

CKMB

CKMB | CKMB

Ref. 11.003.00 (KIT) /
11.003.00 (KIT COM CONTROL)

Responsável Técnico:
Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG - 5310
MS 80027310288

FINALIDADE

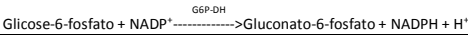
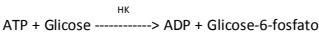
Kit destinado à determinação quantitativa da atividade enzimática da creatina quinase subunidade B (CK-MB) em soro. Uso em diagnóstico *in vitro*.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Manter ao abrigo da luz.
- Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo da embalagem.
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O método baseia-se na determinação da atividade da CK na presença de um anticorpo contra o monômero M. Este anticorpo inibe totalmente a isoenzima CK-MM e a metade da atividade da forma CK-MB, sem afetar o monômero B das isoenzimas CK-MB e CK-BB. Como normalmente a isoenzima CK-BB não encontra-se no sangue, a determinação da quantidade do monômero B é praticamente específica para a forma CK-MB. A concentração catalítica de CK-B, correspondente à metade da atividade CK-MB é determinada empregando-se as reações acopladas da hexoquinase (HK) e Glicose-6-fosfato desidrogenase (GGP-DH), a partir da velocidade de formação do NADPH, medido em 340 nm.



AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: Soro

Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.

Preservação: A creatino-quinase MB no soro é estável por 7 dias se conservada em temperatura de 4 a 8 °C, 8 horas de 20 a 25 °C e 4 semanas a -20°C. Não usar amostras hemolisadas.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

R 1

Tampão Imidazol ≥ 40 mmol/L, D-glicose ≥ 10 mmol/L, acetato de magnésio ≥ 10 mmol/L, NADP ≥ 1,5 mmol/L, N-acetil Cisteína ≥ 10 mmol/L, Anticorpo Monoclonal Anti-CKMM ≥ 2 mL/L, Hexoquinase ≥ 3.000 U/L, ativadores, conservante.

X 

R 2

Creatina-fosfato ≥ 50 mmol/L, ADP ≥ 2 mmol/L, Diadenosina-5-pentafosfato ≥ 10 μmol/L, AMP ≥ 10 mmol/L, Glicose-6-fosfato desidrogenase ≥ 2.500 U/L, estabilizantes, ativadores, conservante.

X

CONTROL

Solução Controle de CK-MB. Tampão fosfato ≥ 6 mmol/L, complexante, estabilizantes, conservantes, Extrato tissular de origem animal ≥ 40U/L. (INCLUSO NO KIT COM CONTROL)

X 

Rastreável à absorvidade molar específica do NADPH, utilizando pipetas calibradas e espectrofotômetro manual que fornecem valores absolutos.

ESTABILIDADE EM USO

- Após aberto, o produto (R1 e R2) em uso é estável até a validade impressa no rótulo, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- A estabilidade do reagente de trabalho é de 14 dias, desde que seguidas a condições de preparo e armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- **CONTROL:** Após reconstituído, o CONTROL é estável por 15 dias em temperatura de -20 °C, em frasco tipo *ependorf*.

- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de Trabalho (RT)

Misturar na proporção de: 4 partes de R1 + 1 parte de R2. Homogeneizar suavemente. Estável 14 dias de 2 a 8 °C.

CK - MB CONTROL

Liofilizado. Reconstituir com 1 mL de água purificada. Homogeneizar suavemente por inversão evitando a formação de espuma.

B) INTERVALO OPERACIONAL

O intervalo operacional do produto é de 7,14 U/L a 550 U/L.

Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

CONTROL DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do controle de CKMB disponibilizado no KIT COM CONTROL (APRESENTAÇÃO 1 e 3)

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Pipetar em tubo de ensaio:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Amostra | 40 μL |
| Reagente de trabalho | 1,0 mL |

2. Homogeneizar e inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C, zerado com água purificada em 340 nm. Acionar o cronômetro.
3. Aos 5 minutos, anotar a absorbância (A0) inicial e efetuar novas leituras após exatamente 1, 2 e 3 minutos (A1, A2 e A3) respectivamente.

B) CÁLCULOS

Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA/min):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)}{3}$$

A atividade de CK-MB na amostra é calculada pela multiplicação do ΔA/min, utilizando-se o seguinte fator:

$$\text{CKMB (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 8254$$

Exemplo:

A0 = 0,934 A1 = 0,965

A2 = 0,996 A3 = 1,027

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(0,965 - 0,934) + (0,996 - 0,965) + (1,027 - 0,996)}{3}$$

ΔA/min = 0,031 CKMB (U/L) = 0,031 x 8254 = 256 U/L

C) INTERPRETAÇÃO

O resultado determinado corresponde à atividade da isoenzima CKMB na amostra. De acordo com as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia, no decorrer de um infarto agudo do miocárdio ocorre a elevação de marcadores bioquímicos correspondentes ao dano. Estes marcadores são um conjunto de macromoléculas liberadas para a corrente sanguínea quando as células miocárdicas são danificadas, ocorrendo a perda da integridade da membrana dessas células e a difusão das suas enzimas no espaço intersticial, pelos vasos capilares e linfáticos. A creatinoquinase MB (CKMB) é um marcador tradicionalmente utilizado sendo útil na confirmação do diagnóstico e no auxílio prognóstico, em virtude de existir uma associação direta entre a elevação dos marcadores séricos e o risco de eventos cardíacos a curto e médio prazo.

INTERFERÊNCIAS OU LIMITAÇÕES

Anticoagulantes: Todos os anticoagulantes interferem na dosagem.

Hemólise, Ictericidade e Lipemia: Hemoglobina > 100 mg/dL / Bilirrubina > 35 mg/dL / Triglicérides > 500 mg/dL.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade: Limite de detecção: 1,81 U/L / Limite de quantificação: 7,14 U/L.

Especificidade Analítica: O produto determina especificamente CKMB na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.

Exatidão: O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão Y = 1,023 X + 0,769 e coeficiente de correlação r = 0,9938. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de 7,43% para um nível de 15U/L e 3,40% para um nível de 70U/L.

Precisão: Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

| Amostras (U/L) | Repetições | Precisão intra-corrida | | Precisão total | |
|----------------|------------|------------------------|-----|----------------|-----|
| | | SD | %CV | SD | %CV |
| 43,93 | 80 | 0,695 | 1,6 | 1,017 | 2,3 |
| 243,83 | 80 | 1,528 | 0,6 | 2,339 | 1,0 |
| 464,57 | 80 | 1,237 | 0,3 | 2,160 | 0,5 |

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

| | |
|--------------------|--------------------|
| Temperatura | 37 °C |
| ADULTOS | < 24 U/L |

Estes valores são unicamente para orientação sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI):

Creatino Quinase MB (U/L) x 0,017 = Creatino Quinase MB (μkat/L)

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 340 nm.
- Banho de água, termostatizado a 37 °C.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Relógio ou Cronômetro.
- Tubos de ensaio.

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotecnica.ind.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotecnicaltda.com.br

AUTOMAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores.

Os protocolos estão disponíveis em www.biotecnica.ind.br

ENGLISH

INTENDED USE

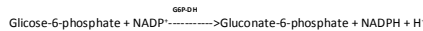
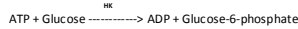
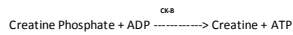
Kit intended to determination of Creatine Kinase MB (subunit B) enzymatic activity in serum. Diagnostic use only.

STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C.
- Protect from light.
- Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
- Do not use reagents whose date has expired.

