

Order information:

| Catalog No. | Contents |
|---------------------------------|----------------------------|
| H6251 Hit I / 917 (ILab* / AU*) | R1 1 x 20 ml R2 1 x 8 ml |
| AU6252 AU | R1 3 x 20 ml R2 3 x 8 ml |

(*) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi systems.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 654
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immuno-turbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of Myoglobin in human serum and plasma.

Summary:

Myoglobin is a hemoprotein having a molecular weight of approximately 17800 daltons. It transports and binds oxygen reversibly in muscle cells. It is found predominantly in striated muscle tissue (skeletal and cardiac muscle). Myoglobin is liberated from damaged heart muscle cells such as occurs during acute myocardial infarction. An increase in myoglobin concentrations in blood can generally be detected 2 to 4 hours after the onset of pain, which is earlier than other cardiac markers such as CK, CK-MB or troponin. Depending on the therapeutic reperfusion measures taken, the myoglobin concentration reaches its maximum value after 4 to 12 hours and then decreases relatively rapidly to normal levels due to renal elimination (biological half-life: approx. 15minutes). A very rapid increase in the concentration of myoglobin occurs when therapeutic intervention is successful. The gradient of the concentration increase can be taken as an indication of the success of thrombolysis.

The myoglobin determination is of particular value in exclusion diagnosis for myocardial infarction: If there is no increase in the myoglobin concentration 6 hours after the onset of pain and after a repeat determination within a further 4 hours, then acute myocardial damage can essentially be excluded.

Increases in concentration of myoglobin not due to infarction may be a result of muscle trauma, crush syndrome, myopathy, muscle strain/stress, shock, rhabdomyolysis or decreased elimination due to renal failure.

Various nephelometric and turbidimetric methods are available for the determination of myoglobin. This myoglobin assay is based on the principle of immunological agglutination with latex particle reaction enhancement.

Test principle:

Immuno-turbidimetric assay
• Sample and addition of R1 (buffer)
• Addition of R2 (anti-myoglobin antibody latex/buffer) and start of reaction
Latex-bound anti-myoglobin antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complex which can be determined turbidimetrically after agglutination.

Reagent concentration:

| | |
|---|------------|
| R1: | |
| Glycine buffer pH 9.0 | 170 mmol/l |
| NaCl | 100 mmol/l |
| EDTA | 50 mmol/l |
| Preservative | |
| R2: | |
| Latex particles coated with Anti-human myoglobin antibodies (rabbit) coated latex particles | 0,12 % |
| Glycine buffer pH 7.3 | 170 mmol/l |
| NaCl | 100 mmol/l |
| Preservative | |

Preparation and stability:

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.
Mix thoroughly before first use and once per week thereafter.
Unopened kit components: Up to the expiration date at 2-8°C. Protect from light.
Onboard stability at 2-8°C: R1: 90 days
R2: 90 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes
Li-heparin-, Na citrate- or EDTA-Plasma
Stability: Analyze samples immediately or store frozen at -20°C for a maximum of 60 days.
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
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.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 62 (approx. conjugated and unconjugated bilirubin concentration of 62 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 960 (approx. 960 mg/dl hemoglobin).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 2500 (approx. 5000 mg/dl triglyceride). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
Rheumatoid factors up to 100 IU/ml do not interfere.
A high-dose hook-effect may occur at myoglobin concentrations > 1300 ng/ml.
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: | | |
|--|-----------------|-------------------|
| Wavelength: | Hg 578 nm | |
| Temperature: | 37°C | |
| Cuvette: | 1 cm light path | |
| Zero adjustment: | reagent blank | |
| | Blank | Sample/Calibrator |
| Sample/Calibrator | --- | 30 µl |
| 0.9% NaCl | 30 µl | --- |
| Reagent R1 | 900 µl | 900 µl |
| Mix well and incubate at: 37°C for 5 minutes. Then add: | | |
| Reagent R2 | 300 µl | 300 µl |
| Mix well and incubate at 37°C. read the initial absorbance A ₁ after exactly 30 s and after 5 minutes A ₂ for standard and sample. | | |
| Calculation: | | |
| $\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$ | | |
| The concentration of myoglobin in patient sera has to be read from a graph using values of 5 levels of standards in different concentration range. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%) | | |

Measuring /reportable range:

10 – 640*ng/ml
Determine samples having higher activities via the rerun function. On instruments without rerun function, dilute the samples with 0.9% NaCl manually (e.g. 1+1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 2).
*Maximum extended reportable range is an approximate value dependent on the calculated value of the highest standard.

