



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105158457 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 16

(21) 申请号 201510490806. 8

(22) 申请日 2015. 08. 11

(71) 申请人 中国农业大学

地址 100193 北京市海淀区圆明园西路 2 号

(72) 发明人 王战辉 沈建忠 盛雅洁 张会艳

张素霞 温凯 史为民 江海洋

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限

公司 11245

代理人 关畅 赵静

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

一种基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析方法

(57) 摘要

本发明提供了一种基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测方法,其选择合适的磺胺二甲基嘧啶半抗原与特定的荧光素偶联,合成多种荧光标记物;利用卵黄抗体代替传统的单克隆和多克隆抗体;利用荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体以及标准品建立一个竞争的免疫反应,并绘制标准曲线;将待测样品与荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体建立竞争的免疫反应,测量得到的体系的荧光偏振值,根据标准曲线,得到待测样品中的磺胺二甲基嘧啶的浓度。本发明方法只需要加样,无需分离和洗涤操作,十分钟内就可获得检测结果。所述磺胺二甲基嘧啶卵黄抗体稳定性强,产量大,动物伤害小;克服了传统单克隆抗体和多克隆抗体制作成本高、不满足动物福利要求等的不足。

1. 一种基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析方法,包括下述步骤:

1) 将磺胺二甲基嘧啶的半抗原与荧光素进行偶联反应,得到荧光标记物;

2) 将一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液分别与荧光标记物溶液以及卵黄抗体溶液混合,孵育进行竞争反应,测定所得体系的荧光偏振值;以测定的荧光偏振值为纵坐标,所述一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液的浓度为横坐标,绘制标准曲线;

3) 以待测样品代替步骤2)中的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液,按照步骤2)中的方法,将所述待测样品与所述荧光标记物溶液以及所述卵黄抗体溶液混合,孵育进行竞争反应,测定所得体系的荧光偏振值,根据步骤2)中的标准曲线,计算出所述待测样品中磺胺二甲基嘧啶的浓度。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤1)中,所述磺胺二甲基嘧啶的半抗原选自下述至少一种:磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺甲基嘧啶;

所述荧光素选自下述至少一种:异硫氰酸荧光素、二氯三嗪基氨基荧光素以及异硫氰酸荧光素乙二胺衍生物。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于:所述荧光标记物为下述任一种:磺胺二甲基嘧啶-异硫氰酸荧光素偶联物 SM₂-FITC、磺胺二甲基嘧啶-二氯三嗪基氨基荧光素偶联物 SM₂-DTAF、磺胺二甲基嘧啶-异硫氰酸荧光素乙二胺偶联物 SM₂-GA-EDF、磺胺甲噁唑-异硫氰酸荧光素偶联物 SMX-FITC、磺胺甲噁唑-二氯三嗪基氨基荧光素偶联物 SMX-DTAF、磺胺甲基嘧啶-异硫氰酸荧光素偶联物 SMR-FITC 和磺胺甲基嘧啶-二氯三嗪基氨基荧光素偶联物 SMR-DTAF。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其特征在于:步骤2)中,所述一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液的溶质为磺胺二甲基嘧啶标准品,溶剂为硼酸盐缓冲液;

所述硼酸盐缓冲液的摩尔浓度为 45-55mmol/L, pH 值为 8.0-8.5;

所述一系列已知浓度为 0.1ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、500ng/mL 和 2000ng/mL。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其特征在于:步骤2)中,所述荧光标记物溶液的浓度为工作浓度,为 15nM;

所述卵黄抗体是以磺胺二甲基嘧啶为免疫原对鸡进行免疫制得的;

所述卵黄抗体的工作浓度为 0.14mg/mL。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其特征在于:步骤2)和步骤3)中,所述磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液、所述荧光标记物溶液和所述卵黄抗体溶液以等体积混合,所述体积为 70 μL-100 μL;

步骤2)和步骤3)中,所述竞争反应的温度为 20-25°C,时间为 1-5min;

步骤2)和步骤3)中,所述荧光偏振值的测定条件为:激发波长/发射波长/Cutoff 值为:485nm/530nm/515nm。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其特征在于:所述标准曲线的绘制依据 OriginPro 8.0 软件中的四参数方程进行。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其特征在于:步骤3)中,所述待测样品为

