

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da isoenzima CK-MB (CK-2) no soro ou plasma.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

MÉTODO

Imunoinibição-IFCC.

ESTABILIDADE

Conservar entre 2 a 8 °C.
Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.
Estabilidade em uso: Os reagentes fornecidos são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.
Condições de armazenamento após abertura: conservar entre 2 a 8 °C.
Condições de armazenamento e estabilidade das soluções de trabalho: o Reagente de Trabalho é estável por 14 dias entre 2-8 °C e 24 horas entre 15 - 25 °C, mantido em recipiente fechado. O calibrador após reconstituído é estável por 30 dias entre 2-8 °C.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

As subunidades M tanto de CK-MM quanto de CK-MB são inibidas por um anticorpo específico anti-CK-M que não afeta as subunidades B da CK-BB e CK-MB. A atividade catalítica de CK-B que corresponde à metade da atividade da CK-MB é determinada pelas reações acopladas da hexoquinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). Uma quantidade equimolar de NADP⁺ é reduzida para NADPH, havendo um aumento da absorvância em 340 nm proporcional à atividade da CK-MB. Nesta metodologia, pressupõe-se a ausência de CK-BB no plasma como é o normal.

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A composição dos reagentes e o procedimento analítico obedecem às recomendações da IFCC.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E LIMITAÇÕES DE USO

1. **Reagente 1** - Contém tampão imidazol 125 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 5000 U/L, glicose-6-fosfato desidrogenase 3500 U/L, NADP 2,5 mmol/L, AMP 6,25 mmol/L, ADP 2,5 mmol/L, diadenosina pentaosfato 12,5 μmol/Le azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Reagente 2** - Contém tampão, creatinofosfato 150 mmol/L, glicose 100 mmol/L, anti-CK-M humana suficiente para inibir até 4000 U/L de CK-MM e azida sódica 14,6 mmol/L.
3. **Calibrador** (liofilizado) - Contém tampão 50 mmol/L, cloreto de sódio 154 mmol/L, albumina 3,5 g/dL, CKMB e CKMM de origem humana. O valor da atividade de CKMB está indicada no rótulo do frasco, que é rastreável ao Procedimento Primário de Referência da IFCC e ao Material de Referência ERM- AD455/IFCC.

Material necessário e não fornecido:

- Espectrofotômetro com cubeta termostatizada capaz de medir com exatidão a absorvância em 340 nm;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

Influências pré-analíticas

A atividade da CK-MB pode aumentar até 6% em 2 a 26 horas após grandes cirurgias. O exercício físico vigoroso, sem ocorrência concomitante de IAM, produz elevação da CK-MB. Nesses casos a CK-MB apresenta um pico após 12 horas.

COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

SORO ou PLASMA (EDTA, heparina).
O analito no soro é estável por 8 horas entre 15 e 25 °C, 5 dias entre 2 e 8 °C e por 4 semanas em temperatura inferior -15 °C.
Evitar exposição à luz solar intensa. Não usar amostras hemolisadas.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.
Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

TRATAMENTO OU MANUSEIO ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO

1. **Preparo do Reagente de Trabalho:** De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Reagente 1 + 1 volume do Reagente 2. Estável por 14 dias entre 2-8 °C e 24 horas entre 15 - 25°C, mantido em recipiente fechado.
2. **Preparo do Calibrador:** Abrir cuidadosamente o frasco de Calibrador (3). Usando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar ao frasco do Calibrador o volume de água tipo II indicado no rótulo do frasco. Fechar o frasco com a tampa de borracha e deixar em repouso por 10 minutos. Homogeneizar suavemente por inversão para dissolver o liofilizado. Antes de usar, homogeneizar novamente e retirar a

quantidade necessária para uso. Tampar imediatamente e armazenar bem vedado e protegido da luz. Estável por 30 dias entre 2-8 °C. O Calibrador dissolvido deverá ser mantido fora da temperatura recomendada somente pelo tempo mínimo para retirada do volume de análise. Para aumentar o período de conservação do Calibrador para 90 dias, sugerimos utilizar criotubos, dividir o volume em alíquotas menores e armazenar em temperatura inferior a 10 °C negativos. As alíquotas do calibrador devem ser descongeladas somente uma vez.

Notas

1. Antes de realizar a determinação de CK MB, dosar previamente a CK Total usando o kit CK NAC - REF. 116. Quando o valor de CK NAC for maior que 2000 U/L, dosar a CK MB diluindo o soro a 1:2 ou 1:3 com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Multiplicar o resultado pela diluição empregada (2 ou 3).
2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.
Para controle e verificação do desempenho do kit usar amostra controle de origem humana.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 340 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de reação: Cinética de 2 pontos crescente

B. Técnica de Análise com Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 μL
Amostra ou Calibrador	50 μL

2. Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.
3. Fazer a leitura da absorvância aos 5 minutos (A₅) e aos 10 minutos (A₁₀).
4. Calcular as diferenças de absorvância obtidas para o Calibrador e para o Teste: ΔA = A₁₀ - A₅

Cálculos

Ver Linearidade.
Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).
ΔA do Calibrador ou do Teste = A₁₀ - A₅
ΔC = (A₁₀ - A₅) do Calibrador
ΔT = (A₁₀ - A₅) do Teste
AC = Atividade de CKMB do Calibrador = x U/L (Valor indicado no rótulo do Calibrador)
AT = Atividade de CKMB do Teste em U/L
FC = Fator de Calibração = AC ÷ ΔC
AT em U/L = FC x ΔT

Exemplo

Se A₅ Calibrador = 0,322 A₁₀ Calibrador = 0,378
Se A₅ Teste = 0,359 A₁₀ Teste = 0,375
ΔC = (A₁₀ - A₅) do Calibrador = 0,378 - 0,322 = 0,056
ΔT = (A₁₀ - A₅) do Teste = 0,375 - 0,359 = 0,016
Se AC = 72 U/L (valor de CKMB indicado no rótulo do frasco de Calibrador)
FC = AC ÷ ΔC = 72 ÷ 0,056 = 1286
AT = Atividade de CKMB do Teste = FC x ΔT = 1286 x 0,016 = 21 U/L

C. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 μL
Amostra	50 μL

2. Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.
3. Fazer a leitura de absorvância aos 5 minutos (A₅) e aos 10 minutos (A₁₀).
4. Calcular a diferença de absorvância obtida para o Teste: ΔA = A₁₀ - A₅

Cálculos

Ver Linearidade.
Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADPH em 340 nm é 6,3 e as condições da reação, deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica:
U/L de CKMB em 340 nm = ΔT x 1333
Onde: ΔT = Variação da absorvância em 5 minutos

O fator 1333 é calculado com base nas condições da reação cinética de 2 pontos. Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

$\Delta T = (A_{10} - A_5)$ do Teste

AT = Atividade de CKMB do Teste em U/L

Exemplo

Se A_5 Teste = 0,359

Se A_{10} Teste = 0,375

$\Delta T = (A_{10} - A_5)$ do Teste = 0,375 - 0,359 = 0,016

AT = Atividade de CKMB do Teste = $\Delta T \times 1333 = 0,016 \times 1333 = 21$ U/L

Cálculo do Fator

Fator = $(Vt \times 1000 \times 2) \div (\epsilon \times Va \times d \times 5)$

Fator = $(1050 \times 1000 \times 2) \div (6,3 \times 50 \times 1 \times 5) = 1333$

Vt = volume total do ensaio = 1050 μ L

Va = volume da amostra = 50 μ L

1000 = conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

ϵ = Absortividade milimolar do NADH em 340 nm = 6,3

Calibração

Usar o Calibrador (3)A atividade enzimática da CK-MB no calibrador é rastreável ao material de referência ERM - AD455/IFCC e ao Procedimento Primário de Referência da IFCC.

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração quando o controle interno da qualidade indicar ou ao usar novo lote de reagentes.

Sistemas automáticos - Intervalo de calibração

Calibração de 2 pontos (branco e calibrador) quando o controle interno da qualidade indicar;

Calibração de 2 pontos (branco e calibrador) ao mudar de lote.

Notas

1. A CKMB é composta pelas unidades M e B. Na dosagem, as subunidades M são inibidas pelo anticorpo anti-CKM, não afetando as subunidades B.

O fator é multiplicado por 2 porque a atividade catalítica de CKMB dosada no ensaio corresponde à metade da concentração CKMB.

2. O fator é dividido por 5 para corrigir o tempo de reação de 5 para 1 minuto.

Índice de CK-MB

Índice de CK-MB = $(U/L \text{ de CK-MB} \times 100) \div (U/L \text{ de CK Total}) = X\%$

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) \times 0,0167 = Unidade SI (μ Kat/L)

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO TESTE

A bilirrubina até 25 mg/dL e lipemia (triglicérides até 600 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Amostra hemolisada com hemoglobina acima de 22,5 mg/dL produz interferência positiva significativa.

Amostras com triglicérides acima de 600 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Linearidade: A reação é linear até 600 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade: A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de CKMB, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 7,58 e 2,3%.

Reprodutibilidade: A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de CKMB em dias diferentes, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 6,83 e 2,26%.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

A gestão de riscos do produto é conduzida de maneira preventiva conforme estabelecido pela ISO 14971, garantindo que as ações implementadas sejam suficientemente eficazes para mitigar os riscos residuais. Todos os riscos identificados são tratados, eliminados e/ou controlados de forma rigorosa.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

CK-MB até 24 U/L ou até 6% da CK Total.

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

DESCARTE DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E CONSUMÍVEIS

- O reagente 1 e 2 contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

O Calibrador (3) por ser derivado do sangue humano foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0004-69

AFE Nº 8283957.

Endereço: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.

Regularizado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AFE Nº 800222-3

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: assessoria@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Caso tenha interesse em obter, sem custo adicional, esta instrução de uso em formato impresso, basta realizar a solicitação através do e-mail assessoria@goldanalisa.com.br ou pelo telefone/whatsapp (31) 9577-2511.

Observe a correlação da versão da instrução de uso indicada no rótulo do produto adquirido.

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Telefone/WhatsApp (44) 3031-4020 / 44 99111-2726

Email: andre@labinga.com.br

Site: www.labinga.com.br/blue