



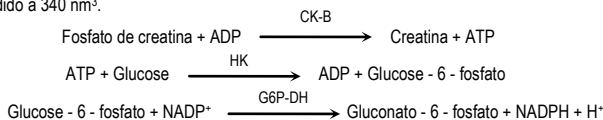
COD 11792 1 x 50 mL

CONSERVAR A 2-8°C

Reagentes para medir a concentração de CK-MB  
Só para uso *in vitro* nos laboratórios clínicos

## FUNDAMENTO DO MÉTODO

O anticorpo específico inibe as duas subunidades M da CK-MM (CK-3) e a única subunidade M da CK-MB (CK-2), o que permite a medição da subunidade B da CK-MB (assumindo a ausência de CK-BB ou CK-1)<sup>1,2</sup>. A concentração catalítica de CK-B, que corresponde à metade da actividade CK-MB, determina-se aumentando as reacções ajustadas da hexoquinase (HK) e glucose-6-fosfato desidrogenase (G6P-DH), a partir da velocidade de formação de NADPH, medido a 340 nm<sup>3</sup>.



## COMPOSIÇÃO

A. Reagente. 1 x 40 mL: Anti-humano-CK-M capaz de inibir 2000 U/L de CK-M, Imidazole 125 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, D-glucose 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6800 U/L, NADP 2,4 mmol/L PH 6,1.

PERIGO: H360: Pode afectar a fertilidade ou o nascituro. P201: Pedir instruções específicas antes da utilização. P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança. P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. P308+313: Em caso de exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico. P405: Armazenar em local fechado à chave.

B. Reagente. 1 x 10 mL: Fosfato de creatina 250 mmol/L, ADP 15,2 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P1, P5-di(adenosina-5')pentafofato 103 µmol/L, glucose-6-fosfato desidrogenase 8800 U/L.

Para mais advertências e precauções, ver a ficha de dados de segurança do produto (SDS).

## CONSERVAÇÃO

Armazenar a 2-8°C.

Os reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta desde que sejam armazenados na sua embalagem bem fechada e se se evitar qualquer poluição no momento da sua utilização.

Indicações de deterioração :

– Reagentes: presença de materiais particulares, turvação, absorção do branco superior a 0,400 a 340 nm (cubeta de 1 cm).

## REAGENTES AUXILIARES

S. Padrão de Creatina Quinase-MB (CK-MB) 1 x 1 mL (BioSystems cód. 11824). CK-MB humana. A concentração de CK-MB está indicada na etiqueta do frasco. O valor de CK-MB é rastreável ao material de referência ERM-AD455/IFCC (IRMM).

Os componentes de origem humana foram testados e mostraram ser negativos na presença de anticorpos anti-HCV e anti-HIV, assim como do antígeno HBs. No entanto, devem ser tratados com cuidado como potencialmente infecciosos.

Reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Estável 7 dias a 2-8°C ou 2 mês a -20°C (congele-se somente uma vez).

## PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Reagente de Trabalho: Adicionar o conteúdo de um frasco do RB a um frasco do Reagente A. Misturar lentamente. Se desejar preparar outros volumes, misturar na proporção: 4 mL de Reagente A + 1 mL de Reagente B.

Estável durante 15 dias a 2-8°C. O reagente pronto a usar deve estar protegido da luz.

## EQUIPAMENTO ADICIONAL

– Analizador, espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostatizada a 37°C para leituras a 340 nm.

– Cúvetes de 1 cm de passo de luz.

## AMOSTRAS

Soro ou plasma com heparina recolhidos mediante procedimentos standard.

A concentração total de CK na amostra deve ser inferior a 1.000 U/L. Se for necessário, diluir o soro 1/2 com NaCl 150 mmol/L.

A CK-MB é estável pelo menos durante 7 dias a 2-8°C.

## PROCEDIMENTO

1. Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento a 37°C.
2. Pipetar num tubo de ensaio: (Nota 1)

Amostra	40 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL

3. Misturar bem e incubar imediatamente a 37°C. Ligar o cronómetro.
4. Ler a absorbância (A) a 340 nm exactamente aos 5 minutos (A<sub>5</sub>) e aos 10 minutos (A<sub>10</sub>) de incubação.

## CÁLCULOS

A concentração de CK-MB na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula:

$$(A_{10} - A_5) \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs \times 5 \text{ min}} \times 2 = \text{U/L}$$

O coeficiente de absorção molar ( $\epsilon$ ) de NADPH a 340 nm é 6.300, o passo de luz (l) é 1 cm, o volume total de reacção (Vt) é 1,04, o volume de amostra (Vs) é 0,04, e 1 U/L equivale a 0,0167 µkat/L. Deduzem-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

A <sub>10</sub> - A <sub>5</sub>	x 1651 = U/L x 27,5 = µkat/L
----------------------------------	---------------------------------

Se for utilizado para calibrar o Padrão de Creatina Quinase-MB (CK-MB):

$$\frac{(A_{10} - A_5)_{\text{Amostra}}}{(A_{10} - A_5)_{\text{Padrão}}} \times C_{\text{Padrão}} = C_{\text{Amostra}}$$

O índice de CK-MB calcula-se utilizando a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{CK}_{\text{MB}} \text{ concentração}}{\text{CK}_{\text{total}} \text{ concentração}} \times 100 = \%$$

## VALORES DE REFERÊNCIA

Foram descritos valores discriminantes ao redor de 25 U/L = 0,42 µkat/L para o infarte de miocárdio agudo. No entanto, é preferível ajustar o limite do índice de CK-MB de 6% da concentração de CK total<sup>4</sup> como valor discriminante.

## CONTROLE DE QUALIDADE

É recomendável utilizar os Soros Controlo de CK-MB (cód. 18024 e 18061) para verificar a funcionalidade do procedimento de medição. As concentrações de CK e CK-MB estão indicadas na etiqueta do frasco. O valor de CK é rastreável ao sistema de referência descrito pelo Comité de Sistemas de Referência para Enzimas de IFCC e o de CK-MB ao material de referência ERM-AD455/IFCC (IRMM). O rastreio só se garante utilizando os reagentes e procedimentos de medição recomendados pela BioSystems.

Os componentes de origem humana foram testados e mostraram ser negativos na presença de anticorpos anti-HCV e anti-HIV, assim como do antígeno HBs. No entanto, devem ser tratados com cuidado como potencialmente infecciosos.

Reconstituir o soro com o volume de água destilada indicado na etiqueta. Estável 7 dias a 2-8°C ou 2 mês a -20°C (congele-se somente uma vez). Utilizar o Controlo no procedimento analítico de forma idêntica ao das amostras dos doentes.

Os intervalos de valores aceitáveis que se sugerem foram calculados a partir da experiência prévia em variabilidade interlaboratórios e são indicados apenas a título de orientação, dado que cada laboratório deve estabelecer os seus próprios parâmetros de precisão.

## CARACTERÍSTICAS DO MÉTROLÓGICAS

– Limite de detecção: 3 U/L = 0,05 µkat/L.

– Limite de linearidade: 1000 U/L = 16,7 µkat/L. Quando se obtém valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.

– Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
45 U/L = 0,75 µkat/L	2,8 %	20
129 U/L = 2,15 µkat/L	2,3 %	20

– Reproducibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
45 U/L = 0,75 µkat/L	3,5 %	25
129 U/L = 2,15 µkat/L	3,2 %	25

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

– Interferências: A hemólise (hemoglobina > 2,5 g/L) e a lipemia (triglicéridos >1,25 g/L) interferem. A presença na amostra de concentrações acima do normal de CK-BB ou de adenilato quinase, e de macro-CK ou CK mitocondrial interferem<sup>5</sup>. A bilirrubina (< 20 mg/dL) não interfere. Outros medicamentos e substâncias podem interferir<sup>6</sup>.

Estes dados foram obtidos utilizando um analizador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

## CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A creatina quinase está composta de 2 cadeias polipeptídicas, denominadas B (de cérebro) e M (de músculo), que dão origem aos três isoenzimas diméricos: MM (CK-1), MB (CK-2) e BB (CK-3).

As percentagens da actividade de CK-MB sérica em respeito à actividade CK total é usualmente inferior a 6%. No entanto, estes valores aumentam de 10 a 30% após um infarte de miocárdio dependendo da extensão de tecido miocárdico afectado e da localização do infarte. No entanto, podem encontrar-se índices baixos de CK-MB sérica após um infarte de miocárdio previamente sadio. Por conseguinte, o diagnóstico de infarte de miocárdio deve basear-se na história clínica e de outros dados, junto com a magnitude da elevação de CK-MB e o seu perfil no tempo<sup>4,7</sup>.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um unico teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

## NOTA

1. Estes reagentes podem utilizar-se em alguns analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

## BIBLIOGRAFIA

1. Wicks R and Usategui M. Immunochemical determination of CK-MB isoenzyme in human serum. II. An enzymic approach. *Clin Chem* 1982;28:54-58.
2. Gerhardt W and Waldenstrom G. Creatine kinase B-subunit activity in serum after immunoinhibition of M-subunit activity. *Clin Chem* 1979; 25: 1274-1279.
3. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C, Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:635-642.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
5. Urdal P and Landaas S. Macro creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence. *Clin Chem* 1979; 25: 461-465.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

