

Creatine Kinase-MB

Liquid Reagent

Creatina Quinase-MB

Reagente líquido

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA Creatine Kinase-MB	100 testes	Ref. 04525299 190 System-ID 07 5924 4
C.f.a.s. CK-MB	3 × 1 mL	Ref. 11447394 216 System-ID 07 7996 2
Precinorm CK-MB	4 × 3 mL	Ref. 11447378 122 System-ID 07 9111 3
Precipath CK-MB	4 × 3 mL	Ref. 04358210 190 System-ID 07 6828 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizado o suporte de reagentes cobas c pack

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Informações do sistema

COBAS INTEGRA Creatine Kinase-MB (CKMBL).
Teste CKMBL, teste ID 0-324.

Função

Teste in vitro para a determinação quantitativa da actividade catalítica da CK-MB, (EC 2.7.3.2; adenosina-trifosfato: creatina N-fosfotransferase) no soro e plasma humanos nos sistemas COBAS INTEGRA.

Sumário^{1,2}

A creatina quinase (CK) aparece sob a forma de três isoenzimas que são dímeros compostos por dois tipos de subunidades monoméricas. As isoenzimas incluem as três combinações de monómeros, M (para derivado muscular-esquelético) e B (para derivado cerebral), sendo representadas pelas notações MM, MB e BB.

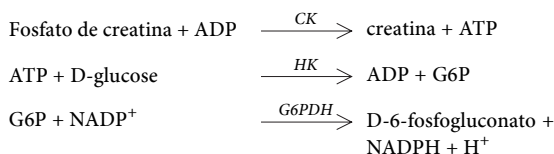
Muitos órgãos contêm CK, mas a distribuição das isoenzimas é diferente em cada um. O músculo-esquelético é muito rico na isoenzima MM, ao passo que o cérebro, o estômago, o intestino, a bexiga e os pulmões contêm, acima de tudo, a isoenzima BB. A isoenzima MB tem sido encontrada em quantidades apreciáveis (15 a 20 por cento) apenas no tecido do miocárdio. Por isso, a actividade total da CK no soro apresenta-se elevada em várias doenças. Esta falta de especificidade limita o seu valor de diagnóstico. No entanto, a assinalável diferença entre os padrões da isoenzima CK nos diferentes órgãos transformou a CK numa das mais úteis enzimas para fins de diagnóstico no enfarte agudo do miocárdio. A CK-MB aparece no soro, reflectindo a sua presença exclusiva no tecido do miocárdio. É no suporte ao diagnóstico de suspeita de enfarte do miocárdio que as determinações séricas das isoenzimas CK têm aplicação mais frequente no laboratório clínico.

Princípio do teste

Após imunoinibição com anticorpo para a subunidade CK-M, a actividade da CK-B é determinada com um método que está de acordo com as recomendações da International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), da Société Française de Biologie Clinique (SFBC), da Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology (SCE), e da Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC).^{3,4,5,6,7}

As subunidades CK-M são inibidas por anticorpos específicos. Como a CK-BB ocorre raramente no soro, assume-se que a actividade da CK-B deriva da CK-MB presente na amostra. A

actividade das subunidades da CK-B é determinada e multiplicada por 2 para fornecer uma estimativa da actividade da CK-MB. A CK é activada pela N-acetilcisteína (NAC). Numa reacção primária, a CK activada catalisa a desfosforilação do fosfato de creatina, formando creatina e ATP. Numa reacção acoplada catalisada pela hexoquinase (HK), a glucose é fosforilada pela ATP, formando D-glucose-6-fosfato (G6P). Finalmente, a glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) catalisa a oxidação de G6P pela NADP⁺, formando 6-fosfogluconato e NADPH.



A taxa de formação de NADPH é directamente proporcional à actividade catalítica de CK-MB. É determinada medindo o aumento da absorvância a 340 nm.

Reagentes - soluções de trabalho

Componentes	Concentrações		
	R1	R2=SR	Teste
Imidazole	58	29	mmol/L
N-Acetilcisteína	40	20	mmol/L
EDTA	3	3	2 mmol/L
HK (levedura)	≥600	98	μkat/L (≥6 kU/L)
G6PDH (microbiana)	≥600	98	μkat/L (≥6 kU/L)
AMP	10	5	mmol/L
ADP		12	2 mmol/L
Diadenosina			
pentafosfato	24	12	μmol/L
NADP ⁺	9,5	4,8	mmol/L
Mg ⁺⁺	20	10	mmol/L
Fosfato de creatina		180	30 mmol/L
N-Metildietanolamina		69	11 mmol/L
D-Glucose	40	20	mmol/L
Azida sódica		0,09	0,015 %
pH	6,0	9,1	6,6

Ambos os reagentes contêm estabilizante não reactivo. O reagente R2 (SR) contém anticorpos monoclonais inibidores da CK-M (ratinho) com actividade inibidora da CK-MM de ≥2.000 U/L. O R2 (SR) também contém detergente não reactivo.

INTEGRA 400/700/800

Avisos e precauções

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Capítulo 1 deste folheto informativo, particularmente o ponto 6 (azida sódica).

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

Armazenamento e estabilidade

Validade a 2-8°C: Consulte o prazo de validade no rótulo do suporte de reagentes cobas c pack

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus

No analisador a 10-15°C 8 semanas

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800

No analisador a 8°C 8 semanas

Colheita e preparação das amostras

Para colheita e preparação das amostras, utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro (livre de hemólise).

O soro não hemolisado é a amostra de eleição, sendo também recomendado pelo IFCC.

Plasma (livre de hemólise): Tratado com heparina de lítio.

A heparina de lítio não interfere com o teste. O plasma preparado com este anticoagulante na concentração usual também é aceitável. No entanto, a IFCC alerta contra a sua utilização.⁸ Não utilize plasma preparado com outros anticoagulantes.

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade no soro: 8 horas a 15-25°C
8 dias a 2-8°C
4 semanas a (-15)-(-20)°C

Estabilidade no plasma tratado com heparina de lítio: 8 horas a 15-25°C
5 dias a 2-8°C
8 dias a (-15)-(-20)°C

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

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

Aplicação para soro e plasma**Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	340/409 nm

Primeiro/último cálc.	53/65
Unidade	U/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	61 µL	9 µL
Amostra	16,5 µL	10 µL
SR	20 µL	5 µL
Volume total	121,5 µL	

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	340/409 nm
Primeiro/último cálc.	78/98
Unidade	U/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	61 µL	9 µL
Amostra	16,5 µL	10 µL
SR	20 µL	5 µL
Volume total	121,5 µL	

Calibração

Calibrador	C.f.a.s. CK-MB Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado recomendado
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado manualmente contra a formulação original da IFCC, com adição de anticorpos.

Controlo da qualidade

Intervalo de referência	Precinorm CK-MB
Intervalo patológico	Precipath CK-MB
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo dos resultados

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a actividade do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: U/L × 0,0167 = µkat/L

Limitações - interferências⁹

A actividade total da CK da amostra deve ser determinada antes de realizar o doseamento da CK-MB. A quantidade de

anticorpo anti subunidade de CK-M humana no reagente CK-MB é suficiente para inibir completamente a actividade da CK-MM até 2000 U/L. Se a actividade total de CK ultrapassar 2000 U/L, a amostra requer diluição, uma vez que a inibição total da subunidade CK-M deixou de ser assegurada. Selecione o tratamento de amostras diluídas para reanálise automática (factor dez de pós-diluição). Se a actividade da CK total ultrapassar 20.000 U/L, dilua a amostra com solução salina a 0,9%, de forma a que a actividade total seja inferior a 2.000 U/L. Multiplique os resultados da amostra diluída pelo factor de diluição apropriado. O método CK-MB mede não só a CK-MB, mas também a CK-BB, a CK mitocondrial ou a CK-BB-IgG presente no soro dos pacientes. Estas últimas fontes de actividade da CK-B podem ser distinguidas por uma elevação persistente da CK-MB durante um período de tempo prolongado. A electroforese pode ser utilizada para confirmar isoenzimas CK atípicas.¹⁰

Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Soro, plasma

Icterícia	Sem interferência significativa até um índice I de 20 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada e não conjugada: 340 $\mu\text{mol/L}$ ou 20 mg/dL).
Hemólise	Nenhuma interferência significativa até a um índice H de 10 (concentração aproximada de hemoglobina: 6 $\mu\text{mol/L}$ (10 mg/dL).
Lipemia	Os níveis intralipídicos >500 mg/dL podem provocar alarmes relativos a absorvância elevada. Selecione o tratamento de amostras diluídas para reanálise automática.
Adenilato quinase	A adenilato quinase (AK) pode provocar uma interferência positiva. As fontes de AK no sangue são os eritrócitos, os músculos e o fígado. Para reduzir a interferência de AK a um mínimo, são incluídos no reagente AMP e Ap ₅ A. A mistura de AMP/Ap ₅ A causa uma inibição de 97% da AK dos eritrócitos e dos músculos, e uma inibição de 95% da AK hepática. ⁶ A ligeira actividade residual da AK não influencia o doseamento da CK total, mas pode afectar as actividade de CK-MB baixas.
Fármacos	Dos fármacos testados in vitro, a metildopa, a cefoxitina e o dobesilato de cálcio causam actividade de CK-MB artificialmente baixa nos níveis de fármaco testados. Consulte o Capítulo 1, <i>Introdução, Interferências de farmacoterapia</i> , 2. <i>Procedimento de teste</i> para obter uma lista dos fármacos testados e respectivas concentrações.
Outras	Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

3-500 U/L (0,05-8,35 $\mu\text{kat/L}$)

Intervalo de medição alargado (calculado):

Factor pós-diluição: 10 (recomendado)

3-5.000 U/L (0,05-83,5 $\mu\text{kat/L}$)

Limite de detecção inferior

3 U/L (0,05 $\mu\text{kat/L}$)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 30).

Valores de referência

Intervalo de referência (37°C) de acordo com Klein et al.¹¹

7-25 U/L (0,12-0,421 $\mu\text{kat/L}$)

Enfarte do miocárdio: Existe elevada probabilidade de lesão do miocárdio, quando se verificam as 3 condições seguintes:^{12,13}

1. CK_{homens} >190 U/L (3,12 $\mu\text{kat/L}$)
CK_{mulheres} >167 U/L (2,87 $\mu\text{kat/L}$)⁴
2. CK-MB >24 U/L (0,40 $\mu\text{kat/L}$)⁴
3. A actividade da CK-MB representa 6-25% da actividade total da CK.

Quando se suspeita de enfarte do miocárdio, devem ser seguidas, regra geral, as propostas estratégicas para diagnóstico constantes no documento de consenso dos cardiologistas europeus e americanos.¹⁴

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.

A eficiência máxima de diagnóstico da determinação da CK-MB irá ser obtida quando for utilizado um protocolo de colheita sequencial e for tido em consideração o padrão temporal da actividade ao longo de um período de 6 a 48 horas. Quando for utilizada apenas a actividade da CK-MB, a eficiência de diagnóstico será mais baixa e variará com o tempo de colheita.^{2,10} Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores de referência para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 20, inter-ensaio n = 20). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	20 U/L (0,33 $\mu\text{kat/L}$)	117 U/L (1,95 $\mu\text{kat/L}$)
CV intra-ensaio	1,5%	1,9%
CV inter-ensaio	2,8%	2,4%

Comparação dos métodos

Os valores de CK-MB para amostras de soro e plasma humanos obtidos no COBAS INTEGRA 700 com a cassette COBAS INTEGRA Creatine Kinase-MB (CKMBL) foram comparados com os valores determinados com reagentes CK-MB à venda no mercado no COBAS INTEGRA 700 (teste COBAS INTEGRA CKMB) e num sistema de química clínica de outro fabricante. As amostras foram medidas em duplicado. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

Os valores variaram entre 5 e 214 U/L (0,08 a 3,57 $\mu\text{kat/L}$).

INTEGRA 400/700/800

	Analizador COBAS INTEGRA 700	Sistema alternativo
Tamanho da amostra (n)	140	105
Coefficiente corr. (r)	0,998	0,992
Regressão linear	$y = 0,99x - 1$ U/L	$y = 0,83x + 4$ U/L
Passing/Bablok ¹⁵	$y = 0,99x - 1$ U/L	$y = 0,84x + 3$ U/L

Bibliografia

- Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem* 1980;26:1241-1250.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987:346-421.
- Hørdler M, Elser RC, Gerhardt W, Mathieu M, Sampson EJ. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase (ATP: creatine N-phosphotransferase, EC 2.7.3.2). *J Int Fed Clin Chem* 1989;1:130-139.
- Mathieu M, Bretauiere JP, Galteau MM, Giudollet J, Lalegerie P, Bailly M, et al. Recommendations for measuring the catalytic concentration of creatine kinase in human serum at 30°C. *Ann Biol Clin* 1982;40:138-149.
- Horder M, Magid E, Pitkänen E, Härkönen M, Strömme JH, Theodorsen L, et al. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood modified by the inclusion of EDTA. *Scand J Clin Lab Invest* 1979;39:1-5.
- Bergmeyer HU, Breuer H, Büttner H, Delbrück A, Laue D, Pilz W, et al. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der Creatin-Kinase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1977;15:249-254.
- Würzburg U, Hennrich N, Lang H. Bestimmung der Aktivität von Creatinkinase MB im Serum unter Verwendung inhibitorischer Antikörper. *Klin Wschr* 1976;54:357-360.
- Hørdler M, Elser RC, Gerhardt W, Mathieu M, Sampson EJ. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Provisional recommendation IFCC method for creatine kinase Appendix A. *J Int Fed Clin Chem* 1990;2:26-35.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474.
- Wu AHB, Bowers GN. Evaluation and comparison of immunoinhibition and immunoprecipitation methods for differentiating MB from BB and macro forms of creatine kinase isoenzymes in patients and healthy individuals. *Clin Chem* 1982;28:2017-2021.
- Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. *Clin Chem* 2001;47:Suppl. A30.
- Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarktes. *Med Welt* 1985;36:572-577.
- Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. *J Lab Med* 2005;29:301-308.
- Myocardial Infarction Redefined - A Consensus Document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-1513.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.
©2006 Roche Diagnostics.