动物性食品。

9. 根据权利要求 8 所述的方法,其特征在于:所述待测样品为牛奶。

10. 权利要求 1-9 中任一项所述的方法在动物性食品中磺胺二甲基嘧啶残留检测中的应用;所述动物性食品为牛奶。

一种基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析 析方法

技术领域

[0001] 本发明属于免疫分析技术和兽药残留检测领域,具体涉及一种基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析方法。

背景技术

[0002] 磺胺二甲基嘧啶 (Sulfamethazine, SM₂) 是人工合成的广谱抗菌药物,对大多数革兰阳性菌感和革兰阴性菌都具有抑制作用,临床上主要用于各种溶血性链球菌、脑膜炎球菌以及肺炎球菌等致病菌所引发的呼吸道感染、肠道感染等细菌性疾病的治疗。因而在畜牧养殖中广泛使用,在动物性食品中的残留现象较为严重。且其具有较强的毒性作用,长期或者过量使用可造成泌尿系统、造血系统、神经系统等的损伤,甚至有致癌的可能性。我国以及欧盟等均规定动物性食品中磺胺类药物总量和磺胺二甲基嘧啶等单个磺胺药物的最高残留限量为 100 μg/kg。

[0003] 目前,对磺胺类药物残留进行检测的免疫分析方法主要有酶联免疫分析方法和免疫层析方法,这些方法需要繁琐的洗涤孵育等步骤,耗时长。而且通常使用的单克隆抗体,不仅成本高,而且对动物伤害大,不能满足动物福利的要求。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于针对现有的磺胺二甲基嘧啶检测技术中操作复杂、耗时长,以及单克隆抗体产量低,采集时对动物伤害大等不足,建立一种基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫检测方法。

[0005] 本发明所提供的基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析方法,包括下述步骤:

[0006] 1) 将磺胺二甲基嘧啶的半抗原与荧光素进行偶联反应,得到荧光标记物;

[0007] 2) 将一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液分别与荧光标记物溶液以及卵黄抗体溶液混合,孵育进行竞争反应,测定所得体系的荧光偏振值;以测定的荧光偏振值为纵坐标,所述一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液的浓度为横坐标,绘制标准曲线;

[0008] 3) 以待测样品代替步骤 2) 中的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液,按照步骤 2) 中的加样量,将所述待测样品与所述荧光标记物溶液以及所述卵黄抗体溶液混合,孵育进行竞争反应,测定所得体系的荧光偏振值,根据步骤 2) 中的标准曲线,计算出所述待测样品中磺胺二甲基嘧啶的浓度。

[0009] 上述方法步骤 1) 中,所述磺胺二甲基嘧啶的半抗原可选自下述至少一种:磺胺二甲基嘧啶 (SM₂)、磺胺甲噁唑 (SMX) 和磺胺甲基嘧啶 (SMR)。

[0010] 所述荧光素可选自下述至少一种:异硫氰酸荧光素 (FITC)、二氯三嗪基氨基荧光素 (DTAF) 以及异硫氰酸荧光素乙二胺衍生物 (EDF)。

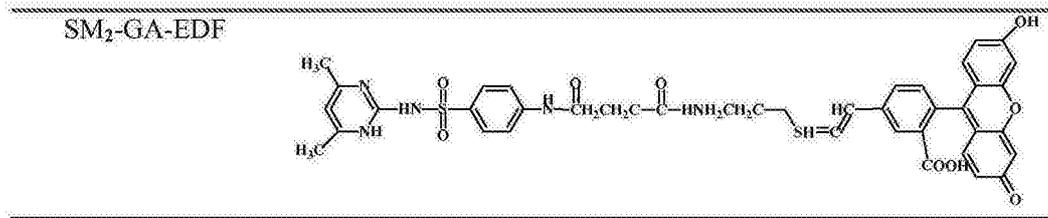
[0011] 具体地,所述荧光标记物具有表 1 所示的结构。

[0012] 表 1 各荧光标记物的结构

[0013]

荧光标记物	结构
SM ₂ -FITC	
SMR-FITC	
SMX-FITC	
SM ₂ -DTAF	
SMR-DTAF	
SMX-DTAF	

[0014]



[0015] 优选的,所述荧光标记物为 SM₂-FITC。

[0016] 步骤 2) 中,所述一系列已知浓度的磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液的溶质为磺胺二甲基嘧啶标准品,溶剂为硼酸盐缓冲液。

