

# Fluitest® CK NAc

CREATINE-KINASE



## BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B4501	200 / 600	R1	6 x	47 ml
		R2	6 x	11 ml
B4503	300 / 600*	R1	6 x	60 ml
		R2	6 x	15 ml

\*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

## Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of Creatine Kinase (CK) in human serum and plasma.

## Summary:

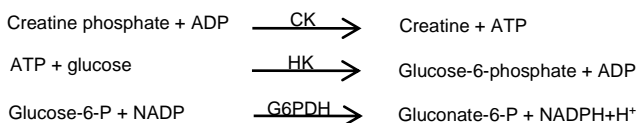
Creatine kinase (CK) is a dimeric enzyme occurring in four different forms: a mitochondrial isoenzyme and the cytosolic isoenzymes CK-MM (muscle type), CK-BB (brain type) and CK-MB (myocardial type).

The determination of CK and CK-isoenzyme activities is utilized in the diagnosis and monitoring of myocardial infarction and myopathies such as the progressive Duchenne muscular dystrophy. Following injury to the myocardium, such as occurs with acute myocardial infarction. CK is released from the damaged myocardial cells. In early cases, a rise in the CK activity can be found just 4 hours after an infarction, the CK-activities reaches a maximum after 12-24 hours and then falls back to the normal range after 3-4 days. Myocardial damage is very likely when the total CK activity is above 190 U/l, the CK-MB activity is above 24 U/l (+37°C) and the CK-MB activity fraction exceeds 6% of the total.

The assay method using creatine phosphate and ADP was first described by Oliver, modified by Rosalki and further improved for optimal test conditions by Szasz. CK is rapidly inactivated by oxidation of the sulfhydryl groups in the active center. The en-zyme can be reactivated by the addition of acetylcysteine (NAC). Interference by adenylate kinase is prevented by the addition of diadenosine pentaphosphate and AMP. Standardized methods for the determination for CK using the "reverse reaction" and activation by NAC were recommended by the German Society for Clinical Chemistry (DGKC) and the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) in 1977 and 1990 respectively. This assay meets the recommendations of the IFCC and DGKC (Standard method 94).

## Test principle:

UV Test



Equimolar quantities of NADPH and creatine are formed at the same rate. The photometrically measured rate of formation of NADPH is proportional to the CK activity.

## Reagent Concentration:

### R1:

Imidazole Buffer, pH 6.7	110 mmol/l
Glucose	21 mmol/l
Mg-Acetate	11 mmol/l
EDTA	2,1 mmol/l
NADP	2,4 mmol/l
N-Acetylcysteine	24 mmol/l
Hexokinase (HK)	≥ 2,5 U/l
Preservatives/Stabilizers	<1 %

### R2:

Tris Buffer, pH 9.1	50 mmol/l
ADP	2,4 mmol/l
AMP	6 mmol/l
Diadenosinpentaphosphate	12 µmol/l
G-6-P-DH	≥ 1,7 U/l
Creatinephosphate	186 mmol/l

## Preparation and stability:

Unopened kid components: Up to the expiry date at +2°C to +8°C.

R1: Ready for use

R2: Ready for use

Onboard stability:	R1:	60 days
	R2:	60 days

## Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes. Heparinized- or EDTA-plasma

Stability:	7 days	at + 4°C to + 8°C (2%)
	2 days	at +20°C to +25°C (2%)

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

## Notes:

For in vitro diagnostic use.



Warning! R1 contains hazardous material.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions for handling all laboratory reagents.

## Limitation interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Icterus: No significant interference up to an index I of 60 (approximate bilirubin concentration: 60 mg/dl).

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1200 (approximate haemoglobin concentration: 1200 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1200 (approximate triglycerides concentration: 2400 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of sulfasalazine and sulfapyridine. Physiological plasma concentrations of sulfasalazine or sulfapyridine can lead to incorrect results.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

## Testing procedure:

### Materials provided

- Working solutions as described above

### Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

## Measuring / reportable range:

15 – 1000 U/l (0.25 – 16.6 µkat/l)

Determine samples with higher activities via the rerun function with 0.9 % NaCl.