Expected values:

Men: 23 - 72 ng/ml
Women: 19 - 51 ng/ml
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 myoglobin results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 4.0 ng/ml
The lower detection limit represents the lowest measurable myoglobin concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

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

| Sample | Within run | | |
|----------|------------|----------|------|
| | Mean ng/ml | SD ng/ml | CV % |
| Sample 1 | 37.26 | 0.679 | 1.82 |
| Sample 2 | 87.93 | 0.660 | 0.75 |
| Sample 3 | 322.85 | 1.429 | 0.44 |

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex® MYO (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

Serum (ng/ml): n=55 $y = 0.980 x - 2.105$; $r = 0.999$

Plasma (ng/ml) : n=51 $y = 0.996 x - 0.864$, $r = 0.999$

Quality control:

MYO Control 2 Levels 2 x 1 ml #1563

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:

Standardization: The method was standardized against a nephelometric method.

S1: 0.9% NaCl

S2-5: Bio Cal MYO Set 4 x 1 ml #14635

Calibration frequency:

Full recalibration is recommended

- after 1 month when using the reagent on the analyzer
- after lot change
- as required: e.g. quality control findings outside the specified range

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Galvin, J.P. et al.: Particle enhanced photometric immunoassay systems., Clin. Lab. Assays (Pap. Annu. Clin. Lab. Assays Conf.), 4th, 73 (1983)
2. Singer, J. M. et al.: The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis, Amer. J. Med.,21, 888 (1956)

Bestellinformation:

| Katalog-Nr. | Inhalt |
|---------------------------------|--------------------------|
| H6251 Hit I / 917 (ILab* / AU*) | R1 1 x 20 ml R2 1 x 8 ml |
| AU6252 AU | R1 3 x 20 ml R2 3 x 8 ml |

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 654
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Myoglobin in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Myoglobin, ein Hämoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 17800 Dalton, transportiert und bindet reversibel Sauerstoff in Muskelzellen. Es kommt vorwiegend in der quergestreiften Muskulatur (Skelett- und Herzmuskulatur) vor. Bei Herzmuskelschädigungen wie bei einem akuten Myokardinfarkt wird Myoglobin aus zerstörten Herzmuskelzellen freigesetzt. Ein Anstieg der Myoglobinkonzentration im Blut ist in der Regel 2-4 Stunden nach Schmerzbeginn und damit früher als andere Herzmarker wie CK, CK-MB oder Troponin festzustellen. Die Myoglobinkonzentration erreicht in Abhängigkeit von therapeutischen Reperusionsmaßnahmen Maximalwerte zwischen 4 und 12 Stunden und fällt danach durch renale Elimination (biologische HWZ ca. 15 Minuten) relativ rasch wieder auf Normalniveau ab. Bei erfolgreicher therapeutischer Intervention erfolgt ein sehr steiler Anstieg der Myoglobinkonzentration, wobei die Steilheit als Maß des Thrombolyseerfolges an Bedeutung gewonnen hat.

Ein besonderer Wert der Myoglobinbestimmung bei akutem Herzinfarkt liegt in der Ausschlussdiagnostik: Wird bis 6 Stunden nach Schmerzbeginn und Wiederholungsmessungen innerhalb weiterer 4 Stunden kein Myoglobinanstieg beobachtet, so kann eine akute Myokardschädigung mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Nicht infarktbedingte Konzentrationserhöhungen von Myoglobin können nach Muskeltrauma, Crush-Syndrom, Myopathie, Muskelüberbeanspruchung und -streß, Schockzustand, Rhabdomyolyse oder durch verminderte Elimination bei Niereninsuffizienz auftreten.

