CK-NAC

MÉTODO:
Cinético UV.

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da creatina quinase no soro ou plasma heparinizado em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A creatina quinase (CK) é uma enzima que catalisa a transferência de um grupo fosfato da creatina-fosfato para a adenosina difosfato (ADP), gerando adenosina trifosfato (ATP). A CK é um dímero constituído por duas subunidades diferentes chamadas de M e B, formando três isoenzimas diferentes: a forma encontrada principalmente no cérebro e músculo liso (CK-BB), no músculo esquelético (CK-MM) e músculo cardíaco (CK-MB). A determinação de CK é útil no diagnóstico e monitoramento de infarto do miocárdio e miopatias.

FUNDAMENTO:
O método cinético UV é de acordo com o International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). A CK perde a função rapidamente pela oxidação de grupos sulfidrilas em seu sítio ativo e a presença de N-acetilcisteína reverte essa degradação. A interferência da adenilato ciclase é inibida pela diadenosina-pentafosfato. No ensaio, a CK transfere um grupo fosfato da fosfocreatina para o ADP formando ATP. O ATP serve de doador do grupo fosfato à glicose pela ação da hexoquinase (HK), formando glicose-6-fosfato que é transformada em 6-fosfogluconolactona pela glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH). Essa última reação reduz $NADP^+$ em NADPH medido fotometricamente e sua concentração é proporcional à atividade de CK presente na amostra.

$$Fosfocreatina + ADP \xrightarrow{CK} Creatina + ATP$$

$$ATP + D\text{-}glicose + H^+ \xrightarrow{HK} ADP + Glicose\text{-}6\text{-}fosfato$$

$$Glicose\text{-}6\text{-}fosfato + NADP^+ \xrightarrow{G6PDH} 6\text{-}fosfoglucono\text{-}\delta\text{-}lactona + NADPH + H^+$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Imidazol, pH 6,7	110	mmol/L
Glicose	≥21	mmol/L
Acetato de magnésio	≥11	mmol/L
EDTA	≥2,0	mmol/L
NADP	≥2,0	mmol/L
N-Acetilcisteína	≥24	mmol/L
Hexoquinase	≥2,0	U/L
Estabilizantes e conservantes	<10	g/L
R2:		
Tampão Tris, pH 9,1	50	mmol/L
ADP	≥2,0	mmol/L
AMP	≥6,0	mmol/L
Diadenosinapentafosfato	≥12	µmol/L
G6PDH	≥1,0	U/L
Fosfocreatina	186	g/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 5 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados em temperatura entre 2 e 8 °C.
O Reagente de trabalho é estável por 10 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 50 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 31 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da creatina quinase na amostra é de até 7 dias entre 2 e 8 °C, 1 dia entre 20 e 25 °C e 1 mês a -20 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	50 mg/dL
Bilirrubina	40 mg/dL
Hemoglobina	250 mg/dL
Triglicérides	1500 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 340 nm
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Cinética crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Marcar 3 tubos ou cubetas como Branco, Padrão e Amostra e proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	40 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	40 µL	---
Amostra	---	---	40 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicione:			
R2	200 µL	200 µL	200 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 2 minutos a 37 °C
3- Ler a absorbância inicial a 340 nm contra o branco (Abs0) acionando o cronômetro simultaneamente
4- Ler novamente a absorbância após 1, 2 e 3 minutos, respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
Para avaliar a linearidade da reação, observar se as diferenças de absorbância a cada minuto são equivalentes. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔAbs/min):

$$\Delta Abs/min = \frac{(Abs1 - Abs0) + (Abs2 - Abs1) + (Abs3 - Abs2)}{3}$$

$$\text{Atividade da CK (U/L)} = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:

Padrão:	Amostra:
A0 = 0,315	A0 = 0,346
A1 = 0,342	A1 = 0,364
A2 = 0,375	A2 = 0,381
A3 = 0,399	A3 = 0,398

$$\frac{(0,342 - 0,315) + (0,375 - 0,342) + (0,399 - 0,375)}{} = 0,028$$

CK-NAC

$$\Delta Abs/min_{Padrão} = \frac{}{3}$$

$$\Delta Abs/min_{Amostra} = \frac{(0{,}364 - 0{,}346) + (0{,}381 - 0{,}364) + (0{,}398 - 0{,}381)}{3} = 0{,}017$$

Padrão = 190 U/L

Atividade da CK (U/L) = $\frac{0{,}017}{0{,}028} \times 190 =$ **115 U/L**

E-Cálculo com fator:
O fator calculado baseado no coeficiente de extinção molar e pode ser aplicado:

CK, 37 °C, 340 nm	8095 × ΔAbs/min

VALORES DE REFERÊNCIA:

	Masculino		Femenino	
0 a 90 dias	28 – 300 U/L	(0,47 – 5,01 µkat/L)	42 – 470 U/L	(0,70 – 7,85 µkat/L)
3 a 12 meses	24 – 170 U/L	(0,40 – 2,84 µkat/L)	26 – 240 U/L	(0,43 – 4,00 µkat/L)
13 a 24 meses	27 – 160 U/L	(0,45 – 2,67 µkat/L)	24 – 175 U/L	(0,40 – 2,92 µkat/L)
2 a 10 anos	30 – 150 U/L	(0,50 – 2,50 µkat/L)	24 – 175 U/L	(0,40 – 2,92 µkat/L)
11 a 14 anos	30 – 150 U/L	(0,50 – 2,50 µkat/L)	30 – 170 U/L	(0,50 – 2,84 µkat/L)
15 a 18 anos	33 – 145 U/L	(0,55 – 2,42 µkat/L)	27 – 140 U/L	(0,45 – 2,34 µkat/L)
Adultos	38 – 174 U/L	(0,63 – 2,90 µkat/L)	26 – 140 U/L	(0,43 – 2,32 µkat/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L × 0,0167 = µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 1000 U/L (16,7 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 15 U/L (0,25 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	150,4	1,503	1,00
Amostra 2	321,4	1,752	0,55
Amostra 3	504,7	2,056	0,41

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	149,0	3,193	2,14
Amostra 2	324,3	6,332	1,95
Amostra 3	508,6	8,649	1,70

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 84 amostras comparando-se o reagente CK-NAC (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 1{,}018x + 0{,}257$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9980

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO R1	CONTEÚDO R2
CK-NAC (Universal)	VYT010307177EN	120 mL	5 x 20 mL	2 x 10 mL
CK-NAC (BM SERIES I)	VYT010308642EN	96 mL	2 x 40 mL	2 x 8 mL
CK-NAC (BM SERIES III)	VYT010307384EN	120 mL	2 x 50 mL	2 x 10 mL

ANVISA: 81692610179

BIBLIOGRAFIA:

1. IFCC Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase. Clin Chem Lab Med, 40 (6): 635-642; 2002.
2. Recommendations of the German society for Clinical chemistry. J Clin Chem Biochem 15: 255 -260; 1977.
3. Guder WG et al. List of Analytes Preanalytical Variables. In: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd Ed. 2003.
4. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
5. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ; Medical Economics Books, 1987.
6. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
8. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
9. Oliver I.T. Biochem J Lab Clin Chem. Med 1967.
10. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
11. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
12. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Data de Fabricação
	Data de Validade
	Limite de Temperatura
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro