

Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von CK im Blut

Best. Nr. CK 321
Inhalt: 20 Tests
 20 Pipettenspitzen, 500µL

Methode
 IFCC 37°C^{1,2)} / DGKC modifiziert

Probenmaterial
 Kapillarblut, venöses Blut
 Kapillarblut sofort in das Reaktionsgefäß „R“ geben.
 Haltbarkeit der Probe im Reaktionsgefäß „R“:
 6 Stunden (+15°C bis +25°C)

Reagenz
 Inhalt / Konzentrationen:
 1. Startreagenz (Kappen in der PE-Flasche)
 ADP 2 mmol/L, G6-PDH > 2 kU/L
 2. Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)
 Imidazol-Puffer 100 mmol/L, pH = 6,00 (37°C), Glucose
 20 mmol/L, Magnesiumacetat 10 mmol/L, EDTA 2 mmol/L,
 AMP 5 mmol/L, NADP 2 mmol/L, N-Acetylcystein 20 mmol/L,
 Diadenosinpentaphosphat 10 µmol/L, HK > 4,0 kU/L,
 Natriumazid < 0,1 %
 3. Blutverdünnungslösung (Reaktionsgefäße „R“)
 Creatinphosphat 30 mmol/L, Natriumchlorid 3 g/L,
 Natriumazid < 0,1 %

Sicherheitshinweis
 Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält
 - Natriumazid (< 0,1 %). Verschlucken, Berührung mit der
 Haut und Schleimhäuten vermeiden.
 - 0,6 % Imidazol und ist gemäß EG-Verordnung als
 gefährliches Gemisch eingestuft:
 H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
 Sicherheitshinweise auf der Verpackung beachten.
 Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur
 Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit
 Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der
 Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.

Messbedingungen
 Messgerät: Vario Photometer II Diaglobal

Messwellenlänge: 365 nm
 Temperatur: 37°C
 Zusätzlich erforderlich: Minizentrifuge, 37°C-Thermostat

Messbereich
 Bis 1000 U/L
 Werden höhere Werte erhalten oder erwartet, empfiehlt es
 sich, die Bestimmung mit 20 µL (statt 60 µL) Probe
 durchzuführen. Ergebnis x 3

Referenzwerte
 Männer < 170 U/L
 Frauen < 145 U/L

Vorbereitung
 Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.
 Der 37°C-Thermostat muss mindestens 20 Minuten vor der
 Messung eingeschaltet werden.

Arbeitsanleitung
 Es können gleichzeitig bis zu 6 Proben gemessen werden.
 • 60µL Kapillarblut mit end-to-end-Kapillare aus der
 Fingerbeere oder dem Ohrläppchen entnehmen und diese
 in das Reaktionsgefäß „R“ Lösung stellen
 • Durch kräftiges Schütteln das Blut aus der Kapillare in die
 Lösung überführen
 • Reaktionsgefäß „R“ in die Minizentrifuge einsetzen und
 eine Minute zentrifugieren
 • 500µL Überstand mit Pipette entnehmen, in Rundküvetten
 pipettieren (Leerwerte)
 • Test <CK 321> anwählen
 • Kappen aus der PE-Flasche auf die vorbehandelten
 Küvetten aufschrauben und Startreagenz durch kräftiges
 Schütteln lösen
 • Küvetten in den 37°C-Thermostaten stellen und
 gleichzeitig Messung starten
 • Der Bedienerführung im Display folgen
 • Nach Beendigung der Messung: HCT-Werte mit Pfeiltasten
 einstellen und mit <ENTER> bestätigen *)
 • Nach Beendigung der Messungen Ergebnisse in U/L mit
 Pfeiltaste abfragen
 • Messküvette entfernen

*) Ein HCT-Wert von 40 % ist als Standardwert vorgegeben.
 Bitte beachten: Da Kontrollproben nur aus Serum gemessen
 werden können, muss in diesem Fall für den HCT-Wert 0%
 eingegeben werden.

Berechnung
 Es wird die Aktivität (U/L) der Creatinkinase im Plasma
 berechnet. Da die Bestimmung aus Blut erfolgt, muss für eine
 genaue Ergebnisermittlung der Hämatokritwert der Probe
 berücksichtigt werden.

$CK (U/L) = F \times \Delta E / (1 - 0,01 \times HCT)$
 F = Kalibrationskonstante, HCT = Hämatokrit in %
 Die Berechnungsformel ist im Vario Photometer II
 gespeichert.

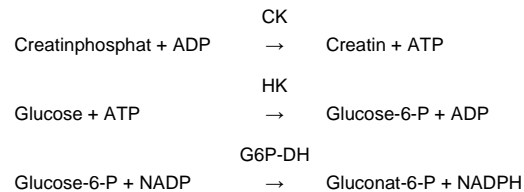
Umrechnung: µkat/L x 60 = U/L

Qualitätssicherung
 Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Universal
 Kontrollserien der Firma Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers, Method: IFCC liquid

Zusammenfassung
Biochemische Grundlagen
 Die Creatinkinase nimmt im Energiestoffwechsel der
 Muskelzelle eine Schlüsselrolle ein und ist für die
 Rückführung des ADP zu ATP verantwortlich. Die im Serum
 messbare Gesamtaktivität der CK setzt sich aus den
 Aktivitäten der Isoenzyme CK-MB, CK-MM und CK-BB
 zusammen. Im Blutplasma des Gesunden ist die CK
 normalerweise nur in sehr geringer Konzentration zu finden.
 Bei Muskelzerstörung tritt CK ins Blut über, so dass der Blut-
 CK-Spiegel ansteigt. Da der Abtransport aus der Zelle über
 die Lymphbahn erfolgt, wird der Konzentrationsgipfel zumeist
 erst nach 6 - 8 Stunden erreicht.

