

Ref.	Frasco	Conteúdo	704	717	736 737	747	747- 400	902	904	911 912	914	917	MODULAR P	D
1929011	1	Tampão, 4 x 20 ml												
	1a	Enzimas/coenzima/anticorpo, 4 frascos de granulado para 4 x 20 ml	●	●		●	●	●	●	●	●	●		
	2 2a	Buffer, 4 x 5 ml Substrato, 4 frascos de granulado para 4 x 5 ml												
3012433	1	Tampão, 6 x 66 ml												
	1a	Enzimas/coenzima/anticorpo, 6 frascos de granulado para 6 x 66 ml										●	●	
	2 2a	Tampão, 6 x 16 ml Substrato, 6 frascos de granulado para 6 x 16 ml												
1127608	1	Tampão, 6 x 21 ml												
	1a	Enzimas/coenzima/anticorpo, 6 frascos de granulado para 6 x 21 ml	●	●		●	●	●	●	●		●		
	2 2a	Tampão, 2 x 14,6 ml Substrato, 2 frascos de granulado para 2 x 14,6 ml												

Alguns dos analisadores e kits podem não ser comercializados em todos os países. Para outras aplicações de sistema, contacte o seu representante local da Roche.

Função

Teste de imunoinibição para determinação quantitativa *in vitro* do isoenzima MB da creatinina-quinase (CK) em soro e plasma humanos, em analisadores automáticos de química clínica.

Características¹⁻⁶

A creatina-quinase (CK) é um enzima dimérico que surge sob quatro formas diferentes: um isoenzima mitocondrial e os isoenzimas citosólicos CK-MM (tipo músculo), CK-BB (tipo cérebro) e CK-MB (tipo miocárdio).

A determinação do CK-MB é um elemento importante no diagnóstico de isquemia do miocárdio, p.ex., no enfarte agudo do miocárdio ou miocardite. O CK-MB é detectável no sangue cerca de 3 a 8 horas após a manifestação dos sintomas cardíacos e pode ser detectado por um período de tempo bastante longo.

O CK-MB pode também aparecer noutros quadros clínicos como rabdomiólise e apoplexia. No âmbito do diagnóstico laboratorial, a determinação da CK total, mioglobina e troponina T pode contribuir para a diferenciação destes quadros clínicos.

A sensibilidade de uma determinação do CK-MB depende do momento em que as amostras são colhidas. Os ensaios de seguimento são, pois, de grande importância.

Princípio do teste⁶

Teste UV imunológico

- Amostra e adição do R1 (tampão/enzimas/coenzima/anticorpo)
- Adição do R2 (tampão/substrato) e início da reacção.

O CK-MB humano é constituído por duas subunidades, CK-M e CK-B, ambas com um *site* activo. Com a ajuda de um anticorpo policlonal do CK-M, a actividade catalítica das subunidades CK-M na amostra é inibida em 99,6%, sem afectar as subunidades CK-B. A actividade restante do CK-B, que corresponde a metade da actividade do CK-MB, é determinada pelo método CK NAC, de modo análogo à CK total. Dado que só muito raramente é que o isoenzima CK-BB aparece no soro e que a actividade catalítica das subunidades CK-M e CK-B pouco diferem entre si, é possível calcular a actividade catalítica do isoenzima CK-MB a partir da actividade medida do CK-B e multi-plicando o resultado por 2.

Concentrações das soluções de trabalho

R1 Tampão/enzimas/coenzima/anticorpo (frascos 1 e 1a)

Tampão Imidazol: 110 mmol/l, pH 6,7; glucose: 21 mmol/l; Mg²⁺: 11 mmol/l; EDTA: 2,1 mmol/l; ADP: 2,4 mmol/l; AMP: 6,0 mmol/l; pentafosfato de diadenosina: 12 µmol/l; NADP: 2,4 mmol/l (levadura); N-acetilcisteína: 24 mmol/l; HK ≥ 2,5 U/ml (levadura; 25°C); G6P-DH ≥ 1,7 U/ml (*E. Coli*; 25°C); anticorpo policlonal anti-CK-M (ovelha), que inibe a capacidade da subunidade CK-M até 8000 U (37°C); conservante

R2 Tampão/substrato (frascos 2 e 2a)

Tampão Imidazol: 110 mmol/l, pH 6,7; glucose: 21 mmol/l; Mg²⁺: 11 mmol/l; EDTA: 2,1 mmol/l; fosfato de creatina: 186 mmol/l; conservante

Precauções e advertências

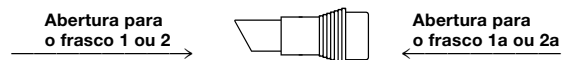
Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Preparação dos reagentes

R1: Ligue um frasco 1 a um frasco 1a com o adaptador incluído (consulte o diagrama) e dissolva completamente o granulado no tampão.

