

N Latex Myoglobin

Intended Use

In vitro diagnostic reagents for quantitative determination of myoglobin in human serum or heparinized and EDTA plasma by means of particle-enhanced immunonephelometry using the BN[®] Systems.

Summary and Explanation

Myoglobin is a heme-containing protein found primarily in the cells of striated muscle (skeletal muscle) as well as in cardiac muscle. When these muscles are damaged, myoglobin is released and appears in the blood. If cardiac muscle is damaged through, for example, inadequate perfusion following occlusion of a coronary artery (acute myocardial infarction), enzymes and other proteins are released into the vascular system due to the disruption of membrane function. Transported by the lymph, myoglobin appears in high concentrations in the peripheral blood 2 to 3 hours after symptom onset and thus reaches pathological levels 3 to 4 hours before the rise in myocardial markers such as CK-MB or troponin. Peak levels of myoglobin are reached after 6 to 9 hours while those of the aforementioned proteins do not reach peak values until after about 1 to 2 days. The steep increase in serum myoglobin concentration is followed by a rapid fall due to renal elimination so that, in cases without complications, the values measured about 24 hours after the infarct can have returned to within the normal range. Acute myocardial infarction can be ruled out with high probability if myoglobin levels in the patient blood are not found to be elevated 2 to 3 hours after symptom onset and if this is confirmed by a second determination approximately 5 hours later (1, 2). For suspected cases of acute myocardial infarction, the use of an early marker such as myoglobin is recommended as a diagnostic aid (1). Successful myocardial reperfusion by thrombolytic therapy will lead within approximately 90 minutes to a further release of cardiac proteins into the circulation (1). Elevations in blood myoglobin concentrations unrelated to myocardial infarction can occur, for example, after muscle trauma, resuscitation, myopathies, shock, strenuous exercise or in renal insufficiency involving decreased elimination. Extreme concentrations occur in rhabdomyolysis (3).

Principle of the Method

Polystyrene particles coated with specific antibodies to human myoglobin are aggregated when mixed with samples containing myoglobin; these aggregates scatter a beam of light passed through the mixture. The intensity of the scattered light is proportional to the concentration of the relevant protein in the sample. The result is evaluated by comparison with a standard of known concentration.

Reagents

Materials provided

N Latex Myoglobin, Code No. OWIA

N Myoglobin Reagent, 3 vials for 2.0 mL

N Myoglobin Standard (human), 3 vials for 1.0 mL

N Myoglobin Control (human), 3 vials for 0.5 mL

N Myoglobin Supplementary Reagent A, 3 vials of 0.5 mL

N Myoglobin Supplementary Reagent B, 1 vial of 1.6 mL

Composition and Standardization

N Myoglobin Reagent consists of lyophilized polystyrene particles coated with rabbit anti-human myoglobin antibodies.

N Myoglobin Standard consists of lyophilized, pooled human sera supplemented with human myoglobin. The myoglobin concentration for the reconstituted standard is given on the vial label.

N Myoglobin Control consists of lyophilized, pooled human sera supplemented with human myoglobin. The myoglobin concentration for the reconstituted control is given on the vial label.

The concentration of N Myoglobin Standard and N Myoglobin Control was calibrated with reference to highly purified human myoglobin (internal reference preparation of Dade Behring Marburg GmbH).

N Myoglobin Supplementary Reagent A consists of a buffered rabbit serum solution.

N Myoglobin Supplementary Reagent B consists of a detergent solution.

Preservatives: N Myoglobin Reagent after reconstitution: Gentamicin 6.25 mg/L, Amphotericin 0.625 mg/L

N Myoglobin Standard and

N Myoglobin Control after reconstitution: Gentamicin 100 mg/L, Amphotericin 1.25 mg/L

N Myoglobin Supplementary Reagents: Sodium azide <1g/L.

Warnings and Precautions

- For *in vitro* diagnostic use.
- Reagents containing sodium azide must be handled with due caution: Do not ingest or allow to contact skin or mucous membranes! Sodium azide can form explosive azides when contacting heavy metals such as copper or lead.
- Each individual blood donation for use in manufacture of N Myoglobin Reagent, N Myoglobin Standard or N Myoglobin Control was tested for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 and anti-HIV2 by FDA-required testing. Only donations with negative findings are used for manufacture. Nevertheless, since absence of infectious agents cannot be proven, all samples (e.g. patient sera and plasma) and products (e.g. standard and control sera) obtained from human blood should always be handled with due care, observing the precautions recommended for biohazardous material (4).

Preparation of the Reagents

N Myoglobin Reagent: Dissolve the lyophilized contents of a vial in 2.0 mL of distilled water. The reagent may be used 15 minutes after reconstitution. The suspension should be carefully inverted to mix before its first use. Avoid vigorous shaking (foam formation).

N Myoglobin Standard: Dissolve the lyophilized contents of a vial in 1.0 mL of distilled water. Shake gently to mix. Let stand for 15 minutes before use.

N Myoglobin Control: Dissolve the lyophilized contents of a vial in 0.5 mL of distilled water. The solution should be carefully inverted to mix before its first use. Avoid vigorous shaking (foam formation). Let stand for 15 minutes before use.

N Myoglobin Supplementary Reagents: Pipette 0.5 mL of N Myoglobin Supplementary Reagent B into a vial of N Myoglobin Supplementary Reagent A and shake gently to mix.

Storage and Stability

Stability at +2 to +8 °C: The expiry date is given on the label;

Stability once opened:

1 week (reconstituted N Myoglobin Reagent, reconstituted N Myoglobin Standard, reconstituted N Myoglobin Control as well as the mixture of the N Myoglobin Supplementary Reagents),

6 weeks (N Myoglobin Supplementary Reagent B) if stored tightly closed at +2 to +8 °C directly after use. Do not freeze the reagents.

On-board Stability:

N Myoglobin Reagent and N Myoglobin Supplementary Reagent - at least 3 days (at 8 hours per day), or a comparable period of time.

Note: On-board stability may vary depending on the BN[®] System used as well as on laboratory conditions. For further details, refer to BN[®] II or BN ProSpec[®] System Instruction Manual.

The on-board stability of the N Myoglobin Control on the BN ProSpec[®] System is stated in the Instruction Manual of the system.

Materials required but not provided

BN[®] System

N Reaction Buffer, Code No. OUMS

N Diluent, Code No. OUMT

BN[®] II Evaporation Stoppers (optional), Code No. OVLE

Additional materials and supplies as described in the Instruction Manuals for the BN[®] Systems.

Specimens

Suitable assay specimens are human serum samples and heparinized and EDTA plasma samples, either as fresh as possible (stored for no more than 8 days at +2 to +8 °C) or stored in frozen condition. Samples frozen within 24 hours after collection can be used within 1 month if stored at below -20 °C and if repeated freeze-thaw cycles are avoided. Serum samples must have coagulated completely and, after centrifugation, must not contain any particles or traces of fibrin. Lipemic samples or turbid frozen samples which are turbid after thawing must be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g) prior to testing.

OWIA G11 E0541 (1653) H 1

Edition November 2003

Procedure

Notes

- For details regarding operation of the BN[®] Systems consult the relevant Instruction Manuals.
- The reagents must not be used beyond the stated expiry date.
- Only components (reagent, standard, control, supplementary reagents) from kits of the same lot number can be used together; do not combine kit components from kits of different lots.
- Reconstituted lyophilized reagents must not be used until after the stated reconstitution times (at least 15 minutes after the addition of distilled water).
- Reagents and samples should have reached room temperature (+15 to +25 °C) before assay on the BN[®] A and BN[®] 100 System. Reagents and samples stored at +2 to +8 °C can be used for immediate assay on the BN[®] II and BN ProSpec[®] System.
- On the BN[®] A and BN[®] 100 System, samples must be run at the same ambient temperature (maximum 3 °C deviation) as the measurements used for recording the reference curve.

Assay Protocol for the BN[®] Systems

The assay protocol for serum and plasma is given in the BN[®] System Instruction Manual and instrument software. All the steps necessary are performed automatically by the system.

Establishment of the Reference Curve

Reference curves are constructed by multi-point calibration. Serial dilutions of the N Myoglobin Standard are automatically prepared for this purpose using N Diluent. The standard dilutions must then be used within 4 hours. The assigned value is given on the respective vial label. On the BN ProSpec[®] System, it can be read into the system from the lot data diskette (Code No. OVLP). The reference curve is valid for one week.

A new reference curve must be recorded if a new reagent vial or a different lot of reagent is used, or if the lot of N Reaction Buffer is changed. If large numbers of samples are to be assayed, it is recommended that the volumes of the reagents needed for all assays in one week should be individually pooled and that the reference curve should then be established using the pooled reagents. The exact measuring range depends on the concentration of the protein in each lot of N Myoglobin Standard. For typical figures refer to the respective BN[®] System Instruction Manual.

Assay of Specimens

Samples are automatically diluted 1:20 with N Diluent. The dilutions must be assayed within 4 hours. If the results obtained are outside the measuring range, the measurement can be repeated using a higher or lower dilution of sample. Details on repeat measurements using further sample dilutions are described in the Instruction Manuals for the BN[®] Systems.

Internal Quality Control

N Myoglobin Control should be used after each establishment of a reference curve, after the first use of a reagent vial as well as in each series of samples. The control is assayed and evaluated in the same way as for the patient samples. The assigned value of the N Myoglobin Control is given on the vial label. The confidence interval is given by the assigned value ±20%. On the BN ProSpec[®] System, the assigned value can be read into the system from the lot data diskette (Code No. OVLP). The stated assigned value is intended for use as an assayed accuracy control. If used for precision control, the user should establish the control value and control limits in a preliminary period. If the result of the control measurements is outside of the confidence interval, the control determination must be repeated. If the repeat measurement confirms the deviation, a new reference curve should be established. Results for patients must not be released until the cause of the deviation has been identified and rectified.

Results

The results are evaluated automatically by means of a logit-log function.

Limitations of the Procedure

Interference by rheumatoid factors (up to 3 000 IU/mL) is suppressed by use of the Supplementary Reagent. However, in isolated cases, very high levels of rheumatoid factor can interfere with the assay. Such samples must be assayed with another method.

Turbidity and particles in the samples can interfere with the determination. Therefore samples containing particles must be centrifuged prior to testing. Heat-inactivated samples, as well as lipemic samples which cannot be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g), must be excluded from the assay.

After measuring samples with myoglobin levels of approximately > 30,000 µg/L, false-high values may be obtained in a myoglobin determination performed directly afterwards. If this is suspected, a repeat measurement should be performed.

Due to matrix effects, the results obtained for control samples and interlaboratory survey samples may differ depending on the assay method used. It may therefore be necessary to assess these results in relation to method-specific target values.

Reference Interval

The plasma and serum myoglobin levels in clinically healthy persons depend on age and sex and exhibit a wide range of distribution. The upper limit of the reference range (97.5th percentile) was established to be a myoglobin concentration of 70 µg/L (5).

Nevertheless, each laboratory should determine its own reference intervals as these are influenced by many factors which may vary depending on the population studied.

Specific Performance Characteristics

Sensitivity

The analytical sensitivity of the assay is determined by the lower limit of the reference curve and thus depends on the concentration of the protein in the N Myoglobin Standard.

Specificity

No cross-reactivity is known to occur with the antibody used.

Precision

The coefficients of variation (CV) obtained for determinations of 3 different myoglobin concentrations (about 85, 160, and 310 µg/L) with N Latex Myoglobin on the BN[®] System were 2.0%, 2.4%, and 2.9%, respectively, for within-series precision (n = 20) and 4.8%, 4.2%, and 5.0% for reproducibility from day-to-day (n = 15).

Method Comparison

In a study conducted in Europe, 117 serum samples (myoglobin concentrations up to about 8 400 µg/L) were comparatively assayed with N Latex Myoglobin on the BN[®] System (y) and with a commercial radioimmunoassay (x). An analysis of the correlation between the results yielded the following regression equation: y = 0.95 x – 4.33 µg/L.

Note: The values cited for specific performance characteristics of the assay represent typical values and are not to be regarded as specifications for N Latex Myoglobin.

Bibliography

- Wu AHB, Apple FS, Gibler WB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. Clin Chem 1999; 45: 1104-21.
- Plebani M, Zaninotto M. Diagnostic strategies in myocardial infarction using myoglobin measurement. Eur Heart J 1998; 19 Suppl N: N12-5.
- Beetham R. Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis. Ann Clin Biochem 2000; 37: 581-7.
- U.S. Department of Health and Human Services CDC, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication (CDC) 93-8395; 1999; Section II; 8-16
- Chapelle JP. Akuter Myokardinfarkt: Diagnose und Überwachung durch Myoglobin-Bestimmung. Diagnose & Labor 1989; 39: 171–7.

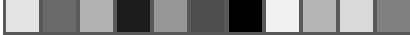
BN ProSpec is a registered trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA, Germany and other countries.

* BN is a trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

USA Distributor: Dade Behring Inc.
Newark, DE 19714 U.S.A.





N Latex Myoglobin

Anwendungsbereich

In-vitro-Diagnostika zur quantitativen Bestimmung von Myoglobin in humanem Serum oder Heparin- und EDTA-Plasma mittels partikelverstärkter Immun-Nephelometrie mit den BN* Systemen.

Diagnostische Bedeutung

Myoglobin, ein hämhaltiges Protein, kommt vorwiegend in den Zellen der quergestreiften Muskulatur (Skelettmuskel) sowie im Herzmuskel vor. Bei Schädigung dieser Muskeln wird es freigesetzt und erscheint im Blut. Bei Herzmuskelschädigungen, z. B. durch Minderperfusion nach Verschluss einer Koronararterie (akuter Myokardinfarkt), kommt es durch Membranfunktionsstörungen der Herzmuskelzellen zum Übertritt von Enzymen und anderen Proteinen in das Gefäßsystem.

Über die Herzlymphe erscheint Myoglobin bereits 2 bis 3 Stunden nach Symptombeginn in hoher Konzentration im peripheren Blut und erreicht damit 3 bis 4 Stunden vor dem Anstieg von herzmuskel-spezifischen Markern wie CK-MB oder Troponin pathologische Werte. Dem steilen Anstieg der Myoglobinkonzentration im Serum (Spitzenwerte werden bereits nach 6 bis 9 Stunden erreicht, bei den angeführten anderen Proteinen erst nach 1 bis 2 Tagen) folgt durch renale Elimination ein rascher Abfall, so daß ca. 24 Stunden nach dem Infarktereignis bei komplikationslosem Verlauf wieder Werte im Referenzbereich erhalten werden können.

Ein akuter Myokardinfarkt kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, wenn 2 bis 3 Stunden nach Symptombeginn keine erhöhte Myoglobinkonzentration im Patientenblut festgestellt wird und sich dies auch in einer Wiederholungsmessung nach ca. 5 Stunden bestätigt (1, 2). Die Bestimmung eines früh ansprechenden Markers wie Myoglobin wird bei Verdacht auf einen akuten Myokardinfarkt zur Unterstützung der Diagnose empfohlen (1). Eine erfolgreiche thrombolytische Reperfusionstherapie führt innerhalb von ca. 90 Minuten zu einer weiteren Freisetzung von kardialen Proteinen in den Kreislauf (1).

Nicht infarktbedingte Erhöhungen der Myoglobinkonzentration im Blut können z. B. nach Muskeltraumen, Reanimation, Myopathien, Schockzuständen, extremen körperlichen Anstrengungen oder durch verminderte Elimination bei Niereninsuffizienz auftreten. Extrem hohe Konzentrationen treten bei Rhabdomyolyse auf (3).

Prinzip der Methode

Polystyrol-Partikel, die mit spezifischen Antikörpern gegen humanes Myoglobin beladen sind, bilden bei Mischung mit Myoglobin enthaltenden Proben Aggregate, an denen eingestrahktes Licht gestreut wird. Die Intensität des Streulichts ist von der Konzentration des jeweiligen Proteins in der Probe abhängig. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration.

Reagenzien

Inhalt der Handelspackung

N Latex Myoglobin, Bestell-Nr. OWIA

N Myoglobin-Reagenz, 3 Flaschen für 2,0 ml

N Myoglobin-Standard (human), 3 Flaschen für 1,0 ml

N Myoglobin-Kontrolle (human), 3 Flaschen für 0,5 ml

N Myoglobin-Zusatzreagenz A, 3 Flaschen mit 0,5 ml

N Myoglobin-Zusatzreagenz B, 1 Flasche mit 1,6 ml

Zusammensetzung und Standardisierung

N Myoglobin-Reagenz besteht aus einem Lyophilisat von Polystyrol-Partikeln, die mit Anti-Human-Myoglobin-Antikörpern vom Kaninchen beladen sind.

N Myoglobin-Standard besteht aus einer lyophilisierten Mischung von Human-Sera, versetzt mit Human-Myoglobin. Die Myoglobin Konzentration nach Rekonstitution des Standards ist auf dem Flaschenetikett angegeben.

N Myoglobin-Kontrolle besteht aus einer lyophilisierten Mischung von Human-Sera, versetzt mit Human-Myoglobin. Die Myoglobin Konzentration nach Rekonstitution der Kontrolle ist auf dem Flaschenetikett angegeben.

Die Konzentration von N Myoglobin-Standard und N Myoglobin-Kontrolle wurde unter Bezug auf hochgereinigtes Human-Myoglobin (internes Referenzpräparat der Dade Behring Marburg GmbH) kalibriert.

N Myoglobin-Zusatzreagenz A besteht aus einer gepufferten Lösung von Kaninchenserum.

N Myoglobin-Zusatzreagenz B besteht aus einer Detergenzlösung.

Konservierungsmittel:

N Myoglobin-Reagenz nach Rekonstitution: Gentamicin 6,25 mg/l, Amphotericin 0,625 mg/l

N Myoglobin-Standard und

N Myoglobin-Kontrolle nach Rekonstitution: Gentamicin 100 mg/l, Amphotericin 1,25 mg/l

N Myoglobin-Zusatzreagenzien: Natriumazid < 1 g/l

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung.

2. Beim Umgang mit Natriumazid-haltigen *In-vitro*-Diagnostika ist zu beachten: Verschlucken und Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden! Bei Entsorgung ins Abwasser mit viel Wasser nachspülen. Natriumazid kann mit Schwermetallen wie Kupfer oder Blei explosive Azide bilden.

3. Jede individuelle Blutspende, die zur Herstellung von N Myoglobin-Reagenz, N Myoglobin-Standard und N Myoglobin-Kontrolle vorgesehen war, wurde auf HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 untersucht. Für die Herstellung wurden nur Spenden mit negativem Befund verwendet.

Unabhängig davon sollten alle aus menschlichem Blut gewonnenen Proben (z. B. Patientenserum und -plasmen) und Produkte (z. B. Standard- und Kontrollseren) wegen nie völlig ausschließender Gefährdung durch Krankheitserreger mit angemessener Sorgfalt unter Einhaltung der bei Biogefährdung empfohlenen Sicherheitsmaßnahmen gehandhabt werden (4).

Vorbereitung der Reagenzien

N Myoglobin-Reagenz: Der lyophilisierte Inhalt einer Flasche ist mit 2,0 ml destilliertem Wasser zu rekonstituieren. Das Reagenz ist 15 min nach Rekonstitution einsetzbar. Es ist vor dem ersten Gebrauch behutsam zu durchmischen.

N Myoglobin-Standard: Der lyophilisierte Inhalt einer Flasche ist in 1,0 ml destilliertem Wasser zu lösen. Die Lösung ist behutsam zu durchmischen. 15 min nach Rekonstitution ist der Standard gebrauchsfertig.

N Myoglobin-Kontrolle: Der lyophilisierte Inhalt einer Flasche ist in 0,5 ml destilliertem Wasser zu lösen. Die Lösung ist behutsam zu durchmischen. 15 min nach Rekonstitution ist die Kontrolle gebrauchsfertig.

N Myoglobin-Zusatzreagenzien: In eine Flasche N Myoglobin-Zusatzreagenz A sind 0,5 ml N Myoglobin-Zusatzreagenz B zu pipettieren und durch leichtes Schütteln zu mischen.

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Lagerung bei +2 bis +8 °C:

das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett angegeben;

Stabilität nach Öffnen:

1 Woche (rekonstituiertes N Myoglobin-Reagenz, rekonstituierter N Myoglobin-Standard, rekonstituierte N Myoglobin-Kontrolle sowie Mischung der N Myoglobin-Zusatzreagenzien),

6 Wochen (N Myoglobin-Zusatzreagenz B), sofern unmittelbar nach Gebrauch wieder dicht verschlossen bei +2 bis +8 °C gelagert.

Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren werden.

Stabilität auf den BN* Systemen:

N Myoglobin-Reagenz und N Myoglobin-Zusatzreagenz minimal 3 Tage mit jeweils 8 Stunden, oder ein vergleichbarer Zeitraum.

Hinweis: Die „on-board“ Stabilität hängt von dem verwendeten BN* System sowie den Laborbedingungen ab. Weiterführende Angaben sind in den Bedienungsanleitungen des BN* II und BN ProSpec® Systems enthalten.

Die „on-board“ Stabilität der N Myoglobin-Kontrolle auf dem BN ProSpec® System ist in der Bedienungsanleitung des Systems angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

BN* System

N-Reaktionspuffer, Bestell-Nr. OUMS

N-Diluens, Bestell-Nr. OUMT

BN* II Evaporation Stoppers (wahlweise), Bestell-Nr. OVLE

Verbrauchsmaterial und Ausrüstung wie in den Bedienungsanleitungen BN* Systeme beschrieben.

Untersuchungsmaterial

Zur Messung sollen möglichst frische (max. 8 Tage bei +2 bis +8 °C aufbewahrte) oder gefroren gelagerte humane Serumproben sowie Heparin- und EDTA-Plasmaproben eingesetzt werden. Werden Proben innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme eingefroren, so ist eine Lagerung unterhalb -20 °C bis zu einem Monat möglich, wenn wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermieden wird. Serumproben müssen vollständig geronnen sein und dürfen nach Zentrifugation keine Partikel oder Spuren von Fibrin enthalten.

Lipämische Proben oder eingefrorene Proben, die nach dem Auftauen trüb sind, müssen vor der Bestimmung durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) geklärt werden.

