



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108008131 A

(43)申请公布日 2018.05.08

(21)申请号 201711470188.6

(22)申请日 2017.12.29

(71)申请人 广州市丰华生物工程有限公司

地址 510000 广东省广州市广州经济技术
开发区银谊街6号

(72)发明人 冯健明 陈龙 黄艺平 徐倩

(74)专利代理机构 广州一锐专利代理有限公司
44369

代理人 杨昕昕

(51)Int.Cl.

G01N 33/573(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

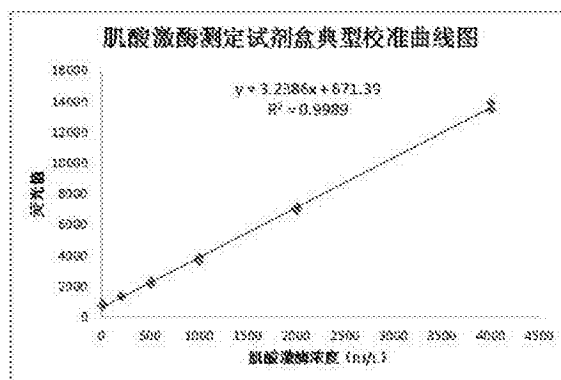
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒
及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种可以检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒,包括:酶试剂、铜试剂、反应板、纸片标准品和纸片质控品。另外本发明还公开了一种可以检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备方法以及一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法。本发明试剂盒可实现采血量极少即可检测血中肌酸激酶,用其检测滤纸干血片中肌酸激酶具有快速、特异性高、稳定、准确等特点。



1. 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒,包括:酶试剂、铜试剂、反应板、纸片标准品和纸片质控品。
2. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述酶试剂包含试剂R1-1,R1-2,R2;其中,R1-1试剂包含80~110mmol/L的咪唑缓冲液,1~5mmol/L的NADP,5~10KU/L的己糖激酶,1~20mmol/L的醋酸镁,1~10mmol/L的AMP,0.01~1mmol/L的磷酸腺苷,0.5~5mmol/L EDTA,1~100mmol/L的葡萄糖;R1-2试剂包含1~10mmol/L EDTA,0.1~1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100~1000mmol/L的SH稳定剂;R2试剂包含1~100KU/L G6PDH,1~20mmol/L ADP,10~50mmol/L的磷酸肌酸,10~20mmol/L的防腐剂,100~200mmol/L的磷酸。
3. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述铜试剂包含0.1~1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,1~10g/L的 Na_2CO_3 ,0.1~1%og/L的酒石酸钾钠。
4. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述反应板为未包被的空白微孔反应板。
5. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述纸片标准品通过如下方法制备得到:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成4个以上不同浓度的标准品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。
6. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述纸片质控品通过如下方法制备得到:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。
7. 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶试剂盒的制备方法,包括:酶试剂的制备步骤;铜试剂的制备步骤;反应板的制备步骤;纸片标准品的制备步骤;纸片质控品的制备步骤;酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装的步骤;贴标签的步骤;成品组装的步骤。
8. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,所述酶试剂的制备步骤的具体方法为:配制成R1-1试剂含80~110mmol/L的咪唑缓冲液,1~5mmol/L的NADP,5~10KU/L的己糖激酶,1~20mmol/L的醋酸镁,1~10mmol/L的AMP,0.01~1mmol/L的磷酸腺苷,0.5~5mmol/L EDTA,1~100mmol/L的葡萄糖;配制成R1-2试剂含1~10mmol/L EDTA,0.1~1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100~1000mmol/L的SH稳定剂;配制成R2试剂含1~100KU/L G6PDH,1~20mmol/L ADP,10~50mmol/L的磷酸肌酸,10~20mmol/L的防腐剂,100~200mmol/L的磷酸。
9. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,所述铜试剂的制备步骤为:配制成铜试剂含0.1~1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,1~10g/L的 Na_2CO_3 ,0.1~1%og/L的酒石酸钾钠。
10. 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法,其特征在于,使用权利要求1~6任一项所述的试剂盒,具体包括如下步骤:
 - (1) 实验准备:将试剂所需数量的微孔反应板、纸片标准品、纸片质控品、样本及试剂平衡至室温;
 - (2) 将纸片标准品、纸片质控品或样本用直径3.0mm的打孔器打入支架上;
 - (3) 向每孔中分别加入100~200 μl 酶试剂工作液;
 - (4) 反应板在37℃下,缓慢振荡孵育30~60min;
 - (5) 向每孔中加入100~200 μl 铜试剂,于多功能荧光免疫分析仪内进行荧光计数;按测定参数进行拟合分析,得到定量结果。

一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及肌酸激酶的检测,尤其是一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 肌酸激酶(CK),主要存在于骨骼肌和心肌,在脑组织中也存在,是参与体内的能量代谢的一种酶。肌酸激酶在临床诊断中具有重要的意义,在各种病变包括肌肉萎缩和心肌梗塞、病毒性心肌炎发生时,肌酸激酶(CK)升高。目前在临床上主要用于诊断心肌梗塞,认为在心肌梗塞的诊断中,测定肌酸激酶的水平检测比做心电图更为可靠。心肌梗死时,肌酸激酶在2~4小时开始升高,24小时达到高峰,3~4日恢复正常。肌酸激酶由于其具有重要的临床应用价值,已引起人们广泛的重视和深入的研究。

[0003] 肌营养不良症是指一组以进行性加重的肌无力和支配运动的肌肉变性为特征的遗传性疾病群。肌营养不良症包括先天性肌营养不良症、其他BECKER型MD等多种类型。部分肌营养不良症会导致运动受损甚至瘫痪。先天性肌营养不良症(CMD)是指一组特征为出生时或在婴儿期肌无力的一组遗传性神经肌肉紊乱。受影响的婴儿会表现出肌肉张力差,很少运动。儿童的生活和寿命质量都受到发展式肌营养不良症、呼吸妥协和脊柱强直影响。分区蛋白缺陷型先天性肌营养不良症(MDC1A)是最常见和最严重的先天性肌营养不良症,占全部CMD确诊病例的30-40%。MDC1A的特点是先天性肌张力低下、明显的关节挛缩、以及缺乏独立行走能力。由于出现呼吸问题,通常需要安置饲管和进行正压通气。MDC1A尚无疗法,患者通常在他们到达10岁的年龄前死亡。因此,幼儿肌营养不良的筛查非常重要。然而现有方法以血清为标本,采血量较大,因此现有肌酸激酶测定试剂盒并不适用于新生儿和低龄儿童肌酸激酶活性的测量。

[0004] 自上个世纪60年代,Robert Guthrie等人首次建立了滤纸干血片法,并用于新生儿苯丙酮尿症(PKU)的检查以来,以滤纸干血片作为检测样本已在新生儿疾病筛查领域形成共识,并在产前筛查及激素检测方面广泛应用。

目前需要一种只需要采较少血量,就能快速检测肌酸激酶的方法,满足新生儿、低龄儿童疾病筛查。

发明内容

[0005] 基于此,本发明为解决只需要采少量血就能快速检测肌酸激酶的技术问题,提供一种能检测滤纸干血片中肌酸激酶(CK)试剂盒,以达到只需要采少量血就能快速检测肌酸激酶的效果。

[0006] 本发明所要解决的上述技术问题,通过以下方案予以实现:

