



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103575888 A

(43) 申请公布日 2014. 02. 12

(21) 申请号 201210272676. 7

(22) 申请日 2012. 08. 02

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 6237 2012. 06. 19

(71) 申请人 北京勤邦生物技术有限公司

地址 102206 北京市昌平区回龙观镇国际信
息产业基地高新四街 8 号

(72) 发明人 冯才伟 聂雯莹 何方洋 付军权
罗晓琴 朱亮亮 余厚美 张荃

(51) Int. Cl.

G01N 33/577 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书8页 附图2页

(54) 发明名称

一种检测新霉素的试纸条及方法

(57) 摘要

本发明公开了一种检测新霉素的试纸条及方法。试纸条包括试纸和微孔试剂,所述微孔试剂中冻干有胶体金标记的新霉素单克隆抗体;所述试纸由样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜、底板依次连接组成,所述反应膜上包括检测区和质控区,检测区包被有新霉素半抗原-载体蛋白偶联物,质控区包被有抗抗体。用本发明试纸条检测新霉素药物的方法简单、快速、直观、准确、适用范围广、成本低、易推广使用。

1. 一种检测新霉素的试纸条,其特征在于包括试纸和微孔试剂,所述试纸包括反应膜、样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板,所述反应膜上有检测区和质控区,检测区包被有新霉素半抗原-载体蛋白偶联物,质控区包被有抗抗体,所述微孔试剂中冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物。

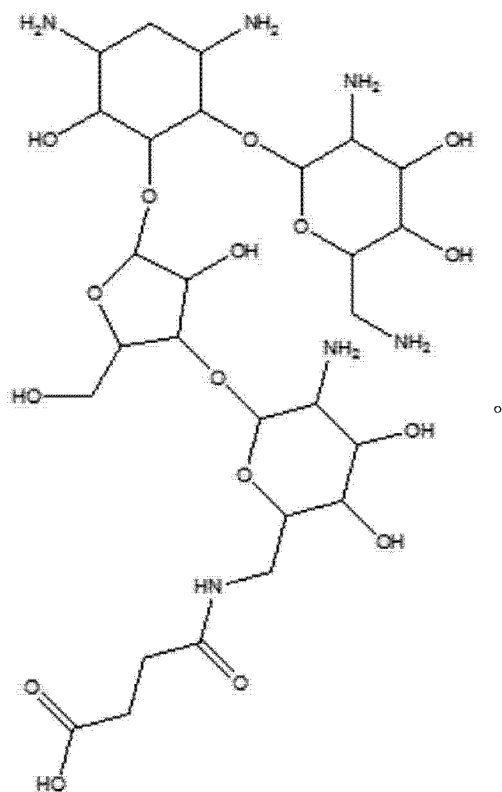
2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于所述试纸由样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜依次粘贴在底板上组成,所述微孔试剂上具有微孔塞。

3. 根据权利要求2所述的试纸,其特征在于所述保护膜粘贴在样品吸收垫上,为检测端,上面有MAX标记线。

4. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于所述检测区位于近于有MAX标记的保护膜的一端,所述质控区位于远离有MAX标记的保护膜的一端。

5. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于所述新霉素半抗原-载体蛋白偶联物由新霉素半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清白蛋白、甲状腺蛋白、血蓝蛋白、人血清白蛋白。

6. 根据权利要求1或5任一项所述的试纸条,其特征在于所述新霉素半抗原结构式如下:



7. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于所述新霉素单克隆抗体-胶体金标记物中的新霉素单克隆抗体是以新霉素半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得的。

8. 根据权利要求7所述的抗体,其特征在于所述新霉素单克隆抗体是由新霉素单克隆抗体杂交瘤细胞株 E-1-1 CGMCC No. 6237 分泌获得。

9. 一种制备权利要求1-7任一项所述试纸条的方法,其包括步骤:

1) 制备冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂;

2) 制备具有包被新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的检测区和包被抗抗体的质控区的

反应膜；

3) 将 2) 制备好的反应膜与样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板组装成试纸；

4) 将 1) 和 3) 制备好的冻干有新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

10. 一种检测样品中新霉素残留的方法, 其包括步骤:

1) 用权利要求 1-7 任一项所述的试纸条进行检测;

2) 分析检测结果。

一种检测新霉素的试纸条及方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测新霉素的试纸条及方法,具体涉及一种用于检测牛奶样品中新霉素的胶体金试纸条。

背景技术

[0002] 新霉素(Neomycin, NEO)属于氨基糖苷类抗生素,由新霉胺和新霉二糖胺结合而成。它的抗菌谱广,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、结核杆菌、抗酸菌等均有良好的抑制作用。随着新霉素在国内外养殖业中被越来越广泛地应用,其在动物性食品中的残留问题也日益突出,并对人和动物存在潜在的耳毒性和肾毒性,给人类健康造成了很大威胁。目前,新霉素残留检测方法主要有微生物法、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管电泳法(CE)和免疫学测定法。由于复杂的仪器设备和繁琐的操作过程,不适合现场监控和大量样本筛查。其中免疫学分析方法由于具有灵敏、快速、特意、简便等优点,近年来国内外在兽药、农药残留检测领域已被广泛应用。

发明内容

[0003] 本发明的一个目的是提供一种结构简单、操作方便、价格便宜、便于携带的用于检测牛奶中新霉素的试纸条,并提供一种高效、准确、简便、适用于大批量样品筛选的检测方法。

[0004] 本发明所提供的试纸条包括试纸、微孔试剂,微孔试剂具有微孔塞,试纸包括反应膜、样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板;所述微孔试剂中冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物;反应膜上包括检测区和质控区,检测区包被新霉素半抗原-载体蛋白偶联物,质控区包被羊抗鼠抗抗体。新霉素半抗原是通过新霉素与琥珀酸酐反应得到的新霉素单琥珀酸酐。

[0005] 所述新霉素半抗原-载体蛋白偶联物是由新霉素半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清白蛋白、甲状腺蛋白、血蓝蛋白、人血清白蛋白。

[0006] 所述新霉素单克隆抗体-胶体金标记物中的新霉素单克隆抗体是以新霉素半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得的新霉素单克隆抗体,该单克隆抗体是由新霉素单克隆抗体杂交瘤细胞株 E-1-1 CGMCC No. 6237 分泌获得。

[0007] 所述保护膜粘贴在样品吸收垫上,为检测端,上面有 MAX 标记线。

[0008] 所述检测区位于近于有 MAX 标记的保护膜的一端,所述质控区位于远离有 MAX 标记的保护膜的一端。

[0009] 所述底板可为 PVC 底板或其他硬质不吸水的材料;所述样品吸收垫可为吸滤纸或滤油纸;所述吸水垫为吸水纸;所述反应膜可为硝酸纤维素膜或醋酸纤维素膜;所述保护膜为 PE 材质保护膜。

[0010] 本发明的另一个目的是提供一种制备上述试纸条的方法,其包括步骤:

[0011] 1) 制备冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂;

[0012] 2) 制备具有包被新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的检测区和包被抗抗体的质控区的反应膜;

[0013] 3) 将 2) 制备好的反应膜与样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板组装成试纸;

[0014] 4) 将 1) 和 3) 制备好的冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

[0015] 具体地说,步骤包括:

[0016] 1) 将新霉素与琥珀酸酐反应,制备得到半抗原新霉素单琥珀酸酐;

[0017] 2) 将新霉素半抗原与载体蛋白偶联,制备新霉素半抗原-载体蛋白偶联物;

[0018] 3) 用新霉素半抗原-载体蛋白偶联物免疫小鼠,将小鼠脾细胞和小鼠骨髓瘤细胞通过融合、筛选,得到分泌新霉素单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

[0019] 4) 提取小鼠 IgG 免疫健康山羊,得到羊抗鼠抗抗体;

[0020] 5) 用柠檬酸三钠与氯金酸反应制备胶体金;

[0021] 6) 将制备的新霉素单克隆抗体加入到制备的胶体金中,得到新霉素单克隆抗体-胶体金标记物;

[0022] 7) 将新霉素单克隆抗体-胶体金标记物冻干在微孔试剂中后,将微孔试剂加上微孔塞;

[0023] 8) 将样品吸收垫用含牛血清白蛋白 [牛血清白蛋白在缓冲液中的终浓度为 0.5% (体积百分含量)]、pH 为 7.2、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液浸泡 2h,37℃ 下烘干 2h;

