina em fosfocreatina, um importante depósito de energia para as células. Sua estrutura molecular consiste em duas subunidades, a subunidade M (tipo Muscular) e a subunidade B (tipo Cerebral), que determinam a formação de 3 isoenzimas. Assim, a CK é encontrada na forma dimérica como CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) e CK-MB (miocárdica). Devido a sua presença nestes órgãos e tecidos, qualquer lesão celular poderá promover o aumento dos níveis séricos de CK. Desta forma, níveis elevados de CK são observados principalmente após traumas do músculo cardíaco e em doenças do músculo esquelético. A dosagem de CK é utilizada especialmente em conjunto com CK-MB para diagnóstico e monitoramento de infarto do miocárdio.
Isoenzimas da Creatina Quinase (CK)
CK-MM: Corresponde a mais de 95% da enzima presente no músculo esquelético e cerca de 70 a 75% da enzima do miocárdio. Valores elevados desta isoenzima são encontrados em quadros de Hipotireoidismo, Distrofia Muscular, Hipocalemia e Cirurgia Recente.
CK-BB: Predominante no cérebro e no pulmão, e praticamente inexistente no sangue.
CK-MB: Encontrada predominantemente no músculo cardíaco. Esta enzima sofre elevações em doenças do miocárdio, como infarto e miocardite. Em seguida ao infarto (3 a 5 horas), a concentração sérica desta enzima eleva-se, alcança um pico máximo após 12 - 24 horas e permanece elevada por um período curto (2 a 3 dias). Como se trata de uma fração específica para o músculo cardíaco, essa isoenzima apresenta grande importância para monitoração do infarto do miocárdio.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

RGT1 – Tampão: Acetato de Imidazol (pH 6,7) 100 mmol/L, Glicose 20 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, NADP+ 2 mmol/L, Hexoquinase 3500 U/L, Acetato de Magnésio 10 mmol/L, N-Acetilcisteína 20 mmol/L, Anticorpo Policlonal Anti CK-M suficiente para inibir até 2.000 U/L de CK-MM.

RGT2 – Enzima Substrato: Glicose-6-Fosfato-Desidrogenase 2000 U/L, Creatina Fosfato 30 mmol/L, ADP 2 mmol/L, AMP 5 mmol/L, Diadenosina Pentafosfato 10 mmol/L

PREPARO DO REAGENTE DE USO
Misturar 4 partes do RGT1 com 1 parte do RGT2. Estável durante 1 dia nas temperaturas entre 15 e 30ºC e 15 dias entre 2 e 8ºC.

ESTABILIDADE
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 e 8ºC e fechados. A estabilidade dos reagentes depois de abertos é de até 13 dias instalados em equipamento refrigerado. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. Não congelar.

TRANSPORTE
O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 72 horas e em temperaturas entre 15 e 30ºC.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES
• Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
• Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
• A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
• Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
• É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo, temperatura e pH.
• Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
• Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.invitro.com.br ou através de solicitação pelo DSA (Departamento de Serviços Associados) da In Vitro.
• Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
• É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.
• Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro ou plasma colhido com Heparina ou EDTA.

Estabilidade da amostra: A amostra é estável por 2 dias entre 15 e 30°C, 7 dias entre 2 e 8°C, e 1 ano a -20°C. Não usar amostra hemolisada.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE

A- Leitura em espectrofotômetro
Comprimento de onda 340 nm
Semi trajetória da banda de passagem 10 nm
Luz espúria menor que 0,5%
Cubeta de 10 mm termostatizada

B- Procedimento de teste:

Esquema de pipetagem	
Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	40 µL
Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatizada a 37°C e aguardar 5 minutos. Fazer a leitura inicial, disparando o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos.	

CÁLCULO
Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto (ΔA/min) e utilizar este valor para cálculo do resultado.
CK-MB (U/L) 340 nm = ΔA/min x 8254

TÉCNICA PARA CK-MB MAIOR QUE 20% DO VALOR DE CK TOTAL
Se a medida da atividade de CK-MB excede a 20% do valor da atividade de CK total, deve-se suspeitar da presença de macro CK e realizar a técnica abaixo para determinar o valor de CK-MB real.

