

REF 10226-4 4 x 28mL/7mL

肌酸激酶同工酶 (CKMB) 试剂

楔形瓶，每个楔形瓶含 R1 试剂可用量 28mL 和 R2 试剂可用量 7mL。

预期用途

EasyRA CKMB 试剂目的是用于通过 Medica EasyRA® 化学分析仪在临床实验室中进行人血清和血浆中肌酸激酶同工酶 (CKMB) 的定量测定。肌酸激酶同工酶活性的测定，是用于诊断和治疗心肌梗死和肌肉疾病，例如杜氏型进行性肌肉萎缩症。仅用于体外诊断用途。仅供专业人员使用。

摘要和说明

肌酸激酶 (CK) 是由 M 和 B 亚基组成的二聚体分子，以同工酶 MM、MB 和 BB 的形式存在。¹ M 和 B 亚基在免疫学上是不同的。CK-MM 和 CK-MB 分别主要分布在骨骼肌和心肌内，CK-BB 主要存在于脑部和构成平滑肌的组织内。² 血清中 CK-MB 活性的测定是心肌缺血的重要诊断要素，如急性心肌梗死、心肌炎等。^{3,4} CK-MB 在心脏病症状发作后约 3-8 小时内可在血液中检测到，并且根据疾病过程，在较长一段时间内保持可检测。³ CK-MB 升高并不特定于心肌梗死 (MI)，也可能在其他疾病中检测到。CK-MB 升高应结合临床表现和病史来加以解释。

方法的原理

在此方法中，CK 活性在存在抗 CK-M 单体的抗体下测定。此抗体抑制 CK-MM 和 CK-MB 的 M 亚基，从而允许测定 CK-MB (假设不存在 CK-BB) 的 B 亚基。CK-B 催化浓度为 CK-MB 浓度的一半，可使用以下一系列反应，并在 340nm 处测定 NADPH 的形成速率来确定：



CK-B 活性乘以 2 即得到 CK-MB 活性。

试剂

CK-MB 缓冲试剂 (R1):

咪唑缓冲剂 (pH 6.3)	50mmol/L
葡萄糖	20mmol/L
N-乙酰-L-半胱氨酸	20mmol/L
醋酸镁	10.0mmol/L
NADP	2.0mmol/L
EDTA	2.0mmol/L
己糖激酶	5.0kU/L
LDH (乳酸脱氢酶)	1.5kU/L
叠氮化钠	<0.1%
鼠抗人 CK-M 单克隆抗体，抑制能力	

CK-MB 底物试剂 (R2):

咪唑缓冲剂 (pH 9.0)	50mmol/L
磷酸肌酸	150mmol/L
ADP	10mmol/L
AMP	20mmol/L
二腺苷五磷酸	50 μ mol/L
葡萄糖-6-PDH	20kU/L
叠氮化钠	<0.1%

安全措施

- 1 当处理任何实验室试剂时，应遵守良好实验室安全规范 (CLSI, GP17-A2)。
- 2 该产品含有叠氮化钠作为防腐剂。避免摄入或与皮肤或粘膜接触。如发生皮肤接触，应用大量的水冲洗受影响部位。如发生眼部接触或摄入，应立即就医处理。请参考化学品安全说明书中的危险、危害和安全信息。
- 3 就任何诊断试验方法而言，其结果应根据所有其它试验结果和患者的临床状况加以解释。
- 4 不要使用清洗过的试管，即须用原装试管。

关于试剂搬运、贮藏和稳定性的说明

出售品的试剂可即时使用。未打开的试剂如于 2-8 $^{\circ}$ C 下贮藏，在标签上列出的有效期限内是稳定的。试剂放在 EasyRA 分析仪的冷藏试剂区，在试剂楔形瓶上 RFID 芯片中预定的日数内是稳定的。如果试剂混浊或不透明，或无法达到已知血清对照值，则不要使用该试剂。

样本采集和贮藏/稳定性

应使用透明的、未发生溶血的血清/血浆。可使用采用肝素锂作为抗凝剂的血液样本的血浆。在采集样本后，应尽快离心除去血清/血浆。血清/血浆 CK-MB 在 2-8 $^{\circ}$ C 下稳定 3 日。

程序步骤

提供的化学品

Medica 楔形瓶装 CKMB 试剂，REF 10226

需要的其它化学品

商品供应的对照化学品

Medica 楔形瓶装精密度试验用染液，REF 10764

Medica 楔形瓶装清洁剂-化学纯和 ISE 级，REF 10660 或

Medica 楔形瓶装清洁剂-化学纯，REF 10661

使用说明

出售品的试剂可即时使用。除去试剂上的盖子，将试剂放入 EasyRA 分析仪试剂区的试剂盘中。试剂放在分析仪上的稳定性期限，在试剂楔形瓶上的 RFID 芯片上编程设定（最长达 30 日）。

注意： 在除去楔形瓶的盖子，将楔形瓶放在分析仪上时，应检查楔形瓶颈内部是否有泡沫。如果有泡沫，用清洁拭子或一次性吸液管除去泡沫，再执行检测。对 R1 和 R2 试剂，应使用不同的清洁拭子或一次性吸液管。

校准

不适用。

质量控制

建议每天、执行患者检测和每批次更换时，用两个水平的、加入人血清制备的对照品（正常对照品和异常对照品）运行测定。如在质控品的分析中不能获得正常范围值，则可能表明试剂变质、仪器故障或程序步骤错误。在使用质控品时，实验室还应遵循当地、州和联邦相关质控准则。

结果

完成测定后，Medica EasyRA 化学分析仪根据每分钟吸收度变化、样本体积、总反应体积、路径长度 0.6cm 和摩尔吸光系数 6.22 来计算 CK-MB 浓度。

$$\text{CK-MB (U/L)} = \text{CK-B (U/L)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{总体积 } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{摩尔吸光系数} \times \text{路径长度 (cm)} \times \text{样本体积 } (\mu\text{l}))}$$

CK-B 活性的 U/L（每升单位）数是每分钟氧化 1 $\mu\text{mol/L}$ NADP 的酶量。

预期值⁶

在 EasyRA 分析仪上 CK-MB 活性的参考范围为低于 24U/L。^{7,8} 该范围经过 Medica 按照 CLSI C28-A3c 加以验证。建议每个实验室建立其本身的预期值范围，因为仪器、实验室和当地人群之间存在差异。

程序限制规定（例如样本超出测定范围时）

应使用未发生溶血的血清或血浆样本。

如果每分钟吸收度变化 ($\Delta A/\text{Min}$) 大于 0.003（对应于约 100U/L），分析仪会给予标记 "SD"（底物耗竭）字样。每分钟吸收度变化高于这个值，则超出该试验的线性范围。如果操作员选择了 "Re-run"（重新运行）图标，则样本可采用五分之一 (1/5) 体积样本再试验。计算再试验的结果，应反映使用较小体积样本的情况。这样可以使 CK-MB 的可报告范围扩展至 500U/L。

运行特性⁹

可报告范围

可报告范围为 5-100U/L。当使用五分之一样本（1:4 稀释）时，扩展范围是 5-500U/L。

不准确度/相关性 (CLSI, EP9-A2)

下表列出的数据，是 Medica CK-MB 测定用试剂 (Y) 在 EasyRA 分析仪上测定与一种 FDA 许可的 CK-MB 试剂 (X) 在 Stanbio Sirrus® 分析仪*上测定比较所得的结果。下面所示数据，代表 EasyRA 分析仪上单次测定与 FDA 许可的分析仪上所得 2 个重复血清试验平均值比较所得的结果。

血清	样本数	41	样本范围	6-100U/L
	斜率	0.9869	y 截距	0.4702
	相关系数	0.9961	回归方程	0.9869*X + 0.4702

* Sirrus 是 [Stanbio Laboratory LLP](#)（位于 1261 North Main St. Boerne, TX 78006）的注册商标。

下面所示数据，代表单次血浆（肝素锂作为抗凝血剂）测定与 EasyRA 分析仪上所得 2 个重复血清试验平均值比较所得的结果。所有检测参数均相同。

血浆	样本数	57	样本范围	5-96U/L
	斜率	0.9797	y 截距	1.4523
	相关系数	0.9945	回归方程	0.9797*X + 1.4523

非精密度 (CLSI, EP5-A2)

三种水平的质控化学品，每种每天均进行两次重复测定，持续进行 20 天。从这些数据确定批内和总精密度。

批内非精密度:			总非精密度:		
QC 水平	批内 SD	批内 CV	QC 水平	总非精密度 SD	总非精密度 CV
U/L	U/L	%	U/L	U/L	%
94	0.9	0.9	94	1.7	1.8
30	0.7	2.4	30	0.9	3.0
14	0.6	3.9	14	0.8	5.5

线性(CLSI, EP6-A)

根据线性回归 $Y = 1.0009 \cdot X - 0.2291$ ，在 5-100U/L 范围呈线性。

空白低限 (LOB):	1.7U/L	(CLSI, EP17-A)
检测低限 (LOD):	2.9U/L	(CLSI, EP17-A)
定量低限 (LOQ):	5.0U/L	(CLSI, EP17-A)

干扰物质 (CLSI, EP7-A)

将低于 10% 的干扰分类为“不显著干扰”。
很低浓度的血红蛋白也会产生干扰。不要使用发生过溶血的样本。
胆红素水平达 25mg/dL，没有发现显著干扰。
甘油三酯水平达 775mg/dL（采用 *Intralipid**法），没有发现显著干扰。
抗坏血酸水平达 30mg/dL，没有发现显著干扰。

**Intralipid* 是美国北卡罗来纳州克莱顿市 *Pharmacia AB* 公司的注册商标。

Young（杨）提供了干扰临床化学试验的药物和其它化学品的列表。^{10,11}

注意：如果在血清中 CK-BB 同工酶活性较高，此方法可能会高估 CK-MB 活性值。在正常人和心肌梗死患者的血清中通常不存在 CK-BB 活性。⁷ 如果此方法测定的 CK-MB 活性超过总 CK 活性的 20%，则应怀疑在样本中存在宏观形态的 CK-BB。

参考文献

- 1 Dawson, D.M. et al., *Biochem Biophys. Res. Comm* 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., *Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme*, Lang, Editor, Springer Verlag, ew York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., et al., *Clin. Biochem* 11, 204 (1978).
- 6 Stein, W., *Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts*. *Med Welt* 1985;36:572-7.
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. *Clin Chem* 2001; 47:Suppl. A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. *J Lab Med* 2005;29:301-308.
- 9 Medica 公司档案资料。
- 10 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. *Clin Chem* 21: 246D, 1975.

EasyRA 测定参数 (CKMB)

主波长 (nm)	340
次波长 (nm)	405
反应类型	酶 (0)
反应方向	增加
空白试剂	否
空白样本	否
第一探测间隔最大吸收度变化	0.003
反应时间	9.3 分钟
校准间隔时间 (最大)	不适用
试剂在分析仪上稳定性期限	30 日

血清/血浆

样本体积 (μl)	8.0
稀释剂体积 (μl)	20
R1 试剂体积 (μl)	160
R2 试剂体积 (μl)	40
小数位数 (默认值)	0
单位 (默认值)	U/L
稀释因子	1:4 (使用 1/5 样本) (扩展测定范围)
线性	5-100U/L
摩尔吸光系数	6.22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands