



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107641642 B

(45) 授权公告日 2021.02.12

(21) 申请号 201711008283.4

(22) 申请日 2017.10.25

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107641642 A

(43) 申请公布日 2018.01.30

(73) 专利权人 武汉生之源生物科技股份有限公司
地址 430206 湖北省武汉市东湖开发区高新大道818号高科医疗器械园B11号2楼

(72) 发明人 华权高 龚婷 徐春雷

(74) 专利代理机构 北京众达德权知识产权代理有限公司 11570
代理人 王俊杰

(51) Int. Cl.
C12Q 1/48 (2006.01)
C12Q 1/32 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 107267595 A, 2017.10.20

CN 101063111 A, 2007.10.31

CN 102154443 A, 2011.08.17

CN 104357544 A, 2015.02.18

CN 106011163 A, 2016.10.12

CN 107236786 A, 2017.10.10

CN 102154443 A, 2011.08.17

CN 107236785 A, 2017.10.10

CN 106932353 A, 2017.07.07

CN 104374905 A, 2015.02.25

孙颖等. 干生化法肌酸激酶同工酶大于肌酸激酶30例肌酸激酶同工酶质量检测结果分析.《山西医药杂志》.2014,第43卷(第1期),94-95.

赵海燕等. 血清肌酸激酶活性测定和临床应用.《中国当代医药》.2010,第17卷(第5期),13-16.

毕经丽. CK-MB活性测定方法的影响及其与疾病临床关系分析.《世界最新医学信息文摘》.2016,第16卷(第28期),112-116.

审查员 夏向东

权利要求书3页 说明书10页

(54) 发明名称
一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法

试剂稳定性,试剂的测值偏差小于10%。

(57) 摘要
本发明的主要目的在于提供一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法,所述试剂I包括如下组分:咪唑缓冲液90-120mmol/L,N-乙酰半胱氨酸15-25mmol/L,磷酸肌酸25-35mmol/L,二磷酸腺苷1-10mmol/L,三磷酸腺苷1-10mmol/L,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶>1.5KU/L,己糖激酶>2.5KU/L,肌酸激酶同工酶抗体>2.0KU/L;聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.01-0.05%,三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01-0.05%,月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01-0.02%,异构抗坏血酸钠0.05%,其余为水;所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸1-5mmol/L,葡萄糖10-30mmol/L;其余为水。在37℃保存14天的情况下,本发明仍保持了较高的

CN 107641642 B

1. 一种肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:包括试剂I和试剂II,所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,咪唑缓冲液90-120mmol/L, N-乙酰半胱氨酸15-25mmol/L, 磷酸肌酸25-35mmol/L, 二磷酸腺苷1-10mmol/L, 三磷酸腺苷1-10mmol/L, 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶>1.5KU/L, 己糖激酶>2.5KU/L, 肌酸激酶同工酶抗体>2.0KU/L; 聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.01-0.05%, 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01-0.05%, 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01-0.02%, 异构抗坏血酸钠0.05%, 其余为水; 所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸1-5mmol/L, 葡萄糖10-30mmol/L; 其余为水.
2. 根据权利要求1所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,咪唑缓冲液100mmol/L, N-乙酰半胱氨酸20mmol/L, 磷酸肌酸30mmol/L, 二磷酸腺苷5mmol/L, 三磷酸腺苷5mmol/L, 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶>1.5KU/L, 己糖激酶>2.5KU/L, 肌酸激酶同工酶抗体>2.0KU/L; 聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.01-0.05%, 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01-0.05%, 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01-0.02%, 异构抗坏血酸钠0.05%, 其余为水; 所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L, 葡萄糖20mmol/L; 其余为水.
3. 根据权利要求1或2所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述试剂I中聚乙烯

吡咯烷酮为聚乙烯吡咯烷酮K12。

4. 根据权利要求3所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,

咪唑缓冲液100mmol/L,
N-乙酰半胱氨酸20mmol/L,
磷酸肌酸30mmol/L,
二磷酸腺苷5mmol/L,
三磷酸腺苷5mmol/L,
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L,
己糖激酶2.5KU/L,
肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L,
聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.01%,
三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.05%,
月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01%,
异构抗坏血酸钠0.05%;
其余为水;

所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L,
葡萄糖20mmol/L;
其余为水。

5. 根据权利要求3所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述试剂I包括如下组分,以试剂I溶液为基础,

咪唑缓冲液100mmol/L,
N-乙酰半胱氨酸20mmol/L,
磷酸肌酸30mmol/L,
二磷酸腺苷5mmol/L,
三磷酸腺苷5mmol/L,
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L,
己糖激酶2.5KU/L,
肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L,
聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.05%,
三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01%,
月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.02%,
异构抗坏血酸钠0.05%;
其余为水;

所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L,
葡萄糖20mmol/L;
其余为水。

6. 根据权利要求1或2所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述咪唑缓冲液的pH=6.0。

7. 根据权利要求1或2所述的肌酸激酶同工酶双试剂,其特征在于:所述试剂I与试剂II的体积比为(2-4):1。

8. 根据权利要求1-7任一项所述肌酸激酶同工酶双试剂的制备方法,其特征在于:所述方法包括如下步骤:

1) 称量N-乙酰半胱氨酸、磷酸肌酸、二磷酸腺苷、三磷酸腺苷、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、己糖激酶、肌酸激酶同工酶抗体、聚乙烯吡咯烷酮、月桂基二羟乙基氧化胺及异构抗坏血酸钠,溶解于水中,得到混合液,将所述混合液与咪唑缓冲液混合后,加入三(壬苯基)亚磷酸酯溶解,得到试剂I溶液;

2) 称量烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸与葡萄糖,溶解于水中,得到试剂II溶液。

一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫检测领域,尤其涉及一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 肌酸激酶同工酶测定试剂盒(选择性抑制法)用于测定人体血清或血浆中肌酸激酶同工酶的含量。血清CK-MB(肌酸激酶同工酶)测定的最重要意义在于诊断急性心肌梗塞。临床上常以CK-MB超过CK总活性作为急性型心肌梗塞的诊断依据。肌酸激酶是细胞内能量转运、代谢起着至关重要的激酶。肌酸激酶同工酶是肌酸激酶的一种同工酶,是在翻译后修饰而生成的,主要存在于心肌细胞中(还有少量存在于骨骼肌、肠道、舌头、前列腺以及子宫中),是心肌能量代谢途径中非常重要的肌酸激酶,由两个亚基组成,代表肌肉和大脑。

[0003] 肌酸激酶同工酶的检验原理为肌酸激酶(CK)主要的同工酶包括CKMB、CKBB、CKMM,因为正常血清中几乎无CKBB,抗M亚单位的抗血清可以和CKMM及CKMB中的M亚单位形成抗原抗体复合物,从而完全抑制M亚单位的酶活力,将测得的CK活力值乘以2则代表CKMB的活力。肌酸激酶(CK)活力的检测原理是:CK催化磷酸肌酸与二磷酸腺苷(ADP)反应产生三磷酸腺苷(ATP)与肌酸;偶联己糖激酶(HK)及葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)的催化反应。HK催化葡萄糖与ATP反应,形成葡萄糖-6-磷酸,G6PDH催化葡萄糖-6-磷酸氧化,形成6-磷酸葡萄糖内酯及NADPH,NADPH生成的速率代表CK活力。

[0004] 由于抗原是蛋白,本身稳定性极差,在室温条件下小时内会全部降解。肌酸激酶同工酶在满足临床要求后,对其进行稳定性评价。肌酸激酶同工酶测定试剂盒(免疫抑制法)要攻克的一个难点就是试剂稳定性,必须满足37℃热破14天后各个性能指标还能满足偏差小于10%的要求。而现有试剂难以达到上述要求。

发明内容

[0005] 针对现有技术中的上述缺陷,本发明的主要目的在于提供一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法,在37℃保存14天的情况下,本发明仍保持了较高的试剂稳定性,试剂的测值偏差小于10%。