WORKING PRINCIPLE

This method is based on the determination of the Creatine Kinase (CK) activity in presence of an antibody specific to the monomer M of CK. This antibody inhibits the isoenzyme CK-MM and half of the CK-MB activity of CK-MB, without affecting the monomer B isoenzyme CK-MB and CK-BB. As the CK-BB isoenzyme is not found in the blood normally, determining the amount of the monomer B is almost specific for CK-MB form. The catalytic concentration of CK-B matching the half of the CKMB activity is measured by the coupling reactions of Hexokinase and Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (GGP-DH), from the speed of the formation of NADPH at 340 nm





SAMPLE – PREPARATION AND STABILITY

Sample Type: Serum

Collection, handling and preparation: Make the collection of the sample in accordance with Good Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.

Preservation: The creatine kinase MB in serum is stable for 7 days if stored at a temperature of 4 to 8 °C, 8 hours at 20 to 25 °C, and 4 weeks at -20 °C. Do not use hemolyzed samples

PRODUCT DESCRIPTION

| | | |
|----------------|--|--|
| R 1 | Imidazole buffer ≥ 40 mmol/L, D-glicose ≥ 10mmol/L, magnesium acetate ≥ 10 mmol/L, NADP ≥ 1.5 mmol/L, N-Acetyl Cysteine ≥ 10 mmol/L, Monoclonal Antibody Anti-CKMM ≥ 2ml / L, Hexokinase ≥ 3,000 U / L, activators, preservative, Creatine phosphate ≥ 50 mmol/L, ADP ≥ 2mmol/L, Diadenosine-5-pentaphosphate ≥ 10 μmol/L, AMP ≥ 10 mmol/L, glucose 6-phosphate dehydrogenase ≥ 2,500 U / L, stabilizers, activators, preservatives, CK-MB Control Solution. Phosphate Buffer ≥ 6 mmol/L, complexing, stabilizers, preservatives, animal tissue extract > 40U / L. | X  |
| R 2 | | X |
| CONTROL | | X  |

Traceable to NADPH specific molar absorptivity, using calibrated pipettes and a manual spectrophotometer that provide absolute values.

STABILITY IN USE

- The stability of the product (R1 and R2) in use, it is stable until the expiration date printed on the label, as long as it follows the recommended storage conditions (2 to 8 °C)
- The stability of working reagent is 14 days, as long as followed by the conditions of preparation and recommended storage (2 to 8 °C).
- **CONTROL:** After reconstitution, CONTROL is stable for 15 days at a temperature of -20 °C, in an ependorf flask.
- Reagents must remain outside the specified temperature only the time required for testing

TECHNICAL PROCEDURE

A) REAGENT PREPARATION

Work Reagent (WR)

Mix in proportion: 4 parts of R1 + 1 part of R2.

Homogenize it gently. The Work Reagent is stable 14 days at 2 to 8 °C.

CKMB CONTROL

Lyophilized. Reconstitute with 1 mL of purified water. Homogenize gently by inversion avoiding the formation of foam.

B) OPERATING RANGE

The product operating range is from 7.14 U / L to 550 U / L. For higher values, dilute the sample with NaCl 150 mM (0.9%), repeat the assay and multiply the result by the dilution factor.

QUALITY CONTROL

Use of controls should be a routine practice in the lab. It is suggested to use a control within the reference range or decision level and another control with value in another range of clinical significance. For Laboratory Quality Internal Control is recommended the use of CK-MB control provided in the kit with CONTROL.

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE

1. Pipette into a test tube:

| | |
|------------------------|--------|
| Sample | 40 μL |
| Working Reagent | 1,0 mL |

2. Homogenize and insert into the thermostated cuvette holder at 37 °C, zeroed with purified water at 340 nm. Start the timer.
3. After 5 minutes, record the initial absorbance (A0) and make new readings after exactly 1, 2 and 3 minutes (A1, A2 and A3) respectively.

