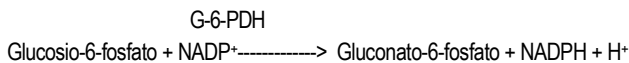
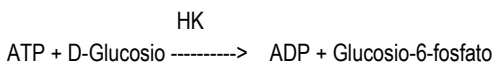
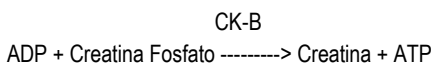


Determinazione quantitativa dell'attività della frazione MB del CK (Creatina Kinasi - MB) nel siero o plasma.
Metodo di immuno-inibizione con cinetica in UV ottimizzato DGKC/IFCC.

REF CC1160 R1:3x20 mL + R2: 1x15 mL **REF CC1162** R1:3x40 mL+ R2: 1x30mL

PRINCIPIO DEL METODO

La Creatina Kinasi (CK) è un enzima presente soprattutto nelle cellule muscolari ed è composto da due sub unità (B ed M) che formano gli isomeri CK-MM, CK-BB e CK-MB. Utilizzando un anticorpo specifico (monoclonale) per la frazione M è possibile inibire la frazione CK-MM (la gran parte del CK) e la sub-unità CK-M del CK-MB. Data la scarsa presenza in circolo del CK-BB (specificamente cerebrale), solo la frazione CK-B rimane attiva (corrispondente alla metà del CK-MB) che viene determinata secondo il seguente schema di reazione:



La velocità di formazione del NADPH, misurabile fotometricamente a 340 nm, è direttamente proporzionale all'attività catalitica della CK-B nel campione in esame.

SIGNIFICATO CLINICO

La principale applicazione medica dei dosaggi della CK-MB è negli adulti per la diagnosi di infarto miocardico acuto (IMA) o per la differenziazione di danno miocardico da danni muscolo scheletrici. La creatina chinasi MB è considerata uno dei migliori indicatori di laboratorio di IMA. La determinazione del CK-MB nel dopo infarto è critica poiché l'intervallo utile ("finestra") va da circa 10 a 24 ore dopo l'infarto. La rilevazione è importante nel determinare il grado e la gravità della lesione cardiaca e l'efficacia del trattamento.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

Tampone Imidazolo, pH 6,7	100 mmol/L
Glucosio	20 mmol/L
NAC (N-Acetil-Cisteina)	20 mmol/L
Magnesio Acetato	10 mmol/L
NADP	2,5 mmol/L
Hesokinase (HK)	≥ 4 KU/L
EDTA-Na2	2 mmol/L
Anticorpo monoclonale anti CK-M	2500 U/L

Reagente R2:

Creatina Fosfato	30 mmol/L
AMP	5 mmol/L
ADP	2 mmol/L
Di-Adenosin-Penta-Fosfato	10 μmol/L
G6P-DH	≥ 1,5 KU/L

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione batterica, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Per la procedura Campione Starter, preparare una Soluzione di Lavoro miscelando 4 parti di R1 ed 1 parte di R2 (per esempio 20 mL di R1 + 5 mL di R2). Stabilità: 1 gg a 15-25° C, 15 giorni a 2-8°C.

Per la Procedura Reagente Starter, i reagenti R1 ed R2 sono pronti all'uso e stabili fino alla data di scadenza riportata in etichetta se si evitano contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione

CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina o EDTA. Non utilizzare campioni emolisiati.

Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile.

L'enzima nel siero è stabile per 2 giorni a 20-25° C, 7 giorni a 2-8°C, e 1 mese a -20°C. Congelare i campioni solo una volta.

Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	340 nm
Temperatura:	37°C
Misura:	contro acqua distillata

Procedimento come Monoreagente (Campione Starter).

Pipettare come segue:

Soluzione Lavoro	1000 μL
Campione /Calibratore	40 μL

Miscelare, attendere 5 minuti e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs 1) e le Abs dopo 1, 2, 3, 4 e 5 minuti esatti. Calcolare i Δ Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

Procedimento come bi-reagente (Reagente Starter).

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 μL
Campione /Calibratore	40 μL

Miscelare, attendere 3 minuti, quindi aggiungere:

Reagente R2	200 μL
-------------	--------

Miscelare, attendere 2 minuti e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs 1) e le Abs dopo 1, 2, 3, 4 e 5 minuti esatti. Calcolare i Δ Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

CALCOLO

Fattore di Calcolo (lettura a 340 nm in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

$$CK-MB (U/L) = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times 8255$$

Calibratore Multiparametrico:

Ricavare il Fattore di Calcolo dall'uso di un Calibratore Multiparametrico
Concentrazione Calibratore

Fattore Calcolo= -----

Media Δ Abs/minuto Calibratore

$$CK-MB (U/L) = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times \text{Fattore Calcolo}$$

Fattore di conversione: U/L x 0,0167 = μ Kat/L = μ mol/sec/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

I sieri di controllo normali e patologici contenenti quantità note, devono essere analizzati regolarmente con ciascun gruppo di campioni sconosciuti.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Potenzialmente si è in presenza di infarto del miocardio al verificarsi delle seguenti 3 condizioni:

1. CK Uomo > 190 U/L oppure CK Donne > 167 U/L
2. CK-MB > 24 U/L
3. Attività del CK-MB tra il 6 ed il 25% dell'attività del CK Totale.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 26; D.S. = 0,70; CV = 2,61%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 106; D.S. = 1,03; CV = 0,97%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1,00 x + 2,07 \text{ con } r = 1,0$$

SENSIBILITA': 2 U/L

LINEARITA': 2 – 200 U/L

INTERFERENZA E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza di nei campioni di acido ascorbico fino a 30 mg/dL, bilirubina fino a 20 mg/dL, emoglobina fino a 25 mg/dL e trigliceridi fino a 900 mg/dL.

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si

consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio

PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Enzyme Commission. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15 : 255 (1977).
Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. AACCC (Press 2000).
Gerhardt and Waldenstrom, G. Clin. Chem. 25 : 1274 (1976).
German Society for Clinical Chemistry: Recommendations of the..., 2000.
Lang, H and Würzburg, U. Clin. Chem. 28 : 1439 (1982).