

**MÉTODO**

Imunoinibição

**FINALIDADE**

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da isoenzima CK-MB (CK-2) no soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**FUNDAMENTO**

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<sup>+</sup> 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.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

A creatinoquinase (CK) é encontrada no músculo cardíaco, na musculatura esquelética e no cérebro. Deste modo, qualquer lesão nas células desses órgãos poderá provocar um aumento nos níveis séricos de CK.

A CK é um dímero composto de duas subunidades: B (brain = cerebral) e M (muscle = muscular) que formam três 3 frações principais, denominadas de CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) e CK-MM (CK-3). Existe ainda a CK-Mt (mitocondrial) que difere das outras, tanto do ponto de vista imunológico quanto de sua mobilidade eletroforética.

**Isoenzimas da Creatinoquinase (CK)**

**1. Isoenzima CK-BB:** É encontrada predominantemente no cérebro e no pulmão e praticamente inexistente no sangue periférico.

**2. Isoenzima CK-MM:** Compreende mais de 95% da CK dos músculos esqueléticos e cerca de 70-75% da enzima do miocárdio. Valores elevados de CK-MM podem ser encontrados em: distrofia muscular, miosite, convulsões recentes, cirurgia recente, hipotireoidismo, hipocalemia, injeções intramusculares, e delirium tremens.

**3. Isoenzima CK-MB:** É uma fração híbrida composta de cadeias M e B, que é encontrada predominantemente no músculo cardíaco. A sua determinação é bastante específica para o diagnóstico do infarto do miocárdio. A CK-MB aumenta dentro de 3-6 horas após ocorrência do infarto, atingindo um valor máximo em 12 - 24 horas e retornando ao normal em 24 - 48 horas, caso não ocorra um novo infarto nesse período. Existe uma correlação grosseira entre o grau de elevação da enzima e a extensão do infarto.

**Valores elevados da Isoenzima CK-MB:** Infarto agudo do miocárdio, desfibrilação cardíaca, isquemia cardíaca, miocardite, cirurgia de aneurisma cardíaco, distrofia muscular e rabdomiólise.

**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.

**REAGENTES**

Conservar entre 2-8 °C

**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.

**ESTABILIDADE**

Os reativos são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

**MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS**

- Espectrofotômetro com cubeta termostatizada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

**PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS**

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.

- O Reagente 1 e o Reagente 2 contém azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- 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.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

**AMOSTRA**

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.

**INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS**

A atividade da CKMB pode estar aumentada em até 6% em 2 a 26 horas nos pacientes submetidos a grandes cirurgias.

Após realização de fortes exercícios a CKMB pode estar elevada, mesmo sem a ocorrência do infarto agudo do miocárdio. Nesses casos a CK-MB apresenta um pico após 12 horas.

**INTERFERÊNCIAS**

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.

**PROCEDIMENTO DO TESTE****A. Condições de Reação**

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

**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, 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.

**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.

**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 (A<sub>5</sub>) e aos 10 minutos (A<sub>10</sub>).

4. Calcular as diferenças de absorvância obtidas para o Calibrador e para o Teste: ΔA = A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>

**Cálculos**

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta A$  do Calibrador ou do Teste =  $A_{10} - A_5$   
 $\Delta C$  = ( $A_{10} - A_5$ ) do Calibrador  
 $\Delta T$  = ( $A_{10} - A_5$ ) 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 =  $AC \div \Delta C$   
 $AT$  em U/L =  $FC \times \Delta T$

**Exemplo**  
 Se  $A_5$  Calibrador = 0,322       $A_{10}$  Calibrador = 0,378  
 Se  $A_5$  Teste = 0,359       $A_{10}$  Teste = 0,375  
 $\Delta C$  = ( $A_{10} - A_5$ ) do Calibrador = 0,378 - 0,322 = 0,056  
 $\Delta T$  = ( $A_{10} - A_5$ ) do Teste = 0,375 - 0,359 = 0,016  
 Se  $AC$  = 72 U/L (valor de CKMB indicado no rótulo do frasco de Calibrador)  
 $FC$  =  $AC \div \Delta C$  = 72  $\div$  0,056 = 1286  
 $AT$  = Atividade de CKMB do Teste =  $FC \times \Delta T$  = 1286  $\times$  0,016 = 21 U/L

### C. Técnica de Análise sem Calibrador

#### 1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 $\mu$ L
Amostra	50 $\mu$ L

- Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatzado a 37 °C e acionar o cronômetro.
- Fazer a leitura de absorbância aos 5 minutos ( $A_5$ ) e aos 10 minutos ( $A_{10}$ ).
- Calcular a diferença de absorbância obtida para o Teste:  $\Delta A = A_{10} - A_5$

#### 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 =  $\Delta T \times 1333$   
 Onde:  $\Delta T$  = Variação da absorbância 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  $\mu$ L  
 $Va$  = volume da amostra = 50  $\mu$ L  
 1000 = conversão de U/mL para U/L  
 $d$  = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm  
 $\epsilon$  = Absortividade milimolar do NADH em 340 nm = 6,3

#### Notas

- 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.
- 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 = ( $U/L$  de CK-MB  $\times$  100)  $\div$  ( $U/L$  de CK Total) = X%

#### Conversão de Unidades

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

#### VALORES 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.

#### 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](http://www.goldanalisa.com.br)

#### 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.

#### CARACTERÍSTICAS DO 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%.

#### OBSERVAÇÕES

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.











#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Editora Guanabara Koogan SA; 1998.
- IFCC. Methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
- IFCC Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase.. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (6): 635-642.
- Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico-Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1988; 7:29-32.
- Szasz G, Gruber W, Berni E. Clin Chem 1976;22:650.
- GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto.

#### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor  
 A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto  
 Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16  
 AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230188  
 Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF: 16773  
 Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888  
 Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020  
 Home page: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)  
 E-mail: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br)  
**Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888**  
**Análisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda**

SIMBOLOGIA			
	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco biológico		Liofilizado

Revisión: 05/22



**MÉTODO**  
inmunoinhibición

**META**  
Reactivos para la determinación cuantitativa de la actividad de la isoenzima CK-MB (CK-2) en suero o plasma.  
Sólo para uso diagnóstico in vitro.

**RAZÓN FUNDAMENTAL**  
Las subunidades M de CK-MM y CK-MB son inhibidas por un anticuerpo anti-CK-M específico que no afecta a las subunidades B de CK-BB y CK-MB. La actividad catalítica de CK-B, que corresponde a la mitad de la actividad de CK-MB, está determinada por las reacciones acopladas de hexoquinasa (HK) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). Una cantidad equimolar de NADP+ se reduce a NADPH, con un aumento de absorbancia a 340 nm proporcional a la actividad de CK-MB. En esta metodología, se supone la ausencia de CK-BB en el plasma como es habitual.

**SIGNIFICACIÓN CLÍNICA**  
La creatina quinasa (CK) se encuentra en el músculo cardíaco, el músculo esquelético y el cerebro. Así, cualquier daño en las células de estos órganos puede provocar un aumento de los niveles séricos de CK.  
La CK es un dímero compuesto por dos subunidades: B (cerebro=cerebro) y M (músculo=músculo) que forman tres fracciones principales, denominadas CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) y CK-MM (CK-3). También existe la CK-Mt (mitocondrial) que se diferencia de las demás, tanto desde el punto de vista inmunológico como en su movilidad electroforética