## Analytical sensitivity (lower detection limit):

5.2 U/l (0.087 µkat/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable CK concentration that can be distinguished from zero.

## Expected values:

On the basis of the optimized standard method of the DGKC (1977) and the IFCC method.

**Myocardial infarction:** There is high probability of myocardial damage when the following three conditions are fulfilled:

		+25°C	+30°C	+37°C
1	CK Men	>80 U/l (1.33 µkat/l)	>130 U/l (2.17 µkat/l)	>190 U/l* (3.20 µkat/l)
	CK Women	>70 U/l (1.17 µkat/l)	>110 U/l (1.83 µkat/l)	>170 U/l* (2.85 µkat/l)
2	CK-MB	>10 U/l (0.17 µkat/l)	>15 U/l (0.25 µkat/l)	>25 U/l* (0.42 µkat/l)
3	The CK-MB-activity accounts for 6-25% of the total CK activity.			

\* Calculated values

If MI is suspected but the values obtained are below the specified limits, a fresh infarct may have occurred. In this case, tests should be repeated after 4 hours.

The following factors were used for converting the reference values from 25°C: 1.53 (+30°C) and 2.38 (+37°C).

CK varies with physical activity level and race in healthy individuals.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the CK results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

### Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained (n = 20):

Within run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control serum 1	150.31	1.823	1.2
Control serum 2	504.57	1.703	0.3
Control serum 3	323.28	1.693	0.5

Run to run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control serum 1	587.59	7.933	1.4
Control serum 2	124.49	3.586	2.9
Control serum 3	335.80	6.568	2.0

### Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® CK-NAc (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 0.9596x - 1,0182; \quad r = 0.9999$$

### Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320
Serum Control CK, CK-MB	2 x 2 ml	#1541

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

### Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal® Specific Enzymes	1 x 2 ml	#14575

### Calibration frequency:

Two point calibration is recommended

- after reagent lot change
- as required following quality control procedure

### Disposal:

Please note the legal regulations.

### Literature:

1. Black H.R., Quallich H Gareleck CB. Racial differences in serum Creatine kinase levels Am J Med 7986;81:479-487
2. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474. Passing H., Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
3. Guder W.G., Narayanan S., Wisser H., Zawta B. List of Analytes Preatalytical Variables, Brochure in Samples: From The Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996
4. Horder M., Elser R.C., Gerhard M. et al. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration Chem. Clin Biochem 1991;29:435-456
5. Klauke R., Schmidt E., Lorentz K., Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentration of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and  $\gamma$ - glutamyltransferase at 37°C. Eur. J Clin Chem. Clin Biochem. 1993;31:901-909
6. Lorentz K., Röhle G., Siekmann L. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26:190-192
7. Moss D.W., Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 617 - 721 (1999)
8. Oliver I.T. Biochem J Lab Clin Chem. Med 1967; 69-696J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 249 (1977)
9. Recommendations of the German society for Clinical chemistry. standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Biochem 15: 255 -260 1977
10. Stein W. Laboratory Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. Darmstadt: GIT Verlag 1988: 34-37.
11. Stein W. Med. Welt 1985;36:572
12. Szasz G. Busch E.W. Third European Congress of Clinical Chemistry Brighton, England 3.-8. June 1979 (Abstract)
13. Szasz, G. et al Clin. Chem. 22, 650 (1976)
14. Thomas L. ed. Labor und Diagnose, 4th . Marburg: die Medizinische Verlagsgesellschaft.1992
15. Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:486--487.
16. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

### Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt
B4501	200 / 600	R1 6 x 47 ml
		R2 6 x 11 ml
B4503	300 / 600*	R1 6 x 60 ml
		R2 6 x 15 ml

\*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

### Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Creatin-Kinase (CK) in Humanserum und -plasma.