[0006] 为了达到上述目的,本发明采用如下技术方案:一种肌酸激酶同工酶双试剂,包括试剂I和试剂II,

[0007] 所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,

[0008] 咪唑缓冲液90-120mmol/L,

[0009] N-乙酰半胱氨酸15-25mmol/L,

[0010] 磷酸肌酸25-35mmol/L,

[0011] 二磷酸腺苷1-10mmol/L,

[0012] 三磷酸腺苷1-10mmol/L,

[0013] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶>1.5KU/L,

[0014] 己糖激酶>2.5KU/L,

- [0015] 肌酸激酶同工酶抗体 $>2.0\text{KU/L}$;
- [0016] 聚乙烯吡咯烷酮质量浓度 $0.01\text{-}0.05\%$,
- [0017] 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度 $0.01\text{-}0.05\%$,
- [0018] 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度 $0.01\text{-}0.02\%$,
- [0019] 异构抗坏血酸钠 0.05% ,
- [0020] 其余为水;
- [0021] 所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,
- [0022] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 $1\text{-}5\text{mmol/L}$,
- [0023] 葡萄糖 $10\text{-}30\text{mmol/L}$;
- [0024] 其余为水。
- [0025] 作为进一步的优选,所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,
- [0026] 咪唑缓冲液 100mmol/L ,
- [0027] N-乙酰半胱氨酸 20mmol/L ,
- [0028] 磷酸肌酸 30mmol/L ,
- [0029] 二磷酸腺苷 5mmol/L ,
- [0030] 三磷酸腺苷 5mmol/L ,
- [0031] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 $>1.5\text{KU/L}$,
- [0032] 己糖激酶 $>2.5\text{KU/L}$,
- [0033] 肌酸激酶同工酶抗体 $>2.0\text{KU/L}$;
- [0034] 聚乙烯吡咯烷酮质量浓度 $0.01\text{-}0.05\%$,
- [0035] 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度 $0.01\text{-}0.05\%$,
- [0036] 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度 $0.01\text{-}0.02\%$,
- [0037] 异构抗坏血酸钠 0.05% ,
- [0038] 其余为水;
- [0039] 所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,
- [0040] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 2mmol/L ,
- [0041] 葡萄糖 20mmol/L ;
- [0042] 其余为水。
- [0043] 作为进一步的优选,所述试剂I中聚乙烯吡咯烷酮为聚乙烯吡咯烷酮K12。作为进一步的优选,所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,
- [0044] 咪唑缓冲液 100mmol/L ,
- [0045] N-乙酰半胱氨酸 20mmol/L ,
- [0046] 磷酸肌酸 30mmol/L ,
- [0047] 二磷酸腺苷 5mmol/L ,
- [0048] 三磷酸腺苷 5mmol/L ,
- [0049] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 1.5KU/L ,
- [0050] 己糖激酶 2.5KU/L ,
- [0051] 肌酸激酶同工酶抗体 2.0KU/L ,
- [0052] 聚乙烯吡咯烷酮K12质量浓度 0.01% ,

