

COD 11792 1 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reagentes para medir a concentração de CK-MB Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos

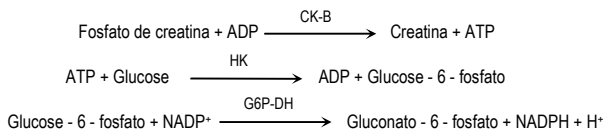
**CREATINE KINASE-MB
(CK-MB)**



CREATINA KINASE-MB (CK-MB)
Imunoinibição

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)^{1,2}. 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 nm³.



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 pH6,1.
- 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'-)pentafosfato 103 µmol/L, glucose-6-fosfato desidrogenase 8800 U/L.

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).

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

- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cubeta termostatzada a 37°C para leituras a 340 nm.
- Cubetas de 1 cm de passo de luz.

AMOSTRAS

Soro recolhido mediante procedimentos standard.

A concentração de CK total na amostra deve ser inferior ou igual a 1000 U/L. Se for superior, diluir o soro 1/2 com NaCl 150 mmol/L.

A CK-MB no soro é estável pelo menos 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

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

Amostra	40 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL

- Misturar bem e incubar imediatamente a 37°C. Ligar o cronómetro.
- Ler a absorvância (A) a 340 nm exactamente aos 5 minutos (A₅) e aos 10 minutos (A₁₀) de incubação.

CÁLCULOS

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

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

O coeficiente de absorção molar (ε) 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 16,67 nkat/L. Deduzem-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

A ₁₀ - A ₅	$\times \frac{1651 = \text{U/L}}{27522 = \text{nkat/L}}$
----------------------------------	--

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 = 417 nkat/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 total⁴ como valor discriminante.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle de CK-MB (Cod. 18024) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida. Reconstituir o soro com 0,5 mL de água destilada. Agitar suavemente o frasco, procurando evitar a formação de espuma, até dissolver por completo todo o liofilizado. Utilizar o soro controle reconstituído de forma idêntica às amostras dos pacientes (Nota 2).

Estável 7 dias a 2-8°C.

As concentrações de CK e de CK-MB estão especificadas no rótulo do frasco. O valor de CK é rastreável ao sistema de referência de acordo com o descrito no Comitê da IFCC sobre Sistemas de Referência para Enzimas, e o valor de CK-MB é rastreável ao material de referência ERM-AD455 (IRMM). A rastreabilidade só pode ser garantida se forem utilizados reagentes da BioSystems e procedimentos de medição recomendados.

Os intervalos de valores aceitáveis que são sugeridos foram elaborados com base na experiência previa e na variabilidade interlaboratório, contudo indicam-se unicamente a título orientativo, já que cada laboratório deve estabelecer os seus próprios parâmetros de precisão.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTROLÓGICAS

- Limite de detecção: 3 U/L = 50 nkat/L
- Limite de linearidade: 600 U/L = 10002 nkat/L. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.
- Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
45 U/L = 750 nkat/L	2,8 %	20
129 U/L = 2150 nkat/L	2,3 %	20

- Reprodutibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
45 U/L = 750 nkat/L	3,5 %	25
129 U/L = 2150 nkat/L	3,2 %	25

- Sensibilidade: 0,606 ΔmA·L/U·min = 10,10 ΔmA·L/nkat·min
- 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 interferem⁵. A bilirrubina (< 20 mg/dL) não interfere. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁶.

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

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A creatina kinase 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^{4,7}.

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.

NOTAS

- Estes reagentes podem utilizar-se em alguns analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
- Todos os componentes de origem humana são negativos para o antigéneo HBs e para o anticorpos anti-HCV e anti-HIV. No entanto, devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.

BIBLIOGRAFIA

- Würzburg U, Hennrich N, Lang H, Prellwitz W, Neumeier D and Knedel M. Bestimmung der aktivität von creatinkinase MB im serum unter verwendung inhibitorischer antikörper. *Klinische Wochenschrift* 1976; 54: 357-360.
- Gerhardt W and Waldenstrom G. Creatine kinase B-subunit activity in serum after immunoinhibition of M-subunit activity. *Clin Chem* 1979; 25: 1274-1279.
- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. *JIFCC* 1989; 1: 130-139.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Urdal P and Landaa S. Macro creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence. *Clin Chem* 1979; 25: 461-465.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.