### Zusammenfassung:

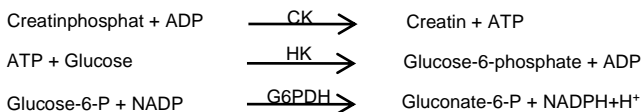
Creatinkinase (CK) ist ein dimeres Enzym, welches in vier unterschiedlichen Formen auftritt: einem mitochondrialen Isoenzym sowie den zytosolischen Isoenzymen CK-MM (Muskel-Typ), CK-BB (Hirn-Typ) und CK-MB (Myocardtyp). Die CK- und CK-Isoenzym-Aktivitätsbestimmungen dienen zur Diagnose und Verlaufskontrolle des Myokardinfarktes sowie von Muskelerkrankungen wie die progressive Duchenne-Muskeldystrophie. Bei Herzmuskelschädigungen wie bei einem akuten Myokardinfarkt, wird CK aus zerstörten Herzmuskelzellen freigesetzt. Ein Anstieg der CK-Aktivität im Blut ist in frühen Fällen 4 Stunden nach einem Infarkt festzustellen. Die CK-Aktivität durchläuft nach 12-24 Stunden das Maximum und fällt nach 3-4 Tagen wieder in den Referenzbereich ab. Eine Herzmuskelschädigung ist sehr wahrscheinlich, wenn die CK-Gesamtaktivität über 190 U/l, die CK-MB-Aktivität über 24 U/l (+37°C) angestiegen ist und der prozentuale CK-MB-Aktivitätsanteil 6% überschreitet.

Die Bestimmungsmethode mit Creatinphosphat und ADP wurde zuerst von Oliver beschrieben, von Rosalki modifiziert und von Szasz auf optimale Testbedingungen verbessert. Die CK wird durch Oxidation der Sulfhydrylgruppen im aktiven Zentrum rasch inaktiviert. Nach Zugabe von Acetylcystein/(NAC) kann das Enzym reaktiviert werden. Interferenzen durch Adenylat-Kinase werden durch Zugabe von Diadeno-sin-pentaphosphat und AMP vermieden. Die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC) empfahl 1977 und die International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) 1990 standardisierte Methoden zur Bestimmung der CK mit Rückreaktion und Aktivierung durch NAc.

### Testprinzip:

UV-Test nach Empfehlungen der IFCC und DGKC (Standardmethode 94).

- Probe und Zugabe von R1
- Zugabe von R2 (Puffer/Enzym) und Start der Reaktion:



Bezogen auf äquimolare Mengen verläuft die Bildung von NADPH und Creatin mit der gleichen Geschwindigkeit. Die Geschwindigkeit der photometrisch gemessenen NADPH-Bildung ist der CK-Aktivität proportional.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

<b>R1:</b>	
Imidazol-Puffer, pH 6,7	110 mmol/l
Glucose	21 mmol/l
Mg-Acetat	11 mmol/l
EDTA	2,1 mmol/l
NADP	2,4 mmol/l
N-Acetylcystein	24 mmol/l
Hexokinase (HK)	≥ 2,5 U/l
Konservierungsstoffe/ Stabilisator	<1 %
<b>R2:</b>	
Tris-Puffer, pH 9,1	50 mmol/l
ADP	2,4 mmol/l
AMP	6 mmol/l
Diadenosin-pentaphosphat	12 µmol/l
G-6-P-DH	≥ 1,7 U/l
Creatinphosphat	186 mmol/l

### Herstellung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Packungsbestandteile: bei +2°C bis +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum.

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig	
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig	
Onboard-Stabilität	R1: 60 Tage
	R2: 60 Tage

### Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Heparin- oder EDTA-Plasma	
Haltbarkeit:	2 Tage bei +20°C bis +25°C
	7 Tage bei +4°C bis +8°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum.



Warnung! R1 enthält Gefahrstoffe.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 60 (ca. 60 mg/dl Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis einem Index H 1200 (ca. 1200 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1200 (ca. 2400 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Sulfasalazin und Sulfapyridin entnommen werden. Physiologische Plasmakonzentrationen von Sulfasalazin oder Sulfapyridin können zu falschen Ergebnissen führen.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

### Testverfahren:

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

### Messbereich:

15 – 1000 U/l (0,25 – 16,6 µkat/l)

Proben mit höheren Aktivitäten werden über die Rerun-Funktion bestimmt.