本发明提供一种能检测滤纸干血片中肌酸激酶(CK)试剂盒,包括:酶试剂、铜试剂、反应板、纸片标准品和纸片质控品。

[0007] 优选的,所述酶试剂包含试剂R1-1,R1-2,R2;其中,R1-1试剂包含80~110mmol/L的

咪唑缓冲液,1~5mmol/L的NADP,5~10KU/L的己糖激酶,1~20mmol/L的醋酸镁,1~10mmol/L的AMP,0.01~1mmol/L的磷酸腺苷,0.5~5mmol/L EDTA,1~100mmol/L的葡萄糖;R1-2试剂包含1~10mmol/L EDTA,0.1~1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100~1000mmol/L的SH稳定剂;R2试剂包含1~100KU/L G6PDH,1~20mmol/L ADP,10~50mmol/L的磷酸肌酸,10~20mmol/L的防腐剂,100~200mmol/L的磷酸。

[0008] 所述铜试剂包含0.1~1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,1~10g/L的 Na_2CO_3 ,0.1~1%g/L的酒石酸钾钠。

[0009] 所述反应板为:未包被的空白微孔反应板。

[0010] 所述纸片标准品为:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成4个以上不同浓度的标准品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0011] 所述纸片质控品为:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0012] 同时,本发明还提供了一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备方法,包括:酶试剂的制备步骤;铜试剂的制备步骤;反应板的制备步骤;纸片标准品、纸片质控品的制备步骤;酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装的步骤;贴标签的步骤;成品组装的步骤。

[0013] 优选的,所述酶试剂的制备步骤的具体方法为:配制成R1-1试剂含80~110mmol/L的咪唑缓冲液,1~5mmol/L的NADP,5~10KU/L的己糖激酶,1~20mmol/L的醋酸镁,1~10mmol/L的AMP,0.01~1mmol/L的磷酸腺苷,0.5~5mmol/L EDTA,1~100mmol/L的葡萄糖;配制成R1-2试剂含1~10mmol/L EDTA,0.1~1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100~1000mmol/L的SH稳定剂;配制成R2试剂含1~100KU/L G6PDH,1~20mmol/L ADP,10~50mmol/L的磷酸肌酸,10~20mmol/L的防腐剂,100~200mmol/L的磷酸。

[0014] 所述铜试剂的制备步骤为:配制成铜试剂含0.1~1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,1~10g/L的 Na_2CO_3 ,0.1~1%g/L的酒石酸钾钠。

[0015] 所述反应板的制备步骤:制成未包被的空白微孔反应板。

[0016] 所述纸片标准品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成4个以上不同浓度的标准品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0017] 所述纸片质控品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以40~60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0018] 所述酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装,之后贴标签,成品组装。

[0019] 上述步骤所得产品分装即为半成品。抽出3份经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装CK试剂盒(荧光分析法)。组装完成后还需抽检合格后才能出厂。

[0020] 同时,提供一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法,包括如下步骤:

(1)实验准备:将试剂所需数量的微孔反应板、纸片标准品、纸片质控品、样本及试剂平衡至室温。

[0021] (2)将纸片标准品、纸片质控品或样本用直径3.0mm的打孔器打入支架上。

[0022] (3)向每孔中分别加入100~200 μ l上述的酶试剂工作液。

[0023] (4)反应板在37℃下,缓慢振荡孵育30~60min。

[0024] (5)向每孔中加入100~200 μ l铜试剂,于多功能荧光免疫分析仪内进行荧光计数;按测定参数进行拟合分析,得到定量结果。

[0025] 优选的,所述酶试剂包含试剂R1-1,R1-2,R2;其中,R1-1试剂包含80~110mmol/L的咪唑缓冲液,1~5mmol/L的NADP,5~10KU/L的己糖激酶,1~20mmol/L的醋酸镁,1~10mmol/L的AMP,0.01~1mmol/L的磷酸腺苷,0.5~5mmol/L EDTA,1~100mmol/L的葡萄糖;R1-2试剂包含1~10mmol/L EDTA,0.1~1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100~1000mmol/L的SH稳定剂;R2试剂包含1~100KU/L G6PDH,1~20mmol/L ADP,10~50mmol/L的磷酸肌酸,10~20mmol/L的防腐剂,100~200mmol/L的磷酸。

[0026] 所述铜试剂包含0.1~1g/L的CuSO₄·5H₂O,1~10g/L的Na₂CO₃,0.1~1%g/L的酒石酸钾钠。

[0027] 所述反应板为未包被的空白微孔反应板。

[0028] 所述纸片标准品为以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成4个以上不同浓度的标准品,以40~60 μ l体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0029] 所述纸片质控品为以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以40~60 μ l体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0030] 本发明的有益效果为:

滤纸干血片为血液极好的载体,本文发明提供一种可以快速检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒,与现有血清样本为对象的检测结果具有高度的一致性,检测具有特异性高、稳定性良好、准确度高等优点。

[0031] 特异性高主要体现在样本不受胆红素(342 nmol/L)、血红蛋白(200 g/L)、甘油三酯(37 mmol/L)、胆固醇(13 mmol/L)四种常见内源性干扰物质的影响。

[0032] 稳定性良好主要体现在试剂盒在37℃条件下放置6天,各项性能指标依然符合要求。

[0033] 准确度高主要体现在:①具有良好的线性:在线性区间内,相关系数(r)不低于0.9900;②准确度:在试剂盒规定的线性区间范围内检测肌酸激酶国家标准品,其测量结果的相对偏差在±10%范围内;③批内精密度:平行测定试剂盒范围内的不同浓度纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于15%;④批间精密度:在3个不同批次产品之间,平行测定试剂盒范围内的不同浓度纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于20%。

[0034] 以滤纸干血片为检测样本,一滴血(约50 μ l)即可形成约10mm的血斑,本发明所需要的样本只有3.0mm-3.2mm的血斑,现有技术以血清为检测样本,通常单次取血量在1ml-5ml。由此可知,相比血清样品,本发明可以明显降低采血量,降低待检者疼痛感和不适感,减少心理负担,可以推广至新生儿、低龄儿童的疾病筛查,达到疾病早发现、早干预、早治疗的意义。

[0035] 以滤纸干血片为检测样本,样品递送较血清样品便捷,尤其适用偏远地区样品运

输。另外滤纸干血片为检测样本保存起来也较为便利,有利于潜在医疗纠纷的处理。

附图说明

[0036] 图1为本发明试剂盒纸片标准品典型曲线图。

[0037] 图2为本发明试剂盒与进口试剂盒样本检测线性相关性图(本发明试剂盒与进口试剂盒的检测结果具有相同的趋势)。

具体实施方式

[0038] 为更好的说明本发明的目的、技术方案和优点,下面将结合具体实施例对本发明作进一步说明。

[0039] 实施例1 检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备
试剂盒的制备包含以下步骤:

- (1)酶试剂的制备步骤
- (2)铜试剂的制备步骤;
- (3)反应板的制备步骤;
- (4)纸片标准品的制备步骤;
- (5)纸片质控品的制备步骤;
- (6)酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品的分装步骤;
- (7)贴标签的步骤;
- (8)成品组装的步骤。

[0040] 所述酶试剂的制备步骤:配制成R1-1试剂含80mmol/L的咪唑缓冲液,1mmol/L的NADP,5KU/L的己糖激酶,1mmol/L的醋酸镁,1mmol/L的AMP,0.01mmol/L的磷酸腺苷,0.5mmol/L EDTA,1mmol/L的葡萄糖;配制成R1-2试剂含1mmol/L EDTA,0.1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,100mmol/L的SH稳定剂;配制成R2试剂含1KU/L G6PDH,1mmol/L ADP,10mmol/L的磷酸肌酸,10mmol/L的防腐剂,100mmol/L的磷酸。

[0041] 所述铜试剂的制备步骤:配制成铜试剂含0.1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,1g/L的 Na_2CO_3 ,0.1%g/L的酒石酸钾钠。

