

CK MB

CREATINE-KINASE MB



Order information:

Catalog No.	Contents			
153	R1	1 x 65 ml	R2	20 x for 3 ml
157	R1	1 x 110 ml	R2	5 x for 20 ml

Intended use:

Immuno-inhibition assay for the quantitative in vitro determination of the CK-MB isoenzyme of creatine kinase in human serum and plasma.

Summary:

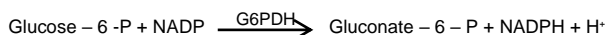
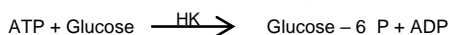
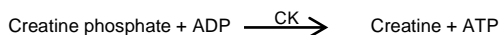
Creatine kinase (CK) is a dimeric enzyme occurring in four different forms: a mitochondrial isoenzyme and the cytosolic isoenzymes CKMM (muscle type), CK-BB (brain type) and CK-MB (myocardial type).

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:

Human CK-MB is composed of two subunits, CK-M and CK-B which both have an active site. With the aid of 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-NAC method analogously to total CK. As the CK-BB isoenzyme only rarely appears in serum and the catalytic activity of the CK-M and CK-B sub-units 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	100 mmol/l
Glucose	20 mmol/l
Mg-Acetate	10 mmol/l
Brij 35P	< 5 %
Preservative/ stabilizer	< 0,1 %

R2:	
ADP	5 mmol/l
AMP	5 mmol/l
Diadenosine-P-5-P	10 µmol/l
NADP	2 mmol/l
Creatine phosphate	30 mmol/l
Hexokinase (HK)	2500 U/l
G-6-P-DH	1500 U/l
N-Acetylcysteine	20 mmol/l
Antibody to CK-M	inhibition up to 2000 U/l CK-M

Preparation and stability:

Dissolve contents of enzyme reagent/R2 with the corresponding volume of buffer/R1.

Gently swirl until completely dissolved. Do not shake!

This working reagent is stable for:

10 days	at +2°C to +8°C
3 days	at +20°C to +25°C.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized- or EDTA-plasma

Stability:	24 hours	at +4°C:	< 10 %
	1 hour	at +25°C:	< 10 %

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.

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 required for handling all laboratory reagents.

Limitation interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Hemolysis interferes.

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

Lipemia (Intralipid): no significant interference up to 150 (approximate triglyceride concentration: 300 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

Manual Procedure:

Determine CK-activity before CK-MB measurement.

Wavelength:	340 nm, Hg 334 or Hg 365 nm
Temperature:	+37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	air or distilled water

Cuvette	Macro	Semi	Micro
Working reagent	2500 µl	1000 µl	500 µl

Incubate for 2min. at 37°C to pre-warm reagent. Then add:

Sample	100 µl	40 µl	20 µl
--------	--------	-------	-------

Mix and incubate for 7 minutes. Read the absorbance A1. Incubate for 5 more minutes and read the absorbance A2.

Calculation:

$\Delta A = A2 - A1$ (for 5 minutes)

	CK-B [U/L]	CK-MB [U/L]
340 nm $\Delta A \times$	825	1651
Hg 334 nm $\Delta A \times$	841	1683
Hg 365 nm $\Delta A \times$	1486	2972

Measuring /reportable range:

5 – 1000 U/l (0.08 – 16.7 µkat/l)

In case of higher activities, dilute samples 1:4 with 0.9% NaCl. Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5).

Expected values:

On the basis on 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
A.	.CK Men	>80 U/l (1.33 µkat/l)	>130 U/l (2.17 µkat/l)	>174 U/l* (2.90 µkat/l)
	CK Women	>70 U/l (1.17 µkat/l)	>110 U/l (1.83 µkat/l)	>140 U/l* (2.33 µkat/l)
B.	CK-MB	>10 U/l (0.17 µkat/l)	>16 U/l (0.25 µkat/l)	>24 U/l* (0.40 µkat/l)
C.	The CK-MB-activity between 6 % and 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.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

5 U/l bzw. 0.08 µkat/l

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

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

Between day			
Sample	Mean U/l	SD U/l	% CV
Control serum 1	94	2.39	2.54
Control serum 2	-	-	-
Control serum 3	-	-	-

Within run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	% CV
Control serum 1	62.1	2.03	3.27
Control serum 2	249	6.86	2.76
Control serum 3	392	4.43	1.13

Method comparison:

A comparison of the Analyticon CK-MB (y) with a commercial obtainable assay (x)

gave the following result (U/l):

$$y = 1.013 x + 1.726; r = 1.000$$

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:

S1: 0.9% NaCl

S2: BioCal® Specific Enzymes 1 x 2 ml #14575

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

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 Preanalytical 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.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt		
153	R1	1 x 65 ml	R2 20 x für 3 ml
157	R1	1 x 110 ml	R2 5 x für 20 ml

Anwendungszweck:

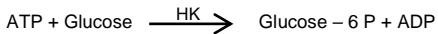
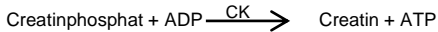
In vitro Immuninhibitionstest zur quantitativen Bestimmung des Creatin-Kinase-Isoenzym MB in Humanserum und -plasma.