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

5,2 U/l bzw. 0,087 µkat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren CK- Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

### Referenzbereich:

Referenzbereich auf Basis der optimierten Standardmethode der DGKC (1977) und der IFCC Methode.

Herzinfarkt: hohe Wahrscheinlichkeit für Myokardschaden liegt vor, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind.

		+25°C	+30°C	+37°C
1	CK <sub>Männer</sub>	>80 U/l (1,33 µkat/l)	>130 U/l (2,17 µkat/l)	>190 U/l* (3,20 µkat/l)
	CK <sub>Frauen</sub>	>70 U/l (1,17 µkat/l)	>110 U/l (1,83 µkat/l)	>170 U/l* (2,85 µkat/l)
2	CK-MB	>10 U/l (0,17 µkat/l)	>15 U/l (0,25 µkat/l)	>25 U/l* (0,42 µkat/l)
3	Anteil der CK-MB-Aktivität an der CK-Gesamtaktivität liegt im Bereich 6-25%.			

\*Berechnete Werte

Wenn ein Verdacht auf Herzinfarkt besteht und die Messwerte trotzdem unter den angegebenen Grenzen liegen, kann es sich um einen frischen Infarkt handeln. In diesem Fall sollten die Bestimmungen nach 4 Stunden wiederholt werden.

Folgende Faktoren wurden für die Umrechnung des Referenzbereichs von +25°C verwendet: 1.53 (+30°C) und 2.38 (+37°C)

Bei Gesunden finden sich je nach Aktivität und Rasse unterschiedliche CK-Werte.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die CK- Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

In der Serie			
Probe	MW U/l	SD U/l	VK %
Kontrollserum 1	150,31	1,823	1,2
Kontrollserum 2	504,57	1,703	0,3
Kontrollserum 3	323,28	1,693	0,5

Tag / Tag			
Probe	MW U/l	SD U/l	VK %
Kontrollserum 1	587,59	7,933	1,4
Kontrollserum 2	124,49	3,586	2,9
Kontrollserum 3	335,80	6,568	2,0

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® CK-NAC (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (U/l).

$$y = 0,9596x - 1,0182; \quad r = 0,9999$$

### Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
ControPath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320
Serum Control CK, CK-MB	2 x 2 ml	#1541

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

### Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0.9% NaCl		
S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal® Specific Enzymes	1 x 2 ml	#14575

### Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- bei Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

### Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

### Literatur:

1. Black H.R., Quallich H., Gareleck C.B. Racial differences in serum creatine kinase levels Am J Med 1986;81:479-487
2. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson S.A.. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474. Passing H., Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
3. Guder W.G., Narayanan S., Wisser H., Zawta B. List of Analytes Preanalytica Variables, Broschüre in Samples: From The Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996
4. Horder M., Elser R.C., Gerhard M et al. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration Chem. Clin Biochem 1991;29:435-456
5. Klauke R., Schmidt E., Lorentz K., Recommendations for carrying out standard ECCLSprocedures (1988) for the catalytic concentration of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and  $\gamma$ -glutamyltransferase at 37°C. Eur. J Clin Chem. Clin Biochem. 1993;31:901-909
6. Lorentz K., Röhle G., Siekmann L. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26:190-192
7. Moss D.W., Henderson A.R.. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 617 - 721 (1999)
8. Oliver I.T. Biochem J Lab Clin Chem. Med 1967; 69-696J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 249 (1977)
9. Recommendations of the German society for Clinical chemistry. standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Biochem 15: 255 -260 1977
10. Stein W. Laboratory Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. Darmstadt: GIT Verlag 1988: 34-37.
11. Stein W. Med. Welt 1985;36:572
12. Szasz G. et al Clin. Chem. 22, 650 (1976)
13. Szasz G., Busch E.W. Third European Congress of Clinical Chemistry Brighton, England 3.-8. Juni 1979 (Abstract)
14. Thomas L (Hrsg.) Labor und Diagnose, 4. Auflage. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft.1992
15. Tietz N.W. (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:486--487.
16. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.