



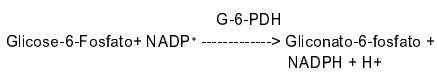
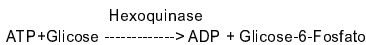
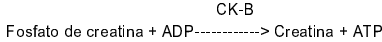
## QUIMIMB - CKMB Imunoinibição

### Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de Creatinaquinase fração MB em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### Princípio:

O anticorpo específico inibe as subunidades M da CK-MM (CK-3) e a única subunidade M da CK-MB (CK-2), o que permite a medição da subunidade B da CK-MB (supondo a ausência de CK-BB ou CK-1). A concentração catalítica de CK-B, que corresponde a metade da atividade do CK-MB, se determina utilizando reações acopladas a hexoquinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6P-DH), a partir da velocidade de formação da NADPH, medido a 340nm



### Metodologia:

Imunoinibição

### Significado Clínico:

Tal como a CPK total, também a isoenzima CK-MB aumenta nas primeiras horas após o início do infarto. O pico da elevação da CK-MB pode ocorrer um pouco antes do pico da CPK total. A CK-MB pode manter-se elevada até o 3º dia e, eventualmente, até mais tempo. As determinações da CPK e CK-MB podem ajudar também a reconhecer mais precocemente o reinfarto ou para avaliar a dimensão do infarto.

No diagnóstico do infarto do miocárdio, não é só a dosagem da atividade da CK-MB que tem importância decisiva, mas também a porcentagem desta atividade dentro da atividade total da CPK. Normalmente a atividade da CK-MB está abaixo de 5 U/L e a porcentagem de CK-MB dentro do total de atividade da CPK está abaixo de 3%. Existe suspeita de infarto do miocárdio quando a CPK se eleva a mais de 160 U/L e a atividade de CK-MB ultrapassa 5% da atividade total da CPK no soro.

### Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Anti-Humano CK-M capaz de inibir 2000L de CK-M, Imidazol 125mmol/L, EDTA 2 mmol/L, Acetato de magnésio 12,5 mmol/L, D-glucosa 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6800 U/L, NADP 2,4mmol/L.

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Fosfato de creatina- 250 mmol/L, ADP- 15,2 mmol/L, AMP- 5mM, NADP- 2mM, N-Acetilcisteína- 20 mM, AMP 25 mmol/L, P5-di (adenosina-5')- pentaosfato 103 umol/L, glicose-6-fosfato desidrogenase 8800 U/L.

Soro Controle: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: soro controle preparado com base de soro humano e formado com isoenzimas CKMM e CKMB.

- Verificar a concentração no rótulo do frasco. O valor de CKMB é rastreável ao material de referência ERM-AD455/IFCC (IRMM). A rastreabilidade só pode ser garantida se forem utilizados reagentes da EBRAM e procedimentos de medição recomendados.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### MODO DE PREPARO - REAGENTE DE TRABALHO

Para alguns analisadores é necessário preparar o Reagente de Trabalho (verifique o protocolo do analisador): Preparar 4 partes do reagente 1 para 1 parte do reagente 2. Ex.: 4mL de R1 + 1mL de R2. O reagente após o preparo é estável até 15 dias quando armazenado a 2 - 8°C ao abrigo da luz.

### MODO DE PREPARO - SORO CONTROLE

1. Golpear o frasco levemente com os dedos para desprender o material liofilizado.
  2. Utilizando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar exatamente 1,0 ml de água destilada no frasco.
  3. Recolocar a tampa no frasco e deixar em repouso na temperatura ambiente por 30min.
  4. Antes de utilizar, inverte suavemente o frasco de 5 a 10 vezes até o liofilizado dissolver totalmente.
- Após reconstituição, o controle possui estabilidade de 07 (sete) dias se armazenado entre 2 - 8°C.

### Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 0,400 quando medido em 340 nm (cuveta de 1cm), ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

### Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Consumíveis do analisador quando usado.
4. Medidor de tempo.

### Amostra:

O CK-MB no soro é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

### Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

### Interferências:

Bilirrubina > 20 mg/dL, Lipemia > 1,25 g/L e hemoglobina > 2,5 g/L, as concentrações acima do normal de CK-BB ou de adelinol quinase, e de macro-CK ou CK mitocondrial podem interferir no resultado. Algumas drogas e substâncias podem afetar a concentração do CK-MB, sugerimos consultar Young et al.

### Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 340 nm.  
Tipo de Reação: Cinético  
Direção: Crescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:25  
Vol. Amostra: 40 µL  
Vol. Reagente: 1,0 mL (800µL R1 + 200µL R2)  
Tempo de Incubação: 5 minutos (retardo)  
Intervalo de leitura: 1 minuto  
Número de Intervalos: 2 - 3

### Calibração:

A calibração deste ensaio é efetuada através de fatoração, obtida através da absorção média milimolar do NADH a 340 nm (6.22) sob condições específicas. Os resultados das amostras estão baseadas na variação de absorvância por minuto, portanto todos os parâmetros devem ser conhecidos e controlados.

### Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: Em um tubo de ensaio acrescentar 1,00mL do reagente de trabalho, adicionar 40 µL de amostra/soro controle. Ler imediatamente no equipamento, preparar também um tubo contendo pelo menos 0,5 mL do reagente de trabalho (os equipamentos no início do procedimento, solicitam que seja introduzido o reagente para verificação da absorvância do reagente), seguir protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema. Pode-se utilizar o fator de calibração enunciado para o procedimento manual, pequenos ajustes podem ser necessários.

### Procedimento Manual:

1. Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do Reagente 2 + 4 partes do Reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2). Reagente assim preparado permanece estável por 15 dias a 2 - 8°C.
  2. Colocar 1,00mL do reagente de trabalho no tubo referente ao soro controle.
  3. Zerar o espectrofotômetro a 340 nm com água destilada.
  4. Cuidadosamente, adicionar 40µL do soro controle/amostra no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.
  5. Registrar as absorvâncias A1, A2, A3, quando completar 5, 6 e 7 minutos respectivamente.
  6. Determinar a média das diferenças de absorvância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com todas as amostras.
- Nota: Realizar a incubação das amostras e soro controle individualmente.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos:

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = \frac{(A2-A1) + (A3-A2)}{2}$$

CKMB Amostra U/L = Média Δ Abs/min x Fator  
Fator = 8360

### Exemplo:

$$A1 = 0,006 / A2 = 0,008 / A3 = 0,010$$

Fator = 8360

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = (0,008 - 0,006) + (0,010 - 0,008)$$

2

Média Δ Abs/min = 0,002

CKMB Amostra = Média Δ Abs/min x 8360

CKMB Amostra = 0,002 x 8360

CKMB Amostra = 17 U/L

Obs: nkat/L = U/L x 16,67

### Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 U/L. Amostras com valores superiores a 1000 U/L devem ser diluídas com água destilada a ponto de ficarem entre 3 - 1000 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

### Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso do soro controle CKMB que acompanha o KIT.

### Valores Esperados:

0 - 25 U/L, baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

Entretanto é preferível empregar o limite do índice de CK-MB de 6% da concentração do CK total.

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	45
Intervalo dos resultados	20 - 105 (U/L)
Coefficiente de Correlação:	0,999
Inclinação:	0,98
Intercepta:	-0,932 (U/L)

### Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis sendo que cada amostra fora processada por 20 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=20	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	45,	129
C.V. (%)	2,8	3,2

### Exatidão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis sendo que cada amostra fora processada por 25 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=25	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	45	129
C.V. (%)	3,5	3,2

### Sensibilidade Metodológica:

3,0 U/L

### Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Observações:

1. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.
2. - As concentrações descritas no rótulo do soro controle deve ser utilizada como referência inicial. O laboratório deve determinar a média e o intervalo de concentração utilizando seu sistema analítico, uma vez que podem ser encontradas diferenças decorrentes dos instrumentos e das imprecisões dos procedimentos de medição.
- O valor médio e o intervalo de concentração encontrado pelo laboratório pode ser utilizado para controle interno da qualidade do ensaio. Como limite máximo de controle, recomendamos utilizar o valor da média ± 2 ou 3 vezes o desvio padrão obtido no laboratório. Alternativamente, pode-se utilizar as especificações desejáveis para imprecisão derivadas da variação biológica.

### Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1= 4x10mL + R2= 2x5mL + S.C=1x1,0mL  
Linha Hitachi 917/ADV: R1= 1x60mL + R2= 1x15mL + S.C=1x1,0mL  
Linha Bulk: R1= 1x200mL + R2= 1x50mL + S.C=1x1,0mL  
Linha SAT: R1= 2 x 36mL + R2= 1 x 18mL + S.C=1x1,0mL  
Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

### Referência Bibliográfica:

1. Tietz Textbook of Clinic Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
2. Young, D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. AACC press Washington, D.C. (1997).
3. Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S-SR1
Calibration Mode:	FACTOR
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	NO
Wavelength:	340nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name
Post Dil Factor: 5.00	Conc. Factor: NO
Sample:	Circle: 2
Volume:	Dil: 10ul
Reagent:	Circle: 1
Volume:	180ul
Start Reagent 1:	Circle: 1
Volume:	Dil: 0.0ul
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.000
Offset:	0.000
Test Range Low:	3
High:	1000
Norm Range Low:	0
High:	25
Number of Slats:	1
Calculation Step A:	EMPOINT
Readings First:	14
Last:	22
Reaction Limit:	NO
Point:	
Calib Interval:	
<b>CALIBRATION ON REQUEST</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: -0.0200
High: NO	High: 0.0020
Factor:	4470
Calibrator Pos:	
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	
Deviation:	
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS2 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS3 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	

(\*) colocar a posição correspondente do controle do Rack CAL/CS  
 (\*\*) colocar o valor correspondente do soro controle  
 (\*\*\*) Utilizar o produto na forma Bireagente

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: CKMB	Test: CKMB			
Test Bar Code:				
Test Type: KINETIC	Curve Type: ENZYME LINEAR			
Unit: U/L	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 340nm	Secondary Wavelength: 380nm			
Read Time Interval: 300	Sample Blank: NO			
Factor: 8752				
Calibration Interval: (*)				
Normalization Interval: (*)				
Nº of Calibrators: 1	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: -0.100	High Blank A Limit: 0.800			
Low A Limit: -0.100	High A Limit: 2.400			
Low Normal: 0	High Normal: 25			
Linearity Limit: 1000	Curve S.D. Limit: 10.0			
Test Name: CKMB	Test: CKMB			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 13ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	280	YJ2A	-	300 sec
Reagent 3				
Reagent 4				
<b>Controls:</b>				
Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)				
(*) Introduzido pelo operador (1 - 999)				

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda.  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451

Nº do Reg. MS: 10159820194  
 Edição: Junho/2018

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	CKMB
Abbr Name:	CKMB
Mode:	KINETIC
Wavelength:	340 nm
Unit:	U/L
Decimals:	0
Low Conc:	0.000
High Conc:	1000
Calibrator Name:	
Repeat Number:	
Concentration:	
Interval:	
Cut off:	
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	(*)
Ref Male High:	(*)
Ref Female Low:	(*)
Ref Female High:	(*)
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	
Control 2:	
Control 3:	
Comelat Factor:	1.000
Comelat Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	CKMB
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25mL
Normal Volume:	240ul
Re-run Volume:	249ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	12ul
Re-run Volume:	3ul
R2 Bottle:	5 mL
Normal Volume:	0 ul
Re-run Volume:	0 ul
Predilution:	NO
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	288, 230
Linearity Limit:	15.0%
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES(**)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	8752 (***)
<b>MONO MODE</b>	
Name:	CKMB
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25mL
Normal Volume:	240ul
Re-run Volume:	249ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	12 ul
Re-run Volume:	3 ul
Delay Min Time:	288, 293
Linearity Limit:	15.0%
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES(#)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	8752 (***)

(\*) Dados colocados pelo usuário  
 (\*\*) Calculado pelo equipamento  
 (\*\*\*) Pode ser necessário efetuar pequeno ajuste no fator.  
 (#) Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	CKMB
Point Final:	U/L
Unit:	CINETICA
Mode Letum:	340nm
Filter:	
Factor:	6752
Tempo de Incubação:	300
Tempo de Intervalo:	60
Nº de Intervalos:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amostral:	0400
Tipo Reação:	CRESCENTE
Estandart:	

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	CIN
Letum:	
Filter:	340 nm
Temperatura:	37°C
Volume Amo:	0500
Unit:	U/L
Linea Lin:	1000 U/L
Inclinação:	CRESCENTE
Cálculo:	FATOR
Ponto:	
Factor:	6752
Delay Inicial:	300
Quant Interv:	3
Tempo Interv:	60
Tempo Estab:	

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	CIN
WL1:	340
Blank:	
Bk Area Pad:	
Temp:	37°C
Vol Asncr:	0400
Rei:	300
Fac:	6752
Ponto:	
Paq:	
Unit:	U/L
Dec:	0
Int Cln:	180
nº Int:	3
dAMIN:	0.250
%Lim Lin:	10
Dir:	INCR
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	0.00 / 1.00
Abs Pad - Min/Max:	
Vol/n - Min/Max:	0000 / 0025

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	CKMB
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ZERO ORDER
Bic Type:	
Immune Chemistry:	NO
% Sample Volume:	24 (12ul)
Wavelength:	340nm
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	NO
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Deviation Limit:	
Delay Time:	6:15
Blank Type:	
Incubate:	3:15
% Reagent Volume:	60 (300 ul)
2nd Reagent:	
2nd Reagent Volume:	0 (No)
R2 Delay:	
Unit:	3 (U/L)
Unit Factor:	1
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.0000
RBL High:	1.0000
Range Low:	0.0
Range High:	1000
Calibration Factor:	5090
Reagent Rate:	0.000
Standard Value:	
Normal Low:	0
Normal High:	25
Slope:	1
Intercept:	0
C1*10E-6:	
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delta R:	
Linear Factor:	2.80
Final Limit:	0.0400
Endoin Limit:	

(\*) Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)  
 (\*\*)

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit: U/L	Decimals: 0	Reaction Type: KINETIC
Volume (ul):	Serum: 20	Plasma: 20
	Reagent 1: 400	Reagent 2: -
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 1000
Linearity Limit:	1000	Reagent Blanking: NO
Contaminating:	NO	Differential: NO
Filter 1:	340	Filter 2: NONE
Time (sec):	Mix 1: 0.00	Incubation 1: 300
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0
		Measure: 250
Measurement Type: FACTOR		Factor: 6667
Normal Range:		
Age (yrs)	Min.	Max.
Below 10:	0.00	0.00
From 10 to 80:	0.00	25.00
Over:	0.00	0.00

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)