B) CALCULATIONS

Using the absorbance readings calculate the mean variation of absorbance per minute (ΔA / min):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)}{3}$$

CK-MB activity in the sample is calculated by multiplying $\Delta A/\text{min}$, using the following factor

$$\text{CK-MB (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 8254$$

Example:

$$A0 = 0,934 \quad A1 = 0,965$$

$$A2 = 0,996 \quad A3 = 1,027$$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(0,965 - 0,934) + (0,996 - 0,965) + (1,027 - 0,996)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,031 \quad \text{CKMB (U/L)} = 0,031 \times 8254 = 256 \text{ U/L}$$

C) INTERPRETATION

The given result corresponds to the activity of CK-MB isoenzyme in the sample. According to the Guidelines of the Brazilian Society of Cardiology, in the course of an acute myocardial infarction occurs the elevation of biochemical markers corresponding to the damage. These markers are a set of macromolecules released into the bloodstream when myocardial cells are damaged, occurring loss of membrane integrity of such cells and the dissemination of their enzymes in the interstitial space, through the capillaries and lymph vessels. The creatine kinase MB (CK-MB) is a marker traditionally used being useful in confirming the diagnosis and prognosis aid, because there is a direct association between elevated serum markers and the risk of cardiac events in the short and medium term.

INTERFERING AND LIMITATIONS

Anticoagulants: All anticoagulants may interfere in the reaction.

Hemolyzed, Jaundice and Lipemic Sera: Hemoglobin > 100 mg/dL, Bilirubin > 35 mg/dL, Triglyceride > 500 mg/dL.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: Detection limit: 1.81 U / L / quantification limit: 7.14 U / L.

Analytical Specificity: The product determines CKMB specifically in the presence of other interfering substances in the sample, up to the concentrations stated above

Accuracy: The method was compared with a similar method for the determination of 40 samples in duplicate. The regression equation obtained was $y = 1,023x + 0,769$ and the correlation coefficient $r = 0,9938$. Using this equation the total systematic error estimated is 7,43% to a level of 15U / L and 3,4% to a level of 70 U / L.

Precision: Determined using samples in 03 levels of decision, with two runs in duplicate per day during 20 days, being obtained.

| Sample (U/L) | Repetitions | Within-Run Precision | | Total Precision | |
|--------------|-------------|----------------------|-----|-----------------|-----|
| | | SD | %CV | SD | %CV |
| 43,93 | 80 | 0,695 | 1,6 | 1,017 | 2,3 |
| 243,83 | 80 | 1,528 | 0,6 | 2,339 | 1,0 |
| 464,57 | 80 | 1,237 | 0,3 | 2,160 | 0,5 |

% CV: Coefficient of variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

RESIDUAL RISK, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use Protective Equipment in accordance with Good Laboratory Practice.
- Do not mix reagents from different lots.
- Do not exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination.
- Do not use the reagent if it displays any sign in disagreement with the one specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents outside the specified storage conditions, when they are not in use.
- Use glass pipettes and disposable tips for each sample, control, standard / calibrator and reagent.
- The level of water in the thermostatic bath must be over the level of mix reaction within the assay tubes.
- The laboratory should establish chemical, microbiological and particulates requirements for the water prior to its use for each of its applications and must define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been set, the purification system must be validated and it is important to ensure that the resulting water continues to meet specifications by means of periodic checks.
- The cleaning and drying of the lab material are fundamental factors for the stability of the reagents and reaching correct results.

REFERENCE RANGES

| Temperature | 37 °C |
|-------------|----------|
| ADULTS | < 24 U/L |

These values are intended for orientation only. It's recommended that each lab establishes its own reference range.

Conversion for International System of Units (SI):

$$\text{CK-MB (U/L)} \times 0,017 = \text{CK-MB } (\mu\text{kat/L})$$

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or photometer with a thermostated cuvette able to read at 340 nm.
- Thermostatic water bath at 37°C.
- Glass Pipettes and/or automatic.
- Clock or chronometer.
- Assay tubes

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reactions surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infective material.
- The information for Disposing, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at www.biotechnica.ind.br or calling for 55-35-3214-4646

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

Before being approved for use BioTécnica reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiring date stated in the label of the external

packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product (batch printed on the labels of reagent bottles) or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: sac@biotechnicalda.com.br

AUTOMATION

This product is compatible to the most types of biochemical automatic analysers. The applications are available at www.biotechnicalda.ind.br

ESPAÑOL

FINALIDAD

Kit destinado a la determinación cuantitativa de la actividad enzimática de la isoenzima MB de Creatina Quinasa (CK-MB) en suero. Uso en diagnóstico in vitro.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Mantener al abrigo de la luz.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado. Estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método se basa en la determinación de la actividad de la CK en la presencia de un anticuerpo específico contra el monómero M. Este anticuerpo inhibe totalmente las subunidades CK-MM y la mitad de la actividad de la forma CK-MB, sin afectar el monómero B de las subunidades CK-MB y CK-BB. Como normalmente las subunidades CK-BB no se encuentran en la sangre, la determinación de la cantidad del monómero B es prácticamente específica para la forma CK-MB. La concentración catalítica de las subunidades B se determina empleando las reacciones acopladas de hexoquinasa (HK) y Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH), a partir de la velocidad de formación del NADPH, medido en 340 nm.

CK-B

Creatina Fosfato + ADP $\xrightarrow{\text{HK}}$ Creatina + ATP

HK

ATP + Glucosa $\xrightarrow{\text{G6P-DH}}$ ADP + Glucosa-6-fosfato

G6P-DH

Glucosa-6-fosfato + NADP $^{+}$ $\xrightarrow{\text{G6P-DH}}$ Gluconato-6-fosfato + NADPH + H $^{+}$

MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: Suero

Recolección, manipulación y preparación: Realizar la recolección de las muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Las muestras analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infectantes.

Conservación: La CK-MB en suero es estable por 7 días conservada en temperatura de 4 a 8 °C, 8 horas de 20 a 25 °C y 4 semanas a -20 °C. No utilizar muestras hemolizadas.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Tampón Imidazol \geq 40 mmol/L, D-glucosa \geq 10 mmol/L, acetato de magnesio \geq 10 mmol/L, NADP \geq 1,5 mmol/L, N-acetil Cisteína \geq 10 mmol/L, Anticuerpo Monoclonal Anti-CKMM \geq 2 mL/L, Hexoquinasa \geq 3.000 U/L, activadores, conservante.

Creatina-fosfato \geq 50 mmol/L, ADP \geq 2 mmol/L, Di-adenosina-5-pentafosfato \geq 10 μ mol/L, AMP \geq 10 mmol/L, Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa \geq 2.500 U/L, estabilizantes, activadores, conservante.

Solución Control de CK-MB. Tampón Fosfato \geq 6 mmol/L, complejo, estabilizadores, conservante. Extracto de tejido de origen animal \geq 40 U/L, (KIT COM CONTROL)

Rastreable a la capacidad de absorción molar específica de NADPH, utilizando pipetas calibradas y un espectrofotómetro manual que proporciona valores absolutos

ESTABILIDAD EN SUO

- Después de abierto, el producto (R1 y R2) en uso es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja, almacenado en las condiciones recomendadas (2 a 8°C).
- La estabilidad del Reactivo de Trabajo es de 14 días, respetando las condiciones de preparación y almacenamiento recomendadas (2 a 8°C).
- CONTROL:** Después de reconstituido es estable 15 días en temperatura de -20 °C, en tubo tipo *ependorf*.
- Los reactivos deben permanecer fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos.

INSTRUCCIONES PARA USO

A) PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo (RT)

Mezclar en la proporción de: 4 partes de R1 + 1 parte de R2. Homogeneizar suavemente. Estable 14 días de 2 a 8 °C

CK - MB CONTROL

Liofilizado. Reconstituir con 1 mL de agua purificada. Homogeneizar por inversión suave evitando la formación de espuma.

B) INTERVALO OPERACIONAL

El intervalo operacional del producto es de 7,14 U/L a 550 U/L.

Para valores superiores, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles debe ser práctica rutinaria en el laboratorio. Se sugiere usar un control en la faja de referencia o en el nivel de decisión y otro control con valor en otra faja de significado clínico. Para el Control Interno de Calidad recomendamos el uso del Control de CKMB que acompaña el kit COM CONTROL.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Pipetear en tubos de ensayo:

| | |
|---------|------------|
| Muestra | 40 μ L |
|---------|------------|

| | |
|---------------------|--------|
| Reactivo de trabajo | 1,0 mL |
|---------------------|--------|

2. Homogeneizar e inserir en el porta cubetas termostatzado a 37 °C, ajustando a cero el aparato con agua purificada en 340nm. Accionar el cronómetro.

3. A los 5 minutos, registrar la absorbancia (A0) inicial y efectuar nuevas lecturas después de exactamente 1, 2 y 3 minutos (A1, A2 y A3) respectivamente.

B) CÁLCULOS

Usando las lecturas de las absorbancias, calcular la media de variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)}{3}$$

La actividad de CK-MB en la muestra es calculada por la multiplicación del $\Delta A/\text{min}$, utilizándose el siguiente factor:

$$\text{CKMB (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 8254$$

Ejemplo:

$$A0 = 0,934 \quad A1 = 0,965$$

$$A2 = 0,996 \quad A3 = 1,027$$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(0,965 - 0,934) + (0,996 - 0,965) + (1,027 - 0,996)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,031 \quad \text{CKMB (U/L)} = 0,031 \times 8254 = 256 \text{ U/L}$$

C) INTERPRETACIÓN

El resultado determinado corresponde a la actividad de CK subunidad MB en la muestra. De acuerdo con las directrices de la Sociedad Brasileña de Cardiología, en el curso de un infarto agudo de miocardio acontece la elevación de los marcadores bioquímicos correspondientes a los daños. Estos marcadores son un conjunto de macromoléculas liberadas en el torrente sanguíneo cuando las células del miocardio se dañan, aconteciendo la pérdida de la integridad de la membrana de dichas células y la difusión de sus enzimas en el espacio intersticial, por los vasos capilares y linfáticos. La creatina quinasa MB (CK-MB) es un marcador utilizado tradicionalmente, es útil para confirmar el diagnóstico porque hay una asociación directa entre los marcadores séricos elevados y el riesgo de eventos cardíacos en el corto y medio plazo.

INTERFERENTES O LIMITACIONES

Anticoagulantes: Todos los anticoagulantes interfieren en el ensayo.

Hemólisis, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina > 100 mg/dL, Bilirrubina > 35 mg/dL, Triglicéridos > 500 mg/dL.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad: Límite de detección: 1,81 U/L / Límite de cuantificación: 7,14 U/L

Especificidad Analítica: El producto determina específicamente CKMB ante la presencia de otras sustancias interferentes en la muestra, hasta las concentraciones indicadas anteriormente.

Exactitud: El método fue comparado con otro similar determinando 40 muestras en duplicado.

Fue obtenida la ecuación de regresión $Y = 1,023X + 0,769$ con un coeficiente de correlación $r = 0,9938$. Utilizando esta ecuación el error sistemático total es de 7,43% para un nivel de 15U/L y de 3,40% para un nivel de 70U/L.

Precisión: Fue determinada utilizando muestras en 3 niveles de decisión, en dos determinaciones diarias en duplicado durante 20 días, con los siguientes resultados:

| Muestras (U/L) | Repeticiones | Precisión intra-corrida | | Precisión total | |
|----------------|--------------|-------------------------|-----|-----------------|-----|
| | | SD | %CV | SD | %CV |
| 43,93 | 80 | 0,695 | 1,6 | 1,017 | 2,3 |
| 243,83 | 80 | 1,528 | 0,6 | 2,339 | 1,0 |
| 464,57 | 80 | 1,237 | 0,3 | 2,160 | 0,5 |