Testdurchführung

Hinweise

- Einzelheiten zur Bedienung der BN* Systeme sind der entsprechenden Bedienungsanleitung zu entnehmen.
- Die Reagenzien dürfen nach dem angegebenen Haltbarkeitsdatum nicht mehr verwendet werden.
- Nur Bestandteile (Reagenz, Standard, Kontrolle, Zusatzreagenzien) von Testkits mit gleicher Chargenbezeichnung dürfen miteinander kombiniert werden.
- Die angegebene Rekonstitutionszeit lyophilisierter Reagenzien (mind. 15 min nach Zugabe von destilliertem Wasser) ist einzuhalten.
- Reagenzien und Proben sollen vor der Messung am BN* A und BN* 100 System Raumtemperatur (+15 bis +25 °C) erreicht haben. Am BN* II und BN ProSpec® System können auch bei +2 bis +8 °C gelagerte Reagenzien und Proben direkt eingesetzt werden.
- Am BN* A und BN* 100 System soll die Messung von Proben sollte bei der Umgebungstemperatur durchgeführt werden, die auch bei der Aufnahme der Referenzkurve herrschte (max. 3 °C Abweichung).

Assay-Protokoll an den BN* Systemen

Das Assay-Protokoll für Serum und Plasma ist in der Bedienungsanleitung sowie der Software des jeweiligen Gerätes enthalten. Alle Schritte werden automatisch vom System durchgeführt.

Erstellung der Referenzkurve

Referenzkurven werden über Mehrpunktkalibrierung aufgenommen. Für die Erstellung werden automatisch Verdünnungsreihen des N Myoglobin-Standards mit N-Diluens erstellt. Die Standard-Verdünnungen müssen innerhalb von 4 Stunden verwendet werden. Der Sollwert ist auf dem entsprechenden Flaschenetikett angegeben. Am BN ProSpec® System kann er per Chargenangaben-Diskette (Bestell-Nr. OVLP) eingelesen werden. Die Referenzkurve ist eine Woche lang gültig.

Bei Verwendung einer neuen Reagenzflasche oder einer anderen Reagenzcharge oder bei Chargenwechsel des N-Reaktionspuffers muß eine neue Referenzkurve aufgenommen werden. Bei hohem Probenaufkommen ist es empfehlenswert, die notwendigen Reagenzmengen für Messungen innerhalb einer Woche zu mischen und hierfür die Referenzkurve zu erstellen.

Der exakte Meßbereich hängt von der Proteinkonzentration jeder N Myoglobin-Standard Charge ab. Typische Meßbereiche sind in der jeweiligen BN* System Bedienungsanleitung angegeben.

Messung der Patientenproben

Proben werden automatisch 1:20 mit N-Diluens verdünnt. Die Verdünnungen müssen innerhalb von 4 Stunden gemessen werden.

Bei Meßwerten, die außerhalb des Meßbereichs liegen, kann die Messung aus einer höheren oder niedrigeren Probenverdünnung wiederholt werden. Wiederholungsmessungen aus weiteren Probenverdünnungen sind in den Bedienungsanleitungen der BN* Systeme beschrieben.

Interne Qualitätskontrolle

Die N Myoglobin-Kontrolle sollte nach jeder Erstellung einer Referenzkurve, nach erstmaliger Verwendung einer Reagenzabfüllung sowie bei jeder Serie von Proben eingesetzt werden. Die Kontrolle wird im Ansatz und bei der Auswertung wie Patientenproben behandelt. Der Sollwert der N Myoglobin-Kontrolle ist auf dem Flaschenetikett angegeben. Als Vertrauensbereich gilt der Sollwert ± 20%. Am BN ProSpec® System kann der Sollwert per Chargenangaben-Diskette (Bestell-Nr. OVLP) eingelesen werden. Der angegebene Sollwert dient zur Richtigkeitsskontrolle. Bei der Verwendung als Präzisionskontrolle sollten in einer Vorperiode Kontrollwert und Kontrollgrenzen vom Anwender ermittelt werden.

Wenn das Ergebnis der Kontrollmessungen außerhalb des Vertrauensbereichs liegt, ist die Kontrollbestimmung zu wiederholen. Wird die Abweichung durch die Wiederholungsmessung bestätigt, sollte eine neue Referenzkurve aufgenommen werden. Patientenergebnisse dürfen erst dann wieder freigegeben werden, wenn die Ursache der Abweichung identifiziert und behoben wurde.

Berechnung der Analyseergebnisse

Die Auswertung erfolgt automatisch mittels einer Logit-Log-Funktion.

Einschränkungen der Testdurchführung

Störungen durch Rheumafaktoren (bis 3.000 IU/ml) werden durch die Verwendung des Zusatzreagenzes unterdrückt. Es kann jedoch im Einzelfall durch stark erhöhte Rheumafaktoren-Konzentrationen zu Störungen der Bestimmung kommen. Solche Proben müssen mit einer anderen Methode gemessen werden.

Trübungen und Partikel in den Proben können die Bestimmung stören. Deshalb müssen Proben, die Partikel enthalten, vor der Bestimmung zentrifugiert werden. Lipämische Proben, die durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) nicht zu klären sind, sowie Hitze-inaktivierte Proben sind von der Bestimmung auszuschließen.

Nach der Messung von Proben mit einer Myoglobin-Konzentration von ca. > 30.000 µg/l können bei einer weiteren, sich direkt anschließenden Myoglobin Bestimmung falsch erhöhte Werte erhalten werden. Im Verdachtsfall wird eine Wiederholungsmessung empfohlen.

Aufgrund von Matrixeffekten können für Kontroll- und Ringversuchsproben unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit von der verwendeten Bestimmungsmethode resultieren. Es kann daher notwendig sein, die Bewertung dieser Ergebnisse an methoden-spezifischen Zielwerten vorzunehmen.

Referenzbereich

Der Myoglobin-Gehalt im Plasma und Serum von klinisch Gesunden hängt vom Alter und Geschlecht ab und zeigt einen weiten Verteilungsbereich. Als Obergrenze des Referenzbereichs (97,5. Perzentile) wurde eine Myoglobin-Konzentration von 70 µg/l ermittelt (5).

Darüber hinaus sollte jedes Labor seine eigenen Referenzbereiche ermitteln, da diese vielen Einflußgrößen unterliegen, die für jedes untersuchte Kollektiv verschieden sein können.

Leistungsmerkmale der Bestimmung

Empfindlichkeit

Die analytische Empfindlichkeit der Bestimmung wird durch die untere Grenze der Referenzkurve festgelegt und hängt damit von der Konzentration des Proteins im N Myoglobin-Standard ab.

Spezifität

Es sind keine Kreuzreaktionen des verwendeten Antikörpers bekannt.

Präzision

Mit N Latex Myoglobin wurden am BN* System bei der Bestimmung von 3 verschiedenen Myoglobin-Konzentrationen (ca. 85, 160 und 310 µg/l) Variationskoeffizienten von 2,0 %, 2,4 % und 2,9 % für die Präzision in der Serie (n = 20) und von 4,8 %, 4,2 % und 5,0 % für die Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag (n = 15) erhalten.

Methodenvergleich

In einer in Europa durchgeführten Studie wurden 117 Serumproben (Myoglobin-Konzentrationen bis etwa 8400 µg/l) vergleichend mit N Latex Myoglobin am BN* System (y) und einem im Handel befindlichen Radioimmunoassay (x) untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse durch Korrelationsanalyse ergab folgende Gerade: y = 0,95 x - 4,33 µg/l.

Anmerkung

Die angegebenen Werte für die Leistungsmerkmale der Bestimmung stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikation für N Latex Myoglobin anzusehen.

Literatur

Siehe Seite 1.

BN ProSpec ist eine eingetragene Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA, Deutschland und anderen Ländern.

* BN ist eine Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA.



Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex Myoglobine

Domaine d'utilisation

Réactifs pour le dosage de la myoglobine dans le sérum ou le plasma humain, prélevé sur héparine ou EDTA, par immunonéphélométrie sensibilisée avec des particules, à l'aide des systèmes BN*.

Intérêt diagnostique

La myoglobine est une hémoprotéine essentiellement présente dans les cellules des muscles striés (muscle du squelette) ainsi que dans le muscle cardiaque. En cas de lésion de ces muscles, elle est libérée et apparaît dans le sang. En cas de lésion du muscle cardiaque, due par ex. à une perfusion diminuée après l'obstruction d'une artère coronaire (infarctus aigu du myocarde), les modifications de la fonction membranaire des cellules du muscle cardiaque entraînent le transfert d'enzymes et d'autres protéines dans le système vasculaire. Par l'intermédiaire de la lymphe cardiaque, la myoglobine apparaît, dès 2 à 3 heures après l'apparition des symptômes, à une forte concentration dans le sang périphérique, pouvant atteindre ainsi des valeurs pathologiques 3 à 4 heures avant l'élévation des marqueurs spécifiques du muscle cardiaque, comme la CK-MB ou la troponine. Après la forte augmentation de la concentration de myoglobine dans le sérum (des pics sont observés après 6 à 9 heures, alors qu'ils n'apparaissent qu'après 1 à 2 jours pour les autres protéines), on observe ensuite une chute rapide due à l'élimination rénale, de sorte qu'on peut retrouver des valeurs à l'intérieur du domaine de référence dès 24 heures environ après l'infarctus, en l'absence de complications.

On peut exclure avec une grande probabilité un infarctus aigu du myocarde si 2 à 3 heures après l'apparition des symptômes la concentration de myoglobine n'est pas augmentée dans le sang du patient, et que le résultat est confirmé par un deuxième test effectué après env. 5 heures (1, 2). Le dosage d'un marqueur précoce comme la myoglobine est recommandé pour conforter le diagnostic en cas d'infarctus du myocarde aigu (1). Un traitement thrombolytique par reperfusion entraîne dans les 90 minutes qui suivent une nouvelle libération de protéines cardiaques dans la circulation (1).

Des augmentations de la concentration de myoglobine dans le sang, non dues à une infarctus, peuvent être observées, par ex. après un traumatisme musculaire, une réanimation, une myopathie, un état de choc, des efforts physiques extrêmes ou encore suite à une diminution de l'élimination due à une insuffisance rénale. Des concentrations extrêmement élevées sont observées dans la rhabdomyolyse (3).

Principe de la méthode

Les particules de polystyrène recouvertes d'anticorps spécifiques anti-myoglobine humaine s'agglutinent lorsqu'elles sont mélangées à un échantillon contenant de la myoglobine. L'intensité de la lumière dispersée par le système est proportionnelle à la concentration de la protéine recherchée. L'exploitation se fait par rapport à un standard de concentration connue.

Réactifs

Conditionnement

N Latex Myoglobine, code OWIA

N Myoglobine Réactif, 3 flacons pour 2,0 ml

N Myoglobine Standard (humain), 3 flacons pour 1,0 ml

N Myoglobine Contrôle (humain), 3 flacons pour 0,5 ml

N Myoglobine Réactif complémentaire A, 3 flacons de 0,5 ml

N Myoglobine Réactif complémentaire B, 1 flacon de 1,6 ml

Composition et standardisation

N Myoglobine Réactif est composé d'un lyophilisat de particules de polystyrène recouvertes d'anticorps de lapin anti-myoglobine humaine.

N Myoglobine Standard est composé d'un mélange lyophilisé de sérums humains, additionné de myoglobine humaine. La concentration de myoglobine après reconstitution du standard est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Les concentrations de myoglobine du N Myoglobine Standard et du N Myoglobine Contrôle ont été étalonnées par rapport à une myoglobine humaine hautement purifiée (préparation de référence interne de Dade Behring Marburg GmbH).

N Myoglobine Réactif complémentaire A est constitué d'une solution tampon de sérum de lapin.

N Myoglobine Réactif complémentaire B est constitué d'une solution de détergent.

Agents de conservation :

N Myoglobine Réactif après reconstitution : gentamicine 6,25 mg/l, amphotéricine 0,625 mg/l

N Myoglobine Standard et N Myoglobine Contrôle après reconstitution : gentamicine 100 mg/l, amphotéricine 1,25 mg/l

N Myoglobine Réactifs complémentaires : azide de sodium < 1g/l

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réserve à un usage de diagnostic *in vitro*.
2. Les réactifs contenant de l'azide de sodium doivent être manipulés avec précaution : ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses ! En cas d'évacuation dans l'évier, rincer avec beaucoup d'eau. L'azide de sodium peut devenir explosif au contact de métaux lourds comme le cuivre ou le plomb.
3. Tout don de sang individuel prévu pour la préparation du N Myoglobine Réactif, du N Myoglobine Standard et du N Myoglobine Contrôle est testé vis-à-vis de l'AgHBs, de l'anticorps anti-VHC, de l'anticorps anti-VIH 1 et de l'anticorps anti-VIH 2. Seuls les dons trouvés négatifs sont utilisés. Indépendamment de cela, tout échantillon (par ex. sérum ou plasma de patient) ou préparation (par ex. standard ou contrôle) obtenu à partir de sang humain doit être manipulé avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où on ne peut exclure totalement un risque d'infection (4).

Préparation des réactifs

N Myoglobine Réactif : reconstituer le contenu lyophilisé d'un flacon avec 2,0 ml d'eau distillée. Le réactif est prêt à l'emploi 15 min après sa reconstitution. L'homogénéiser en l'agitant avec précaution avant le premier emploi.

N Myoglobine Standard : reconstituer le contenu lyophilisé d'un flacon avec 1,0 ml d'eau distillée. Bien homogénéiser la solution. Le Standard est prêt à l'emploi 15 min après sa reconstitution.

N Myoglobine Contrôle : reconstituer le contenu lyophilisé d'un flacon avec 0,5 ml d'eau distillée. Bien homogénéiser la solution. Le Contrôle est prêt à l'emploi 15 min après sa reconstitution.

N RF Réactifs complémentaires : distribuer à l'aide d'une pipette 0,5 ml de N Myoglobine Réactif complémentaire B dans un flacon de N Myoglobine Réactif complémentaire A, et mélanger en agitant avec précaution.

Stabilités et conditions de conservation

Conservation à +2/+8 °C :

la date de péremption est indiquée sur l'étiquette.

Stabilités après ouverture :

1 semaine (N Myoglobine Réactif reconstitué, N Myoglobine Standard reconstitué, N Myoglobine Contrôle reconstitué, ainsi que mélange des N Myoglobine Réactifs complémentaires), à condition de bien refermer les flacons et de les replacer à +2/+8 °C immédiatement après emploi.

Ne pas congeler les réactifs.

Stabilités sur les systèmes BN* :

Le N Myoglobine Réactif et le N Myoglobine Réactif complémentaire se conservent au moins pendant 3 journées de travail de 8 heures, ou sur une période équivalente.

Remarque : la stabilité « on-board » dépend du système BN* utilisé ainsi que des conditions d'analyse du laboratoire. Pour plus de détails, se reporter au manuel d'utilisation des systèmes BN* II et BN ProSpec®.

La stabilité « on-board » du N Myoglobine Contrôle sur le système BN ProSpec® est indiquée dans le manuel d'utilisation du système.

Matériel et autres réactifs nécessaires

Système BN*

N Tampon de réaction, code OUMS

N-Diluant, code OUMT

BN* II Bouchons anti-évaporation (utilisation optionnelle), code OVLE

Consommable et équipement selon les instructions des manuels d'utilisation des systèmes BN*.

OWIA G11 E0541 (1653) H 3

Edition Novembre 2003

Echantillons à tester

Utiliser des échantillons sériques ou plasmatiques prélevés sur héparine ou EDTA, humains, de préférence frais (conservés 8 jours maximum à +2/+8 °C), sinon congelés. S'ils sont congelés dans les 24 heures qui suivent leur prélèvement et conservés à <-20 °C, ils peuvent être utilisés pendant 1 mois ; ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons sériques doivent être totalement coagulés et ne plus contenir ni particules ni traces de fibrine après centrifugation.

Les échantillons lipémiques ou devenus troubles après décongélation doivent être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 g) avant leur emploi dans le test.

Réalisation du test

Remarques

1. Pour plus de détails sur l'utilisation des systèmes BN*, se reporter au manuel d'utilisation du système utilisé.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.
3. N'utiliser dans un même test que des réactifs (Réactif, Standard, Contrôle et Réactifs complémentaires) provenant de coffrets portant le même numéro de lot.
4. Respecter le temps de reconstitution indiqué pour les réactifs lyophilisés (au moins 15 min après l'addition de l'eau distillée).
5. Pour un dosage sur les systèmes BN* A et BN* 100, porter réactifs et échantillons à la température ambiante (+15/+25 °C) avant leur emploi dans le test. Sur les systèmes BN* II et BN ProSpec®, ils peuvent être directement utilisés à +2/+8 °C.
6. Sur les systèmes BN* A et BN* 100, la mesure des échantillons doit se faire à la même température d'environnement que lors de la mesure de la courbe d'étalonnage (maximum 3 °C d'écart).

Protocole de dosage sur les systèmes BN*

Le protocole de dosage pour sérum et plasma est indiqué dans le manuel d'utilisation ainsi que dans le logiciel de chaque système. Toutes les étapes sont effectuées automatiquement par le système.

Etablissement de la courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage est établie automatiquement selon une calibration en plusieurs points, à partir d'une série de dilutions du N Myoglobine Standard avec le N Diluant. Une fois préparées, les dilutions du standard doivent être utilisées dans les 4 heures. La valeur théorique du standard est indiquée sur l'étiquette du flacon. Sur le système BN ProSpec®, elle peut également être lue à l'aide de la disquette comportant les données de chaque lot (code OVLP). La courbe d'étalonnage est valable une semaine.

Etablir une nouvelle courbe d'étalonnage à chaque changement de flacon de réactif, de lot de réactif et de lot du N Tampon de réaction. Si l'on dose une grande série d'échantillons, il est recommandé de mélanger les quantités nécessaires de réactifs nécessaires pour les dosages d'une semaine, et d'établir une courbe d'étalonnage pour ces dosages.

Le domaine de mesure exact dépend de la concentration en myoglobine de chaque lot de N Myoglobine Standard. Des domaines de mesure types sont indiqués dans les manuels d'utilisation des systèmes BN*.

Mesure des échantillons de patients

Les échantillons sont dilués automatiquement au 1/20 avec le N-Diluant. Les dilutions doivent être testées dans les 4 heures.

Si des valeurs mesurées sortent du domaine de mesure, refaire le dosage à une dilution plus élevée ou plus basse. Pour le retest des échantillons à d'autres dilutions, se reporter aux manuels d'utilisation des systèmes BN*.

Contrôle de qualité interne

Introduire le N Myoglobine Contrôle à chaque nouvelle courbe d'étalonnage, à chaque changement de flacon de réactif, ainsi qu'à chaque nouvelle série d'échantillons. Le traiter comme un échantillon de patient, aussi bien dans le test que pour l'exploitation des résultats. La valeur théorique du N Myoglobine Contrôle est indiquée sur l'étiquette du flacon. Le domaine de confiance correspond à la valeur théorique $\pm 20\%$. Sur le système BN ProSpec®, la valeur théorique peut être entrée à l'aide de la disquette comportant les données du lot (code OVLP). La valeur théorique indiquée permet un contrôle d'exactitude. Pour une utilisation du N Myoglobine Contrôle dans le cadre d'une contrôle de précision, chaque laboratoire doit déterminer préalablement une valeur de contrôle ainsi que des valeurs-limites de contrôle.

Si la valeur mesurée du contrôle sort du domaine de confiance, retester le contrôle. Si la déviation est confirmée, établir une nouvelle courbe d'étalonnage. Les résultats des patients ne peuvent être rendus qu'après avoir identifié et éliminé la source d'erreur.

Calcul des résultats d'analyse

L'exploitation se fait automatiquement selon une fonction log-logit.

Limites de réalisation du test

Les interférences dues à la présence éventuelle de facteurs rhumatoïdes (jusqu'à 3000 UI/ml) sont réduites par l'utilisation du Réactif complémentaire. Cependant, dans certains cas de concentrations très augmentée en facteurs rhumatoïdes, le test peut être perturbé. Ces échantillons doivent alors être testés selon une autre méthode.

Les échantillons troubles ou contenant des particules peuvent perturber le test. Aussi les échantillons contenant des particules doivent-ils être centrifugés avant le test. Les échantillons lipémiques qui ne peuvent être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 g) ainsi que les échantillons inactivés à la chaleur doivent être exclus du test.

Suite au dosage d'un échantillon ayant une concentration en myoglobine > env. 30 000 µg/l, le dosage immédiatement suivant peut donner un résultat augmenté à tort. En cas de doute, il est recommandé de retester l'échantillon.

Du fait d'effets matriciels, les résultats obtenus dans le cadre de contrôles nationaux peuvent diverger selon la méthode de dosage utilisée. Il peut dans ces cas-là être nécessaire d'évaluer les résultats selon des valeurs-cibles spécifiques à chaque méthode.

Domaine de référence

Le taux de myoglobine dans le plasma ou le sérum de sujets cliniquement sains est fonction de l'âge et du sexe, et présente un large domaine de répartition. La limite supérieure du domaine de référence pour la myoglobine (97,5^{ème} percentile) a été déterminée à 70 µg/l (5).

Néanmoins, chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de référence dans la mesure où celui-ci peut varier considérablement en fonction du collectif étudié.

Caractéristiques du dosage

Sensibilité

La sensibilité analytique du dosage est déterminée par la limite inférieure de la courbe d'étalonnage, et dépend donc de la concentration en myoglobine du N Myoglobine Standard.

Spécificité

Aucune réaction croisée de l'anticorps utilisé n'a été observée.

Précision

Trois concentrations différentes de myoglobine (env. 85, 160 et 310 µg/l) ont été testées avec N Latex Myoglobine sur un système BN*. On a obtenu des coefficients de variation de respectivement 2,0%, 2,4% et 2,9% pour la répétabilité (n = 20), et de respectivement 4,8%, 4,2% et 5,0% pour la reproductibilité (n = 15).

Comparaison avec une autre méthode

Dans le cadre d'une étude européenne, 117 échantillons sériques (concentrations de myoglobine allant jusqu'à env. 8400 µg/l) ont été testés en parallèle avec N Latex Myoglobine sur un système BN* (y) et avec un test radioimmunologique du commerce (x). La comparaison des résultats par analyse de corrélation a donné la droite suivante : $y = 0,95 x - 4,33 \mu\text{g/l}$.

Remarque

Les valeurs indiquées comme caractéristiques du dosage représentent des résultats types et ne doivent pas être considérées comme des spécifications du test N Latex Myoglobine.

Littérature

Cf. page 1.

BN ProSpec est une marque déposée de Dade Behring Marburg GmbH aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

* BN est une marque de Dade Behring Marburg GmbH aux USA.



Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



N Latex Mioglobina

Uso previsto

Diagnostici *in vitro* per la determinazione quantitativa della mioglobina umana nel siero umano o nel plasma eparinato o con EDTA mediante immunonefelometria rafforzata con particelle con l'impiego dei sistemi BN*.