Zur Myoglobinbestimmung stehen verschiedene nephelometrische und turbidimetrische Methoden zur Verfügung. Der vorliegende Myoglobin-Test basiert auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests mit Reaktionsverstärkung durch Latex-Partikel.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
- Zugabe von R2 (Myoglobin-Antikörper-Latex/Puffer) und Start der Reaktion

An Latex gebundene Anti-Myoglobin-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

| | |
|----------------------|------------|
| R1: | |
| Glycin-Puffer pH 9,0 | 170 mmol/l |
| Natriumchlorid | 100 mmol/l |
| EDTA | 50 mmol/l |
| Konservierungsmittel | |

R2:

| | |
|--|------------|
| Myoglobin-Antikörper-Latex (Latexpartikel, beladen mit polyklonalem Anti-Human-Myoglobin-Antikörper (Kaninchen): | 0,12 % |
| Glycin-Puffer pH 7.3 | 170 mmol/l |
| Natriumchlorid | 100 mmol/l |
| Konservierungsmittel | |

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

R2: Inhalt ist gebrauchsfertig. Vor erstmaliger Verwendung sowie einmal wöchentlich gut durchmischen.

Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Vor Licht schützen!

| | |
|-------------------------------|-------------|
| Onboard Stabilität bei 2-8°C: | R1: 90 Tage |
| | R2: 90 Tage |

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen Li-Heparinat-, Na-, EDTA- oder Citrat-Plasma

Haltbarkeit: Proben sofort bestimmen - oder bei -20°C für maximal 60 Tage einfrieren.

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

Hinweis:

In vitro Diagnostikum. 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.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 62 mg/dl.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 960 mg/dl.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Triglycerid-Konzentration von 5000 mg/dl (2500 mg/dl Intralipid). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Rheumafaktoren < 100 IU/ml stören nicht.

Bei Myoglobin-Konzentrationen über 1300 ng/ml kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten. 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 Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0,9%)

| Manuelle Testdurchführung: | | |
|--|--------------------------------|------------------|
| Wellenlänge: | Hg 578nm | |
| Reaktionstemperatur: | 37°C | |
| Schichtdicke: | 1cm | |
| Messung: | Gegen Reagenzienleerwert (RLW) | |
| | RLW | Probe/Kalibrator |
| Probe/Kalibrator | - | 30 µl |
| NaCl-Lösung (0,9%) | 30 µl | --- |
| Reagenz R1 | 900 µl | 900 µl |
| Mischen, 5 Minuten bei 37°C inkubieren. Dann zugeben: | | |
| Reagenz R2 | 300 µl | 300 µl |
| Mischen. Extinktion (E ₁) innerhalb von 30 Sek. ablesen. 5 Min. bei 37°C Minuten inkubieren und Extinktion (E ₂) ablesen. | | |
| Berechnung: | | |
| $\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$ | | |
| Die Konzentration von Myoglobin in Patientenserum sollte aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 5 Standards. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen. | | |

Messbereich:

10 – 640* ng/ml
Proben mit höheren Aktivitäten 1+ 1 mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnen, die Bestimmung wiederholen und das Ergebnis mit 2 multiplizieren oder mit Rerun-Funktion bestimmen.

*Ungefäher Wert, abhängig vom berechneten Wert der höchsten Standardkonzentration.

Referenzbereiche:

| | |
|--------|---------------|
| Männer | 23 - 72 ng/ml |
| Frauen | 19 - 51 ng/ml |

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

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze ist 4,0 ng/ml

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag wurde mit Kontrollen (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

| Probe | In der Serie | | |
|---------|--------------|-------------|---------|
| | MW ng/ml | SD ng/ml | VK % |
| Probe 1 | 37,26 | 0,679 | 1,82 |
| Probe 2 | 87,93 | 0,660 | 0,75 |
| Probe 3 | 322,85 | 1,429 | 0,44 |

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex® MYO (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Serum (ng/ml): n=55 y = 0,980 x – 2,105; r = 0,999
Plasma (ng/ml): n=51 y = 0,996 x – 0,864 ; r = 0,999

Qualitätskontrolle:

MYO Control 2 Levels 2 x 1 ml #1563

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:

Standardisierung: Die Myoglobin-Methode wurde an einer nephelometrischen Methode abgeglichen.

Andere Systeme:

S1: 0,9% NaCl
S2-5 Bio Cal MYO Set 4 x 1 ml #14635

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Nach einem Monat wenn das Reagenz auf einem Analyzer verwendet wird
- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Galvin, J.P. et al.: Particle enhanced photometric immunoassay systems., Clin. Lab. Assays (Pap. Annu. Clin. Lab. Assays Conf.), 4th, 73 (1983)
2. Singer, J. M. et al.: The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis, Amer. J. Med.,21, 888 (1956)