Trainingssteuerung und Wettkampfkontrolle
 Erhöhte CK-Spiegel bei körperlicher Aktivität sind Ausdruck
 einer Überforderung bzw. ungewohnten Belastung einzelner
 Muskelgruppen.
 Steigt der CK-Wert im Training über 900 U/L (15 µkat/L) an,
 ist eine Reduzierung der Trainingsbelastung zu empfehlen,
 da sonst die Gefahr eines Übertrainings besteht.⁴⁾
 Nach extremen Langzeitbelastungen (Marathon, Triathlon)
 kann die CK bis auf Werte über 4000 U/L (70 µkat/L)
 ansteigen.⁴⁾

Messprinzip
 Mit dem Diaglobal-Test CK 321 wird die Gesamt-CK im Blut
 gemessen.
 Die Bestimmung basiert auf der 37°C-Standardmethode der
 IFCC⁵⁾ (International Federation of Clinical Chemistry).



HK = Hexokinase, G6P-DH = Glucose-6-Phosphat-dehydrogenase,
 ADP = Adenosin-diphosphat, ATP = Adenosin-triphosphat

Die NADPH-Zunahme ist der CK-Aktivität direkt proportional
 und wird bei 365 nm gemessen.

Anmerkung: In der älteren Fachliteratur finden sich häufig Werte, die
 nach der älteren 25°C-Methode bestimmt wurden. Die nach der
 neuen IFCC-Methode gemessenen Werte fallen im Schnitt um den
 Faktor 1,6 höher aus.

Leistungsmerkmale
Spezifität / Interferenzen⁶⁾
 Falsch erhöhte Werte durch starke Hämolyse (Hb>2,0 g/L),
 keine wesentliche Beeinflussung durch Bilirubin (bis 15
 mg/dL).
 Stark lipämische Proben können aufgrund zu hoher
 Extinktionen Probleme bereiten.

Unpräzision
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [U/L]	Standard- Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	150	4,96	3,3
Probe 2	503	12,3	2,4
Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [U/L]	Standard- Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	148	5,48	3,7
Probe 2	508	14,2	2,8

Analytische Sensitivität
 Untere Nachweisgrenze: 20 U/L (0,33 µkat/L)

Methodenvergleich
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests CK 321 (y) mit einem
 anderen, kommerziell erhältlichen Test (x) ergab nach dem
 Verfahren der linearen Regression die Korrelation:
 $y = 0,984x - 3,65$
 $r = 0,996$
 $n = 45$
 Konzentrationsbereich: 40 - 2600 U/L

Literatur
 1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische
 Verlagsgesellschaft 1995: 89
 2. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 635-642
 3. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
 4. Neumann G., Pfützer A., Hottenrott K. Alles unter Kontrolle.
 6.Aufl. Aachen: Meyer und Meyer 2000: 151
 5. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Eur J Clin
 Chem Clin Biochem 1991; 29:435-456
 6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme
 Verlag, 1985:47

Order no. CK 321
Contents: 20 tests
 20 pipette tips, 500µL

Method
 IFCC 37°C^{1,2)} / DGKC modified

Sample material
 Capillary or EDTA blood.
 Set capillary blood immediately in reaction tube "R".
 Stability of the sample in reaction tube "R":
 6 hours (+15°C to +25°C)

Reagents
 Contents / concentrations:
 1. Starter reagent (caps in PE-bottle)
 ADP 2 mmol/L, G6-PDH >2 KU/L
 2. Buffer solution (pre-portioned in round cuvettes)
 Imidazole buffer 100 mmol/L, pH = 6.00 (37°C), Glucose 20 mmol/L,
 Magnesium acetate 10 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, AMP 5 mmol/L,
 NADP 2 mmol/L, N-Acetyl-cysteine 20 mmol/L, Diadenosin-penta-
 phosphate 10 µmol/L, HK > 4.0 KU/L; Sodium azide < 0.1 %
 3. Solution for dilution of blood (reaction tubes "R")
 Creatine phosphate 30 mmol/L, Sodium chloride 3 g/L,
 Sodium azide < 0.1 %

Safety information
 The buffer solution (round cuvette) contain
 - Sodium azide (<0.1 %). Do not swallow and avoid contact
 with skin and mucous membranes.
 - 0.6% Imidazole and is categorized as a dangerous
 preparation according to EC Directives:
 H360D: May damage the unborn child
 Observe the safety advice on the packaging.
 A safety data sheet is available on request.³⁾

Storage and shelf life
 The reagent have to be kept in a dark place at a
 temperature between + 2°C to + 8°C until the expiry date
 indicated on the packaging.

Measurement conditions
 Measurement device: Vario Photometer II Diaglobal

Meas. wavelength: 365 nm

Temperature: 37°C

Additionally required:
 Mini centrifuge, Dry block heater (37°C)

Measurement range
 Up to 1000 U/L
 In case of exceeding these value, repeat determination with
 sample volume of 20 µL (instead of 60 µL). Multiply the
 result by 3

Reference values
 Male < 170 U/L
 Female < 145 U/L

Preparation
 Reagents are ready to use.
 The dry block heater should be activated at least 20 min.
 before measurement.

Working instructions
 Up to six samples can be measured at the same time.
 • Withdraw 60µL capillary blood from finger pad or earlobe
 with end-to-end capillary and insert into reaction tube "R"
 • Transfer blood into solution by mixing strongly
 • Insert reaction tube "R" into Minicentrifuge and centrifuge
 for 1 minute
 • Pipette 500µL supernatant into round cuvettes (blanks)
 • Select <CK 321>
 • Screw caps from PE-bottle onto prepared round cuvettes
 and mix very strongly to solve the starter reagent
 • Insert cuvettes into 37°C dry block heater and start
 measurement at the same time
 • Follow the operator guidance showing on display
 • Upon completion of measurement: Adjust HCT value with
 arrow keys and confirm with <ENTER> *)
 • After finishing the measurements, read results in U/L with
 arrow keys
 • Remove cuvette

*) HCT value of 40 % is set as standard value.
 Please note that in case of measuring CK 321 with control
 serum the HCT-value has to be keyed in as 0%.

Calculation
 Activity (U/L) of Creatine kinase in plasma will be
 calculated. For exact measurement results the haematocrit
 values has to be considered.

$$CK (U/L) = F \times \Delta E / (1 - 0.01 \times HCT)$$

F = calibration constant, HCT = Haematocrit in %
 The algorithm for calculating the results is stored in the
 Vario Photometer II.

Conversion: µkat/L x 60 = U/L

Quality assurance
 For quality assurance we recommend universal control sera
 from company Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers, Method: IFCC liquid

Summary
Biochemical fundamentals
 Creatine Kinase has a key role in the catabolism of muscle
 cells and is responsible for reduction of ADP to ATP.
 Measurable total activity of CK in serum consists of activity
 of iso enzyme CK-MB, CK-MM and CK-BB. In blood plasma
 of a healthy person a very low concentration of CK is normally
 found. At muscle deterioration CK transgresses into blood
 and blood CK level increases. Since evacuation from cell
 occur by lymph channel the concentration climax will be
 reached mostly after 6 - 8 hours.

Training and competition control
 Increased CK level due to physical activity is an expression
 of overstraining or unaccustomed strain of individual muscle
 groups.
 If the CK value increases to 900 U/L (15 µmol/Ls) during
 training, a decrease of training exercise is recommended or
 else overtraining is risked.⁴⁾
 After extreme physical stress (marathon, triathlon) CK value
 can increase beyond 4000 U/L (70 µmol/Ls).⁴⁾

Measurement principle
 With Diaglobal test CK 321 total CK is measured.
 Determination is based on a 37°C standard method of IFCC⁵⁾
 (International Federation of Clinical Chemistry).



HK = Hexokinase, G6P-DH = Glucose-6-Phosphate-dehydrogenase,
 ADP = Adenosine-diphosphate, ATP = Adenosine-triphosphate

The increase of NADPH is directly proportional to the CK
 activity and is measured at 365 nm.

Note: Earlier technical literature often gives values that were
 determined with the help of the 25°C method. Values, measured with
 the new IFCC method, average higher about a factor of 1.6.

Performance parameters
Specificity / interferences⁶⁾
 Falsely increased values due to strong haemolysis (Hb>2.0
 g/L), no significant interferences due to bilirubin (up to 15
 mg/dL).
 Strong lipemic samples can cause problems due to high
 absorptions.

Inaccuracy
 The reproducibility was checked using human and control
 samples.

In series [n = 20]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	CV [%]
Sample 1	150	4.96	3.3
Sample 2	503	12.3	2.4
From day to day [n = 20]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	CV [%]
Sample 1	148	5.48	3.7
Sample 2	508	14.2	2.8

Analytic sensitiveness
 Lower detection limit: 20 U/L (0.33 µkat/L)

Comparison of methods
 A comparison of the Diaglobal test CK 321 (y) and another
 commercial available test (x) resulted in the following
 correlation according to the linear regression:
 $y = 0.984x - 3.65$
 $r = 0.996$
 $n = 45$
 Concentration range: 40 - 2600 U/L

Bibliography
 1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die
 Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 89
 2. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 635-642
 3. http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
 4. Neumann G., Pfützner A., Hottenrott K. Alles unter Kontrolle.
 6. Aufl. Aachen: Meyer und Meyer 2000: 151
 5. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Eur J Clin
 Chem Clin Biochem 1991; 29:435-456
 6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme
 Verlag, 1985:47