**Isoenzimas de la creatina quinasa (CK)**  
1. **Isoenzima CK-BB:** Se encuentra predominantemente en cerebro y pulmón y prácticamente ausente en sangre periférica.  
2. **Isoenzima CK-MM:** Comprende más del 95% de la CK del músculo esquelético y alrededor del 70-75% de la enzima del miocardio. Los valores elevados de CK-MM se pueden encontrar en: distrofia muscular, miositis, convulsiones recientes, cirugía reciente, hipotiroidismo, hipopotasemia, inyecciones intramusculares y delirium tremens.  
3. **Isoenzima CK-MB:** Es una fracción híbrida compuesta por cadenas M y B, que se encuentra predominantemente en el músculo cardíaco. Su determinación es bastante específica para el diagnóstico de infarto de miocardio. La CK-MB aumenta dentro de las 3-6 horas posteriores a la ocurrencia del infarto, alcanzando un valor máximo en 12 - 24 horas y volviendo a la normalidad en 24 - 48 horas, si no ocurre un nuevo infarto en este periodo. Existe una correlación aproximada entre el grado de elevación de la enzima y la extensión del infarto.  
**Valores elevados de isoenzima CK-MB:** infarto agudo de miocardio, desfibrilación cardíaca, isquemia cardíaca, miocarditis, cirugía de aneurisma cardíaco, distrofia muscular y rdbdomiólisis

**CALIFICACIONES DEL PRODUCTO**  
• Metodología cinética ultravioleta fácilmente adaptable a analizadores automáticos y semiautomáticos.  
• El producto utiliza reactivos líquidos, lo que permite preparar el volumen de Reactivo de Trabajo de acuerdo con la demanda del laboratorio..  
• La composición de los reactivos y el procedimiento analítico cumplen con las recomendaciones de la IFCC.

**REACTIVOS**  
Almacenar a 2-8°C

1. **Reactivo 1** - Contiene tampón de imidazol 125 mmol/L, acetato de magnesio 12,5 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinasa 5000 U/L, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa 3500 U/L, NADP 2,5 mmol/L, AMP 6,25 mmol/L, ADP 2,5 mmol/L, pentafofato de diadenosina 12,5 μmol/L y azida sódica 14,6 mmol/L.  
2. **Reactivo 2:** contiene tampón, 150 mmol/L de fosfato de creatina, 100 mmol/L de glucosa, suficiente anti-CK-M humana para inhibir hasta 4000 U/L de CK-MM y 14,6 mmol/L de azida sódica.  
3. **Calibrador (liofilizado)** - Contiene tampón 50 mmol/L, cloruro de sodio 154 mmol/L, albúmina 3,5 g/dL, CKMB y CKMM de origen humano. El valor de la actividad de CKMB se indica en la etiqueta del vial, que se puede rastrear hasta el Procedimiento de referencia principal de la IFCC y el Material de referencia ERM-AD455/IFCC.

**ESTABILIDAD**  
Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta y la caja del producto cuando se almacenan a la temperatura recomendada, se sellan herméticamente y se evita la contaminación durante su uso.

**MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS**  
• Espectrofotómetro con cubeta termostatazada;  
• Tubos y pipetas;  
• Cronógrafo.

**PRECAUCIONES Y PRECAUCIONES ESPECIALES**  
• Aplique las precauciones de seguridad habituales al manipular reactivos y muestras biológicas.

- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acuerdo con las instrucciones de bioseguridad, todas las muestras deben manipularse como materiales potencialmente infecciosos.
- El Reactivo 1 y el Reactivo 2 contienen azida de sodio como conservante. Evitar el contacto con ojos, piel y mucosas. No aspirar ni ingerir.
- El Calibrador (3) por ser derivado de sangre humana fue probado para anticuerpos anti-HCV y anti-HIV y antígeno HBsAg y arrojó un resultado negativo. Sin embargo, debe tratarse con precaución, ya que es potencialmente infeccioso. Manipular y desechar de acuerdo con las normas de bioseguridad..
- Deseche los reactivos y las muestras de acuerdo con las reglamentaciones ambientales locales, estatales y federales.

**MUESTRA**  
SUERO o PLASMA (EDTA, heparina).  
El analito sérico es estable durante 8 horas entre 15 y 25 °C, 5 días entre 2 y 8 °C y durante 4 semanas a una temperatura inferior a -15 °C.  
Evite la exposición a la luz solar intensa. No utilice muestras hemolizadas.