[0042] 所述反应板的制备步骤:制成未包被的空白微孔反应板。

[0043] 所述纸片标准品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成4个不同浓度的标准品,以40 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0044] 所述纸片质控品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以40 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0045] 酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装。

[0046] 贴标签。

[0047] 成品组装。

[0048] 上述步骤所得产品分装即为半成品。抽出3份经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装CK试剂盒(荧光分析法)。组装完成后需抽检合格后出厂。

[0049] 实施例2 检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备

试剂盒的制备包含以下步骤：

- (1) 酶试剂的制备步骤
- (2) 铜试剂的制备步骤；
- (3) 反应板的制备步骤；
- (4) 纸片标准品的制备步骤；
- (5) 纸片质控品的制备步骤；
- (6) 酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品的分装步骤；
- (7) 贴标签的步骤；
- (8) 成品组装的步骤。

[0050] 所述酶试剂的制备步骤：配制成R1-1试剂含100mmol/L的咪唑缓冲液，3mmol/L的NADP，8KU/L的己糖激酶，10mmol/L的醋酸镁，5mmol/L的AMP，0.5mmol/L的磷酸腺苷，3mmol/L EDTA，50mmol/L的葡萄糖；配制成R1-2试剂含5mmol/L EDTA，0.5mmol/L N-乙酰半胱氨酸，500mmol/L的SH稳定剂；配制成R2试剂含50KU/L G6PDH，10mmol/L ADP，30mmol/L的磷酸肌酸，15mmol/L的防腐剂，150mmol/L的磷酸。

[0051] 所述铜试剂的制备步骤：配制成铜试剂含0.5g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ，5g/L的 Na_2CO_3 ，0.5%g/L的酒石酸钾钠。

[0052] 所述反应板的制备步骤：制成未包被的空白微孔反应板。

[0053] 所述纸片标准品的制备步骤：以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质，加入肌酸激酶纯品制备成5个不同浓度的标准品，以50 μl 体积分别滴加在滤纸上，干燥后得到。

[0054] 所述纸片质控品的制备步骤：以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质，加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品，以50 μl 体积分别滴加在滤纸上，干燥后得到。

[0055] 酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装。

[0056] 贴标签。

[0057] 成品组装。

[0058] 上述步骤所得产品分装即为半成品。抽出3份经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装CK试剂盒（荧光分析法）。组装完成后需抽检合格后出厂。

[0059] 实施例3 检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备

试剂盒的制备包含以下步骤：

- (1) 酶试剂的制备步骤
- (2) 铜试剂的制备步骤；
- (3) 反应板的制备步骤；
- (4) 纸片标准品的制备步骤；
- (5) 纸片质控品的制备步骤；
- (6) 酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品的分装步骤；
- (7) 贴标签的步骤；
- (8) 成品组装的步骤。

[0060] 所述酶试剂的制备步骤:配制成R1-1试剂含110mmol/L的咪唑缓冲液,5mmol/L的NADP,10KU/L的己糖激酶,20mmol/L的醋酸镁,10mmol/L的AMP,1mmol/L的磷酸腺苷,5mmol/L EDTA,100mmol/L的葡萄糖;配制成R1-2试剂含10mmol/L EDTA,1mmol/L N-乙酰半胱氨酸,1000mmol/L的SH稳定剂;配制成R2试剂含100KU/L G6PDH,20mmol/L ADP,50mmol/L的磷酸肌酸,20mmol/L的防腐剂,200mmol/L的磷酸。

[0061] 所述铜试剂的制备步骤为:配制成铜试剂含1g/L的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,10g/L的 Na_2CO_3 ,1%g/L的酒石酸钾钠。

[0062] 所述反应板的制备步骤:制成未包被的空白微孔反应板。

[0063] 所述纸片标准品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成6个不同浓度的标准品,以60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0064] 所述纸片质控品的制备步骤:以50%~55%的血细胞比容的人血红细胞和阴性血清混合物为基质,加入肌酸激酶纯品制备成两个不同浓度的质控品,以60 μl 体积分别滴加在滤纸上,干燥后得到。

