

REF 10226-4 4 x 28 mL / 7 mL

## REAGENTE PARA CREATINA QUINASE-MB (CKMB)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes utilizáveis de 28 mL do reagente R1 e 7 mL do reagente R2.

## INDICAÇÃO DE USO

O reagente CKMB EasyRA é indicado para a determinação quantitativa da enzima creatina quinase-MB (CKMB) no soro e plasma humanos, usando o "Analisador Químico EasyRA®" MEDICA em laboratórios clínicos. As medições da atividade da CK-MB são usadas no diagnóstico e tratamento do infarto do miocárdio e doenças musculares como a distrofia muscular progressiva de Duchenne. Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

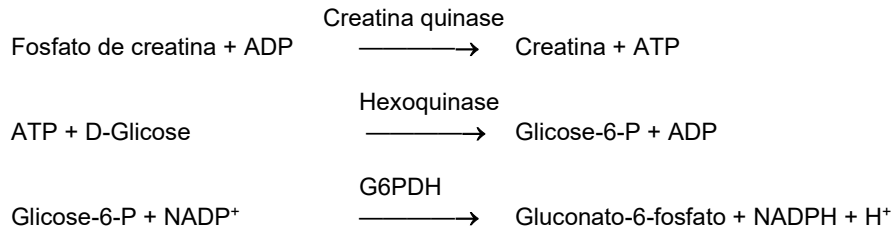
## RESUMO E EXPLICAÇÃO

Creatina quinase (CK) são moléculas diméricas compostas de subunidades M e B, e existem como as isoenzimas MM, MB e BB.<sup>1</sup> As subunidades M e B são imunologicamente distintas. CK-MM e CK-MB são distribuídas principalmente no músculo esquelético e no músculo do coração, respectivamente, ao passo que a CK-BB está presente principalmente no cérebro e nos tecidos compostos de músculo liso.<sup>2</sup> A determinação da atividade da CK-MB no soro é um elemento importante no diagnóstico da isquemia do miocárdio, por ex. no infarto agudo do miocárdio, na miocardite, etc.<sup>3,4</sup> A CK-MB é detectável no sangue aproximadamente 38 horas após o surgimento dos sintomas cardíacos, e pode continuar detectável durante um longo período de tempo, dependendo da evolução da condição.<sup>3</sup>

Uma CK-MB elevada não é específica do MI (infarto do miocárdio), e pode ser detectada em outros estados de doença. Valores de CKMB elevados devem ser interpretados em conjunto com a apresentação clínica e o histórico médico.

## PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Neste procedimento, a atividade CK é medida na presença de um anticorpo contra o monômero CK-M. Esse anticorpo inibe as subunidades M de CK-MM e de CK-MB, permitindo a determinação da subunidade B de CK-MB (pressupondo a ausência de CK-BB). A concentração catalítica de CK-B, que corresponde à metade da concentração de CK-MB, é determinada pela taxa de formação de NADPH, medida a 340 nm, usando a seguinte série de reações:



A atividade da CK-MB é obtida multiplicando a atividade da CK-B por dois.

## REAGENTES

### Reagente Tampão para CK-MB (R1):

Tampão Imidazol (pH 6,3)	50 mmol/L
Glicose	20 mmol/L
N-Acetil-L-Cisteína	20 mmol/L
Acetato de Magnésio	10,0 mmol/L
NADP	2,0 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Hexoquinase	5,0 kU/L
LDH	1,5 kU/L
Azida de Sódio	<0,1%
Anticorpos monoclonais (rato) contra a CK-M humana, capacidade de inibição	

**Reagente Substrato de CK-MB (R2):**

Tampão Imidazol (pH 9,0)	50 mmol/L
Fosfato de creatina	150 mmol/L
ADP	10 mmol/L
AMP	20 mmol/L
Diadenosina pentafosfato	50 µmol/L
Glicose-6-PDH	20 kU/L
Azida de Sódio	<0,1%

**PRECAUÇÕES**

- 1 As boas práticas de segurança em laboratório devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente. (CLSI, GP17-A2).
- 2 Esse material contém azida de sódio como conservante. Evite a ingestão ou o contato com a pele ou as membranas mucosas. Em caso de contato com a pele, lave a área afetada com água em abundância. Em caso de contato com os olhos ou se for ingerido, procure cuidados médicos imediatamente. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança para informações sobre riscos e medidas de segurança.
- 3 Como em qualquer procedimento de teste diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
- 4 Não utilize cubetas lavadas.

**INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE**

O reagente é fornecido pronto para uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2 a 8 °C. O reagente permanece estável a bordo da área refrigerada para reagentes do Analisador Químico EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se ele estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle do soro sanguíneo não forem obtidos.

**COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA**

Devem-se utilizar soro e plasma não hemolisados e límpidos. Pode-se usar plasma de sangue coletado com heparina de lítio como anticoagulante. Centrifugue e remova o soro/plasma assim que possível após a coleta. A CK-MB permanece estável no soro/plasma por 3 dias a 2 a 8 °C.

**PROCEDIMENTO****Materiais Fornecidos**

Frasco de Reagente para CKMB Medica, REF 10226

**Materiais adicionais necessários**

Material de controle disponível no mercado

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica - Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

**Instruções de uso**

O reagente é fornecido pronto para uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (máximo de 30 dias) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

**Obs.:** Após remover a tampa e colocar o frasco no analisador, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

**Calibração**

Não aplicável.