[0017] 所述硼酸盐缓冲液的摩尔浓度为 45-55mmol/L, pH 值为 8.0-8.5。

[0018] 所述一系列已知浓度为 0.1ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、500ng/mL 和 2000ng/mL。

[0019] 所述荧光标记物溶液的浓度为工作浓度,所述荧光标记物的工作浓度为标记物的荧光值是背景值(缓冲溶液)10 倍时对应的浓度,为 15nM。

[0020] 所述卵黄抗体是以磺胺二甲基嘧啶为免疫原对鸡进行免疫制得的。

[0021] 所述卵黄抗体的制备方法如下:利用免疫原对蛋鸡进行皮下背部多点免疫,免疫剂量为 0.3mL(浓度是 1mg/mL),之后每次间隔 2-3 周进行加强免疫,免疫剂量减半,免疫次数为七次。

[0022] 所述卵黄抗体的工作浓度为抗体结合曲线中 50% 的抗体结合时的抗体稀释倍数,所述卵黄抗体的工作浓度为 0.14mg/mL。

[0023] 步骤 2) 和步骤 3) 中,所述磺胺二甲基嘧啶标准品的溶液、所述荧光标记物溶液和所述卵黄抗体溶液以等体积混合,所述体积具体可为 70 μL-100 μL,具体可为 70 μL。

[0024] 步骤 2) 和步骤 3) 中,所述竞争反应的温度为 20-25℃,优选为 25℃,时间为 1-5min,优选为 2min。

[0025] 步骤 2) 和步骤 3) 中,所述荧光偏振值的测定条件为:激发波长/发射波长/Cutoff 值为:485nm/530nm/515nm。

[0026] 所述标准曲线的绘制依据 OriginPro 8.0 软件中的四参数方程进行。

[0027] 步骤 3) 中,所述待测样品可为动物性食品,具体可为牛奶。

[0028] 所述待测样品为牛奶时,所述待测样品在进行荧光偏振免疫检测之前,经过如下所述的预处理:将牛奶进行离心处理,倾倒入上层脂肪,加入三氯乙酸,充分混合,离心,收集上清液,将所述上清液用所述硼酸盐缓冲液稀释后直接用于荧光偏振免疫分析(FPIA)检测。

[0029] 上述方法在动物性食品中磺胺二甲基嘧啶含量检测中的应用也属于本发明的保护范围。

[0030] 所述动物性食品具体可为牛奶。

[0031] 本发明选择合适的磺胺二甲基嘧啶半抗原与特定的荧光素偶联,合成多种荧光标记物;利用卵黄抗体代替传统的单克隆和多克隆抗体;利用荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体以及标准品建立一个竞争的免疫反应,并绘制标准曲线;将待测样品与荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体建立竞争的免疫反应,测量得到的体系的荧光偏振值,根据标准曲线,得到待测样品中的磺胺二甲嘧啶的浓度。

[0032] 本发明的有益效果是：

[0033] 现有的磺胺二甲基嘧啶的检测技术操作繁琐耗时，不能满足高通量快速检测的要求，而且其他免疫分析方法大多为非均相的反应，需要多步孵育和洗涤步骤，耗时长，操作复杂。针对这些不足，本发明提供了一种均相的、快速的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测方法。方法只需要加样，无需分离和洗涤操作，十分钟内就可获得检测结果。另外，本发明所应用的磺胺二甲基嘧啶卵黄抗体稳定性强，产量大，动物伤害小；克服了传统单克隆抗体和多克隆抗体制作成本高、不满足动物福利要求等的不足。

[0034] 本研究建立的基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测中，标准曲线的灵敏度为 25.29ng/mL，检测范围为 2.49-257.02ng/mL；由于牛奶基质稀释了五倍，在牛奶中的检测限为 7.4 μg/L。该方法快速、简便高通量，而且能够满足磺胺二甲基嘧啶的残留检测限量要求，非常适合牛奶中的磺胺二甲基嘧啶的检测需求。

附图说明

[0035] 图 1 为基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测标准曲线。

具体实施方式

[0036] 下面通过具体实施例对本发明进行说明，但本发明并不局限于此。

[0037] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明，均为常规方法；下述实施例中所用的试剂、生物材料等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