Significato diagnostico

La mioglobina è una emoproteina che si trova, principalmente, nella muscolatura striata (scheletrica) e cardiaca. In caso di danneggiamento di questi muscoli, si ha la fuoriuscita di mioglobina e la sua comparsa nel sangue. In caso di danneggiamento del muscolo cardiaco, ad es. una minore perfusione in seguito ad occlusione di un'arteria coronarica (infarto acuto del miocardio), l'alterazione della funzione della membrana può provocare il passaggio di enzimi e di altre proteine nel sistema vascolare.

Trasportata dalla linfa cardiaca, la mioglobina compare già dopo 2-3 ore dalla comparsa dei sintomi in concentrazioni elevate nel sangue periferico e raggiunge valori patologici 3-4 ore prima dell'aumento dei marker miocardici CK-MB e troponina. Dopo un rapido aumento della concentrazione di mioglobina nel siero (si raggiungono valori massimi già dopo 6-9 ore, mentre nel caso delle proteine citate soltanto dopo 1-2 giorni), si ha una diminuzione in conseguenza della eliminazione renale, cosicché dopo ca. 24 ore dall'infarto, durante un decorso senza complicazioni, i valori possono ritornare di nuovo entro l'intervallo normale. L'infarto acuto del miocardio può essere escluso con elevata probabilità quando, 2-3 ore dopo la comparsa dei sintomi, non vengano determinate concentrazioni elevate di mioglobina nel sangue del paziente e ciò venga confermato ripetendo la misurazione ca. 5 ore dopo (1,2). Nel caso si sospetti un infarto acuto del miocardio si raccomanda, come ausilio diagnostico, l'impiego di un marker precoce come la mioglobina. Una riperfusione cardiaca riuscita con la terapia trombolitica porta, entro 90 minuti, ad un'ulteriore rilascio nel circolo di proteine cardiache (1). Aumenti della concentrazione di mioglobina nel sangue, non dovuti ad infarto, si possono osservare ad es. dopo un trauma muscolare, rianimazione, miopatie, stato di shock, sforzo fisico, oppure nel caso di un'eliminazione ridotta per insufficienza renale. Concentrazioni estremamente elevate possono verificarsi in caso di rhabdmiolisi (3).

Principio del metodo

Le particelle di polistirene rivestite con anticorpi specifici anti-mioglobina umana formano degli aggregati quando sono miscelate con campioni contenenti mioglobina; questi aggregati diffondono un fascio di luce dopo aver attraversato la miscela. L'intensità della luce diffusa è proporzionale alla concentrazione di mioglobina presente nel campione. Il risultato viene valutato per confronto con uno standard a concentrazione nota.

Reagenti

Contenuto della confezione

N Latex Mioglobina (codice OWIA)

N Reagente Mioglobina, 3 flaconi da 2,0 mL

N Standard Mioglobina (umano), 3 flaconi da 1,0 mL

N Controllo Mioglobina (umano), 3 flaconi da 0,5 mL

N Reagente supplementare A Mioglobina, 3 flaconi da 0,5 mL

N Reagente supplementare B Mioglobina, 1 fialone da 1,6 mL

Composizione e standardizzazione

L'N Reagente Mioglobina è costituito da particelle di polistirene liofilizzate, rivestite con anticorpi anti-mioglobina umana da coniglio.

L'N Standard Mioglobina è costituito da un pool liofilizzato di sieri umani a cui è stata aggiunta mioglobina umana. La concentrazione della mioglobina dopo la ricostituzione dello standard, è indicata sull'etichetta del flacone.

L'N Controllo Mioglobina è costituito da un pool liofilizzato di sieri umani a cui è stata aggiunta mioglobina umana. La concentrazione della mioglobina, dopo ricostituzione del controllo, è indicata sull'etichetta del flacone.

La concentrazione dell'N Standard Mioglobina ed N Controllo Mioglobina è stata calibrata con riferimento a mioglobina umana altamente purificata (preparato di riferimento interno della Dade Behring Marburg GmbH).

L'N Reagente supplementare A Mioglobina è costituita da una soluzione tamponata di siero di coniglio.

L'N Reagente Supplementare B Mioglobina è costituito da una soluzione detergente.

Conservanti:

N Reagente Mioglobina dopo ricostituzione: gentamicina 6,25 mg/L, amfotericina 0,625 mg/L

N Standard Mioglobina e

N Controllo Mioglobina dopo ricostituzione: gentamicina 100 mg/L, amfotericina 1,25 mg/L

N Reagenti supplementari Mioglobina: sodio azide < 1 g/L

Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Quando si impiegano diagnostici in vitro contenenti sodio azide, osservare le seguenti precauzioni: non ingerire ed evitare contatti con la cute e le mucose! La sodio azide, a contatto con metalli pesanti come rame e/o piombo, può formare azidi esplosive.
- Ogni singola donazione di sangue, utilizzata per la produzione dell'N Reagente Mioglobina, N Standard Mioglobina o N Controllo Mioglobina, è stata esaminata per la ricerca dell'HbSAg e degli anticorpi anti-HCV, anti-HIV1 ed anti-HIV2. Solo i campioni risultati negativi sono stati impiegati per la produzione. Tuttavia, poiché non è possibile escludere con assoluta certezza il pericolo di agenti patogeni, tutti i campioni (ad. siero e plasma di pazienti) e i prodotti (ad. es. sieri standard o sieri di controllo) provenienti da sangue umano devono essere trattati con le necessarie precauzioni rispettando le norme di sicurezza sul rischio biologico (4).

Preparazione dei reagenti

N Reagente Mioglobina: ricostituire il contenuto liofilizzato di un flacone con 2,0 mL di acqua distillata. Attendere 15 min. prima dell'uso. Prima di iniziare il lavoro, mescolare delicatamente, evitando la formazione di schiuma.

N Standard Mioglobina: ricostituire il contenuto liofilizzato di un flacone con 1,0 mL di acqua distillata. Agitare delicatamente per miscelare. Attendere 15 min. prima dell'uso.

N Controllo Mioglobina: ricostituire il contenuto liofilizzato di un flacone con 0,5 mL di acqua distillata. Prima di iniziare il lavoro, mescolare delicatamente, evitando la formazione di schiuma. Attendere 15 min. prima dell'uso.

N Reagenti supplementare Mioglobina: pipettare 0,5 mL di N Reagente supplementare B Mioglobina nel flacone dell'N Reagente supplementare A Mioglobina ed agitare delicatamente.

Conservazione e stabilità

Stabilità a +2/+8 °C:

la data di scadenza è indicata sull'etichetta del flacone.

Stabilità dopo apertura:

1 settimana (N Reagente Mioglobina ricostituito, N Standard Mioglobina ricostituito, N Controllo Mioglobina ricostituito e la miscela di N Reagenti supplementari Mioglobina).

6 settimane (N Reagente B Mioglobina) se conservato, ben chiuso subito dopo l'uso, a +2/+8 °C. Non congelare i reagenti.

Stabilità sui sistemi BN*:

N Reagente Mioglobina e N reagenti supplementari Mioglobina - almeno 3 giorni (8 ore al giorno) o periodo di tempo equivalente.

Nota: la stabilità 2on-board* dipende dal sistema BN* utilizzato e dalle condizioni del laboratorio. Per maggiori informazioni consultare il manuale d'uso dei sistemi BN* II o BN ProSpec®.

La stabilità "on-board" dell'N Controllo Mioglobina sul sistema BN ProSpec® è riportata nel manuale d'uso dello strumento.

Materiale necessario ma non fornito

Sistema BN*

N Tampone di reazione, codice OUMS

N Diluente, codice OUMT

Tappi antievaporazione per BN* II (facoltativo), codice OVLE

Altro materiale ed attrezzature come descritto nel manuale d'uso dei sistemi BN*.

OWIA G11 E0541 (1653) H 4

Edizione Novembre 2003

Campioni in esame

Si impiegano, come campioni in esame, sieri o plasmi umani eparinati o con EDTA possibilmente freschi (massimo 8 giorni a +2/+8 °C) oppure conservati congelati. I campioni congelati entro 24 ore dal prelievo, possono essere utilizzati entro 1 mese, purché conservati a -20 °C, evitando ripetuti congelamenti e scongelamenti. I sieri devono essere completamente coagulati e, dopo centrifugazione, non devono presentare particelle o tracce di fibrina. I campioni lipemici e quelli che si presentano torbidi dopo lo scongelamento, devono essere chiarificati mediante centrifugazione (10 min. a 15000 x g) prima del test.

Esecuzione del test

Note:

- Per maggiori informazioni sull'uso dello strumento, consultare il manuale d'uso dei sistemi BN*.
- I reagenti non devono essere utilizzati oltre la data di scadenza.
- Impiegare solo componenti (reagente, standard, controllo, reagenti supplementari) appartenenti tutte a confezioni contrassegnate dallo stesso numero di lotto.
- Per i reagenti liofilizzati, rispettare un tempo di ricostituzione sufficiente (almeno 15 min. dopo l'aggiunta di acqua distillata).
- Prima della misurazione sui sistemi BN*A e BN* 100, portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (+15/+25 °C). Il sistema BN* II e BN ProSpec® permette l'uso diretto di reagenti e campioni conservati a +2/+8 °C.
- Sui sistemi BN*A e BN* 100, occorre eseguire la misurazione dei campioni alla stessa temperatura ambiente (max. 3 °C di differenza) alla quale è stata eseguita la curva di calibrazione.

Protocollo analitico per i sistemi BN*

Il protocollo analitico per il siero e il plasma è riportato nel manuale d'uso del sistema BN* e nel software dello strumento. Tutte le fasi vengono eseguite automaticamente dallo strumento.

Preparazione della curva di calibrazione

Le curve di calibrazione vengono costruite con una calibrazione multi-punto. La serie di diluizioni dell'N Standard Mioglobina viene preparata automaticamente utilizzando N Diluente. Le diluizioni dello standard devono essere utilizzate entro 4 ore. Il valore teorico è indicato sull'etichetta del flacone. Sul sistema BN ProSpec® può essere inserito tramite dischetto con i dati del lotto (codice OVLP). La curva di calibrazione è valida 1 settimana.

Se si utilizza un nuovo flacone di reagente o un altro lotto di reagente o se si cambia il lotto dell'N Tampone di reazione, è necessario preparare una nuova curva di calibrazione. Nel caso in cui si debba analizzare un elevato numero di campioni, si consiglia di ricostituire tutti i flaconi di reagenti necessari per 1 settimana ed eseguire la curva di calibrazione con il pool ottenuto.

L'intervallo di misura esatto dipende dalla concentrazione della proteina di ogni lotto di N Standard Mioglobina. Per intervalli di misura tipici fare riferimento al rispettivo manuale d'uso del sistema BN*.

Misurazione dei campioni

I campioni vengono diluiti automaticamente 1:20 con N Diluente. Le diluizioni devono essere utilizzate entro 4 ore. Se il risultato ottenuto si trova al di fuori dell'intervallo di misura, la misurazione deve essere ripetuta utilizzando una diluizione più alta o più bassa del campione. Per maggiori informazioni sulla ripetizione della misurazione con altre diluizioni, consultare il manuale d'uso del sistema BN*.

Controllo di qualità interno

Impiegare l'N Controllo Mioglobina dopo la preparazione di ogni curva di calibrazione, al primo impiego di un flacone di reagente e con ogni serie di campioni. Il campione viene analizzato e valutato allo stesso modo dei campioni dei pazienti. Il valore teorico dell'N Controllo Mioglobina è indicato sull'etichetta. L'intervallo di accettabilità è dato dal valore teorico $\pm 20\%$. Sul sistema BN ProSpec®, il valore teorico può essere letto dal dischetto con i dati del lotto (codice OVLP). Il valore teorico indicato serve per il controllo di accuratezza. Se utilizzato per il controllo di precisione, l'utilizzatore deve determinare, in una fase precedente, il valore e i limiti di controllo. Se il risultato del controllo si trova al di fuori dell'intervallo di accettabilità, la determinazione deve essere ripetuta. Se anche questa seconda determinazione conferma la deviazione, è necessario preparare una nuova curva di calibrazione. Rilasciare i risultati dei pazienti solo dopo aver identificato e rimosso le cause della deviazione.