%CV: Coeficiente de variación expresado en porcentaje; SD: Desviación Estándar

RIESGOS RESIDUALES, CUIDADOS E PRECAUCIONES

- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No cambiar las tapas de los frascos de los reactivos, a fin de evitar contaminación cruzada.
- No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la FISQP del producto.
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas, cuando los mismos no estén en uso.
- Usar pipetas de vidrio y punteras desechables específicas para cada muestra, control, patrón/calibrador y reactivo.
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.
- Cada laboratorio debe establecer requisitos químicos, microbiológicos y de partículas para el agua antes de su uso en cada una sus aplicaciones y definir las especificaciones o tipos de agua que atiendan sus requisitos. Una vez que la pureza requerida fue establecida, el sistema de purificación debe ser validado y es importante para asegurar que el agua resultante continúa atendiendo las especificaciones implementar controles periódicos.
- La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

INTERVALO DE REFERENCIA

| Temperatura | 37 °C |
|-------------|----------|
| ADULTOS | < 24 U/L |

Estos valores son únicamente para orientación siendo recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Conversión para Unidad del Sistema Internacional (SI):

$$\text{Creatina Quinasa MB (U/L)} \times 0,017 = \text{Creatina Quinasa MB } (\mu\text{kat/L})$$

MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 340 nm.
- Baño de agua, termostatzado a 37 °C.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas.
- Reloj o Cronómetro.
- Tubos de ensayo.

ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO

- Las informaciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (FISQP) de este producto, disponible en www.biotechnica.ind.br o por el teléfono +55 (35)-3214-4646.
- Desear las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).

GARANTIA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos Biotécnica son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el envase, desde que almacenados y transportados en las condiciones especificadas. Los datos relativos al Control de Calidad de este producto (lote impreso en las etiquetas de los frascos de reactivos) o cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el e mail sac@biotechnicalda.com.br

AUTOMACIÓN

Este procedimiento es automatizado en la mayoría de los analizadores.




Los protocolos están disponibles en www.biotechnica.ind.br.

APRESENTAÇÕES / PRESENTATIONS / PRESENTACIONES

| | | | | |
|--------------------------------|----|-----------|----------|-----------------|
| 1 – CKMB – C (kit com CONTROL) | R1 | 1 x 20 mL | Σ | 25 (1 mL) |
| | R2 | 1 x 5 mL | | 25 (40 μ L) |
| 2 – CKMB (kit) | R1 | 1 x 20 mL | Σ | 25 (1 mL) |
| | R2 | 1 x 5 mL | | |
| 3 – CKMB – C (kit com CONTROL) | R1 | 1 x 40 mL | Σ | 50 (1 mL) |
| | R2 | 1 x 10 mL | | 25 (40 μ L) |
| 4 – CKMB (kit) | R1 | 1 x 40 mL | Σ | 50 (1 mL) |
| | R2 | 1 x 10 mL | | |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretrizes Sobre Angina Instável e Infarto Agudo do Miocárdio Diretrizes de Prevenção de Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.** v.102, supl. 1, 2014.
- SCHUMANN, G. et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentrations of Creatine Kinase. **Clin Chem Lab Med** , v. 40(6), p. 635-642, 2002.
- MYOCARDIAL INFARCTION REDEFINED – A Consensus Document of the Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. **Eur Heart J** , v. 21, p. 1502-1513, 2000.
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. Tietz textbook of clinical chemistry, 4 ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1994. 836p.
- YOUNG, D. S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACF Press, 2000.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. **Clin. Chem.** v.27 p.493-501, 1981.

| TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES | | | |
|--|---|--|--|
| REF | Código Code Código | Σ | Conteúdo suficiente para <=> testes Content insufficient for <=>tests Contenido suficiente para <=>ensayos |
| LOT | Número de lote Batchcode Denominação de lote |  | Límite de temperatura Temperature limitation Temperatura limite |
| IVD | Para uso diagnóstico in vitro For in vitro diagnostic medical device Para uso em diagnóstico in vitro |  | Data limite de utilização (último dia do mês) Use by (last day of the month) Estable hasta (último día del mes) |
|  | Risco biológico Biological risk Risco biológico | \times | Nocivo / Irritante Harmful / Irritant Nocivo / Irritante' |
| R <=> | Reagente e seu número/abreviação Reagent and its number/abbreviation Reactivo y su número/abreviación | CONTROL | Controle Control Control |