[0038] 下述实施例中所使用的卵黄抗体的制备方法如下：以磺胺二甲基嘧啶为免疫原对蛋鸡进行皮下背部多点免疫，免疫剂量为 0.3mL（免疫原的浓度为 1mg/mL），之后每次间隔 2-3 周进行加强免疫，免疫剂量减半，免疫次数为七次。

[0039] 制备得到的卵黄抗体对磺胺二甲基嘧啶的效价变化情况为：前三次加强免疫后效价显著上升直至抗体效价为 1:2¹⁶，一段时间之后稍有下降，但是第四次加强免疫之后效价达到最高 1:2¹⁸，之后一直维持在该水平。在最后一次加强免疫之后，卵黄抗体的效价可以维持较高水平达 30 周之久。

[0040] 实例 1、磺胺二甲基嘧啶荧光标记物 SM₂-GA-EDF 的制备

[0041] 步骤 1：以异硫氰酸荧光素和乙二胺为原料，合成了异硫氰酸荧光素乙二胺（Fluoresceinthiocarbamyl ethylenediamine, EDF），具体合成方法为：取 60mg FITC 溶于 10mL 甲醇溶液中，然后加入 100 μL 三乙胺混匀；逐滴加入到含有 100mg 乙二胺的 50mL 甲醇溶液中，边加边振荡，滴完后继续振荡 1h；过滤上述混合溶液，并用 10mL 甲醇冲洗附着于滤纸上的桔黄色沉淀；将得到的沉淀避光干燥保存。

[0042] 步骤 2：半抗原 SM₂-GA 的制备

[0043] 2.8-3.2mg 的 SM₂溶于 250μL 氯仿中，加入 1.3-1.7mg 戊二酸酐，室温搅拌 8-10 小时，即可获得半抗原 SM₂-GA，将所获得反应液旋转蒸发后，即可获得 SM₂-GA 粉末。

[0044] 步骤 3：半抗原 SM₂-GA 与 EDF 的偶联

[0045] 称取 2.3mg (20 μmol) NHS 和 4.1mg (20 μmol) EDC 溶解于 500 μL N,N-二甲基甲酰胺 (DMF)；加入之前合成的半抗原 SM₂-GA 粉末 10 μmol 与上述反应液混合，室温过夜反应；称取 3.3 μmol EDF 加入到上述半抗原 SM₂-GA 反应液中，室温振荡 2h；取少量反应物通过

薄层色谱法分离,展开剂为二氯甲烷:甲醇:乙酸(79:20:1),刮下 $R_f = 0.8$ 的黄色条带,500 μL 的甲醇提取,获得的黄色溶液即为目标荧光标记物 ($\text{SM}_2\text{-GA-EDF}$),4 $^\circ\text{C}$ 保存。

[0046] 实例 2、磺胺二甲基嘧啶荧光标记物 ($\text{SM}_2\text{-FITC}$ 、 SMR-FITC 、 SMX-FITC 、 $\text{SM}_2\text{-DTAF}$ 、 SMR-DTAF 、 SMX-DTAF) 的制备

[0047] 以 $\text{SM}_2\text{-FITC}$ 的合成作为例:

[0048] 称取 5mg SM_2 溶于 250 μL 甲醇中,加入 25 μL 三乙胺;溶解后加入 4mg FITC,直至红色溶液完全溶解;室温下避光过夜反应;取 50 μL 反应液用薄层色谱板进行分离,选用的展开剂为二氯甲烷:甲醇(4:1,V/V);刮下 $R_f = 0.05$ 的黄色条带,用 1mL 甲醇提取,将所得液体 4 $^\circ\text{C}$ 下保存。 SMR-FITC 、 SMX-FITC 、 $\text{SM}_2\text{-DTAF}$ 、 SMR-DTAF 、 SMX-DTAF 的合成方法类似。

[0049] 实例 3、最佳荧光标记物的筛选

[0050] 步骤 1:分别用合成的各种荧光标记物与卵黄抗体进行组合,首先将各荧光标记物的工作浓度均设定为荧光强度为缓冲溶液背景荧光强度 10 倍时对应的浓度 (15nM),在卵黄抗体 25 倍稀释条件(约为 0.8mg/mL)下,测定各个荧光标记物与抗体结合前后的荧光偏振值变化 ($\delta\text{mP} = \text{mP}_{\text{max}} - \text{mP}_{\text{min}}$)。比较加入抗体前后的荧光偏振值变化,选择偏振值变化大于 50 的荧光标记物进一步筛选。最终选择 $\text{SM}_2\text{-FITC}$ 、 $\text{SM}_2\text{-GA-EDF}$ 、 SMR-DTAF 和 SMX-DTAF 进行下一步筛选。实验结果如表 2 所示:

[0051] 表 2 荧光标记物与抗体结合前后的 mP 值变化

[0052]

荧光标记物	空白	卵黄抗体	
	mP_{min}	结合 mP_{max}	δmP
$\text{SM}_2\text{-FITC}$	40.26	256.8	216.54
$\text{SM}_2\text{-GA-EDF}$	47.69	197.82	150.13
$\text{SM}_2\text{-DTAF}$	45.31	85.20	39.89
SMR-FITC	58.52	72.61	14.09
SMX-FITC	64.81	87.32	22.51
SMX-DTAF	78.61	128.74	50.13
SMR-DTAF	62.83	171.18	108.35

[0053] 步骤 2:根据步骤 1 选择出偏振值变化大的荧光标记物与卵黄抗体组合,首先将各荧光标记物的工作浓度均设定为荧光强度为缓冲溶液背景荧光强度 10 倍时对应的浓度,在 50% 抗体稀释度条件下,建立不同标记物的标准曲线并计算 IC_{50} ,根据各标准曲线的 IC_{50} 值选出最佳荧光标记物。最终选择的最佳荧光标记物为 $\text{SM}_2\text{-FITC}$ 。实验结果如表 3 所示:

[0054] 表 3 各标记物 FPIA 标准曲线数据

[0055]

标记物名称	卵黄抗体		
	空白 mP _{min}	结合 mP	IC ₅₀ (ng/mL)
SM ₂ -FITC	40.26	206.8	26.12
SM ₂ -GA-EDF	47.69	197.82	103.59
SMX-DTAF	78.61	128.74	无抑制
SMR-DTAF	62.83	165.98	64.52

[0056] 实例 4、FPIA 方法的建立

[0057] 步骤 1：竞争 FPIA；利用硼酸盐缓冲液分别配置 0.1、1、5、20、50、100、500 和 2000ng/mL 的磺胺二甲基嘧啶标准品，在 96 黑色低结合微孔板中分别加入 70 μL 磺胺二甲基嘧啶标准品溶液、70 μL 工作浓度 (15nM) 的荧光标记物以及 70 μL 工作浓度 (0.14mg/mL) 的卵黄抗体溶液，室温避光孵育 2min 后测定荧光偏正值；

[0058] 步骤 2：绘制标准曲线：竞争反应结束后，以测定的各孔荧光偏振值为纵坐标，磺胺二甲基嘧啶标准品的浓度为横坐标，利用 Origin 8.0 的四参数模型拟合标准曲线。

[0059] 基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振标准曲线见附图 1。所建立的标准曲线在缓冲溶液中的灵敏度为 25.29ng/mL，检测范围为 2.49–257.02ng/mL；由于牛奶基质稀释了五倍，在牛奶中的检测限为 7.4 μg/L。我国以及欧盟等均规定动物性食品中磺胺类药物总量和 SM₂等单个磺胺药物的最高残留限量为 100 μg/kg。本发明的方法能够很好的满足检测灵敏度的需要。

[0060] 实例 5、样品检测应用例

[0061] 步骤 1：样品前处理；取 4mL 牛奶样本置于 10mL 离心管中，以 5000rpm 4℃离心 15min，倾出上层脂肪，加入等体积的 1.25% 的三氯乙酸 (Trichloroacetic acid, TCA)，涡动 1min，使两者充分混合 10000rpm 离心 10min，取上清液，用硼酸盐缓冲溶液稀释 5 倍后直接用于 FPIA 检测。

[0062] 步骤 2：添加回收率测定；空白奶样以 5000ng/mL 的 SM₂ 添加，使其终浓度为 50ng/mL、100ng/mL、200ng/mL，每个浓度三个平行，按照上述样品处理方法处理并检测，按照如下公式计算添加回收率。

[0063] 添加回收率 (%) = (测定值 / 添加值) × 100%

[0064] 利用计算获得的回收率来评价本发明所建立的基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测方法的准确度；实验结果见表 4 所示：

[0065] 表 4 牛奶样品添加回收结果 (n = 3)

[0066]

添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	卵黄抗体		
	回收 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 %	CV %
50	60.1	120.2	15.6
100	106.1	106.1	14.6
200	206.7	103.4	10.9

[0067] 由表 4 可见,磺胺二甲基嘧啶在牛奶中的添加回收率在 103.1-120.2%之间,变异系数小于 15.6%;表明本发明建立的基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫检测方法可满足牛奶中磺胺二甲基嘧啶的残留检测要求;而且本发明快速高效,反应灵敏,解决了传统免疫方法中抗体成本高,对动物伤害大的缺点,能够很好地用于磺胺二甲基嘧啶的快速、高通量检测。

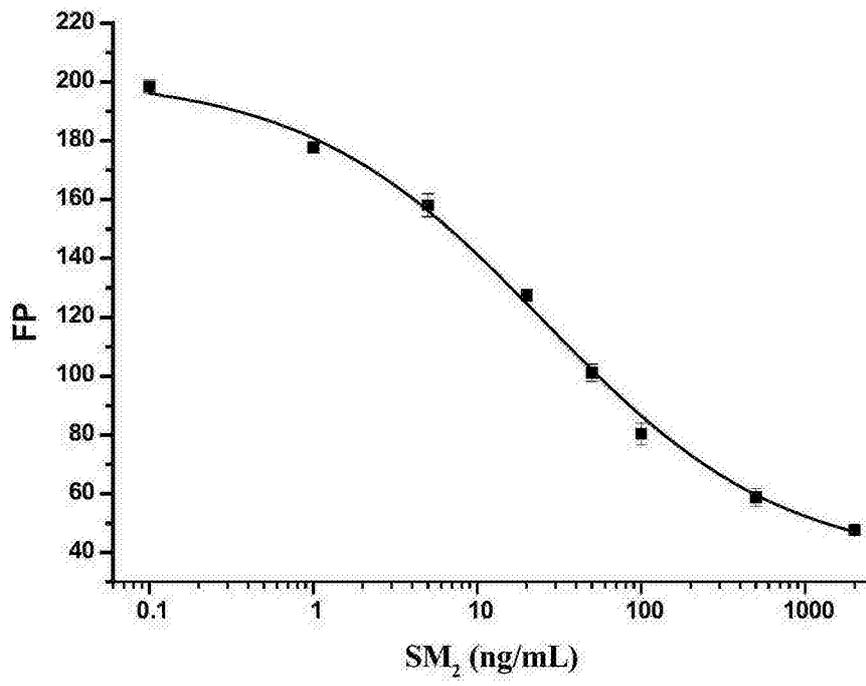


图 1

专利名称(译)	一种基于卵黄抗体检测磺胺二甲基嘧啶的荧光偏振免疫分析方法		
公开(公告)号	CN105158457A	公开(公告)日	2015-12-16
申请号	CN201510490806.8	申请日	2015-08-11
[标]申请(专利权)人(译)	中国农业大学		
申请(专利权)人(译)	中国农业大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国农业大学		
[标]发明人	王战辉 沈建忠 盛雅洁 张会艳 张素霞 温凯 史为民 江海洋		
发明人	王战辉 沈建忠 盛雅洁 张会艳 张素霞 温凯 史为民 江海洋		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
代理人(译)	关畅 赵静		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种基于卵黄抗体的磺胺二甲基嘧啶荧光偏振免疫检测方法，其选择合适的磺胺二甲基嘧啶半抗原与特定的荧光素偶联，合成多种荧光标记物；利用卵黄抗体代替传统的单克隆和多克隆抗体；利用荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体以及标准品建立一个竞争的免疫反应，并绘制标准曲线；将待测样品与荧光标记物、磺胺二甲基嘧啶的卵黄抗体建立竞争的免疫反应，测量得到的体系的荧光偏振值，根据标准曲线，得到待测样品中的磺胺二甲基嘧啶的浓度。本发明方法只需要加样，无需分离和洗涤操作，十分钟内就可获得检测结果。所述磺胺二甲基嘧啶卵黄抗体稳定性强，产量大，动物伤害小；克服了传统单克隆抗体和多克隆抗体制作成本高、不满足动物福利要求等的不足。