[0065] 酶试剂、铜试剂、纸片标准品和纸片质控品分装。

[0066] 贴标签。

[0067] 成品组装。

[0068] 上述步骤所得产品分装即为半成品。抽出3份经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装CK试剂盒(荧光分析法)。组装完成后需抽检合格后出厂。

[0069] 实施例4 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法

使用实施例2所述试剂盒,包括如下主要实验步骤:

(1)实验准备:将试剂所需数量的微孔反应板、纸片标准品、纸片质控品、样本及试剂平衡至室温。

[0070] (2)将纸片标准品、纸片质控品或样本用直径3.0mm的打孔器打入支架上。

[0071] (3)向每孔中分别加入150 μl 上述的酶试剂工作液。

[0072] (4)反应板在37℃下,缓慢振荡孵育50min。

[0073] (5)向每孔中加入150 μl 铜试剂,于多功能荧光免疫分析仪内进行荧光计数;按测定参数进行拟合分析,得到定量结果。

[0074] 实验结果

1)空白限:本发明空白限不高于5IU/L。

[0075] 2)线性:在线性区间内,相关系数(r)不低于0.9900,结果见图1,表明该方法线性良好。

[0076] 3)准确度:在试剂盒规定的线性区间范围内检测肌酸激酶国家标准品,其测量结果的相对偏差在 $\pm 10\%$ 范围内。

[0077] 4)批内精密度:平行测定试剂盒范围内的不同浓度纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于15%。

[0078] 5)批间精密度:在3个不同批次产品之间,平行测定试剂盒范围内的不同浓度纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于20%。

[0079] 6)特异性:样本不受胆红素(342 nmol/L)、血红蛋白(200 g/L)、甘油三酯(37

mmol/L)、胆固醇(13 mmol/L)四种常见内源性干扰物质的影响。

[0080] 7) 稳定性:试剂盒在37℃条件下放置6天,上述性能指标依然符合要求。

[0081] 8) 采用本发明试剂盒检测的滤纸干血片样本与进口试剂盒检测的血清样本,检测结果具有高度的一致性,结果见图2,表明该检测方法所得结果准确。

[0082] 实施例5 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法

使用实施例1所述试剂盒,包括如下主要实验步骤:

(1) 实验准备:将试剂所需数量的微孔反应板、纸片标准品、纸片质控品、样本及试剂平衡至室温。

[0083] (2) 将纸片标准品、纸片质控品或样本用直径3.0mm的打孔器打入支架上。

[0084] (3) 向每孔中分别加入100μl上述的酶试剂工作液。

[0085] (4) 反应板在37℃下,缓慢振荡孵育30min。

[0086] (5) 向每孔中加入100μl铜试剂,于多功能荧光免疫分析仪内进行荧光计数;按测定参数进行拟合分析,得到定量结果。

[0087] 实验结果

1) 空白限:本发明空白限不高于5IU/L。

[0088] 2) 线性:在线性区间内,相关系数(r)不低于0.9900。

[0089] 3) 准确度:在试剂盒规定的线性区间范围内检测肌酸激酶国家标准品,其测量结果的相对偏差在±10%范围内。

[0090] 4) 批内精密性:平行测定试剂盒范围内的不同浓度的纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于15%。

[0091] 5) 批间精密性:在3个不同批次产品之间,平行测定试剂盒范围内不同浓度的纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于20%。

[0092] 6) 特异性:样本不受胆红素(342 nmol/L)、血红蛋白(200 g/L)、甘油三酯(37 mmol/L)、胆固醇(13 mmol/L)等四种常见内源性干扰物质的影响。

