

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B4701	200 / 600	R1	6 x	47 ml
		R2	6 x	11 ml
B4703	300 / 600*	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	5 ml

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

Intended use:

Immuno-inhibition assay for the quantitative in vitro determination of the MB isoenzyme of creatine kinase 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-MB is an important element in the diagnosis of myocardial ischemia, e.g. in acute myocardial infarction or myocarditis. CK-MB is detectable in the blood about 3-8 hours after the onset of cardiac symptoms and can be detected over a lengthy period of time. CK-MB may also appear in other clinical conditions such as rhabdomyolysis and stroke. Within the scope of laboratory diagnostics, the determination of total CK, myoglobin and troponin T can contribute to the differentiation of these clinical pictures. The sensitivity of a CK-MB determination is dependent upon the time at which the sample was taken. Follow-up assays are therefore meaningful.

Test principle:

Immunological UV assay

- Sample and addition of R1 (buffer/enzymes/coenzyme/antibody)
- Addition of R2 (buffer/substrate) and start of reaction.

Human CK-MB is composed of two subunits, CK-M and CK-B which both have an active site. With the aid of a polyclonal antibody to CK-M, the catalytic activity of CK-M subunits in the sample is inhibited to 99.6% without affecting the CK-B subunits. The remaining CK-B activity, corresponding to half the CK-MB activity, is determined by the CK-MB method analogous to total CK. As the CK-BB isoenzyme only rarely appears in serum and the catalytic activity of the CK-M and CK-B subunits hardly differ, the catalytic activity of the CK-MB isoenzyme can be calculated from the measured CK-B activity by multiplying the result by 2.

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
PAK-CK-MM antibody (Sheep) Inhibition capacity up to	2000 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:

R1: Ready for use

R2: Ready for use

Unopened kid components are stable up to the expiry date at +2°C to +8°C.

Onboard stability:	R1	90 days
	R2	90 days

Specimen:

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized- or EDTA-plasma

Stability:	2 days	at 20 °C - 25°C
	7 days	at 4 °C - 8°C
	4 weeks	at -20°C

• Prior to the CK-MB assay, the total CK activity should be determined by the CK-NAC method. The antibody is capable of inhibiting up to 2000 U/l CK-M subunit (37°C). Accordingly, CK-MM activities up to 1000 U/l (37°C) are completely inhibited. Therefore, samples with total CK activities above 1000 U/l (37°C) require dilution because complete inhibition is no longer assured. When the total CK activities are above 1000 U/l (16.67 µkat/l), the CK-MB sample is diluted in the analyzer with 0.9% NaCl.

Notes:

For in vitro diagnostic use.



Warning! R1 contains hazardous components.

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.

Hemolysis: No significant interference up to an H Index of 500 (approximate hemoglobin concentration: 500 mg/dl).

Icterus: No significant interference up to an I index of 80 for bilirubin (approximate bilirubin concentration: 80 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): no significant interference up to an L index of 175 (approximate triglycerides concentration: 350 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

In patients with a disposition to macro-CK formation, implausibly high CK-MB values may be measured in relation to the total CK, since the macroforms mainly consist of CK-B subunits. As these patients have generally not suffered a myocardial infarction, additional diagnostic measures are necessary.

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:

Up to 600 U/l (10 µkat/l)

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

Analytical sensitivity (lower detection limit):

1.66 U/l (0.027 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* (3.17 µkat/l)
	CK _{Women}	>70 U/l (1.17 µkat/l)	>110 U/l (1.83 µkat/l)	>167 U/l* (2.87 µkat/l)
2	CK-MB	>10 U/l (0.17 µkat/l)	>15 U/l (0.25 µkat/l)	>24 U/l* (0.40 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 individual physiology 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 between day (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	23.14	0.745	3.2
Sample 2	61.84	0.901	1.5
Sample 3	170.44	2.166	1.3

Run to run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	157.68	3.435	2.0
Sample 2	23.38	1.796	7.7
Sample 3	64.95	2.491	3.8

Method comparison:

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

$$y = 1.074 x - 3.01; \quad r = 0.999$$

Quality Control:

Human Control Serum

Serum Control CK, CK-MB 2 x 2 ml #1541

For quality control, use a suitable control material. 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® Specific Enzymes 1 x 2 ml #14575

Calibration frequency

Two point calibration is recommended

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

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literatur:

1. Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB Creatine kinase the choice for the 1990? Circulation 1993;88:750-763.
2. Apple FS. Diagnostic markers for detection of acute myocardial infarction and reperfusion. Laboratory Medicine 1992;23:297-322.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474. Passing H, Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytica Variables, Broschüre in Samples: From The Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996
5. Jockers-Wretou E, Pileider G. Clin Chim Acta 1975;58:223.
6. Neumeier D, Prellwitz W, Würzburg U et al. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity - Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. Clin Chim Acta 1976;73:445-451 .
7. Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: Biochemical Characterization, Clinical Significance, and Laboratory Detection. Clin Chem 1989;35:2261-2270.
8. Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
9. Stein W. Med. Welt 1985;36:572
10. Szasz G Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry Brighton, England 3.-8. Juni 1979 (Abstract)
11. Würzburg U et al. Klin Wschr 1976;54:357

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

BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B4701	200 / 600	R1 6 x 47 ml
		R2 6 x 11 ml
B4703	300 / 600*	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 5 ml

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

Anwendungszweck:

In vitro Immunitest zur quantitativen Bestimmung des Creatinkinase Isoenzym MB 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 (Myocard Typ). Die Bestimmung der CK-MB stellt einen wichtigen Bestandteil in der Diagnostik der Myocardischämie dar, wie bei akutem Herzinfarkt oder Myocarditis. CK-MB wird ab ca. 3-8 Stunden nach Auftreten der Beschwerdesymptomatik im Blut nachweisbar und kann über längere Zeit nachweisbar bleiben. CK-MB kann auch bei anderen Erkrankungen auftreten wie bei Rhabdomyolyse und Schlaganfall. Die Bestimmung der Gesamt CK und des Myoglobin und Troponin T können im Rahmen der Labordiagnostik zur Differenzierung dieser Krankheitsbilder beitragen. Die Testsensitivität einer CK-MB Bestimmung ist abhängig vom Zeitpunkt der Probenentnahme. Folgebestimmungen sind deswegen sinnvoll.

Testprinzip:

Immunologischer UV-Test

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer/Enzyme/Coenzym/Antikörper)
- Zugabe von R2 (Puffer/Substrat) und Start der Reaktion:

Humanes CK-MB besteht aus zwei Untereinheiten, CK-M und CK-B, die beide ein eigenes aktives Zentrum besitzen. Durch einen polyclonalen Antikörper gegen CK-M wird die katalytische Aktivität der CK-M Untereinheiten in der Probe – ohne Beeinflussung der CK-B Untereinheiten – zu 99,6% gehemmt. Die verbleibende CK-B Aktivität, die der Hälfte der CK-MB Aktivitäten entspricht, wird analog zur CK-Gesamtaktivität nach der Methode CK-MB bestimmt. Da das Isoenzym CK-BB im Serum nur sehr selten vorkommt und sich die katalytische Aktivität der Untereinheiten CK-M und CK-B kaum unterscheiden, kann aus der gemessenen CK-B Aktivität durch Multiplikation mit dem Faktor 2 die katalytische Aktivität des Isoenzym CK-MB berechnet werden.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
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
PAK-CK-MM-Antikörper (Schaf) Hemmkapazität gegen CK-M-Untereinheit bis 2000 U/l	
Konservierungsstoffe/Stabilisatoren	< 1 %

