



CK-MB NAC


unitest

MONOCLONAL

Para a determinação de CK-MB em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Creatina Quinase (CK) é uma enzima intramuscular constituída por uma sub-unidade M (músculo) e outra sub-unidade B (brain = cérebro) que combinam-se dando lugar às isoenzimas CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) e CK-MB (miocárdica).

A elevação sérica de CK e de CK-MB constitui um indicador de moléstia do miocárdio. Depois de um enfarte agudo do miocárdio, em aproximadamente o 55% dos casos o pico máximo de elevação de CK e CK-MB se produz de forma simultânea, ao passo que 45% dos casos a elevação máxima de CK-MB precede à do CK total.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O método baseia-se na inibição específica das sub-unidades CK-M com anticorpos monoclonais anti CK-M. Os anticorpos inibem tanto a isoenzima MM como as sub-unidades M correspondentes a CK-MB. As sub-unidades B se determinam mediante o emprego de um sistema reativo baseado em uma técnica analítica otimizada pela IFCC, com N-acetilcisteína como ativador, adicionada de anticorpos monoclonais anti CK-M.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: frascos para determinações individuais contendo quantidades suficientes para obter as seguintes concentrações depois de reconstituídos:

creatina fosfato	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
glicose	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
hexoquinase	≥ 2500 U/l
glicose-6-fosfato desidrogenase.....	≥ 2000 U/l
acetato de magnésio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato	10 umol/l
N-acetil cisteína (NAC)	20 mmol/l

B. Reagente B: solução de tampão imidazol 100 mmol/l; pH 6,7.

Controle: frasco contendo CK-MB de origem humano, liofilizado (vide tabela anexa para valor teórico).

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente B: pronto para uso.

Reagente A: adicionar 2,5 ml de Reagente B a um frasco de Reagente A. Tampar e agitar até a dissolução completa.

Controle: abrir o frasco tendo a precaução de não perder material. Pipetar exatamente 1,0 ml de água destilada.

Tampar e esperar 5 minutos. Dissolver o conteúdo completamente por inversão do frasco. O Controle de CK-MB reconstituído deve ser tratado da mesma forma que uma amostra desconhecida.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O Controle foi examinado para HIV, HCV e HBV encontrando-se não reativo. No entanto, deve ser empregado como tratando-se de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Reagente A reconstituído: sob refrigeração (2-10°C) é estável durante 3 dias a partir do momento de sua reconstituição.

Controle reconstituído: estável 3 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 3 meses congelado (-20°C). Não congelar e descongelar repetidamente.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada e as leituras de absorbância do Reagente A reconstituído forem > 0,800 D.O. (a 340 nm) são indício de deterioração.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: obter o soro da modo usual.

b) Aditivos: caso a amostra usada seja plasma, deve ser utilizada heparina ou EDTA como anticoagulante. Recomenda-se o emprego de Anticoagulante W de Wiener lab.

c) Substâncias interferentes conhecidas: os soros com hemólises visíveis ou intensas produzem valores falsamente aumentados, portanto não devem ser usados. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser fresca. Refrigerada (2-10°C) perde até 10% de atividade enzimática em um dia.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada em PROCEDIMENTO.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(Aumento de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366).
- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Selecionar a temperatura conforme o instrumental. Vide VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: 15 minutos
- Os volumes de amostra e reagente podem-se variar proporcionalmente (ex. 40 ul amostra + 1 ml Reagente A reconstituído ou 20 ul amostra + 500 ul Reagente A reconstituído).

PROCEDIMENTO

Zerar o aparelho com água destilada. Vide INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES.

Em uma cubeta mantida à temperatura de reação selecionada (25, 30 ou 37°C) colocar:

Reagente A reconstituído	2,5 ml
---------------------------------	--------

Preincubar alguns minutos, e depois adicionar:

Amostra	100 ul
----------------	--------

Misturar imediatamente por inversão. Esperar 10 minutos. Ajustar a absorvância a um valor de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorvância cada minuto, durante 5 minutos. Determinar a diferença média de absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo a cada leitura a anterior e tirando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x fator

Medida a 340 nm: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 8.254

Medida a Hg 334: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 8.414

Medida a Hg 366: CK-MB (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x 14.858

Os fatores mencionados anteriormente já têm incluída a correção necessária para converter o valor de CK-B em CK-MB.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Controle CK-MB**) com atividades conhecidas de CK-MB com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores	10 U/l	16 U/l	25 U/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

CK-MB (U/l) x 0,01 = CK-MB (ukat/l)

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Existe alta probabilidade de dano do miocárdio se são cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

1- A atividade de CK total excede as seguintes faixas normais:

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Homens	10-80 U/l	15-130 U/l	24-195 U/l
Mulheres	10-70 U/l	15-110 U/l	24-170 U/l

Caso haja suspeita de dano de miocárdio e os valores se encontrarem inferiores à faixa normal, existe a possibilidade de um enfarte recente. Neste caso a determinação deve ser repetida após 4 horas.

2- A atividade de CK-MB excede os valores normais. Vide VALORES DE REFERÊNCIA.

3- A porcentagem de CK-MB se encontra entre 6-20% do valor de CK total.

Se a porcentagem é menor que 6% é provável que exista dano do músculo esquelético. Se a porcentagem supera 20% do valor total de CK, pode-se suspeitar a presença de uma forma macro de CK (CK atípica) que não é inibida pelos anticorpos anti CK-M.

A presença de CK atípica pode ser determinada por:

a) Persistência por mais de 48 horas (a CK-MB decai aproximadamente às 30-48 horas do início do enfarte).

b) Estabilidade frente ao tratamento da amostra a 40°C durante 20 minutos.

c) Análise electroforética (obtem-se uma banda entre as isoenzimas MM e MB).

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Amostras com atividades CK total que superam as 1000 U/l devem ser diluídas com solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%). O resultado obtido deve ser multiplicado pela diluição efetuada.

DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando simultaneamente réplicas de uma mesma amostra obtêm-se os seguintes valores:

Nível	D.P.	C.V.
30 U/l	± 1,7 U/l	5,7 %
80 U/l	± 3,0 U/l	3,7 %

b) **Limite de detecção:** depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. De acordo com a sensibilidade requerida, no espectrofotômetro a 340 nm (com cubas de fases paralelas de 1 cm de espessura, reprodutibilidade ± 2 nm, luz espúria ≤ 0,5%, banda de passagem ≤ 8 nm) para um $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 8 U/l.

c) **Faixa dinâmica:** a faixa útil de leitura estende-se até 0,100 $\Delta A/\text{min}$ (340/334/366 nm).

d) **Linearidade:** a reação é linear até 800 U/l (a 37°C).

APRESENTAÇÃO

- 19 x 2,5 ml com Controle fornecido (Cód. 1271352).


REFERÊNCIA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).

- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clínica Chimica Acta 105:147F (1980).
- Fried, E. et al. - Rev. Asoc. Bioq. Arg. 243:185 (1980).
- Wu, A.; Bowers, G. - Clin. Chem. 28/10:2017 (1982).
- Urdal, P.; Landaas, S. - Clin. Chem. 25:461 (1979).
- Gerhardt, W.; Waldenstrom, J. - Clin. Chem. 28:277 (1982).
- Lorenzo, L.; Capriotti, G.; Rojkín, F.; - Revista A.B.A. 55/3 (1991).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.


SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes


 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante


 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina