

Kit per la determinazione del CK MB nel siero
Metodo UV con immunoinibizione della frazione M - IFCC
PRINCIPIO

Un anticorpo è incorporato nel reagente del CK. Questo anticorpo si lega con la sub-unità M del CK MB inibendola. Ciò significa che nel siero in esame verrà misurato solo l'attività della sub-unità B. Moltiplicando per un fattore 2 questa attività, si ottiene l'attività della CK MB nel siero.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone imidazolo pH 7.20 100.0 mmol/l; magnesio acetato 10.0 mmol/l; anticorpo CK-M

R2 N-Acetilcisteina 20.0 mmol/l; ADP 2.0 mmol/l; AMP 5.0 mmol/l; NADP 2.0 mmol/l; Glucosio 20.0 mmol/l; diadenosine 5 fosfato 10.0 µmol/l; EDTA 2.0 mmol/l; creatin fosfato 29.0 mmol/l; HK ≥ 3500 U/l; G6P-DH ≥ 2000 U/l;

R3 Siero di controllo. Sciogliere con acqua distillata con il quantitativo riportato in etichetta.

CAMPIONI

- Siero non emolizzato

NOTE

- I campioni devono essere analizzati immediatamente o conservati, protetti dalla luce e dall'aria, per 2 giorni a 2-8°C o 1 mese a -20°C.
 - Non utilizzare campioni emolizzati poiché l'emolisi può aumentare la concentrazione del CK-MB a causa del rilascio di adelinatochinasi.
 - Il metodo misura anche CK-BB isoenzimi presenti nel siero singolarmente o con immunoglobuline (macro-CK). L'attività degli isoenzimi è irrilevante. Tuttavia, se è presente una significativa attività di CK-BB l'attività del CK-MB potrebbe essere sovrastimata.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero(U/l)	37°C
CK uomo	< 190 U/l
CK donna	< 170 U/l
CK MB	< 25 U/l

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto di un flacone **R2** con 3 ml di tampone **R1**.

Aspettare circa 15 minuti prima dell'utilizzo.

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiederli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C.

- I reattivi, se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

- Stabilità del reattivo ricostituito: 3 giorni a 2-8°C - 24 ore a 15-25°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.

- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.

- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.

- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È 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.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: il reattivo R1 contiene Sodio Azide (0.095%) come conservante.

Sodio azide può reagire con rame e piombo formando composti esplosivi.

Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

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

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ: 340 nm
 Temperatura di lavoro 37°C
 Cammino ottico 1 cm
 Tipo di reazione cinetica" (in incremento)

Portare i reattivi a 15 -25°C prima del loro utilizzo.

REATTIVO DI LAVORO	STD	CAMPIONE
200 µl	200 µl	200 µl
CAMPIONE	--	10 µl

Agitare ed incubare per 5'. Leggere i valori di estinzione a tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare il ΔE/min.

CALCOLO

$$CK-B (U/l) = \Delta/min \times 3.376$$

$$CK-MB = CK-B \times 2 \text{ oppure } CK-MB = \Delta/min \times 6752$$

$$\% CK-MB = \frac{CK-MB}{Total - CK} \times 100$$

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

I seguenti dati sono stato ottenuti utilizzando lo strumento COBAS MIRA (37°C).

Interferenze

La bilirubina non coniugata non interferisce con il test sino alla concentrazione di 206 µmol/l.

La bilirubina coniugata non interferisce con il test sino alla concentrazione di 102 µmol/l.

La torbidità non interferisce sino alla concentrazione di 6 g/l.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 600 U/l. Campioni superiori a 600 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 20 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA	L = 27 U/l	N = 77 U/l	H = 202 U/l
C.V.%	3.1 %	2.2 %	1.2 %

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 80 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA	L = 24 U/l	N = 72 U/l	H = 199 U/l
C.V.%	6.9 %	2.8 %	2.1 %

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 4 U/l.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 49 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.99**

BIBLIOGRAFIA

Henderson, A.R., Donald W.M., Enzymes, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th Ed. Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA) (2001), 352
 Sanhai, W.R., Christenson, R.H., Cardiac and muscle disease, Clinical Chemistry; Theory, Analysis, Correlation, 4th Ed. Kaplan, L.A. Pesce, A.J. Kazmierczak, S.C.(Mosby Inc. eds St. Louis USA) (2003), 566 and Appendix.
 Schumann, G. et al. Clin. Chem. Lab. Med. (2002), 40, 635

SIMBOLOGIA

 Consultare istruzioni per l'uso

 Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)

 Limiti temperatura di conservazione

 Dispositivo medico-diagnostico in vitro

 **Fabbricante**

Kit for measurement of CK MB in serum UV method with immunoinhibition of M fraction - IFCC

PRINCIPLE

An antibody is incorporated in the CK reagent. This antibody will bind to and inhibit the activity of the M subunit of CK-MB. This means that only the activity of the B subunit in serum is measured. If this activity is multiplied by a factor of 2, it will give the activity of CK-MB in serum.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

- R1** Imidazole buffer pH 7.20 100 mmol/l; magnesium acetate 10 mmol/l; antibody CK-M;
- R2** N- Acetyl-L-Cysteine 20.0 mmol/l; ADP 2.0 mmol/l; AMP 5.0 mmol/l; NADP 2.0 mmol/l; D-Glucose 20.0 mmol/l; diadenosine 5 phosphate 10.0 µmol/l; EDTA 2.0 mmol/l; creatine phosphate 29.0 mmol/l; HK ≤ 3500 U/l; G6P-DH 2000 U/l;
- R3** Control serum. Add water as reported in the label.

SAMPLE

- Serum not hemolysed.

NOTE

- Sample must be analyzed immediately or stored, protected from air and light, for 2 days at 2-8°C or 1 months at -20°C.
- Do not use hemolysed samples because hemolysis may increase CK-MB concentration due to adenylate kinase release.
- The method also measure CK-BB isoenzyme present in serum alone or complexed with immunoglobulins (macro-CK). The activity of the isoenzymes is negligible. However, if a significant amount of CK-BB activity is present the CK-MB activity will be overestimated.

REFERENCE VALUES

Serum (U/l)	37°C
CK man	< 190 U/l
CK woman	< 170 U/l
CK MB	< 25 U/l

Reference values are considered indicative since each laboratory should establish reference ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of a **R2** vial with 3 ml of **R1** buffer.
 Wait about 15 minutes before use.
 Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C.
- Reagents, if stored at 2-8°C and protected from light are stable up to expiry date on the label.
- Reconstituted reagent stability: 3 days at 2-8°C – 24 hours at 15-25°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: reagent R1 contains Sodium Azide (0.095%) as preservative. Sodium azide can react with copper and lead plumbing to form explosive compounds. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength	λ: 340 nm
Working temperature	37°C
Optical path	1 cm
Reaction	"kinetic" (increasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

WORKING REAGENT	STD	SAMPLE
200 µl	200 µl	200 µl
SAMPLE	--	10 µl

Mix, then incubate for 5'. Read absorbance values every minute during 3 minutes. Calculate ΔE/min.

CALCULATION

$$\begin{aligned} \text{CK-B (U/l)} &= \Delta/\text{min} \times 3.376 \\ \text{CK-MB} &= \text{CK-B} \times 2 \text{ or } \text{CK-MB} = \Delta/\text{min} \times 6752 \\ \% \text{ CK-MB} &= \frac{\text{CK-MB}}{\text{Total - CK}} \times 100 \end{aligned}$$

ANALYTICAL PERFORMANCES

The following data were obtained using COBAS MIRA analyser (37°C).

Interferences

Unconjugated bilirubin does not interfere up to concentration of 206 µmol/l.
 Conjugated bilirubin does not interfere up to concentration of 102 µmol/l.
 Turbidity do not interfere up to concentration of 6 g/l.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 600 U/l. Samples with values exceeding 600 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 20 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

MEAN	L = 27 U/l	N = 77 U/l	H = 202 U/l
C.V.%	3.1 %	2.2 %	1.2 %

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 80 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

MEAN	L = 24 U/l	N = 72 U/l	H = 199 U/l
C.V.%	6.9 %	2.8 %	2.1 %

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 4 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.99**

BIBLIOGRAPHY

Henderson, A.R., Donald W.M., Enzymes, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th Ed. Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA) (2001), 352
 Sanhai, W.R., Christenson, R.H., Cardiac and muscle disease, Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, 4th Ed. Kaplan, L.A. Pesce, A.J. Kazmierczak, S.C. (Mosby Inc. eds St. Louis USA) (2003), 566 and Appendix.
 Schumann, G. et al. Clin. Chem. Lab. Med. (2002), 40, 635

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer