

CK - MB

Metodo immunoinibizione (Cinetico UV)

Kit per la determinazione quantitativa della frazione CK-MB nel siero e plasma.

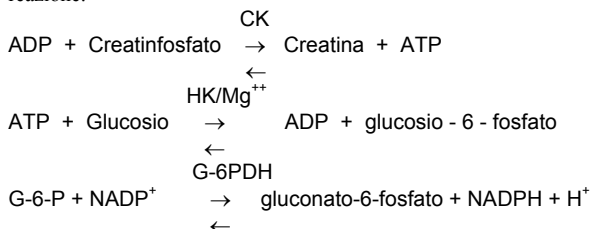


IVD Per uso diagnostico in vitro

REF 0082 - 10x 3mL

PRINCIPIO:

Questa procedura è rivolta alla misurazione dell'attività del CK in presenza di un anticorpo quale il CK-M monomero. Il campione viene incubato nel Reagente (A) il quale contiene gli anticorpi anti-CK-M. Questo anticorpo inibisce completamente l'attività del CK-MM e metà dell'attività del CK-MB, mentre non influisce sull'attività della sotto unità B del CK-MB e del CK-BB. Usiamo quindi il metodo CK-NAC per la determinazione quantitativa dell'attività della CK-B non inibita usando la seguente reazione:



L'attività del CK-MB si ottiene moltiplicando l'attività del CK-B per 2.

CAMPIONE:

Siero, plasma non emolizzati.

Note: Una leggera emolisi, fino a 200mg/dL di Hb non interferisce sul risultato. Gli anticoagulanti come Eparina o EDTA possono essere usati. La CK nel siero o plasma è stabile per 48 ore a +15/25°C., 7 giorni a +2/8°C., e 4 settimane in congelatore a -20°C.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

REATTIVI:

Reattivo (A) CK-MB Liquido-Vol. = 62mL	Anticorpi Anti CK-M, per inibire CK-MM fino a:	2000U/L
Reattivo (B) CK-MB Liofilo per 3mL	Tampone di Good	30mmol/L
	D-Glucosio	20mmol/L
	N-Acetil-L-cisteina	20mmol/L
	Magnesio acetato	10mmol/L
	EDTA e NADP	2mmol/L
	HK-Esochinasi	≥3500U/L
	Creatina fosfato	30mmol/L
	ADP	2mmol/L
	AMP	5mmol/L
	Diadenosina pentafosfato	10µmol/L
G-6-PDH	≥2000U/L	

CONFEZIONE: Conservazione e stabilità

Conservare a +2/8°C. Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Dopo l'apertura e il prelievo del reattivo, si consiglia di richiudere immediatamente il flacone al fine di evitare contaminazione batterica, luce diretta ed evaporazione.

PRECAUZIONI / SIMBOLI DI PERICOLOSITA':

Non pipettare con la bocca.

Il preparato, secondo la normativa vigente, è classificato: non pericoloso. La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti, stabilizzanti) è inferiore ai limiti richiesti per la citazione. Maneggiare tuttavia il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio, evitando l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le mucose. Tutti i campioni devono essere trattati come materiale potenzialmente infetto da HIV o Epatite.

PREPARAZIONE E STABILITA' DEL REATTIVO DI LAVORO:

Portare i reattivi a T.A. (+15/25°C.) prima dell'uso.
I Reattivi ricostituiti si presentano limpidi e incolore.
Aggiungere 3mL di Reattivo (A) in un flaconcino di Reattivo(B).
Stabilità del Reattivo (A+B) 1 giorno a T.A. o 3 giorni in frigo.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI:

Strumentazione e attrezzatura generale da laboratorio.

PROCEDIMENTO:

Lunghezza d'onda: 340nm Temperatura: +30/37°C.
Cammino ottico: 1 cm Reazione: Cinetica in incremento
Lettura: Contro acqua distillata

Pipettare nelle cuvette:

	CAMPIONE	
Reattivo(A+B)	1000	µL
Campione	50	µL

Azzerare lo strumento con acqua distillata.

Agitare, trasferire in cuvetta e dopo incubazione di 5' a +37°C (T.0''); leggere l'incremento d'estinzione del campione al tempo 0'' e dopo 60/120/180''. Calcolare il ΔE/min. 340nm.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

Per l'utilizzo con analizzatori, consultare le applicazioni specifiche.

CALCOLO:

1) Attività CK totale:

Utilizzare uno dei kit CK-NAC (REF.4055/4069/4060/4054/4052)

2) Attività CK-B:

Attività CK-B (U/L) = ΔE/min Campione x 3376

3) Attività CK-MB:

Attività CK-MB (U/L) = Attività CK-B (U/L) x 2

4) Percentuale dell'attività CK-MB nel campione:

Attività CK-MB (U/L)
 $\% \text{CK-MB} = \frac{\text{Attività CK-MB (U/L)}}{\text{Attività CK totale}} \times 100$

VALORI DI RIFERIMENTO:

	30°C.	37°C.
	0 - 14 U/L	0 - 25 U/L
I seguenti parametri sono indicatori di necrosi del muscolo cardiaco.		
CK Totale:	30°C.	37°C.
Uomini	>131U/L	>196U/L
Donne	>111U/L	>171U/L
CK-MB:	>15U/L	>25U/L

%CK-MB:

6-25

I valori sopra riportati devono essere considerati indicativi, in quanto si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica, secondo il protocollo IFCC. Strenuante attività fisica produce un aumento del valore della CK.

SMALTIMENTO RIFIUTI:

Il prodotto dev'essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

CONTROLLO DI QUALITA':

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del Kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

BIBLIOGRAFIA:

Morison I.M., et al. Clin. Chem., 34, 535, (1988).

Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44, 686, (1986).

PRESTAZIONI DEL METODO: (ANALIZZATORE COBAS MIRA)

I risultati delle prestazioni dipendono dall'analizzatore usato.

INTERVALLO DI MISURA:	3 - 600 U/L
LIMITE MINIMO MISURABILE:	3 U/L
SENSIBILITA'	1 U/L = 0.00015ΔE/min.

PRECISIONE NELLA SERIE: n=20

LIVELLO MEDIO	M= 5.2U/L	C.V.=2.9%
LIVELLO ALTO	M= 13U/L	C.V.=2.4%

PRECISIONE TRA LE SERIE: n=20

LIVELLO MEDIO	M= 5.0U/L	C.V.=4.0%
LIVELLO ALTO	M= 13.5U/L	C.V.=5.1%
INT.ANALIZZATO	5-37U/L	
CORRELAZIONE	r = 0.9950	n=30
REGRESSIONE LIN.	Y = 1.0183x + 0.308	n=30

INTERFERENZE: (IN ACCORDO RACCOMANDAZIONI SFBC)

Interferenze trascurabili fino a:

Acido ascorbico	40mg/dL	Trigliceridi	1200mg/dL
Emoglobina	500mg/dL	Glucosio	600mg/dL
IgG	5gr/dL		

LIMITI DEL METODO:

Per concentrazioni superiori a 1200 U/L di CK totale e di 400mg/dL per il Colesterolo totale, effettuare l'analisi di CK-MB su campione diluito 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

Il colesterolo superiore a 400mg/dL porta una sottostima dei risultati di circa il 10%. Per una completa valutazione delle sostanze interferenti vedi Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975). Il metodo rivela la presenza dell'isoenzima CK-BB. L'attività di questo isoenzima è normalmente trascurabile, tuttavia se nel campione è presente una quantità significativa di CK-BB, l'attività di CK-MB risulterà sovrastimata.

E' stata osservata l'esistenza di una macroforma BB (Immunoglobuline complesstate) che viene misurata come forma B dell'enzima. Se l'attività CK-B è maggiore del 20% rispetto all'attività della CK totale è da sospettare la presenza di una macroforma BB.