[0093] 7) 稳定性:试剂盒在37℃条件下放置6天,上述性能指标依然符合要求。

[0094] 8) 采用本发明试剂盒检测的滤纸干血片样本与进口试剂盒检测的血清样本,检测结果具有高度的一致性。

[0095] 实施例6 一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法

使用实施例3所述试剂盒,包括如下主要实验步骤:

(1) 实验准备:将试剂所需数量的微孔反应板、纸片标准品、纸片质控品、样本及试剂平衡至室温。

[0096] (2) 将纸片标准品、纸片质控品或样本用直径3.0mm的打孔器打入支架上。

[0097] (3) 向每孔中分别加入200μl上述的酶试剂工作液。

[0098] (4) 反应板在37℃下,缓慢振荡孵育60min。

[0099] (5) 向每孔中加入200μl铜试剂,于多功能荧光免疫分析仪内进行荧光计数;按测定参数进行拟合分析,得到定量结果。

[0100] 实验结果

1) 空白限:本发明空白限不高于5IU/L。

[0101] 2) 线性:在线性区间内,相关系数(r)不低于0.9900。

[0102] 3) 准确度:在试剂盒规定的线性区间范围内检测肌酸激酶国家标准品,其测量结果的相对偏差在 $\pm 10\%$ 范围内。

[0103] 4) 批内精密度:平行测定试剂盒范围内不同浓度的纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于15%。

[0104] 5) 批间精密度:在3个不同批次产品之间,平行测定试剂盒范围内不同浓度的纸片质控品,测定结果的变异系数(CV)不高于20%。

[0105] 6) 特异性:样本不受胆红素(342 nmol/L)、血红蛋白(200 g/L)、甘油三酯(37 mmol/L)、胆固醇(13 mmol/L)四种常见内源性干扰物质的影响。