**Controle de qualidade**

Recomenda-se a execução de dois níveis de controle baseado em soro humano (normal e anormal) junto com a análise diariamente, quando forem executados testes de paciente e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório também deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

## Resultados

Após a finalização da análise, o Analisador Químico EasyRA Medica calcula a concentração de CK-MB a partir da alteração de absorvância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória de 0,6 cm e absorvidade molar de 6,22.

$$\text{CK-MB (U/L)} = \text{CK-B (U/L)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{Absortividade molar} \times \text{Comprimento de trajetória (cm)}) \times \text{Volume de amostra}(\mu\text{l})}$$

A unidade por litro (U/L) de atividade da CK-B representa a quantidade de enzima que oxida um  $\mu\text{mol/L}$  de NADP por minuto.

## Valores esperados<sup>6</sup>

O intervalo de referência para atividade CK-MB no Analisador EasyRA é abaixo de 24 U/L.<sup>7,8</sup> Esse intervalo foi validado pela Medica de acordo com o CLSI C28-A3c. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

## Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Devem ser usadas apenas amostras de soro ou plasma não hemolisados.

Se a Alteração de Absorvância por Minuto ( $\Delta A/\text{Min}$ ) for maior do que 0,003, que corresponde a aproximadamente 100 U/L, os resultados serão sinalizados como "SD" (esgotamento de substrato) pelo analisador. As alterações de absorvância por minuto que ultrapassarem esse valor estarão acima do intervalo linear do teste. Se o ícone de novo teste (Re-run) for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando um quinto (1/5) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso deve estender o intervalo reportável do teste de CK-MB para 500 U/L.

## Características de desempenho<sup>9</sup>

### Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 5 a 100 U/L. O intervalo estendido vai de 5 a 500 U/L quando um quinto da amostra é usada (diluição 1:4).

### Inexatidão/correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para CK-MB Medica (Y) no Analisador EasyRA com o desempenho de um reagente aprovado pela FDA para CK/MB similar (X) no Analisador Sirrus® Stanbio. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas do Analisador EasyRA em comparação com a média entre dois valores replicados obtidos no analisador aprovado pela FDA.

SORO	Número de amostras	41	Intervalo de amostras	6 a 100 U/L
	Declive	0,9869	Interceptação em y	0,4702
	Coefficiente de correlação	0,9961	Equação de regressão	0,9869*X + 0,4702

\* Sirrus é uma marca registrada da Stanbio Laboratory LLP localizada em 1261 North Main St. Boerne, TX 78006

Os dados mostrados abaixo são determinações avulsas do plasma (heparina de lítio) em comparação com a média entre dois valores duplicados do soro obtidos no Analisador EasyRA. Todos os parâmetros de teste são idênticos.

PLASMA	Número de amostras	57	Intervalo de amostras	5 a 96 U/L
	Declive	0,9797	Interceptação em y	1,4523
	Coefficiente de correlação	0,9945	Equação de regressão	0,9797*X + 1,4523

### Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:			Imprecisão total:		
Nível de CQ	Na Rodada	Na Rodada	Nível de CQ	Imprecisão Total	Imprecisão Total
U/L	SD	CV	U/L	SD	CV
	U/L	%		U/L	%
94	0,9	0,9	94	1,7	1,8
30	0,7	2,4	30	0,9	3,0
14	0,6	3,9	14	0,8	5,5

### Linearidade (CLSI, EP6-A)

Linear de 5 a 100 U/L, com base na regressão linear  $Y = 1,0009 * X - 0,2291$ .

Limite de branco (LOB):	1,7 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de detecção (LOD):	2,9 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantificação (LoQ):	5,0 U/L	(CLSI, EP17-A)

### Substâncias Interferentes (CLSI, EP7-A)

Interferência de até 10% foi classificada como “nenhuma interferência significativa”.

A hemoglobina interfere, mesmo em concentrações mínimas. Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada com níveis de até 25 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada com níveis de até 775 mg/dL de triglicérides (utilizando-se Intralipid\*).

Nenhuma interferência significativa foi observada com níveis de até 30 mg/dL de ácido ascórbico.

\**Intralipid é uma marca registrada da Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.<sup>10,11</sup>

Obs.: O procedimento pode superestimar os valores da atividade de CK-MB se a atividade da isoenzima CK-BB no soro for alta. A atividade da CK-BB está geralmente ausente no soro de indivíduos normais e pacientes com infarto do miocárdio.<sup>7</sup> A presença de uma forma macro da CK-BB na amostra deve ser suspeitada se a atividade da CK-MB medida por este procedimento representar mais de 20% da atividade total da CK.

### REFERÊNCIAS

- 1 Dawson, D.M. et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, New York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? Circulation 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., et al., Clin. Biochem 11, 204 (1978).
- 6 Stein, W., Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Resumo: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Suppl. A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 9 Dados arquivados na Medica.
- 10 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 21: 246D, 1975.

### Parâmetros de análise do EasyRA (CKMB)

Comprimento de onda primário (nm)	340
Comprimento de onda secundário (nm)	405
Tipo de reação	Enzima (0)
Direção de reação	Aumento
Branco de reagente	Não
Branco de amostra	Não
Alter. de abs. máx. no 1º int.	0,003
Tempo de reação	9,3 min
Intervalo de calibração (máximo)	N/A
Estabilidade a bordo do reagente	30 dias

**Soro/plasma**

Volume da amostra (µl)	8,0
Volume do diluente(µl)	20
Volume do reagente R1 (µl)	160
Volume do reagente R2 (µl)	40
Casas decimais (valores padrão)	0
Unidades (valores padrão)	U/L
Fator de diluição	1:4 (1/5 da amostra utilizada) (para estender o intervalo de medição)
Linearidade	5 a 100 U/L
Absortividade Molar	6,22