**Nota**  
Recomendamos que la recolección, preparación, almacenamiento y disposición de muestras biológicas se realice siguiendo las recomendaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorios Clínicos.  
Hacemos hincapié en que los errores derivados de la muestra pueden ser mucho mayores que los errores ocurridos durante el procedimiento analítico.

**INFLUENCIAS PREANALÍTICAS**  
La actividad de CKMB puede aumentar hasta en un 6 % en un plazo de 2 a 26 horas en pacientes que se someten a una cirugía mayor.  
Después de realizar ejercicios intensos, la CKMB puede estar elevada, incluso sin que se produzca un infarto agudo de miocardio. En estos casos, la CK-MB muestra un pico después de 12 horas.

**INTERFERENCIAS**  
La bilirrubina hasta 25 mg/dL y la lipemia (triglicéridos hasta 600 mg/dL) no producen interferencias significativas.  
La muestra hemolizada con hemoglobina por encima de 22,5 mg/dL produce una interferencia positiva significativa.  
Las muestras con triglicéridos por encima de 600 mg/dL producen resultados falsamente bajos.

**PROCEDIMIENTO DE PRUEBA**  
**A. Condiciones de reacción**  
• Lectura: Longitud de onda 340 nm  
• Temperatura: 37 °C  
• Tipo de reacción: cinética creciente de 2 puntos

1. **Preparación del Reactivo de Trabajo:** Según consumo, mezclar suavemente los reactivos 1 y 2 en la siguiente proporción: 4 volúmenes de Reactivo 1 + 1 volumen de Reactivo 2. Estable por 14 días a 2-8 °C, conservado en recipiente cerrado.
2. **Preparación del Calibrador:** Abra con cuidado la botella del Calibrador (3). Usando una pipeta volumétrica calibrada, agregue a la botella del Calibrador el volumen de agua tipo II indicado en la etiqueta de la botella. Cierre el vial con el tapón de goma y déjelo reposar durante 10 minutos. Homogeneizar suavemente por inversión para disolver el liofilizado. Antes de usar, homogeneizar nuevamente y retirar la cantidad necesaria para su uso. Tape inmediatamente y almacene herméticamente cerrado y protegido de la luz. Estable durante 30 días a 2-8°C. El Calibrador disuelto debe mantenerse fuera de la temperatura recomendada solo por el tiempo mínimo para retirar el volumen de análisis. Para aumentar el período de almacenamiento del Calibrador a 90 días, sugerimos utilizar criotubos, dividir el volumen en alícuotas más pequeñas y almacenar a una temperatura inferior a -10 °C.

- Los grados**
1. Antes de realizar la determinación de CK MB, medir previamente la CK Total mediante el kit CK NAC - REF. 116. Cuando el valor de CK NAC sea superior a 2000 U/L, dosifique la CK MB diluyendo el suero a 1:2 o 1:3 con una solución de NaCl de 150 mmol/L (0,85 %). Multiplicar el resultado por la dilución utilizada (2 o 3).
  2. El desempeño del Calibrador puede verse afectado por varios factores, tales como: errores de reconstitución, errores de homogeneización, almacenamiento incorrecto, contaminación del agua o la cristalería.

**B. Técnica de Análisis con Calibrador**  
1. Pipetear en la cubeta o tubo:

Reactivo de trabajo	1000 μL
Muestra o Calibrador	50 μL

2. Homogeneizar, introducir el tubo Test o Calibrador en el portacubetas termostatazado a 37 °C y poner en marcha el cronómetro.
3. Tome la lectura de absorbancia a los 5 minutos (A<sub>5</sub>) y a los 10 minutos (A<sub>10</sub>).
4. Calcular las diferencias de absorbancia obtenidas para el Calibrador y para el Test:  
ΔA= A<sub>10</sub> - A<sub>5</sub>



## Calculos

Ver Linealidad.

Como la metodología obedece a la ley de Lambert-Beer, los cálculos se pueden realizar a través del Factor de Calibración (FC).

$$\Delta A \text{ Calibrador o Prueba} = A_{10} - A_5$$

$$\Delta C = (A_{10} - A_5) \text{ del Calibrador}$$

$$\Delta T = (A_{10} - A_5) \text{ del examen}$$

$$AC = \text{Actividad de CKMB del Calibrador} = x \text{ U/L (Valor indicado en la etiqueta del Calibrador)}$$

$$AT = \text{Pruebe la actividad de CKMB en U/L}$$

$$FC = \text{Factor de calibración} = AC \div \Delta C$$

$$AT \text{ en U/L} = FC \times \Delta T$$

### Ejemplo

$$\text{Si } A_5 \text{ indicador} = 0,322 \text{ } A_{10} \text{ indicador} = 0,378$$

$$\text{Si } A_5 \text{ Prueba} = 0,359 \quad A_{10} \text{ Prueba} = 0,375$$

$$\Delta C = (A_{10} - A_5) \text{ del Calibrador} = 0,378 - 0,322 = 0,056$$

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

$$\text{Si } AC = 72 \text{ U/L (Valor de CKMB indicado en la etiqueta de la botella del Calibrador)}$$

$$FC = AC \div \Delta C = 72 \div 0,056 = 1286$$

$$AT = \text{Probar la actividad de CKMB} = FC \times \Delta T = 1286 \times 0,016 = 21 \text{ U/L}$$

## C. Técnica de análisis sin calibrador

### 1. Pipetear en la cubeta o tubo

Reactivo de trabajo	1000 $\mu$ L
Muestra	50 $\mu$ L

2. Homogeneizar, introducir en el portacubetas termostatzado a 37°C y poner en marcha el cronómetro.

3. Tome la lectura de absorbancia a los 5 minutos (A<sub>5</sub>) y a los 10 minutos (A<sub>10</sub>).

4. Calcular a diferencia de absorbancia obtenida para o Teste:  $\Delta A = A_{10} - A_5$

## Calculos

### Ver Linealidad.

Considerando que el coeficiente de absorción milimolar del NADPH a 340 nm es de 6,3 y las condiciones de reacción, se deduce la siguiente fórmula para calcular la concentración catalítica:

$$U/L \text{ de CKMB a } 340 \text{ nm} = \Delta T \times 1333$$

Donde:  $\Delta T$  = Cambio en absorbancia en 5 minutos

El factor 1333 se calcula en base a las condiciones de la reacción cinética de 2 puntos. Este factor debe recalcularse cada vez que se realice alguna modificación en los parámetros de reacción.

Ver método para el cálculo del factor.

$$\Delta T = (A_{10} - A_5) \text{ de la Prueba}$$

$$AT = \text{Prueba de actividad de CKMB en U/L}$$

### Ejemplo

$$\text{Si prueba } A_5 = 0,359$$

$$\text{Si prueba } A_{10} = 0,375$$

$$\Delta T = (A_{10} - A_5) \text{ de la Prueba} = 0,375 - 0,359 = 0,016$$

$$AT = \text{Actividad de CKMB de prueba} = \Delta T \times 1333 = 0,016 \times 1333 = 21 \text{ U/L}$$

### Cálculo de factores

$$\text{Factor} = (Vt \times 1000 \times 2) \div (\epsilon \times Va \times d \times 5)$$

$$\text{Factor} = (1050 \times 1000 \times 2) \div (6,3 \times 50 \times 1 \times 5) = 1333$$

$$Vt = \text{volumen total del ensayo} = 1050 \mu\text{L}$$

$$Va = \text{volumen de muestra} = 50 \mu\text{L}$$

$$1000 = \text{conversión de U/mL a U/L}$$

$$d = \text{espesor de la cubeta, paso de luz} = 1 \text{ cm}$$

$$\epsilon = \text{Absorbancia milimolar de NADH a } 340 \text{ nm} = 6,3$$

### Los grados

1. CKMB está compuesto por unidades M y B. A la dosis, las subunidades M son inhibidas por el anticuerpo anti-CKM, sin afectar a las subunidades B.