Risultati

I risultati vengono valutati in automatico mediante una funzione logit-log.

Limitazioni della procedura

Le interferenze da fattori reumatoidi (fino a 3 000 UI/mL) vengono eliminate utilizzando il Reagente supplementare. Tuttavia, in singoli casi, concentrazioni fortemente elevate di fattori reumatoidi possono influenzare il test. Questi campioni devono essere esaminati con un altro metodo.

I campioni torbidi o contenenti particelle possono influenzare il test. Perciò, i campioni contenenti particelle devono essere centrifugati prima del test. I campioni inattivati con il calore e i campioni lipemici che non possono essere chiarificati con la centrifugazione (10 minuti a ca. 15 000 x g) devono essere esclusi dal test.

Dopo la misurazione dei campioni con una concentrazione di mioglobina di ca. > 30 000 µg/L, si possono ottenere, in una determinazione della mioglobina eseguita subito dopo, valori falsamente aumentati. In caso dubbio ripetere la misurazione.

A causa dell'effetto matrice, i risultati ottenuti per i campioni di controllo e i campioni delle indagini inter-laboratori, possono differire a seconda del metodo usato. Pertanto è necessario valutare questi risultati in relazione ai valori di target specifici del lotto.

Intervallo di riferimento

La concentrazione di mioglobina nel plasma o nel siero di soggetti sani dipende dall'età e dal sesso e mostra un ampio intervallo di dispersione. Come limite superiore dell'intervallo di riferimento (97,5° percentile) è stata fissata una concentrazione di mioglobina di 70 µg/L (5).

Tuttavia, ogni laboratorio dovrebbe determinare il proprio intervallo di riferimento, in quanto questi sono influenzati da molti fattori che variano a seconda della popolazione studiata.

Caratteristiche specifiche del test

Sensibilità

La sensibilità analitica del test viene determinata dal limite inferiore della curva di calibrazione e dipende, quindi, dalla concentrazione della proteina nell'N Standard Mioglobina.

Specificità

Non si conoscono cross-reazioni dell'anticorpo utilizzato.

Precisione

Con l'N Latex Mioglobina, sul sistema BN*, sono stati determinati, con 3 diverse concentrazioni di mioglobina (ca. 85, 160 e 310 µg/L), coefficienti di variazione di 2,0%, 2,4% e 2,9% per la precisione intra-serie (n = 20) e di 4,8%, 4,2% e 5,0% per la riproducibilità inter-serie (n = 15).

Confronto del metodo

In uno studio condotto in Europa sono stati esaminati 117 sieri (concentrazioni di mioglobina fino a ca. 8400 µg/L) con l'N Latex Mioglobina sul BN* (y) e con un altro metodo radioimmunologico in commercio (x).

Il confronto dei risultati mediante analisi di correlazione ha dato la seguente equazione di regressione: $y = 0,95x - 4,33 \mu\text{g/L}$.

Nota: i valori indicati per le caratteristiche specifiche del test non devono essere considerati come specifici per l'N Latex Mioglobina.

Bibliografia

Vedi pagina 1.

BN ProSpec è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA, in Germania e negli altri Paesi.

* BN è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

CE

N Látex Mioglobina

Campos de aplicación

Reactivos de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de mioglobina en sueros humanos o plasma con heparina o con EDTA mediante inmunonefelometría con partículas intensificadoras usando los sistemas BN*.

Significado diagnóstico

La mioglobina, una proteína conteniendo hemo, se presenta especialmente en las células de la musculatura estriada transversal (músculo esquelético), así como, en el músculo del corazón. Al presentarse un daño de este músculo va a ser liberada y aparece en la sangre. En daños del músculo cardíaco, por ej., mediante una perfusión disminuida, después del cierre de una arteria coronaria (infarto de miocardio agudo), se produce un paso de enzimas y otras proteínas al sistema vascular por alteración de las funciones de la membrana de las células del músculo cardíaco.

Por medio de la linfa del corazón va a aparecer mioglobina en concentración elevada en la sangre periférica después de 2 o 3 horas del comienzo de los síntomas y va a alcanzar valores patológicos después de 3 o 4 horas, antes de que otros marcadores específicos del músculo cardíaco como el CK-MB o troponina aumenten. Al aumento abrupto de la concentración de mioglobina en el suero (los valores máximos se alcanzan después de 6 a 9 horas, para las otras proteínas mencionadas primero después de 1 a 2 días) sigue una caída acelerada, por medio de una eliminación renal, de tal forma que aproximadamente después de 24 horas del infarto, sin complicaciones en el desarrollo, se pueden volver a encontrar valores dentro del rango de referencia.

Un infarto de miocardio agudo se puede excluir con toda seguridad, cuando después de 2 o 3 horas de empezados los síntomas, no es posible medir concentraciones elevadas de mioglobina en la sangre del paciente, ni tampoco después de 5 horas en una nueva repetición de la medida (1,2). La determinación de un marcador de reacción temprana, como la mioglobina, va a ser recomendada como apoyo al diagnóstico, en caso de sospecha de un infarto de miocardio agudo (1). Una terapéutica de reperfusión trombolítica exitosa conduce, dentro de aproximadamente 90 min., a una mayor liberación de proteínas cardíacas en la circulación (1).

Concentraciones elevadas de mioglobina en sangre, no ocasionadas por infarto, pueden también aparecer por ej., después de traumas musculares, reanimación, miopatías, estados de shock, alteraciones corporales extremas o por la eliminación disminuida en la insuficiencia renal. Concentraciones extremamente altas aparecen en rabdomiólisis (3).

Principio del método

Las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos específicos contra la mioglobina humana, al mezclarse con las muestras que contienen mioglobina, forman agregados los cuales van a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

Reactivos

Contenido del envase comercial

N Látex Mioglobina, N° de pedido OWIA

N Mioglobina Reactivo, 3 frascos c/u de 2,0 ml

N Mioglobina Estándar (humano), 3 frasco c/u de 1,0 ml

N Mioglobina Control (humano), 3 frasco c/u de 0,5 ml

N Mioglobina Reactivo adicional A, 3 frascos c/u de 0,5 ml

N Mioglobina Reactivo adicional B, 1 frasco de 1,6 ml

Composición y estandarización

El N Mioglobina Reactivo es un liofilizado de partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpo anti-Mioglobina humana de conejo.

El N Mioglobina Estándar está compuesto por un liofilizado de sueros humano, con adición de mioglobina humana. La concentración de mioglobina, después de la reconstitución del estándar, viene dada en la etiqueta del frasco.

El N Mioglobina Control está compuesto por un liofilizado de sueros humano, con adición de mioglobina humana. La concentración de mioglobina, después de la reconstitución del estándar, viene dada en la etiqueta del frasco.

Las concentraciones del N Mioglobina Estándar y del N Mioglobina Control fueron calibradas en relación a una mioglobina humana de alta pureza (preparado de referencia interno de Dade Behring Marburg GmbH).

El N Mioglobina Reactivo adicional A está compuesto por una solución tamponada de suero de conejo.

El N Mioglobina Reactivo adicional B esta compuesto por una solución de detergentes.

Agentes de conservación:

N Mioglobina Reactivo después de reconstituido: Gentamicina 6,25 mg/l, Anfotericina 0,625 mg/l

N Mioglobina Estándar y

N Mioglobina Control después de reconstituidos: Gentamicina 100 mg/l, Anfotericina 0,125 mg/l

N Mioglobina Reactivos adicionales: Azida de sodio < 1 g/l

Advertencias y medidas de seguridad

1. Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.

2. En el manejo de diagnósticos *in-vitro* que contengan azida sódica debe observarse la siguiente regla: ¡No ingerir y evitar contacto con la piel y mucosas! La azida sódica puede formar azidas explosivas con metales como cobre y plomo.

3. Cada donación de sangre destinada a la preparación del N Mioglobina Reactivo, N Mioglobina Estándar y N Mioglobina Control fue sometida a pruebas para detectar la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2. Para la elaboración sólo se utilizaron donaciones con resultados negativos. Independientemente de esto, todos los muestras y productos obtenidos a partir sangre humana (por ej., sueros y plasmas de pacientes) deben ser manipuladas con las precauciones necesarias, siguiendo las medidas de seguridad recomendadas en caso de riesgo biológico, puesto que nunca se puede excluir completamente la existencia de agentes patógenos (4)

Preparación de los reactivos

N Mioglobina Reactivo: Reconstituir el liofilizado contenido en un frasco con 2 ml de agua destilada. El reactivo se puede utilizar 15 min. después de reconstituido. Mezclar cuidadosamente antes de usarlo por primera vez.

N Mioglobina Estándar: Reconstituir el liofilizado contenido en un frasco con 1 ml de agua destilada. Mezclar la solución cuidadosamente. Después de 15 min. el reactivo está listo para ser usado.

N Mioglobina Control: Reconstituir el liofilizado contenido en un frasco con 0,5 ml de agua destilada. Mezclar la solución cuidadosamente. Después de 15 min. el reactivo está listo para ser usado.

Reactivos adicionales N Mioglobina: Pipetear 0,5 ml del N Mioglobina reactivo adicional B en un frasco del N Mioglobina reactivo adicional A; mezclar por agitación suave.

Estabilidad y condiciones de almacenamiento

Almacenamiento entre +2 y +8 °C:

La fecha de vencimiento viene indicada en la etiqueta;

Estabilidad después de abierto:

1 semana, (reactivo N Mioglobina reconstituido, reactivo N Mioglobina Estándar reconstituido, reactivo N Mioglobina Control reconstituido, así como la mezcla de N Mioglobina reactivos adicionales),

6 semanas (N Mioglobina reactivo adicional B), siempre que después de usarse, se mantengan perfectamente cerrados y almacenados entre +2 y +8 °C.

Los reactivos no se deben congelar.

Estabilidad en los sistema BN*:

El N Mioglobina Reactivo y los N Mioglobina reactivos adicionales mínimo 3 días, 8 horas por día, o un periodo de tiempo comparable.

Advertencia: La estabilidad „on board“ depende del sistema BN* utilizado, así como de las condiciones del laboratorio. Para más información consultar los manuales de operación de los sistemas BN* II y BN ProSpec®.

La estabilidad „on board“ del reactivo N Mioglobina Control en el BN ProSpec® System viene dada en el manual de operaciones del sistema.

Materiales adicionales necesarios:

Sistemas BN*

N Tampón de reacción, N° de pedido OUMS

N Diluyente, N° de pedido OUMT

Tapón protector de evaporación para el BN* II (opcional), N° de pedido OVLE

Otros materiales y equipos necesarios vienen descritos en los manuales de operación de los Sistemas BN*.

OWIA G11 E0541 (1653) H 5

Edición Noviembre 2003

Material a investigar

Para las medidas se deben usar, en lo posible, muestras frescas de sueros humanos (máximo 8 días, conservadas entre +2 y +8 °C) o almacenadas congeladas y muestras de plasmas con heparina o con EDTA. Si las muestras de suero se congelan dentro de las 24 horas subsiguientes a su toma, se pueden almacenar congeladas por debajo de -20 °C durante un mes, siempre que se evite su repetida congelación y descongelación. Las muestras de suero deben estar completamente coaguladas y no deben contener partículas o restos de fibrina, después de la centrifugación. Las muestras lipémicas o las muestras congeladas, que presenten turbidez después de su descongelación, deben ser aclaradas por centrifugación (10 min. a aprox 15000 x g) antes de empezar con la determinación.

Procedimiento

Advertencias

1. Para una detallada información sobre el manejo de los Sistemas BN* consultar el manual de operaciones del sistema correspondiente.
2. Los reactivos sólo se deben utilizar hasta la fecha de vencimiento dada en la etiquetas.
3. Sólo se deben combinar componentes del testkit (reactivo, estándar, controles, reactivos adicionales) que tengan el mismo número de lote.
4. Mantener el tiempo de reconstitución dado para los reactivos liofilizados (por lo menos 15 min. después de agregar el agua destilada).
5. Antes de iniciar la medida en los sistemas BN* A y BN* 100, los reactivos y las muestras tienen que haber alcanzado la temperatura ambiente (entre +15 y +25 °C). En los sistemas BN* II y BN ProSpec® se pueden utilizar los reactivos y las muestras almacenados entre +2 y +8 °C directamente en la determinación.
6. La medida de las muestras en los sistemas BN* A y BN* 100 se debe efectuar a la misma temperatura ambiente (máx. 3 °C de desviación) a la que se realizó la curva de calibración.

Protocolo del ensayo en los sistemas BN*

Los protocolos de ensayo para los sueros y plasmas vienen descritos en el manual de operaciones, así como también, en el software del aparato correspondiente. Todas las etapas van a ser realizadas por el sistema de forma automática.

Preparación de la curva de referencia

Las curvas de referencia se hacen sobre una calibración de varios puntos. Para su elaboración se preparan automáticamente una serie de diluciones del N Mioglobina Estándar con el N Diluyente. Las diluciones del estándar deben ser usadas dentro de las 4 horas siguiente. El valor teórico viene dado en la etiqueta del frasco correspondiente. En el sistema BN ProSpec® se puede leer este valor en el disquete de datos sobre el lote (N° de pedido OVPL). La curva de referencia es válida por 1 semanas.

Al utilizar un nuevo frasco de reactivo o un lote nuevo de reactivos o al hacer un cambio de lote para el N Tampón de reacción, se debe hacer una nueva curva de referencia. Para un número grande de muestras se recomienda, mezclar la cantidad de reactivos necesarios para 1 semana y realizar para estos la curva de referencia. El rango exacto de medida depende de la concentración de proteínas de cada lote de N Mioglobina Estándar. Los rangos de medida típicos vienen dados en el manual de operaciones del sistema BN* respectivo.

Medida de las muestras de pacientes

Las muestras van a ser automáticamente diluidas 1:20 con N Diluyente y deben ser medidas dentro de las 4 horas siguientes.

Para los valores medidos que se encuentren por fuera del rango de medida, se puede repetir la medida en una dilución mayor o menor de la muestra. La repetición de las medidas a otras diluciones de las muestras vienen descrita en los manuales de operaciones de los sistemas BN*.

Control de calidad interno

El N Mioglobina Control se debe usar, después de cada elaboración de una curva de referencia, después de abrir un frasco del reactivo por primera vez, así como, con cada serie de muestras. El control se debe tratar en su preparación y medida como las muestras de pacientes. Los valores teóricos para el N Mioglobina Control viene dado en la etiqueta. Como rango de confianza es válido el valor teórico ± 20%. En el sistema BN ProSpec® se puede leer este valor en el disquete de datos sobre el lote (N° de pedido OVPL). El valor teórico dado sirve como control de exactitud. Para usarse como control de la precisión, el usuario deberá determinar en un tiempo preliminar los valores de control y los límites de control.

Si los resultados de las medidas del control se encuentran por fuera de su rango de confianza, se debe repetir la determinación del control. Si después de la repetición, se comprueba la desviación, se debe realizar una nueva curva de referencia. Los resultados de los pacientes deben ser entregados únicamente cuando la causa de esta desviación sea conocida y eliminada.

Cálculo de los resultados del análisis

La valoración se efectúa automáticamente mediante una función logit-log.

Limitaciones y fuentes de error

Las alteraciones ocasionadas por los factores reumáticos (hasta 3000 UI/ml) van a mantenerse reprimidas mediante el uso de los reactivos adicionales. Para algunos casos aislados, se puede llegar a presentar una fuerte alteración de la determinación debido a la presencia de concentraciones demasiado elevadas de factor reumatoideo. Estas muestras deben ser determinadas por otro método. La presencia de turbidez o partículas en la muestra puede alterar la determinación, por lo cual, las muestras que contengan partículas deberán ser centrifugadas antes de la determinación. Muestras lipémicas que no se puedan aclarar por centrifugación (10 min. a aproximadamente 15 000 x g), así como las muestras inactivadas por calor, deben ser eliminadas de la determinación.

Después de medir muestras con una concentración de mioglobina aprox. > 30.000 µg/l, se pueden presentar en las siguientes determinaciones de mioglobina valores elevados falsos. En caso de duda se debe repetir la determinación.

Debido a los efectos matriz, las muestras para analizar inter-laboratorios y las muestras control pueden producir resultados diferentes, dependiendo del método utilizado para la determinación. Por esta razón, es necesario evaluar estos resultados en relación con valores objetivo específicos del método.

Rango de referencia

La concentración de mioglobina en plasma y en suero de personas clínicamente sanas depende de la edad y del sexo y presenta un rango de distribución muy amplio. Como límite superior del rango de referencia (97.5 percentile) se encontró una concentración de mioglobina de 70 µg/l (5). Sin embargo, cada laboratorio deberá determinar sus propios rango de referencia, ya que éste está influenciado por muchos factores, los cuales pueden ser diferentes para cada colectividad estudiada.

Características de la determinación

Sensibilidad

La sensibilidad analítica de la determinación se fija con el límite inferior de la curva de referencia y depende por lo tanto de la concentración de la proteína en el N Mioglobina Estándar.

Especificidad

No se conocen reacciones cruzadas del anticuerpo utilizado.

Precisión

La determinación de 3 concentraciones diferentes de mioglobina (aproximadamente 85, 160 y 310 µg/l) en el N Látex Mioglobina con los sistemas BN* dio coeficientes de variación de 2,0%, 2,4% y 2,9% para la precisión en la serie (n= 20), y de 4,8%, 4,2% y 5,0% para la reproducibilidad día a día (n= 15).

Comparación de métodos

En un estudio realizado en Europa se investigaron 117 muestras de sueros (concentraciones de mioglobina de aprox 840 µg/l) comparando N Látex Mioglobina (y), y un radioinmunoensayo existente en el comercio (x). Al comparar los resultados, por análisis de regresión lineal, se obtuvo la siguiente línea: y = 0,95x – 4,33 µg/l

Nota:

Los valores dados para las características de la determinación representan valores típicos y no se deben tomar como especificaciones para el N Látex Mioglobina.

Literatura

Ver página 1

BN ProSpec es una marca de fábrica registrada de Dade Behring Marburg GmbH en USA, Alemania y en otros países.

* BN es una marca de fabrica de Dade Behring Marburg GmbH en USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com





N Latex Mioglobina

Campo de aplicação

Diagnóstico in vitro para a determinação quantitativa de mioglobina no soro humano ou no plasma heparinizado e EDTA, através da imunonefelometria de partículas reforçadas com os sistemas BN*.

Significado diagnóstico

A mioglobina, uma proteína que contém inibidores, aparece predominantemente nas células da musculatura estriada transversal (músculos do esqueleto) e no músculo cardíaco. Quando estes músculos são lesados, a mioglobina é libertada e aparece no sangue. Em caso de lesões no músculo cardíaco provocadas, p. ex., por uma perfusão menor, após oclusão de uma artéria coronária (enfarte agudo do miocárdio), devido às perturbações de funcionamento da membrana das células do músculo cardíaco, produz-se a transferência das enzimas e outras proteínas para o sistema vascular. Transportada pela linfa, a mioglobina aparece já em elevadas concentrações no sangue periférico 2 a 3 horas após o início do sintoma atingindo, assim, valores patológicos, 3 a 4 horas antes da subida dos marcadores miocárdicos específicos, tais como CK-MB ou troponina. A subida íngreme da concentração de mioglobina no soro (os valores de pico são atingidos após 6 a 9 horas, os valores referentes às outras proteínas mencionadas só são atingidos após 1 a 2 dias), segue-se uma queda rápida provocada pela eliminação renal, de forma que, nos casos sem complicações, aproximadamente 24 horas após a ocorrência do enfarte, é possível obter novamente valores que se situam no intervalo de referência. Se 2 a 3 horas após o início do sintoma não for detectada qualquer concentração elevada de mioglobina no sangue do paciente e essa situação for confirmada com uma repetição da medição após aprox. 5 horas (1,2), poderá excluir-se, com grande probabilidade, o enfarte agudo do miocárdio. Em caso de suspeita de enfarte agudo do miocárdio, a determinação de uma marcador de reacção precoce, tal como a mioglobina, é aconselhável como auxílio do diagnóstico (1). Uma terapia de perfusão trombolítica com sucesso provoca a libertação de proteínas cardíacas na circulação em aprox. 90 minutos (1). Após a ocorrência de, p. ex., traumas musculares, reanimação, miopatias, estados de choque, esforços corporais extremos, podem produzir-se elevações da concentração de mioglobina no sangue não condicionadas por um enfarte, ou provocadas por uma eliminação reduzida em caso de insuficiência renal. Concentrações extremamente elevadas ocorrem em caso de rhabdmiólise (3).

Princípio metodológico

As partículas de poliestireno revestidas com anticorpos específicos contra a mioglobina humana, quando misturadas com amostras que contêm mioglobina, formam aglutinados que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersa depende da concentração da respectiva proteína na amostra. A avaliação é feita por comparação com um padrão de uma concentração conhecida.

Reagentes

Conteúdo da embalagem comercial

N Latex Mioglobina, ref. OWIA

Reagente N Mioglobina, 3 frascos para 2,0 ml, cada

Standard N Mioglobina (humano), 3 frasco para 1,0 ml, cada

Controlo N Mioglobina (humano), 3 frascos para 0,5 ml, cada

Reagente suplementar A N Mioglobina, 3 frascos com 0,5 ml

Reagente suplementar B N Mioglobina, 1 frasco com 1,6 ml

Composição e estandarização

O Reagente N Mioglobina é composto por um liofilizado de partículas de poliestireno, revestidas de anticorpos de mioglobina anti-humana do coelho. O Standard N Mioglobina é composto por uma mistura liofilizada de soros humanos, misturada com mioglobina humana. A concentração de mioglobina após a reconstituição está indicada no rótulo do frasco.

O Controlo N Mioglobina é composto por uma mistura liofilizada de soros humanos, misturada com mioglobina humana. A concentração de mioglobina após a reconstituição do controlo está indicada no rótulo do frasco.

A concentração de Standard N Mioglobina e Controlo N Mioglobina foi calibrada tomando por referência mioglobina humana altamente purificada (preparado de referência interno da Dade Behring Marburg GmbH).

O Reagente suplementar A N Mioglobina é composto por uma solução tamponada de soro de coelho. O Reagente suplementar B N Mioglobina é composto por uma solução detergente.