- [0053] 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.05%，
- [0054] 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01%，
- [0055] 异构抗坏血酸钠0.05%；
- [0056] 其余为水；
- [0057] 所述试剂II包括如下组分：以试剂II溶液为基础，
- [0058] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L，
- [0059] 葡萄糖20mmol/L；
- [0060] 其余为水。
- [0061] 作为进一步的优选，所述试剂I包括如下组分，以试剂I溶液为基础，
- [0062] 咪唑缓冲液100mmol/L，
- [0063] N-乙酰半胱氨酸20mmol/L，
- [0064] 磷酸肌酸30mmol/L，
- [0065] 二磷酸腺苷5mmol/L，
- [0066] 三磷酸腺苷5mmol/L，
- [0067] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L，
- [0068] 己糖激酶2.5KU/L，
- [0069] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L，
- [0070] 聚乙烯吡咯烷酮K12质量浓度0.05%，
- [0071] 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01%，
- [0072] 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.02%，
- [0073] 异构抗坏血酸钠0.05%；
- [0074] 其余为水；
- [0075] 所述试剂II包括如下组分：以试剂II溶液为基础，
- [0076] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L，
- [0077] 葡萄糖20mmol/L；
- [0078] 其余为水。
- [0079] 作为进一步的优选，所述咪唑缓冲液pH=6.0。
- [0080] 作为进一步的优选，所述试剂I与试剂II的体积比为(2-4):1。
- [0081] 本发明的另一目的还在于提供了一种肌酸激酶同工酶双试剂的制备方法，所述方法包括如下步骤：
- [0082] 1) 称量N-乙酰半胱氨酸、磷酸肌酸、二磷酸腺苷、三磷酸腺苷、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、己糖激酶、肌酸激酶同工酶抗体、聚乙烯吡咯烷酮、月桂基二羟乙基氧化胺及异构抗坏血酸钠，溶解于水中，得到混合液，将所述混合液与咪唑缓冲液混合后，加入三(壬苯基)亚磷酸酯溶解，得到试剂I溶液；
- [0083] 2) 称量烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸与葡萄糖，溶解于水中，得到试剂II溶液。
- [0084] 本发明的有益效果是：本发明肌酸激酶同工酶测定试剂盒试剂I中添加了聚乙烯吡咯烷酮、月桂基二羟乙基氧化胺及三(壬苯基)亚磷酸酯，另外还含有抗氧化剂异构抗坏血酸钠，提高了试剂的保存稳定性。经过验证，2-8℃下本发明保质期可以长达一年半，极大的提高了实际的货架期，其运输稳定性也大大提高。对于偏远山区样本量少的乡镇医院有

很大的帮助。且在37℃保存14天的情况下,本发明仍保持了较高的试剂稳定性,试剂的测值偏差小于10%。

具体实施方式

[0085] 本发明实施例通过提供一种肌酸激酶同工酶双试剂及其制备方法,克服了现有肌酸激酶同工酶测定试剂盒中试剂稳定性差的缺陷。

[0086] 为了解决上述缺陷,本发明实施例的主要思路是:

[0087] 本发明实施例肌酸激酶同工酶双试剂,包括试剂I和试剂II,

[0088] 所述试剂I包括如下组分:以试剂I溶液为基础,

[0089] 咪唑缓冲液90-120mmol/L,

[0090] N-乙酰半胱氨酸15-25mmol/L,

[0091] 磷酸肌酸25-35mmol/L,

[0092] 二磷酸腺苷1-10mmol/L,

[0093] 三磷酸腺苷1-10mmol/L,

[0094] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶>1.5KU/L,

[0095] 己糖激酶>2.5KU/L,

[0096] 肌酸激酶同工酶抗体>2.0KU/L;

[0097] 聚乙烯吡咯烷酮质量浓度0.01-0.05%,

[0098] 三(壬苯基)亚磷酸酯质量浓度0.01-0.05%,

[0099] 月桂基二羟乙基氧化胺质量浓度0.01-0.02%,

[0100] 异构抗坏血酸钠0.05%,

[0101] 其余为水;

[0102] 所述试剂II包括如下组分:以试剂II溶液为基础,

[0103] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸1-5mmol/L,

[0104] 葡萄糖10-30mmol/L,

[0105] 其余为水。

[0106] 其中,上述各试剂成分可通过市售渠道购买或按现有方法配制;将各试剂称量、溶解及定容,上述各成分的浓度均为在试剂I或II溶液中最终的浓度;三(壬苯基)亚磷酸酯最后添加在已包含其它成分的试剂I溶液中溶解。

[0107] 使用时,将待测样本与试剂I和试剂II混合,使其充分反应;用全自动生化分析仪测定反应后的吸光度差值;根据吸光度变化值计算出样本中的肌酸激酶同工酶的值。

[0108] 上述月桂基二羟乙基氧化胺是很好的表面活性剂,同时具有很好的杀灭细菌的功能,在本发明中既能起到表面活性作用,又能降低溶液中的溶剂氧含量,由于分子结构中具有氧负离子基团,能起到杀菌的作用,降低染菌引起的试剂变质,提高试剂的保存稳定性;三(壬苯基)亚磷酸酯通常是用于橡胶工业的防老化剂,但是其是水不溶的一种有机分子,通常不能用于溶液中的防氧化,但是在本发明实施例中,由于添加了聚乙烯吡咯烷酮成分,三(壬苯基)亚磷酸酯可以少量存在于溶剂中,而且由于其是一种亚磷酸酯成分,具有较好的还原性,可以避免试剂中的乙酰半胱氨酸被空气中的氧化掉,更进一步的提高了试剂的长期稳定性。同时,由于添加了聚乙烯吡咯烷酮成分,抗氧化剂异构抗坏血酸钠能够起到