[0106] 7) 稳定性:试剂盒在37℃条件下放置6天,上述性能指标依然符合要求。

[0107] 8) 采用本发明试剂盒检测的滤纸干血片样本与进口试剂盒检测的血清样本,检测结果具有高度的一致性。

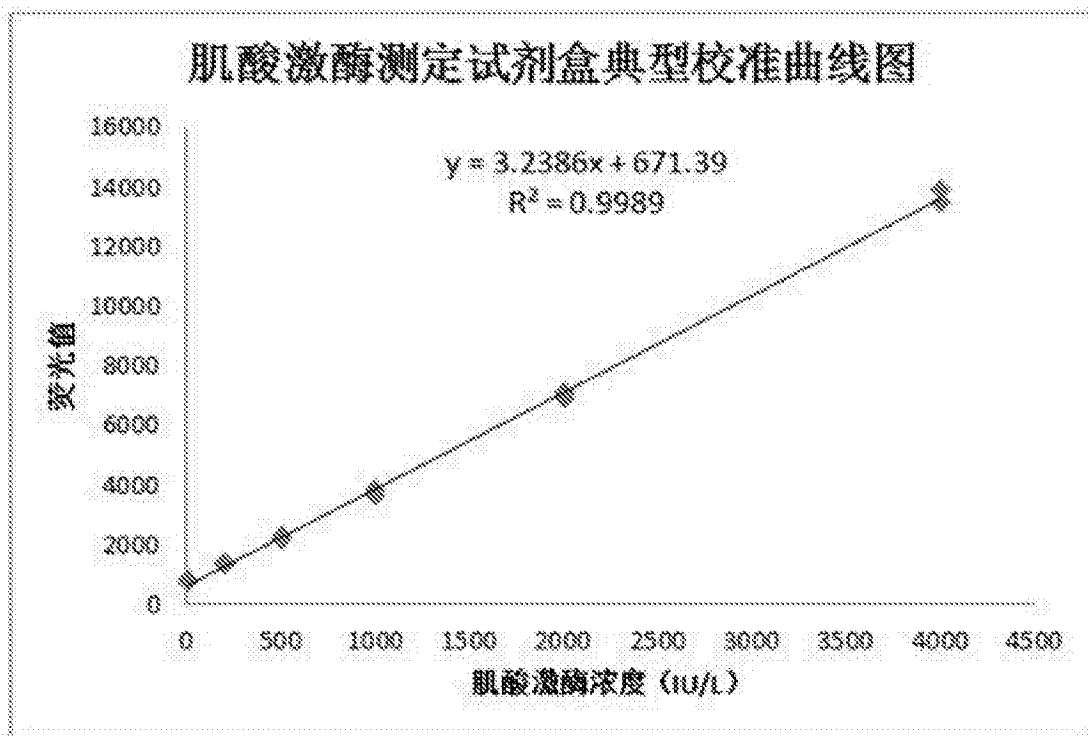


图1

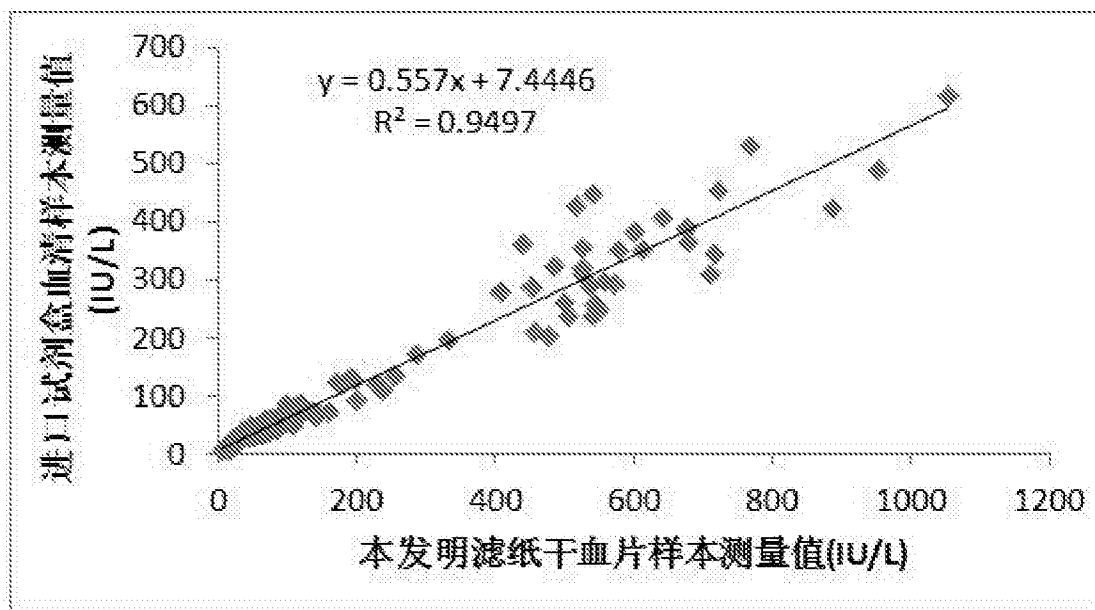


图2

专利名称(译)	一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN108008131A	公开(公告)日	2018-05-08
申请号	CN2017111470188.6	申请日	2017-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	广州市丰华生物工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州市丰华生物工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州市丰华生物工程有限公司		
[标]发明人	冯健明 陈龙 黄艺平 徐倩		
发明人	冯健明 陈龙 黄艺平 徐倩		
IPC分类号	G01N33/573 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/573 G01N33/533 G01N2800/324		
代理人(译)	杨昕昕		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种可以检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒，包括：酶试剂、铜试剂、反应板、纸片标准品和纸片质控品。另外本发明还公开了一种可以检测滤纸干血片中肌酸激酶的试剂盒的制备方法以及一种检测滤纸干血片中肌酸激酶的方法。本发明试剂盒可实现采血量极少即可检测血中肌酸激酶，用其检测滤纸干血片中肌酸激酶具有快速、特异性高、稳定、准确等特点。