R2:	
Tris Puffer, pH 9,1	50 mmol/l
ADP	2,4 mmol/l
AMP	6 mmol/l
Diadenosinpentaphosphat	12 µmol/l
G-6-P-DH	≥ 1,7 U/l
Creatinphosphat	186 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

- R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig

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

Onboard-Stabilität:	R1	90 Tage
	R2	90 Tage

Untersuchungsgut:

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

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
	4 Wochen	bei -20°C

• Vor der CK-MB Bestimmung ist die Gesamtaktivität der CK nach der Methode CK NAc zu bestimmen. Der Antikörper hemmt die CK-M Untereinheit bis 2000 U/l (37°C). Entsprechend wird die CK-MM vollständig bis 1000 U/l (37°C) gehemmt. Deshalb müssen Proben mit CK- Aktivitäten über 1000 U/l (37°C) mit NaCl-Lösung (0,9%) verdünnt werden, um eine vollständige Hemmung zu gewährleisten.

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.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis einem Index H 500 (ca. 500 mg/dl Hämoglobin).

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 80 entsprechend ca. 80 mg/dl Bilirubin.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung zum Index L von 175 (ca. 350 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Bei Patienten die zur Bildung von Makro CK neigen, können unplausibel hohe CK-MB Werte im Verhältnis zur Gesamt CK gemessen werden, da die Makroformen sich überwiegend aus CK-B Untereinheiten zusammensetzen. Da bei diesen Patienten in der Regel kein Herzinfarkt vorliegt, sind weitere diagnostische Maßnahmen erforderlich.

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:

Bis 600 U/l (10 µkat/l)

Proben mit höheren Aktivitäten werden über die Rerun-Funktion mit NaCl (0,9%) bestimmt.

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	CKMänner	>80 U/l (1,33 µkat/l)	>130 U/l (2,17 µkat/l)	>190 U/l* (3,17 µkat/l)
	CKFrauen	>70 U/l (1,17 µkat/l)	>110 U/l (1,83 µkat/l)	>167 U/l* (2,87 µkat/l)
2	CK-MB	>10 U/l (0,17 µkat/l)	>15 U/l (0,25 µkat/l)	>24 U/l* (0,40 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 variiert der CK-Wert in Abhängigkeit von der physischen Konstitution und individuellen Unterschieden.

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

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

1,66 U/l bzw. 0,027 µkat/l

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Kontrollserum	23,14	0,745	3,2
Kontrollserum	61,84	0,901	1,5
Kontrollserum	170,44	2,166	1,3

Probe	Tag / Tag		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Kontrollserum	157,68	3,435	2,0
Kontrollserum	23,38	1,796	7,7
Kontrollserum	64,95	2,491	3,8

Methodenvergleich:

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

$$y = 1,074 x - 3,01; \quad r = 0,999$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Serum Control CK, CK-MB 2 x 2 ml #1541

Zur Qualitätskontrolle ein geeignetes Kontrollmaterial einsetzen.

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® 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. Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB Creatine kinase the choice for the 1990? *Circulation* 1993;88:750-763.
2. Apple FS. Diagnostic markers for detection of acute myocardial infarction and reperfusion. *Laboratory Medicine* 1992;23:297-322.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474. Passing H.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytica Variables, Broschüre in Samples: From The Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996
5. Jockers-Wretou E, Pileider G. *Clin Chim Acta* 1975;58:223.
6. Neumeier D, Prellwitz W, Würzburg U et al. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity - Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1976;73:445-451.
7. Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: Biochemical Characterization, Clinical Significance, and Laboratory Detection. *Clin Chem* 1989;35:2261-2270.
8. Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1994;45:31-44.
9. Stein W. *Med. Welt* 1985;36:572
10. Szasz G Busch EW. Third European Congress of Clinical Chemistry Brighton, England 3.-8. Juni 1979 (Abstract)
11. Würzburg U et al. *Klin Wschr* 1976;54:357.

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