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 Beschwedesymptomatik 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:

Humanes CK-MB besteht aus den Untereinheiten CK-M und CK-B, die beide eineinigen aktives Zentrum besitzen. Durch einen polyklonalen 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 Aktivität entspricht, wird analog zur CK-Gesamtaktivität nach der Methode CK NAC bestimmt 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	100 mmol/l
Glucose	20 mmol/l
Mg-Acetat	10 mmol/l
Brij 35P	< 5 %
Konservierungsstoff/ Stabilisator	< 0,1 %
R2:	
ADP	5 mmol/l
AMP	5 mmol/l
Diadenosin-P-5-P	10 µmol/l
NADP	2 mmol/l
Creatin Phosphat	30 mmol/l
Hexokinase (HK)	2500 U/l
G - 6 - P - DH	1500 U/l
N-Acetylcystein	20 mmol/l
CK-M-Antikörper	Hemmung bis 2000 U/l CK-M

Herstellung und Haltbarkeit:

Der Inhalt einer Flasche R2 wird mit der entsprechenden Menge R1 unter Schwenken gelöst. NICHT SCHÜTTELN!

Diese Lösung ist haltbar: 10 Tage bei + 2°C bis + 8°C
3 Tage bei +20°C bis +25°C

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

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Heparin- oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit: bei +25°C nach 1 Stunde < 10 %
bei +4°C nach 24 Stunden < 10 %

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) verdünnt werden, um eine vollständige Hemmung zu gewährleisten.

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 $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Hämolyse stört.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 80 (entsprechen ca. 80 mg/dl Bilirubin)

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 150 (ca. 300 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

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

Manuelle Testdurchführung mit Serumstart:

Wellenlänge:	340 nm, Hg 334 oder Hg 365 nm		
Reaktionstemperatur:	+25 / +30 / +37°C		
Schichtdicke:	1 cm		
Messung:	Luft oder Aqua dest.		

	Macro	Semi-Micro	Micro
Arbeitsreagenz	2500 µl	1000 µl	500 µl

Reagenz 2 min. bei 37°C vor-inkubieren. Danach zugeben:

Probe	100 µl	40 µl	20 µl
-------	--------	-------	-------

Mischen und 7 Minuten inkubieren. Extinktion E1 ablesen.

Weitere 5 Minuten inkubieren und Extinktion E2 ablesen

Berechnung:

$\Delta E = E2 - E1$ (für 5 min.)

	CK-B [U/L]	CK-MB [U/L]
340 nm $\Delta A \times$	825	1651
Hg 334 nm $\Delta A \times$	841	1683
Hg 365 nm $\Delta A \times$	1486	2972

Messbereich:

5 - 1000 U/l bzw. 0,08 - 16,7 µkat/l.

Proben mit höheren Aktivitäten werden 1 : 4 mit NaCl-Lösung (0,9%) verdünnt. Das Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. Faktor 5).

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	
A	CK _{Männer}	>80 U/l (1,33 µkat/l)	>130 U/l (2,17 µkat/l)	>174 U/l* (2,90 µkat/l)
	CK _{Frauen}	>70 U/l (1,17 µkat/l)	>110 U/l (1,83 µkat/l)	>140 U/l* (2,33 µkat/l)
B	CK-MB	>10 U/l (0,17 µkat/l)	>16 U/l (0,25 µkat/l)	>24 U/l* (0,40 µkat/l)
C. 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)

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):

5 U/l bzw. 0,08 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:

Proben	Tag zu Tag		
	MW U/l	SD U/l	%VK
Kontrollserum 1	94	2,39	2,54
Kontrollserum 2	-	-	-
Kontrollserum 3	-	-	-

Proben	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	%VK
Kontrollserum 1	62,1	2,03	3,27
Kontrollserum 2	249	6,86	2,76
Kontrollserum 3	392	4,43	1,13

Methodenvergleich:

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

$$y = 1,013 x + 1,726; r = 1,000$$

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:

S1: 0,9% NaCl

S2: BioCal® Specific Enzymes 1 x 2 ml #14575

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.