吸附和缓释效果,在提高溶液的保质期上,起到非常好的效果。

[0109] 为了让本发明之上述和其它目的、特征、和优点能更明显易懂,下文特举数实施例,来说明本发明所述之肌酸激酶同工酶双试剂。

[0110] 实施例1

[0111] 本发明实施例肌酸激酶同工酶双试剂中,试剂I的组成为:

[0112] 聚乙烯吡咯烷酮K12添加量:质量分数0.01%

[0113] 月桂基二羟乙基氧化胺添加量:质量分数0.01%

[0114] 三(壬苯基)亚磷酸酯添加量:质量分数0.05%

[0115] 抗氧化剂异构抗坏血酸钠:质量浓度为0.05%

[0116] 咪唑缓冲液pH=6.0、100mmol/L

[0117] N-乙酰半胱氨酸20mmol/L

[0118] 磷酸肌酸30mmol/L

[0119] 二磷酸腺苷5mmol/L

[0120] 三磷酸腺苷5mmol/L

[0121] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L

[0122] 己糖激酶2.5KU/L

[0123] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L

[0124] 其余为水;

[0125] 检测试剂II的组成为

[0126] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L

[0127] 葡萄糖20mmol/L;

[0128] 其余为水。

[0129] 实施例2

[0130] 本发明实施例肌酸激酶同工酶双试剂中,试剂I的组成为:

[0131] 聚乙烯吡咯烷酮K12添加量:质量分数0.05%

[0132] 月桂基二羟乙基氧化胺添加量:质量分数0.02%

[0133] 三(壬苯基)亚磷酸酯添加量:质量分数0.01%

[0134] 抗氧化剂异构抗坏血酸钠:质量浓度为0.05%

[0135] 咪唑缓冲液pH=6.0、100mmol/L

[0136] N-乙酰半胱氨酸20mmol/L

[0137] 磷酸肌酸30mmol/L

[0138] 二磷酸腺苷5mmol/L

[0139] 三磷酸腺苷5mmol/L

[0140] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L

[0141] 己糖激酶2.5KU/L

[0142] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L;

[0143] 其余为水;

[0144] 检测试剂II的组成为:

[0145] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L

- [0146] 葡萄糖20mmol/L，
[0147] 其余为水。
[0148] 实施例3
[0149] 本发明实施例肌酸激酶同工酶双试剂中，试剂I的组成为：
[0150] 聚乙烯吡咯烷酮K12添加量：质量分数0.01%
[0151] 月桂基二羟乙基氧化胺添加量：质量分数0.01%
[0152] 三(壬苯基)亚磷酸酯添加量：质量分数0.05%
[0153] 抗氧化剂异构抗坏血酸钠：质量浓度为0.05%
[0154] 咪唑缓冲液pH=6.0、120mmol/L
[0155] N-乙酰半胱氨酸25mmol/L
[0156] 磷酸肌酸35mmol/L
[0157] 二磷酸腺苷10mmol/L
[0158] 三磷酸腺苷10mmol/L
[0159] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L
[0160] 己糖激酶2.5KU/L
[0161] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L
[0162] 其余为水；
[0163] 检测试剂II的组成为：
[0164] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸5mmol/L
[0165] 葡萄糖30mmol/L；
[0166] 其余为水。
[0167] 实施例4
[0168] 聚乙烯吡咯烷酮K12添加量：质量分数0.05%
[0169] 月桂基二羟乙基氧化胺添加量：质量分数0.02%
[0170] 三(壬苯基)亚磷酸酯添加量：质量分数0.01%
[0171] 抗氧化剂异构抗坏血酸钠：质量浓度为0.05%
[0172] 咪唑缓冲液pH=6.0、90mmol/L
[0173] N-乙酰半胱氨酸15mmol/L
[0174] 磷酸肌酸25mmol/L
[0175] 二磷酸腺苷1mmol/L
[0176] 三磷酸腺苷1mmol/L
[0177] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L
[0178] 己糖激酶2.5KU/L
[0179] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L
[0180] 检测试剂II的组成为：
[0181] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸1mmol/L
[0182] 葡萄糖10mmol/L；
[0183] 其余为水。
[0184] 对比实施例1

- [0185] 试剂I:
- [0186] 咪唑缓冲液pH=6.0、100mmol/L,
- [0187] N-乙酰半胱氨酸20mmol/L,
- [0188] 磷酸肌酸30mmol/L,
- [0189] 二磷酸腺苷5mmol/L,
- [0190] 三磷酸腺苷5mmol/L,
- [0191] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶1.5KU/L,
- [0192] 己糖激酶2.5KU/L,
- [0193] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L;
- [0194] 检测试剂II的组成为
- [0195] 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸2mmol/L,
- [0196] 葡萄糖20mmol/L;
- [0197] 其余为水。
- [0198] 对比实施例2
- [0199] 试剂I:
- [0200] 咪唑-醋酸盐缓冲液pH=6.4、90mM
- [0201] 乙二胺四乙酸二钠盐2.3mM
- [0202] 醋酸镁11.5mM
- [0203] N-乙酰半胱氨酸23mM
- [0204] 腺苷二磷酸2.3mM
- [0205] 腺苷一磷酸5.8mM
- [0206] 五磷酸二腺苷11.5 μ M
- [0207] 葡萄糖23mM
- [0208] 辅酶II 2.3mM
- [0209] 己糖激酶3.45KU/L
- [0210] 六磷酸葡萄糖脱氢酶2.3KU/L
- [0211] 吐温80体积0.1%
- [0212] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L
- [0213] 试剂II
- [0214] 磷酸肌酸345mM
- [0215] 咪唑150mM;
- [0216] 其余为水。
- [0217] 对比实施例3
- [0218] 试剂I:
- [0219] 咪唑-醋酸盐缓冲液pH=6.6、115mM
- [0220] 乙二胺四乙酸二钠盐2.3mM
- [0221] 醋酸镁11.5mM
- [0222] N-乙酰半胱氨酸23mM
- [0223] 腺苷二磷酸2.3mM

- [0224] 腺苷一磷酸5.8mM
 [0225] 五磷酸二腺苷11.5 μ M
 [0226] 葡萄糖23mM
 [0227] 辅酶II 2.3mM
 [0228] 己糖激酶3.45KU/L
 [0229] 六磷酸葡萄糖脱氢酶2.3KU/L
 [0230] 曲拉通X100 0.1%体积
 [0231] 肌酸激酶同工酶抗体2.0KU/L
 [0232] 试剂II：
 [0233] 磷酸肌酸345mM；
 [0234] 其余为水。
 [0235] 实验例1

[0236] 将制备好的实施例和对比实施例中的试剂，均制备成两套试剂，一套置于2-8℃冰箱内作为对照试剂，另一套置于37℃恒温箱内作为考察试剂，同时放置十四天，然后两套试剂同时进行步实验。2-8℃冰箱保存的试剂相对于37℃的校准品，吸光度变化速率即酶活性跌幅在10%以内，由于校准品的酶活性的精密度偏差，因此对于该点的增幅属于可接受范围。同时将37℃处理十四天后的试剂进行性能评估后，各项基本参数均与2-8℃冰箱的试剂相差不大，可以确定试剂的加速热稳定性良好，对试剂加速破坏实验进行了测试，发现本发明实施例1-4制备的试剂在37℃保存14天的情况下，仍保持了较高的试剂稳定性，试剂的测值偏差本发明的试剂小于10%，而对比实施例的3种试剂未能控制在10%以内。其中医院高值样本（医院测试CKMB分别为1号标本30U/L，2号标本29U/L，3号标本160U/L），利德曼质控品4号标本（批号：501071B靶值为148U/L）等。1-7分别为实施例1-4、对比实施例1-3制备的试剂盒置于2-8℃冰箱保存14天后的测值，①-⑦分别为实施例1-4、对比实施例1-3制备的试剂盒37℃热破14天后的测试结果。

[0237] 表1测定血清的肌酸激酶同工酶含量值

标本号	1	2	3	4	5	6	7
1	30	30	30	30	30	30	30
2	28	30	30	28	28	28	27
3	159	162	160	162	159	159	162
4	147	148	148	147	147	147	148

[0239] 表2测定血清的肌酸激酶同工酶含量值

标本号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
[0240] 1	30	30	30	30	25	24	25
2	28	30	28	30	23	21	20
3	159	162	160	162	132	120	134
4	147	148	149	148	114	103	121

[0241] 实验例2

[0242] 同样方法制备两套检测试剂,一套作为对照,一套进行震荡实验,对比震荡后的检测数值下降的情况,具体方法为将试剂装于贝克曼试剂瓶中并置于42℃恒温摇床(参数设置:温度为42℃,速度为130RPM,时间为72h),于72h后取出,需测定试剂性能指标的临床比对。

[0243] 震荡后临床比对

[0244] 进行了震荡三天试验后的试剂与未进行震荡试验(同一批次)的试剂分别用K值定标方式进行校准,以此确定两种检测条件。

[0245] 在以上两种检测条件下,标本选取覆盖参考范围内和参考范围以外的血清,标本中需有高值(高于24U/L的值)。低于18U/L的10支血清,18U/L-24U/L的10支血清,大于24U/L的10支血清。这些高值中需有且仅有一支高于1000U/L的高值样本(按下列顺序优先选择:1.高值血清,2.质控浓缩液)。

[0246] 按试剂盒使用说明书操作,大于24U/L的血清标本为阳性标本,小于或等于24U/L的血清标本为阴性标本,阴性率=阴性标本/总标本数×100%。两组检测条件下的临床,高于24U/L的标本临床偏差(R%)((震荡试剂测值-震荡前试剂测值)/震荡前试剂测值*100%)应控制在±10%以内,低于24U/L临床绝对偏差(R)应控制在±5U/L以内,其中临床绝对偏差=震荡试剂测值-震荡前试剂测值)。其中医院高值样本(医院测试CKMB分别为1号标本20U/L,2号标本29U/L,3号标本160U/L),利德曼质控品4号标本(批号:501071B靶值为148U/L)等。且震荡试剂测试标本的阴性符合率为80%-100%,阳性符合率为80%-100%。实验结果显示,只有本发明实施例1-4制备的试剂盒达到了临床的要求。实施例3在震荡24小时出现了沉淀,严重影响了测值,对比实施例1和2在测试1号样本的时候,测值分别为35U/L和44U/L,临床绝对偏差超过±5U/L。不符合临床要求。

[0247] 上述本申请实施例中的技术方案,至少具有如下的技术效果或优点:

[0248] 本发明实施例肌酸激酶同工酶测定试剂盒试剂II中添加了聚乙烯吡咯烷酮、月桂基二羟乙基氧化胺及三(壬苯基)亚磷酸酯,另外还含有抗氧化剂异构抗坏血酸钠,提高了试剂的保存稳定性。经过验证,2-8℃下本发明保质期可以长达一年半,极大的提高了实际的货架期,其运输稳定性也大大提高。对于偏远山区样本量少的乡镇医院有很大的帮助。且在37℃保存14天的情况下,本发明仍保持了较高的试剂稳定性,试剂的测值偏差小于10%。

[0249] 尽管已描述了本发明的优选实施例,但本领域内的技术人员一旦得知了基本创造性概念,则可对这些实施例作出另外的变更和修改。所以,所附权利要求意欲解释为包括优选实施例以及落入本发明范围的所有变更和修改。显然,本领域的技术人员可以对本发明

进行各种改动和变型而不脱离本发明的精神和范围。这样,倘若本发明的这些修改和变型属于本发明权利要求及其等同技术的范围之内,则本发明也意图包含这些改动和变型在内。