Conservantes:

Reagente N Mioglobina após reconstituição: Gentamicina 6,25 mg/l, Anfotericina 0,625 mg/l

Standard N Mioglobina e

Controlo N Mioglobina após reconstituição: Gentamicina 100 mg/l, Anfotericina 1,25 mg/l

Reagente suplementar N Mioglobina: Azida de sódio < 1 g/l

Advertências e medidas de precaução

- Só para uso diagnóstico in vitro.
- Ao manipular diagnósticos in vitro com teor de azida de sódio, é necessário tomar em consideração: Evitar a ingestão e o contacto com a pele ou mucosas! Ao eliminar no esgoto, lavar com muita água. A azida de sódio em contacto com metais pesados como o cobre ou o chumbo, pode formar azidas explosivas.
- Cada dádiva individual de sangue prevista para a produção de Reagente N Mioglobina, Standard N Mioglobina e Controlo N Mioglobina, foi analisada em termos de HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 e Anti-HIV2. Na produção só foram utilizadas dádivas com resultado negativo. Independentemente disso, devido ao risco de micróbios patogénicos que não pode ser excluído, todas as amostras obtidas a partir do sangue humano deverão ser manipulados com o devido cuidado e respeito pelas medidas de segurança recomendadas em caso de risco biológico (4).

Preparação dos reagentes

Reagente N Mioglobina: O conteúdo do liofilizado de um frasco deverá ser reconstituído com 2,0 ml de água destilada. O reagente pode ser utilizado 15 min. após a reconstituição. Antes do primeiro uso, deverá ser misturado cuidadosamente.

Standard N Mioglobina: O conteúdo do liofilizado de um frasco deverá ser dissolvido em 1,0 ml de água destilada. A solução deverá ser misturada cuidadosamente. O Standard está pronto para uso 15 min. após a reconstituição.

Controlo N Mioglobina: O conteúdo do liofilizado de um frasco deverá ser dissolvido em 0,5 ml de água destilada.

A solução deverá ser misturada cuidadosamente. O controlo está pronto para uso 15 min. após a reconstituição. Reagentes suplementares N Mioglobina: Num frasco com reagente suplementar A N Mioglobina deverão ser pipetados 0,5 ml de reagente suplementar B N Mioglobina e misturados, agitando ligeiramente.

Estabilidade e condições de conservação

Conservação entre +2 e +8 °C: O prazo de estabilidade está indicado no rótulo;

Estabilidade após abertura: 1 Semana (reagente N Mioglobina reconstituído, Standard N Mioglobina reconstituído, controlo N Mioglobina reconstituído e mistura dos reagentes suplementares N Mioglobina), 6 Semanas (reagente suplementar B N Mioglobina), desde que fechado novamente hermeticamente, imediatamente após o uso e conservado entre +2 e +8 °C. Os reagentes não podem ser congelados.

Estabilidade nos sistemas BN*: Reagente N Mioglobina e reagente suplementar N Mioglobina: 3 dias, no mínimo, com 8 horas, ou período de tempo equivalente.

Nota: A estabilidade "on-board" depende do sistema BN* utilizado, bem como das condições laboratoriais. Mais indicações poderão ser consultadas nos manuais de instruções do sistema BN* II e BN ProSpec®. A estabilidade "on-board" do controlo N Mioglobina no sistema BN ProSpec® está indicada no manual de instruções do sistema.

Outros materiais necessários

Sistema BN*

Tampão de reacção N, ref. - OUMS

Diluyente N, ref. OUMT

Evaporations Stoppers BN* II (facultativo), ref. OVLE

Material de consumo e equipamento descrito nos manuais de serviço dos sistemas BN*.

Material de análise

Para a medição deverão ser usadas amostras de soro humano ou de plasma heparinizado e EDTA, tão frescas quanto possível, (máximo de conservação: 8 dias entre +2 e +8 °C) ou amostras congeladas.

Se as amostras forem congeladas num período de tempo de 24 horas após a colheita, podem ser conservadas durante 1 mês a uma temperatura inferior a -20 °C, se for evitada a repetição da descongelação e da congelação. As amostras de soro devem estar completamente coaguladas e não apresentar partículas ou vestígios de fibrina após a centrifugação.

As amostras lipémicas ou as amostras congeladas que se apresentem turvas após a descongelação, deverão ser clarificadas através de centrifugação (10 min. a 15.000 x g) antes da determinação.

Execução do teste

Notas

- Os pormenores para a manipulação dos sistemas BN* deverão ser retirados do respectivo manual de instruções.
- Os reagentes não podem ser utilizados após a data de expiração indicada.
- Só podem ser combinados componentes (reagente, standard, controlo, reagente suplementar) de kits de teste com lotes com a mesma designação.
- É necessário respeitar o tempo de reconstituição indicado para os reagentes liofilizados (mín. de 15 minutos, após adição de água destilada).
- Antes da medição no sistema BN* A / BN* 100, é necessário que os reagentes e as amostras tenham atingido a temperatura ambiente (+15 a +25 °C). Os reagentes e as amostras conservadas entre + 2 e + 8 °C também podem ser utilizados directamente no sistema BN* II / BN ProSpec®.
- No sistema BN* A / BN* 100 a medição das amostras deverá ser efectuada à mesma temperatura ambiente, a que foi registada a curva de referência (desvio máx. de 3 °C).

Protocolo de ensaio nos sistemas BN*

O protocolo de ensaio para o soro e o plasma está contido no manual de instruções e no software do respectivo instrumento. Todos os passos são executados automaticamente pelo sistema.

Estabelecimento da curva de referência

As curvas de referência são obtidas por uma calibração de pontos múltiplos. São efectuadas, automaticamente, séries de diluição do Standard N Mioglobina, usando o N Diluyente. As diluições do padrão têm de ser utilizadas dentro de 4 horas. O valor nominal está indicado no rótulo do respectivo frasco. No sistema BN ProSpec® este valor pode ser lido com a disquete de indicação do lote (ref. OVLP). A curva de referência é válida durante uma semana. Se for utilizado um novo frasco de reagente ou um outro lote de reagente, ou se o lote do tampão de reacção N for substituído, é necessário registar uma nova curva de referência. Se for testado um volume elevado de amostras, é aconselhável misturar as quantidades de reagente necessárias para efectuar as medições durante uma semana e estabelecer a curva de referência para as mesmas. O intervalo de medição exacto depende da concentração de proteína de cada lote de Standard N Mioglobina. Os intervalos de medição típicos estão indicados no manual de instruções do respectivo sistema BN*.

Medição de amostras de paciente

As amostras são diluídas automaticamente com N Diluyente na relação 1:20. As diluições têm de ser medidas num período de 4 horas. Para os valores medidos que se situem fora do intervalo de medição, a medição pode ser repetida a partir de uma diluição superior ou inferior da amostra. As medições de repetições de outras diluições da amostra estão descritas nos manuais de instruções dos sistemas BN*.

Controlo interno de qualidade

O controlo N Mioglobina deverá ser utilizado após o estabelecimento de uma curva de referência, após a primeira utilização de uma carga de reagente e em cada série de amostras. Na preparação e na avaliação, o controlo é tratado como amostras de paciente. O valor nominal do controlo N Mioglobina está indicado no rótulo do frasco. O valor nominal de ± 20% é considerado como intervalo de confiança. No sistema BN ProSpec® o valor nominal pode ser lido com a disquete de indicação do lote (ref. OVLP). O valor nominal indicado serve para o controlo da exactidão. Se forem utilizados controlos de precisão, o valor e os limites do controlo deverão ser determinados pelo utilizador num período preliminar. Se o resultado das medições de controlo se situar fora do intervalo de confiança, a determinação do controlo deverá ser repetida. Se o desvio for confirmado através da repetição da medição, deverá ser registada uma nova curva de referência. Os resultados para os pacientes não são permitidos, até a causa do desvio ser identificada e eliminada.

Cálculo dos resultados da análise

A avaliação é efectuada através de uma função de Logit-Log.

Limites de execução do teste

As interferências provocadas pelos factores reumatóides (até 3000 IU/ml) são suprimidas com a utilização do reagente complementar. Todavia, devido às fortes concentrações de factores reumatóides, esporadicamente podem ocorrer perturbações das determinações. Essas amostras têm de ser medidas com um outro método. As turvações e as partículas nas amostras podem perturbar a determinação. Por isso, as amostras que contêm partículas deverão ser centrifugadas antes da determinação. As amostras lipémicas que não se conseguem clarificar com a centrifugação (10 min. a aprox. 15.000 x g), e as amostras inactivadas pelo calor deverão ser excluídas da determinação. Após a medição de amostras com uma concentração de mioglobina de aprox. > 30.000 µg/l, podem obter-se valores elevados incorrectos para a determinação de mioglobina executada imediatamente a seguir. Em caso de dúvida, é aconselhável repetir a medição. Devido aos efeitos matriciais, as amostras de controlo ou amostras de investigação interlaboratorial podem apresentar resultados diversos, em função dos métodos de determinação utilizados. Por isso, poderá ser necessário proceder à avaliação destes resultados com base em valores específicos do método pré-fixados.

Intervalo de referência

O teor de mioglobina no plasma e no soro de indivíduos clinicamente saudáveis depende da idade e do sexo e apresenta um vasto intervalo de distribuição. Como limite superior do intervalo de referência (97,5 percentis) estabeleceu-se uma concentração de mioglobina de 70 µg/l (5). Além disso, cada laboratório deverá determinar os seus escalões de referência próprios, já que estes dependem de muitos factores que podem variar consoante a população examinada.

Características de performance

Sensibilidade

A sensibilidade analítica da determinação é definida pelo limite inferior da curva de referência e depende, assim, da concentração de proteína no padrão Standard N mioglobina.

Especificidade

Não se conhecem reacções cruzadas do anticorpo utilizado.

Precisão

Com o N Latex Mioglobina, na determinação de 3 concentrações diferentes de mioglobina (aprox. 85, 160 e 310 µg/l) obtiveram-se, no sistema BN*, coeficientes de variação de 2,0%, 2,4% e 2,9% para a precisão na série (n=20) e coeficientes de variação de 4,8%, 4,2% e 5% para a reprodutibilidade no dia a dia (n=15).

Comparação de métodos

Num estudo conduzido na Europa, no sistema BN* (y) foram testadas 117 amostras séricas (concentrações de mioglobina até aprox. 8400 µg/l) comparativamente com N Latex Mioglobina e um teste comercial radioimune (x). A comparação dos resultados através da análise de correlação forneceu a seguinte equação de regressão: y = 0,95 x – 4,33 µg/l.

Nota: Os valores de performance da determinação indicados representam resultados típicos e não deverão ser considerados como Especificação para a N Latex Mioglobina.

Bibliografia

Veja a página 1.

BN ProSpec é uma marca registada da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA, Alemanha e noutros países.

* BN é uma marca da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA.

 Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com



Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / <i>In Vitro</i> Diagnosticum / Dispositif Médical Diagnostic <i>In Vitro</i> / Dispositivo Medico per Diagnostica <i>In Vitro</i> / Producto sanitario para Diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de Lot / Numero di Lotto / Número de Lote
	Expiration Date / Verfalldatum / Date de Péremtion / data di scadenza / Fecha de vencimiento / termo da validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de Conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de armazenagem
	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / CE Marca / Marca CE
	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence / Codice Catalogo / Número de Catálogo
	Consult instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la Notice d'Utilisation / Istruzioni per l'uso / Consultar Instrucciones para el Uso / Consulte as Instruções de Utilização