Exemplo:
CK Total = 150 U/L
20% CK Total = 30 U/L
Se CK-MB > 30 U/L, realizar técnica abaixo.

• Realizar a dosagem de CK-NAC (total) e CK-MB antes de aquecer o soro.
• Aquecer o soro a 45°C por 20 minutos.
• Dosar o CK-MB novamente.

Valor de CK-MB (U/L) = CK-MB inicial - CK-MB*
CK-MB* = valor encontrado após o aquecimento do soro
Obs.: Ver Limitações do Processo

CALIBRAÇÃO:
Para a calibração recomendamos calibrador específico ou a utilização do Calibrador CK - SNIBE. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida.
A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
-Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
-Depois da troca de lote de reagente;
-De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

VALOR DE REFERÊNCIA
Os valores de referência, para o presente método, foram obtidos através da determinação de CK-MB em populações sadias do sexo masculino e feminino.

	37°C
Homens/Mulheres	0 – 25 U/L

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados para CK-MB por este método pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

REV. 07/26

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
Kit comercial baseado na absortividade molar do NADP.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO
O método quantifica toda isoenzima CK-BB presente no soro. Normalmente a atividade desta isoenzima é pequena. Entretanto, se um aumento significante desta isoenzima ocorrer, a atividade de CK-MB será superestimada. Além disto, duas isoenzimas macromoleculares têm sido consideradas como falso positivos para a CK-MB: a macro CK do tipo 1 e a macro CK do tipo 2. A tipo 1 é um complexo de CK-BB ou CK-MM ligado a IgA ou IgG. A macro CK tipo 2 é um complexo oligomérico de origem mitocondrial, e está associada a neoplasias. Se a medida da atividade de CK-MB excede a 20% do valor da atividade de CK total, deve-se suspeitar da presença destas isoenzimas macromoleculares.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O kit de CK MB UV foi comparado com outro método para dosagem de CK-MB comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 0,996X - 0,3738, com coeficiente de correlação linear igual a 0,9849. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
Repetibilidade
A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	20,53	45,45	33,20
Desvio Padrão (U/L)	0,51	0,50	0,76
Coeficiente de variação (%)	2,46	1,11	2,28

Reprodutibilidade
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	20,69	43,33	31,98
Desvio Padrão (U/L)	1,71	3,26	2,13
Coeficiente de variação (%)	8,25	7,52	6,66

Sensibilidade
A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de CK-MB em equipamento automático. A média encontrada foi de 0,025 U/L com desvio padrão de 0,158 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,499 U/L. Utilizando equipamentos semi-automáticos, com resolução fotométrica 0,001 como absorbância mínima detectável, o limite de detecção do kit passa para 8,25 U/L. Neste caso, as dosagens podem apresentar resultados pouco precisos, podendo prejudicar principalmente análises de resultados baixos.

Linearidade
A reação é linear até 600 U/L. Se a variação de extinção molar por minuto for maior que 0,150, repetir o teste usando uma diluição de 1:10 com soro fisiológico. O resultado encontrado será multiplicado por 10.

Interferentes
Nenhuma interferência foi observada por Hemoglobina até 22,5 mg/dL, Triglicerídeos até 600 mg/dL e Bilirrubina até 25 mg/dL.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Ref.	Reagentes	Quantidade/Volume
806-1	RGT1	1 x 60 mL
	RGT2	1 x 15 mL

BIBLIOGRAFIA

1 - SCANDINAVIAN Socit For Clinical Chemistry Scand. J. Clin. Lab. INVEST., 1974, 33, 291.
2 - Ann. Biol. Clin., 1982, 40,99.
3 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
4 - In Vitro Diagnóstica - Dados de arquivos.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460615 Classe de risco: III

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


Data limite de utilização


Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo


Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro


Data de Fabricação