El factor se multiplica por 2 porque la actividad catalítica de CKMB medida en el ensayo corresponde a la mitad de la concentración de CKMB.

2. El factor se divide por 5 para corregir el tiempo de reacción de 5 a 1 minuto.

### Índice CK-MB

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

### Conversión de unidades

$$\text{Unidad convencional (U/L)} \times 0,0167 = \text{Unidad SI } (\mu\text{Kat/L})$$

### VALORES DE REFERENCIA

CK-MB hasta 24 U/L o hasta 6% de CK Total.

Estos valores deben usarse como una guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### AUTOMATIZACIÓN

Este kit se puede utilizar en la mayoría de los analizadores automáticos.

El consumidor podrá solicitar más información a través del Sector de Atención al Cliente (SAC) o accediendo a la página web

[www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

### CONTROL DE CALIDAD

El laboratorio clínico debe mantener un Programa de Garantía de Calidad para garantizar que todos los procedimientos de laboratorio se realicen de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

Para el control y la verificación del rendimiento del kit, utilice muestras de control de origen humano.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO<sup>7</sup>

**Linealidad:** La reacción es lineal hasta 600 U/L. Para valores superiores, diluir la muestra con solución de NaCl 150 mmol/L (0,85%) y realizar una nueva determinación. Multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución utilizado.

**Repetibilidad:** La imprecisión intraensayo se calculó con 20 determinaciones sucesivas de CKMB utilizando dos muestras de suero con diferentes concentraciones. Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron 7.58 y 2.3%.

**Reproducibilidad:** La imprecisión entre ensayos se calculó con 20 determinaciones de CKMB en días diferentes usando dos muestras de suero con concentraciones diferentes.

Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron 6.83 y 2.26%.

## COMENTARIOS

1. La observación cuidadosa de la limpieza y el secado de la cristalería, la estabilidad de los reactivos, el pipeteo, la temperatura y el tiempo de reacción es extremadamente importante para obtener resultados precisos y exactos.

2. Para limpiar la cristalería, se puede utilizar un detergente neutro o una solución ácida. El último lavado debe hacerse con agua destilada o desionizada.

3. El agua utilizada en los laboratorios clínicos debe ser purificada utilizando métodos adecuados para los fines de uso. Las columnas desionizantes saturadas liberan varios iones, aminas y agentes oxidantes que deterioran los reactivos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Editora Guanabara Koogan SA; 1998.
- IFCC. Methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
- IFCC Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (6): 635-642.
- Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico- Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1988; 7:29-32.
- Szasz G, Gruber W, Bernt E. Clin Chem 1976;22:650.
- GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto.

## TÉRMINOS Y CONDICIONES DE LA GARANTÍA DE CALIDAD DEL PRODUCTO Ley N° 8078 del 11-9-90 - Código de Protección al Consumidor

Gold Análise garantiza la reposición, sin cargo para el consumidor, de todos los productos que demuestren tener problemas técnicos, siempre que el usuario utilice equipos y materiales en buenas condiciones técnicas, siga estrictamente el procedimiento técnico y las recomendaciones establecidas en las Instrucciones de uso.

Número de lote y fecha de caducidad: consulte las etiquetas del producto

Gold Análise Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS No. 800222-3 - MS Reg. - No. 80022230188

Granja. resposta Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Teléfono: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020











Página de inicio: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

Correo electrónico: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br)

Sector de Atención al Cliente (SAC): 0800 703 1888

Análise es una marca registrada de Gold Análise Diagnóstica Ltda.

## SIMBOLOGÍA

	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Número de lote		Número de pruebas
	Producto de diagnóstico in vitro		Consultar instrucciones de uso
	Plazo de uso		Fabricado por
	Riesgo biológico		Liofilizado

Revisión: 05/22