

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	7 giorni a 2-8°C
Range di misurazione	:	Fino a 1000 U/L
Tipo di campione	:	Siero
Metodo	:	Cinetica
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume del tampone specificato.

IVD

USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro di CK-MB (CK-2) nel siero umano.

IMPORTANZA CLINICA^{1,2}

Creatina chinasi (ATP: La creatina N-fosfo transferasi, EC2.7.3.2) è un enzima dimerico composto da due tipi di sub-unità monomeriche, M (muscolare) e B (cervello). Le sub-unità si combinano per formare tre diversi isoenzimi CK, CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) e CK-MM (CK-3). CK-MM è la forma predominante di CK nei muscoli scheletrici. Il CK-BB si trova nel cervello. Il CK-MB si trova in concentrazioni elevate nel miocardio (tra il 14 e il 42%) e in minor quantità nei muscoli scheletrici. In assenza di malattie, l'attività di CK nel siero è principalmente dovuta all'isoforma di CK-MM.

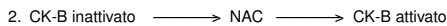
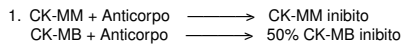
Danni al miocardio, quali si verificano in caso di infarto acuto del miocardio (AMI), causano un aumento del livello dell'isoforma CK-MB. Tipicamente, i livelli di CK-MB diventano elevati da 4 a 6 ore dopo il verificarsi del dolore al petto, raggiungendo il picco dopo 12-24 ore e tornando alla normalità in 48 ore. In caso si sospetti l'AMI, si consiglia di determinare il CK-MB all'atto dell'accettazione e dopo 6, 12 e 24 ore.

METODOLOGIA

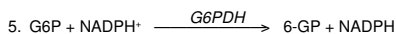
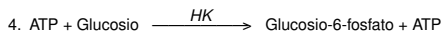
Sono disponibili numerosi metodi per la separazione e la quantificazione di CK-MB nell'elettroforesi e nella immunoinibizione. I metodi di immunoinibizione hanno il vantaggio di poter essere automatizzati in modo semplice.

Il metodo Thermo Scientific CK-MB utilizza il principio dell'immunoinibizione. Il reagente contiene una miscela di anticorpi monoclonali del monomero CK-M e pertanto inibisce completamente l'attività di CK-MM e metà dell'attività di CK-MB. L'attività della sub-unità di monomero B non inibita di CK-MB si misura per ottenere la metà dell'attività di CK-MB. Il metodo si basa sul presupposto che l'attività dell'isoenzima CK-BB nel siero sia essenzialmente pari a zero.

In questo metodo, a un reagente CK-NAC modificato contenente l'anticorpo anti M viene aggiunto del siero. Durante l'incubazione iniziale avvengono le seguenti reazioni:-



L'attività di CK-B viene determinata utilizzando la seguente sequenza di reazioni:-



L'adenilato chinasi (Miochinasi) è inibita da AMP e P¹P⁵-diAP



Abbreviazioni:

ADP	=	Adenosina-5'-difosfato
ATP	=	Adenosina-5'-trifosfato
HK	=	Esochinasi
G-6-P	=	Glucosio-6-fosfato
NADP ⁺	=	Nicotinamide Adenina Dinucleotide Fosfato
G-6-PDH	=	Glucosio-6-fosfato deidrogenasi
6-PG	=	6-fosfogluconato
NADPH	=	NADP ridotta
AMP	=	Adenosina-5'-monofosfato
AK	=	Adenilato chinasi
P ¹ P ⁵ -diAP	=	P ¹ P ⁵ -Di(adenosina-5'-)pentafosfato

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingrédients attivi	Concentrazione
Miscela di anticorpi CK monoclonali sufficiente a inibire fino a 2000 U/L di CK-M a 37°C.	
Imidazolo Acetato	100 mmol/L
AMP	5 mmol/L
NADP	2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10 mmol/L
EDTA	2 mmol/L
Acetato magnesio	10 mmol/L
ADP	2 mmol/L
D-Glucosio	20 mmol/L
NAC	20 mmol/L
Creatina fosfato	30 mmol/L
Esochinasi (lievito)	>3000 U/L
G-6-PDH (Leuconostoc)	>2000 U/L

Contiene anche stabilizzanti e sostanze aggiunte non reattive.

SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

EC REP	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
IVD	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
LOT	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
REF	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		
REAG A	Reagente A	REAG B	Reagente B

pH 7,00 ± 0,2 a 20°C

AVVERTENZA: Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Smaltire con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del reagente CK-MB Isoenzima. La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida. Manipolare eventuali fiale di vetro rotte con cautela, in quanto i bordi taglienti possono ferire l'utilizzatore.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Ricostituire il reagente A con il volume del tampone, del reagente B, indicato sull'etichetta del flacone. Miscelare fino a dissolverlo.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Prima dell'uso:

Se conservato in frigorifero a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla bottiglia e sull'etichetta della scatola del kit.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 7 giorni.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità.
- Assorbanza >0,7 a 340 nm (1cm); e/o
- Mancato recupero dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI^{3,4}

Raccolta: in caso di sospetta AMI, si consiglia di effettuare un prelievo di sangue per la valutazione di CK-MB all'atto dell'accettazione e dopo 6, 12 e 24 ore. Il numero minimo assoluto di campioni è di 2, ottenuti dopo 12 e 24 ore dal verificarsi dei sintomi.

Siero: Utilizzare siero non emolizzato.

Plasma: non consigliato. Eparina, EDTA, fluoruro e citrato inibiscono l'attività di CK.

Conservazione: il CK è stabile per 1 giorno a 4°C. La stabilità può variare a seconda del siero in funzione della distribuzione dell'isoenzima e dallo stato della base acida del paziente. Per una conservazione più lunga, congelare a -20°C.

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Se necessario, pipette per il dosaggio accurato dei volumi misurati.
- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 340 nm.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale

PROCEDURA DI ANALISI

PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	30°/37°C
Lunghezza d'onda	340 nm (334, 365 nm)
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 20
ad es. Vol. campione	10 µL
Vol. reagente	200 µL
Ritardo	300 secondi
Tempo di lettura	300 secondi
Limiti Blank del Reagente	Bassi 0,0 UA
(340nm, 1cm percorso della luce)	Alti 0,7 UA
Linearità	Fino a 1000 U/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	
Sensibilità Analitica	0,15 ΔmA/min per U/L
(340nm, 1cm percorso della luce)	

CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

Attività in U/L = ΔAbs/min x Fattore

$$\text{Fattore} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}} \times 2$$

Dove:	TV	=	Volume di reazione totale in mL
	SV	=	Volume campione in mL
	6,3	=	coefficiente di assorbanza millimolare di NADH a 340 nm (Vedere nota 4).
	P	=	Lunghezza di percorso della cuvetta in cm.
	2	=	Moltiplicando il valore di CK-B per 2 si ottiene una stima dell'attività di CK-MB.

Percentuale di CK-MB:

$$\% \text{ CK-MB attività} = \frac{\text{CK-MB U/L}}{\text{Totale CK U/L}} \times 100$$

Esempio: Totale CK = 350 U/L
CK-MB = 53 U/L

$$\% \text{ Attività CK-MB} = \frac{53 \text{ U/L}}{350 \text{ U/L}} \times 100$$

$$\% \text{ Attività CK-MB} = 15\%$$

NOTA

- I volumi di reagente e campione possono essere variati in proporzione per adattarsi ai diversi requisiti dello spettrofotometro
- Il valore totale di CK andrebbe determinato prima utilizzando il reagente CK Thermo Scientific IFCC a singola fiala o il reagente CK IFCC a 2 fiale. Se la variazione dell'assorbanza è maggiore di 0,55/min, ripetere l'analisi con siero diluito. Tuttavia, la frazione di volume del siero nel sistema di reazioni di CK è critica. Cambiamenti della frazione di volume, come in caso di prediluizione del campione, non producono variazioni stoichiometriche nella velocità di reazione. Se è necessaria la diluizione, si consigliano 150 mmol/L di NaCl. A una diluizione di 1:2 è possibile un aumento evidente di CK fino al 10%.^{5,6} In alternativa, è possibile utilizzare per la diluizione una riserva di siero libero di CK. Il siero libero di CK può essere prodotto riscaldando il siero a 56 °C per due ore.
- La validità dei risultati dipenderà da una accurata calibratura degli strumenti, la distribuzione dei tempi e il controllo della temperatura.
- Il coefficiente di assorbanza millimolare per NADH a 334 nm = 6,18 e a 365 nm = 3,40.
- Conversione unità: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L

CALIBRAZIONE

Non necessaria. La velocità di reazione è convertita a U/L di attività mediante un fattore di calcolo. Fare riferimento alla sezione di calcolo di questo inserto.

CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire un controllo qualità adeguato si consiglia di effettuare un controllo normale e anormale con valori analizzati come campioni sconosciuti:

- Almeno una volta al giorno oppure secondo quanto stabilito dal laboratorio.
 - Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
 - In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.
- I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo.
- In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:-
- Ripetere gli stessi controlli.
 - Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
 - Se i risultati del materiale appena controllato continuano a non rientrare nei limiti, ripetere il test con reagente appena preparato.
 - Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

LIMITAZIONI

- Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina e lipemia su un analizzatore automatico di chimica clinica. I risultati ottenuti sono come segue:
Emoglobina: Evitare campioni emolizzati per minimizzare l'interferenza dell'adenilato chinasi e altre reazioni intermedie quali ATP e G-6-P.⁷
Bilirubina: Nessuna interferenza da bilirubina fino a 340 μmol/L (20 mg/dL).
Lipemia: Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi, fino a 2,4 mmol/L (210 mg/dL).
- Il CK-BB, se presente nel siero, è un fattore che potenzialmente può interferire con questo sistema di analisi. Studi condotti hanno dimostrato che CK-BB è presente solo raramente nel siero.⁸
- Inoltre, è stato provato che isoenzimi atipici di CK interferiscono con questo sistema di analisi. Una forma, un complesso di CK-BB e immunoglobulina G (Macro CK tipo 1) si trova con maggior frequenza nelle donne anziane. La presenza di CK atipici non incide sul valore del sistema di analisi in quanto il profilo dell'enzima nel corso del tempo è costante. In caso di sospetta AMI, i valori di CK-MB aumenteranno e torneranno ai livelli normali in 48 ore.⁶
- Young DS ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e delle sostanze in grado di interferire con questo saggio.⁹

VALORI PREVISTI^{10,11}

Totale CK	A 37°C	Maschi	<200 U/L	Femmine	<180 U/L
	A 30°C	Maschi	<130 U/L	Femmine	<113 U/L
CK-MB	A 37°C		<25 U/L		
	A 30°C		<16 U/L		

CK-MB% Un rapporto di CK-MB compreso tra 6 e 25% si verifica in caso di infarto acuto del miocardio (vedere Limitazione 3).

I valori indicati sono rappresentativi dell'intervallo previsto per questo metodo e hanno scopo indicativo di guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente CK-MB su un analizzatore chimico clinico automatico.

IMPRECISIONE

L'imprecisione è stata valutata utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.¹²

Nel ciclo	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di punti dati	80	80
Media (U/L)	37	156
SD (U/L)	1,7	2,5
CV (%)	4,6	1,6
Tra giorni	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di punti dati	80	80
Media (U/L)	37	156
SD (U/L)	1,3	3,3
CV (%)	3,4	2,1

CONFRONTO DI METODO

Sono stati condotti degli studi utilizzando come riferimento un reagente simile reperibile sul mercato. I campioni di siero sono stati analizzati in parallelo e i risultati confrontati con regressioni al minimo quadrato. Le statistiche ottenute sono come segue:

Numero di coppie di campioni	66
Intervallo risultati campione	4 - 227 U/L
Media risultati metodo di rif.	45 U/L
Media dei risultati di CK-MB	44 U/L
Pendenza	0,96
Intercepta	1,5 U/L
Coefficiente di correlazione	0,999

RANGE DI MISURAZIONE

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 1000 U/L.

SPECIFICITÀ

Gli studi di inibizione effettuati indicano che il reagente isoenzima CK-MB inibisce in modo efficace oltre il 99% dell'attività CK-MM in un campione con 2000 U/L di CK-MM.


SENSIBILITÀ ANALITICA

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità di quest'analisi è 0,15 ΔmA/min per U/L.

RIFERIMENTI

- Bremmer FW. Cardiac disease and hypertension in "Clinical chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987.
- Chapman JF, Woodard LL and Silverman LM. Creatine kinase isoenzymes in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987.
- Bremer WF. Cardiac Disease and Hypertension in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation." Kaplan L and Pesce A (Ed) CV Mosby company, 1987;28:500-501.
- Harder M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme JH et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1976; 36:711-23.
- Stein W. CK-MB methods and clinical significance. Proceedings of the CK-MB symposium, Philadelphia, 1981; 61-74.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 805.
- Mattenheimer H. CK-MB methods and clinical significance. Proceedings of the CK-MB symposium, Philadelphia, 1981; 51-59.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third edition, 1990; 3: 120-22.
- Bais R, et al. Pathology 1988; 20:367-72.
- Henderson AR et al. Clin Chem. 1992; 38/7:1365-1370.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK

840350 (R1)

REF

Dati per nuovi ordini

N° Catalogo.	REAG A	REAG B
TR14314	20 x 5 mL	1 x 100 mL
TL14301 (iLab 600)	20 x 20 mL	1 x 400 mL