R2: Ligue um frasco 2 a um frasco 2a com o adaptador incluído (consulte o diagrama) e dissolva completamente o granulado no tampão.



Conservação e estabilidade

Componentes no kit fechado: até ao fim do prazo de validade indicado quando conservado a 2–8°C

R1: 14 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 14 dias aberto e refrigerado no analisador

Colheita e preparação das amostras

O soro é recolhido em tubos de amostra standard.

Plasma tratado com heparina ou EDTA

Estabilidade⁷: 2 dias a 20–25°C

7 dias a 4–8°C

4 semanas a -20°C

Antes do ensaio do CK-MB, é necessário determinar a actividade da CK total através do método NAC da CK. O anticorpo pode inibir até 8000 U/l de subunidade CK-M (37°C). Logo, as actividades do CK-MM até 4000 U/l (37°C) são totalmente inibidas. Por conseguinte, as amostras com actividades da CK total superiores a 4000 U/l (37°C) exigem o processo de diluição na medida em que a inibição completa já não está assegurada.

Analisadores Roche/Hitachi com diluição automática das amostras Sempre que as actividades da CK total forem superiores a 4000 U/l (66,68 µkat/l), peça a diluição automática da amostra no caso do CK-MB. A amostra de CK-MB é diluída no analisador com NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p. ex., 1 + 4).

Analisadores Roche/Hitachi sem diluição automática das amostras Sempre que as actividades da CK total forem superiores a 4000 U/l (66,68 µkat/l), dilua manualmente a amostra com NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p. ex., 1 + 4) antes de proceder ao ensaio CK-MB. Multiplique pelo factor de diluição adequado (p. ex., 5).

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Componentes do teste

Material fornecido

- Soluções de trabalho, conforme descrito acima

Outros materiais necessários

- Calibradores e controlos conforme indicado abaixo
- NaCl a 0,9%

Realização do ensaio

Consulte o manual do operador apropriado e/ou a secção relativa às definições do analisador nesta bula para obter instruções mais específicas sobre o analisador. Quando se executam ensaios não validados pela Roche, esta não garante os resultados, pelo que esses ensaios devem ser definidos pelo utilizador.

Calibração

S1: NaCl a 0,9%

S2: Calibrador para sistemas automáticos (C.f.a.s. – Calibrator for automated systems)

Determine o factor-K durante a programação do analisador.

Utilizadores norte-americanos: Utilizar o factor-K determinado na instalação.

Frequência da calibração

Recomenda-se a realização de uma calibração contra branco:

- conforme necessário de acordo com os procedimentos de controlo de qualidade

Verificação da calibração: não é necessária.



Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Precinorm CK-MB, soro de controlo CK-MB/LD-1 ou outros materiais de controlo adequados. Os intervalos e os limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório e aos requisitos específicos de cada país. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos intervalos definidos. Cada laboratório deverá estabelecer as suas próprias normas no que diz respeito às medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora do intervalo definido.

Cálculo

Os sistemas Roche/Hitachi calculam automaticamente a actividade de CK-MB de cada amostra.

Factor de conversão: U/l x 0,0167 = μ kat/l

Limitações – interferências^{8,9}

Critério: recuperação dentro de \pm 10% dos valores iniciais.

A hemólise interfere.

Ictericia: Nenhuma interferência significativa até um índice I de 60 para a bilirrubina conjugada e 20 para a bilirrubina não-conjugada (concentração aprox. de bilirrubina conjugada: 60 mg/dl; concentração aprox. de bilirrubina não-conjugada: 20 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): Nenhuma interferência significativa até um índice L de 400 (concentração aprox. de triglicéridos: 800 mg/dl). Existe uma relação fraca entre a turbidez e a concentração de triglicéridos.

Nos doentes com predisposição para a formação de macro-CK, é possível medir valores de CK-MB implausivelmente elevados relacionados com a CK total, na medida em que as macroformas são basicamente constituídas por subunidades CK-B. Dado que, regra geral, estes doentes não sofreram nenhum enfarte do miocárdio, são necessárias meios complementares de diagnóstico.¹⁰

Intervalo de medição/referência

5–1500 U/l (0,08–25,00 μ kat/l)

Determine as amostras com actividades superiores através da função de reanálise. Nos instrumentos sem função de reanálise, dilua manualmente as amostras com NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p.ex., 1+2). Multiplique o resultado pelo factor de diluição adequado (p.ex., 3).

Valores teóricos com base no método padrão otimizado dos métodos da DGKC e da IFCC.

Enfarte do miocárdio: Existe uma elevada probabilidade de lesões do miocárdio quando se verificam as três situações seguintes:

		25°C	30°C	37°C
1	CK _{homens}	> 80 U/l ¹¹ (1,33 μ kat/l)	> 130 U/l ¹² (2,17 μ kat/l)	> 190 U/l* (3,17 μ kat/l)
	CK _{mulheres}	> 70 U/l ¹¹ (1,17 μ kat/l)	> 110 U/l ¹² (1,83 μ kat/l)	> 167 U/l* (2,87 μ kat/l)
2	CK-MB	> 10 U/l ¹¹ (0,17 μ kat/l)	> 15 U/l* (0,25 μ kat/l)	> 24 U/l* (0,40 μ kat/l)
3	A actividade da CK-MB representa 6–25% da actividade total da CK. ¹¹			

* Valores calculados

Se, apesar de existir uma suspeita de enfarte do miocárdio, os valores encontrados se situarem abaixo dos limites indicados, pode tratar-se de um enfarte recente. Nestes casos, as determinações devem ser repetidas passadas 4 horas.

Factores utilizados para a conversão dos valores de referência de 25°C para 30 ou 37°C: 1, 53 (30°C) e 2,38 (37°C).

Cada laboratório deve verificar se os valores teóricos podem ser aplicados à sua própria população de doentes e, se necessário, determinar os seus próprios valores de referência. Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados do CK-MB devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do doente, o exame clínico e outros resultados.

Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados determinados utilizando um analisador Roche/Hitachi. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Imprecisão⁸

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras e controlos humanos num protocolo interno (intra-série: n = 21, entre dias: n = 19). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-série			Entre dias		
	Média	SD	%CV	Média	SD	%CV
	U/l	U/l		U/l	U/l	
Soro humano	76	2,3	3,0	26	1,2	4,6
Soro de controlo I	327	3,1	1,0	236	3,4	1,4
Soro de controlo II	291	2,5	0,9	–	–	–

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)

CV = coeficiente de variação

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)⁸

Limite de detecção: 5 U/l (0,08 μ kat/l)

O limite de detecção inferior representa a concentração de CK-MB mais baixa passível de ser distinguida de zero. É calculado como 3 desvios-padrão de 21 repetições do padrão mais baixo.

Comparação dos métodos⁸

Uma comparação da nova combinação dos comprimentos de onda de 546/340 nm (y) com a antiga combinação de 405/340 nm (x), usando os reagentes CK-MB da Roche num Roche/Hitachi 717, teve como resultado as seguintes correlações (U/l):

Passing/Bablok^{13, 14} Regressão linear

y = -1,80 + 1,03 x

y = -1,71 + 1,03 x

r = 0,999

r = 0,999

SD (md 95) = 6,4

Sy.x = 2,8

Número de amostras medidas: 83

As concentrações das amostras variaram entre 9 e 593 U/l.

Bibliografia

- 1 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1994;45:31–44.
- 2 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.
- 3 Apple FS. Diagnostic markers for detection of acute myocardial infarction and reperfusion. *Laboratory Medicine* 1992;23:297–322.
- 4 Jockers-Wretou E, Pileider G. *Clin Chim Acta* 1975;58:223.
- 5 Neumeier D, Prellwitz W, Würzburg U et al. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity – Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1976;73:445–451.
- 6 Würzburg U et al. *Klin Wschr* 1976;54:357.
- 7 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Pre-analytical Variables. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT Verlag 1996.
- 8 Documentação da Roche.
- 9 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470–474.
- 10 Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: Biochemical Characterization, Clinical Significance, and Laboratory Detection. *Clin Chem* 1989;35:2261–2270.
- 11 Stein W. *Med Welt* 1985; 36:572.
- 12 Szasz G, Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3–8 June 1979 (abstract).
- 13 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:709–720.
- 14 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783–790.



Definições do instrumento

Utilizadores norte-americanos

Para mais informações sobre o funcionamento, consulte a folha da aplicação.

Clientes do Roche/Hitachi 914

Consulte a folha de aplicação para a obtenção de informações sobre parâmetros.

Utilizadores do Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917 e MODULAR

Introduza os parâmetros da aplicação a partir da disquete da aplicação ou da folha com o código de barras, conforme mais adequado.

Roche/Hitachi 704

Temperatura: 25°/30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[CK-MB]
ASSAY CODE	[5(RATE A)] - [25] - [32]
SAMPLE VOLUME	[15]
R1 VOLUME	[350] - [20] - [NO]
R2 VOLUME	[70] - [20] - [NO]
WAVELENGTH	[546] - [340]
CALIB. METHOD	[K-FACTOR] - [0] - [0]
STD. (1) CONC.-POS.	[----] - [----]
STD. (2) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (3) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0] - [0]
UNIT	[----]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[9000] - [INCREASE]
PROZONE LIMIT	[0] - [LOWER]
EXPECTED VALUE	[----] - [----]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

---- Dados introduzidos pelo operador

Roche/Hitachi 717

Temperatura: 25°/30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[CK-MB]
ASSAY CODE	[5(RATE A)] - [40] - [50]
SAMPLE VOLUME	[12] - [4]
R1 VOLUME	[250] - [20] - [NO]
R2 VOLUME	[50] - [20] - [NO]
WAVELENGTH	[546] - [340]
CALIB. METHOD	[K-FACTOR] - [0] - [0]
STD. (1) CONC.-POS.	[----] - [----]
STD. (2) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (3) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0] - [0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0] - [0]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[9000] - [INCREASE]
PROZONE LIMIT	[0] - [LOWER]
EXPECTED VALUE	[----] - [----]
PANIC VALUE	[----] - [----]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

---- Dados introduzidos pelo operador

Roche/Hitachi 747

Temperatura: 25°/30°/37°C

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS			
TEST	[CK-MB]		
ASSAY CODE	[5(RATE A)] - [40] - [50]		
WAVELENGTH	[546 (SUB)] - [340 (MAIN)]		
	SERUM	URINE	
SAMPLE VOLUME (µl)	[12] - [12]	[----] - [----]	
EXPECTED VALUE	[----] - [----]	[----] - [----]	
PANIC VALUE	[----] - [----]	[----] - [----]	
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[9000] - [INCREASE]	[----] - [----]	
PROZONE LIMIT	[0] - [LOWER]	[----] - [----]	
	R1	R2	
R1/R2 VOLUME (µl)	[250]	[50]	
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]	
DILUTION VOLUME (µl)	[0]		
CALIB. METHOD	[K FACTOR]		
POINTS	[0]		
STD 1 CONC RACK POS	[----] - [----] - [----]		
STD 2 CONC RACK POS	[0] - [----] - [0]		
STD 3 CONC RACK POS	[0] - [----] - [0]		
STD 4 CONC RACK POS	[0] - [----] - [0]		
STD 5 CONC RACK POS	[0] - [----] - [0]		
STD 6 CONC RACK POS	[0] - [----] - [0]		
SD LIMIT	[0.1]		
DUPLICATE LIMIT	[100]		
SENSITIVITY LIMIT	[0]		
STD 1 ABS. LEVEL	[----] - [----]		
INSTRUMENT FACTOR	[1.0]		

---- Dados introduzidos pelo operador




Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	CK-MB
1	Test Name	Rate A
2	Assay Code (Mthd)	0
3	Assay Code (2. Test)	10
4	Reaction Time	28
5	Assay Point 1	35
6	Assay Point 2	0
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	546
9	Wave Leng. (SUB)	340
10	Wave Leng. (MAIN)	12
11	Sample Volume	250
12	R1 Volume
13	R 1 Pos.	Small
14	R 1 Bottle Size	0
15	R 2 Volume	0
16	R 2 Pos.	0
17	R 2 Bottle Size	Small
18	R 3 Volume	50
19	R 3 Pos.
20	R 3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0.0
24	Calib. Pos. 1
25	Calib. Conc. 2
26	Calib. Pos. 2
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0
33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS.	0
36	K Factor	10000
37	K 2 Factor	10000
38	K 3 Factor	10000
39	K 4 Factor	10000
40	K 5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	115
46	Sens. Limit	10
47	S1ABS. Limit (L)	-32000
48	S1ABS. Limit (H)	32000
49	ABS. Limit	9000
50	ABS. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	0
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Lower
53	Prozone (End Point)	35
54	Expect. Value (L)
55	Expect. Value (H)
56	Instr. Fact. (a)	1
57	Instr. Fact. (b)	0
58	Key Setting

.... Dados introduzidos pelo operador

Para mais informações, consulte o manual do operador dos sistemas Roche/Hitachi, as folhas da aplicação respectiva e as bulas dos calibradores e dos soros de controlo.

Precinorm is a trademark of a member of the Roche Group.
 Intralipid is a trademark of KabiPharmacia, Inc.
 ©2000 Roche Diagnostics

 = Alterações ou acréscimos

Fabricado por:
 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha
 Distribuidor em Portugal:
 Roche Farmacêutica Química, Lda, 2700 Amadora

2000-01

