

**Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.**

**REVISÃO ANUAL**

| Revisto por | Data | Revisto por | Data |
|-------------|------|-------------|------|
|             |      |             |      |
|             |      |             |      |
|             |      |             |      |
|             |      |             |      |

**PRINCÍPIO****UTILIZAÇÃO PREVISTA**

Teste de imuno-inibição enzimática para a determinação quantitativa da isoenzima creatina quinase MB (CK-MB) no soro e plasmas humanos em analisadores Beckman Coulter AU. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

**RESUMO E EXPLICAÇÃO DO PRODUTO**

Referência<sup>1,2,3</sup>

A creatina quinase (CK) EC 2.7.3.2, um dímero composto por subunidades de músculo-M e/ou cérebro-B que se associam para formar as isoenzimas CK-MM, CK-MB e CK-BB, catalisa a fosforilação reversível da creatina por ATP. As medidas de CK são sobretudo utilizadas no diagnóstico e tratamento do enfarte do miocárdio, revelando-se também o indicador mais sensível de lesões musculares. A CK aumenta sempre que se verifica necrose ou regeneração muscular sendo, por conseguinte, elevada na maioria das miopatias como é o caso da distrofia muscular de Duchenne e em condições associadas à necrose muscular, nomeadamente, rabdomiolise. A CK total também pode aumentar em doenças do sistema nervoso central, como por exemplo no Síndrome de Reyes, no qual um aumento de 70 vezes na actividade da CK é indicador da gravidade da encefalopatia.

A CK-BB predomina no cérebro, próstata, intestinos, pulmões, rins, bexiga, útero, fígado, tiróide e placenta. A CK-MM predomina na musculatura esquelética e cardíaca. Em indivíduos saudáveis, a actividade total do soro consiste sobretudo em CK-MM, enquanto as outras isoenzimas e variantes da CK apenas estão presentes em quantidades extremamente pequenas ou não são detectáveis. O A CK-MB está presente em diversos graus no miocárdio e também, mas em menor quantidade, na musculatura esquelética.

A actividade da CK aumenta após danos no miocárdio, com um aumento significativo nas fracções CK-MM e CK-MB. Em certa medida, o aumento proporcional na fracção CK-MB depende da dimensão dos danos no miocárdio e do historial de danos no miocárdio. As alterações da proporção de CK-MB para CK-MM podem ser utilizadas no diagnóstico de enfarte do miocárdio (EM), onde a proporção atinge um pico num período de 1,5 horas após o EM. A sensibilidade do diagnóstico e a especificidade da avaliação do total de CK para o diagnóstico de um EM podem ser melhoradas determinando a relação do aumento ("rampa") de CK em amostras de série obtidas aquando da admissão e 4, 8 e 12

horas após a mesma. Um incremento de 50% por hora durante esse período de tempo permite distinguir um EM agudo da ausência de enfarte com uma eficiência global de 94%.

No caso de doentes que necessitam de um diagnóstico precoce do enfarte do miocárdio, recomenda-se, para confirmação do diagnóstico, um biomarcador de resultado rápido, como por exemplo, CK-MB, mais um biomarcador que proporcione resultados numa fase posterior, como por exemplo, troponina cardíaca.

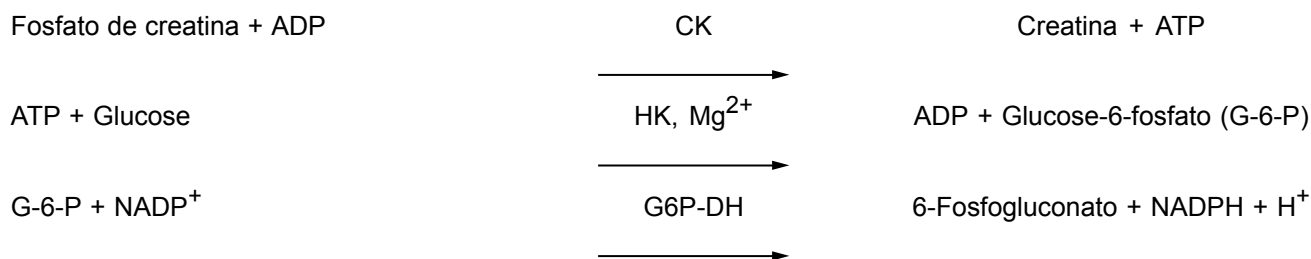
## METODOLOGIA

Referência<sup>4,5</sup>

R1 contém um anticorpo que se liga à subunidade M de CK na amostra de soro, inibindo assim a actividade da subunidade M. A subunidade B da enzima permanece livre para agir no substrato existente em R2. A CK catalisa reversivelmente a transferência de um grupo de fosfatos do fosfato de creatina para adenosina difosfato (ADP), para formar creatina e adenosina trifosfato (ATP) como produtos. O ATP formado é utilizado para produzir glucose-6-fosfato e ADP a partir da glucose. Esta reacção é catalisada pela hexoquinase (HK) a qual requer iões de magnésio para uma actividade máxima. A glucose-6-fosfato é oxidada através da acção da enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6P-DH) com redução simultânea da coenzima fosfato dinucleotida adenina nicotinamida (NADP) para fornecer NADPH e 6-fosfogluconato. A proporção do aumento da absorvância a 340 nm devido à formação de NADPH é directamente proporcional à actividade de CK-MB na amostra.

## ESQUEMA DA REACÇÃO QUÍMICA

Referência<sup>5</sup>



## ESPÉCIME

### TIPO DE AMOSTRA

O soro é a amostra recomendada. Devem ser evitadas amostras lipémicas, hemolizadas e altamente ictéricas. Permita que a amostra coagule e remova imediatamente o soro das células no sentido de minimizar a hemólise e a contaminação por adenilato quinase dos glóbulos vermelhos.

CK/CK-MB é estável no soro, quando protegida da luz, durante 7 dias quando armazenada entre 2 e 8 °C, durante 2 dias quando armazenada entre 20 e 25 °C e até 1 ano quando armazenada a – 20 °C.<sup>5,6,7,8</sup>

Também pode ser utilizado plasma heparinizado, isento de hemólise. As amostras de plasma podem produzir ocasionalmente reacções de índice imprevisíveis que resultarão em resultados baixos falsos.<sup>6</sup> Não é recomendado plasma com EDTA, oxalato ou citrato.

## REAGENTES

### AVISOS E PRECAUÇÕES

Tome as precauções normais necessárias para manusear todos os reagentes de laboratório.

Elimine todo o material desperdiçado de acordo com as directrizes locais.

Este produto contém material de origem animal. Este produto deve ser considerado como potencialmente capaz de transmitir doenças infecciosas.

## INGREDIENTES REATIVOS

Concentração final dos componentes reactivos

|                           |            |                                      |             |
|---------------------------|------------|--------------------------------------|-------------|
| Tampão imidazola (pH 6,7) | 100 mmol/L | Pentafosfato de diadenosina          | 0,01 mmol/L |
| Hexoquinase (HK)          | ≥ 4,0 kU/L | EDTA                                 | 2,0 mmol/L  |
| NADP                      | 2,0 mmol/L | Glucose                              | 20 mmol/L   |
| G6P-DH                    | ≥ 2,8 kU/L | Creatina fosfato                     | 30 mmol/L   |
| ADP                       | 2,0 mmol/L | N-acetilcisteína                     | 0,2 mmol/L  |
| Acetato Mg                | 10 mmol/L  | Activador                            | 26 mmol/L   |
| AMP                       | 5,0 mmol/L | Anticorpo para subunidade<br>M de CK | Variável    |
|                           |            | Conservante                          |             |

As concentrações dos componentes reativos dos reagentes apresentadas na etiqueta do kit são as concentrações reais nos frascos R1/R2 individuais. A composição dos reagentes que é apresentada nas Instruções de utilização é a concentração final destes componentes na cuvete de reação após adição de R1, Amostra e R2.

### CUIDADO

**A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim Explosive Azide Hazard (16-8-1976) (Perigos de explosão da azida) do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health — Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional) norte-americano.**

**Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após o descarte do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com as normas locais apropriadas.**

## CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

CK-MB R1-1

PERIGO



|           |   |
|-----------|---|
| H316      | Provoca irritação cutânea ligeira.  |
| H360      | Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.                                       |
| P201      | Pedir instruções específicas antes da utilização.                               |
| P280      | Use luvas de proteção, vestuário de proteção e proteção ocular/proteção facial. |
| P308+P313 | EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.              |
| P332+P313 | Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.                               |

Imidazol 0,1 - < 1%

CK-MB R1-2

PERIGO



H316

Provoca irritação cutânea ligeira.

H360

Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.

P201

Pedir instruções específicas antes da utilização.

P280

Use luvas de proteção, vestuário de proteção e proteção ocular/proteção facial.

P308+P313

EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

P332+P313

Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

Imidazol 0,1 - < 1%

Tioglicerol 1 - 5%

CK-MB R2

ATENÇÃO



H317

Pode provocar uma reação alérgica cutânea.

H412

Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P273

Evitar a libertação para o ambiente.

P280

Use luvas de proteção, vestuário de proteção e proteção ocular/proteção facial.

P333+P313

Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

P362+P364

Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a usar.

mistura reacional de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 247-500-7] e 2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 220-239-6] (3:1) < 0,05%

SDS

A Ficha de dados de segurança está disponível em [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

## PREPARAÇÃO DO REAGENTE

### R1:

Deve ser transferido todo o conteúdo do frasco R1-2 para o volume total de R1-1. Misture através de inversão suave antes de colocar no interior do analisador.

### R2:

Os reagentes estão prontos e ser utilizados e podem ser colocados directamente no analisador.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis, enquanto não forem abertos, até à data de validade mencionada se armazenados a 2–8 °C. Depois de abertos, os reagentes armazenados dentro do analisador permanecem estáveis durante 30 dias.

## INDICAÇÕES DE DETERIORAÇÃO

Sinais visíveis de crescimento microbiano, turvação, precipitado ou qualquer alteração na cor do reagente podem indicar degradação e justificar a interrupção da utilização.

## CALIBRAÇÃO

### INFORMAÇÕES DE CALIBRAÇÃO

O teste é executado no modo MB. Para disponibilizar uma abordagem expressiva para gerar o factor MB específico do analisador, recomenda-se a utilização de 5 eventos de calibragem separados. Deve utilizar-se um novo frasco de calibrador, o CK-MB Calibrator ref.<sup>a</sup> ODR30034 no modo de calibragem AB, para cada uma dessas séries. Quando calcular o factor médio das séries separadas, os dados devem ser examinados para detecção de valores atípicos óbvios, que devem ser repetidos e substituídos. Para o AU2700/AU5400 este procedimento deve ser realizado para cada anel. Os procedimentos de controlo de qualidade devem ser realizados imediatamente após a calibragem de acordo com as boas práticas laboratoriais.

Recomenda-se o restabelecimento do factor MB específico do analisador quando for substituída uma peça importante do analisador.

Recomenda-se a medição do branco de reagente quando se muda para um lote novo de reagente.

Rastreabilidade: Este método tem sido padronizado relativamente ao método de referência IFCC de  $CK_{total}$  com adição de anticorpo, realizado manualmente e calculado através do coeficiente de absorção molar  $\epsilon$ .

## CONTROLO DE QUALIDADE

Pode ser utilizado o CK-MB Control Level 1 ODR30035 e ODR30036 Level 2 ou outros materiais de controlo com valores determinados por este sistema Beckman Coulter.

Cada laboratório deve estabelecer a sua própria frequência de controlo.

As boas práticas laboratoriais sugerem que os controlos sejam executados todos os dias em que forem analisadas amostras de doentes e sempre que for realizada a calibração. Os valores obtidos para os controlos devem situar-se entre limites especificados, conforme definido pelo utilizador. Caso sejam detectadas tendências ou alterações súbitas nos valores, rever todos os parâmetros operacionais.

Cada laboratório deve estabelecer normas para acção correctiva a executar caso os valores dos controlos não estejam dentro dos limites especificados.

Repare que a recuperação de controlos que não pertençam à pode variar com lotes de reagentes de produtos de testes de imunização, devido à utilização de materiais não humanos nos controlos.

## PROCEDIMENTO(S) DE TESTE

Consulte o Guia do utilizador/as Instruções de utilização adequados do analisador AU da Beckman Coulter relativamente às instruções de ensaio específicas do analisador para o tipo de amostra, conforme descrito na declaração de utilização pretendida.

## CÁLCULOS

Os analisadores Beckman Coulter calculam automaticamente a actividade de CK-MB de cada amostra.

# COMUNICAÇÃO DE RESULTADOS

## INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Adultos (37 °C)

< 24 U/L (0,4 µkat/L)<sup>2,9</sup>

Enfarte do miocárdio: a probabilidade de ocorrência de danos no miocárdio é elevada quando são cumpridas as seguintes condições.<sup>2</sup>

|  | U/L   | µkat/L |
|--|-------|--------|
| 1. CK total  | > 250 | > 4,17 |
| 2. CK-MB   | > 24  | > 0,4  |
| 3. CK-MB activity is between 6 and 25% of total CK |       |        |

Em caso de suspeita de enfarte do miocárdio e se os valores detectados forem abaixo dos limites indicados, o enfarte poderá ser recente. Neste caso, as determinações deverão ser repetidas 4 horas com uma nova amostra.

Uma fracção inferior a 6% indica lesões músculo-esqueléticas. Uma fracção acima dos 25% poderá indicar a presença de Macro-CK e requerer uma maior clarificação.<sup>2</sup>

Os valores esperados podem variar com a idade, o sexo, o tipo de amostra, a dieta e a localização geográfica. Cada laboratório deve verificar a possibilidade de transferência dos valores esperados para a sua própria população e, se necessário, determinar o seu próprio intervalo de referência de acordo com as boas práticas laboratoriais. Para efeitos de diagnóstico, os resultados devem ser sempre avaliados em conjunto com o historial médico do doente, os exames clínicos e outros achados.

## NOTAS SOBRE PROCEDIMENTOS

### LIMITAÇÕES

Macro-CK consiste numa forma atípica de CK composta por complexos de imunoglobulina de isoenzimas normais. Migra electroforéticamente entre MM e MB e pode ser detectado sobretudo em mulheres idosas. Não tem qualquer significado clínico, mas a sua presença pode provocar resultados elevados falsos. Se suspeitar de contributo Macro-CK, a sua presença deve ser confirmada por electroforese.

Para a inibição de adenilato quinase estão incluídos os inibidores recomendados AMP/Ap5A, mas como a inibição nunca poderá ser totalmente 100%, uma actividade residual poderia afectar os baixos resultados da actividade CK-MB.

A capacidade de inibição do anticorpo anti-CK-M é >99,75% a uma concentração CK-MM de 2000 U/L e >99% a uma concentração CK-MM de 8000 U/L. Em amostras em que a actividade de CK total exceda 8000 U/L, a CK-MB pode ser medida utilizando uma amostra pré-diluída para assegurar a inibição adequada de CK-M.

### INTERFERÊNCIAS

Os resultados de estudos efectuados para avaliar a susceptibilidade do método a interferências foram os seguintes:

Icterícia: Interferência inferior a 10% até 40 mg/dL ou 684 µmol/L bilirrubina

Lipémia: Interferência inferior a 20% até 900 mg/dL de Intralipid

Em casos extremamente raros, a gamopatia, em particular do tipo IgM monoclonal (macroglobulinemia de Waldenstrom) poderá gerar resultados não fiáveis.

Consulte Young<sup>10</sup> para mais informações sobre substâncias que interferem.

# CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

## CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Os dados incluídos nesta secção são representativos do desempenho dos sistemas Beckman Coulter. Os dados obtidos no seu laboratório podem ser diferentes destes valores.

### LINEARIDADE

O ensaio é linear no intervalo de actividades enzimáticas entre 10 - 2000 U/L (0,17 - 33,33  $\mu$ kat/L).

### SENSIBILIDADE

O nível mais baixo detectável num analisador AU640 foi calculado a 5 U/L.

O nível mais baixo detectável representa o nível mais baixo mensurável de CK-MB que difere de zero. É calculado como a média absoluta mais três desvios padrão de 20 réplicas de uma amostra sem analito.

### COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de soro do doente para comparar esta análise CK-MB OSR61155 no AU640 com outros ensaios de CK-MB disponíveis no mercado. Os resultados da análise por regressão linear são os seguintes:

|                      |             |           |                                       |
|----------------------|-------------|-----------|---------------------------------------|
| $y = 1,061x + 2,207$ | $r = 1,000$ | $n = 103$ | Amplitude de amostras = 12 – 1862 U/L |
|----------------------|-------------|-----------|---------------------------------------|

### PRECISÃO

Os dados seguintes obtiveram-se num AU640, utilizando 3 séries de soro analisadas num período de 20 dias.

| n = 80<br>Média U/L | Intra ensaio |      | Total |      |
|---------------------|--------------|------|-------|------|
|                     | DP           | CV%  | DP    | CV%  |
| 17                  | 0,69         | 4,03 | 0,86  | 5,05 |
| 86                  | 0,65         | 0,75 | 0,99  | 1,15 |
| 194                 | 1,04         | 0,54 | 1,76  | 0,90 |

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O DxC 700 AU requer que cada aplicação de reagente tenha um formato padrão de um nome abreviado do teste fechado. Este nome do teste fechado é necessário para permitir o carregamento automatizado das informações do calibrador para cada aplicação como parte do sistema fechado AU DxC 700. Consulte a tabela abaixo relativamente ao nome do teste fechado atribuído a cada aplicação para este ensaio.

| Nome do Ensaio | Descrição    |
|----------------|--------------|
| CKM1N          | CK-MB (soro) |

### Notas de rodapé da folha de programação

# Definido pelo utilizador

\* Valores definidos para trabalhar em U/L. Para trabalhar em unidades SI ( $\mu$ kat/L), divida por 60.

§ Para utilizar apenas no modo AB, consultar a bula para mais instruções

## **HISTÓRIA DA REVISÃO**

| Secção GHS revista

### **Histórico de revisão da versão anterior**

Instruções de utilização atualizadas com a inclusão do idioma vietnamita.

Secção Aviso e Precauções atualizada

Secção GHS revista


Secção «Informações adicionais» atualizada



## BIBLIOGRAFIA

1. Thygesen K, Alpert JS et al. Myocardial infarction redefined-A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. JACC 2000;36:959-969.
2. Stein W. Creatine kinase (total activity). Creatine kinase isoenzymes and variants. In:Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 5th ed. 1998:71-79./ 6th ed. 2005 in German.
3. Moss DW, Henderson RA. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia:WB Saunders Company, 1999;657-662.
4. Würzburg U, Hennrich N, Lang H. Bestimmung der Aktivität von Kreatinkinase MB im Serum unter Verwendung inhibierender Antikörper. Klin Wschr 1976; 54:357-360.
5. Ferard F, Franck PFH, Gella F-J et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C. Clin Chem Lab Med 2002; 40:635-42.
6. Horder M, Elser R, Gerhardt W, Mathieu M, Sampson E.J. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific division committee on enzymes: Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase. Appendix A. Eur J Clin Chem Biochem 1991;29(7):435-56.
7. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KgaA, 3rd ed. 2003.
8. World Health Organisation. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev 2. 2002
9. Kairisto V, Hänninen KP, Leino A, Pulkki K, Peltola O, Nantö V et al. Generation of reference values for cardiac enzymes from hospital admission laboratory data. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32:789-96.
10. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5<sup>th</sup> ed. AACC Press, 2000.

**EC REP** Beckman Coulter Ireland Inc., Lismeehan, O'Callaghan's Mills Co. Clare, Ireland (001) 703-527-3887

 Beckman Coulter, Inc., 250 S. Kraemer Blvd., Brea, CA 92821 U.S.A.  
www.beckmancoulter.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda,  
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial,  
CEP 06.454-00, Barueri, São Paulo, Brasil  
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818