[0024] 9) 在底板上按顺序粘贴上样品吸收垫、反应膜、吸水垫和保护膜;

[0025] 10) 将制备好的微孔试剂、试纸组装成试纸条,2~8℃ 条件下保存 12 个月。

[0026] 本发明的另一个目的是提供一种应用上述试纸条检测样品中新霉素残留的方法,它包括步骤:

[0027] (1) 用试纸条进行检测;

[0028] (2) 分析检测结果。

[0029] 本发明中用试纸条检测牛奶时,将待检牛奶样品溶液滴加于微孔试剂中,混匀后,在室温孵育 5min 后,将试纸上标有 MAX 标记线端向下,插入孵育后的微孔试剂,待检样品液与微孔中的金标抗体结合后一起向反应膜扩散;若待检样品液中新霉素的含量高,则扩散过程中待检样品液中的新霉素可与金标抗体相结合,进而完全封闭金标抗体上新霉素的抗原结合点,阻止金标抗体与反应膜上新霉素半抗原-载体蛋白偶联物结合,检测区不显色,而抗抗体则可与金标抗体结合,质控区显色;若待检样品液中新霉素的含量低或无,则金标抗体上的抗原结合位点不能被封闭,进而金标抗体会与反应膜上新霉素半抗原-载体蛋白偶联物结合,检测区显色,同时抗抗体也可与金标抗体结合,质控区显色。如果质控区不显色,则试纸失效。如图 4 所示。

[0030] 阳性:当质控区(C)显示出条带,而检测区(T)不显色,判为阳性,用“+”表示。

[0031] 阴性:当质控区(C)和检测区(T)均显示出条带,判为阴性,用“-”表示。

[0032] 无效:当质控区(C)不显示条带,试纸失效。

[0033] 传统的试纸条是将金标抗体喷涂在纤维素膜上,并且试纸条是紧固在试纸卡壳之间,导致较为粘稠的样品,例如原料奶无法完全渗透到样品吸收垫和结合物释放垫中,使原料奶在试纸上层析速度较慢,甚至无法层析,以至于无法检测;本发明试纸条的金标抗体冻

干在微孔中,并且没有试纸卡壳的束缚。检测时直接插入较为粘稠的原料奶样品溶液中,加快了样品溶液在试纸条上的层析速度,金标抗体与原料奶样品中的新霉素药物充分反应,可显著提高检测灵敏度。因此本发明的试纸条具有灵敏度高、特异性强、成本低、操作简单、检测时间短、适合各种单位使用、储存简单、保质期长的优点。其中,将金标抗体冻干在微孔试剂中,在检测过程中,能够使金标抗体与待检样品液充分接触,充分反应,从而减少误差,提高试纸条反应灵敏度。用本发明试纸条检测新霉素的方法,简便、快速、直观、准确、适用范围广、成本低、易推广使用。

附图说明

- [0034] 图 1 为试纸剖面结构示意图。
[0035] 图 2 为试纸俯视图。
[0036] 图 3 为微孔试剂图。
[0037] 图 4a、4b、4c、4d 为试纸检测结果判定图。
[0038] 图 5 为新霉素半抗原合成路线图。
[0039] 图 6 为新霉素半抗原核磁共振氢谱图。

具体实施方式

- [0040] 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。
[0041] 实施例 1 检测新霉素的试纸条的构成
[0042] 一、试纸(图 1)
[0043] 所述试纸是由底板、样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜组成;
[0044] 所述样品吸收垫 1、反应膜 2、吸水垫 3 和保护膜 7 依次按顺序粘贴在底板 6 上,样品吸收垫的末端与反应膜相连,反应膜的末端与吸水垫相连,样品吸收垫的始端与底板的始端对齐,吸水垫的末端与底板的末端对齐;
[0045] 所述试纸的样品吸收垫端粘贴有保护膜,保护膜 7 覆盖在样品吸收垫上的检测端,在检测端保护膜上印有 MAX 字样(图 2);
[0046] 所述反应膜上有检测区 4 和质控区 5,均呈与所述试纸的长相垂直的条带状,检测区位于近于有 MAX 标记的保护膜的一端,质控区位于远离有 MAX 标记的保护膜的一端。检测区包被有新霉素半抗原-载体蛋白偶联物(新霉素半抗原-卵清白蛋白的偶联物),质控区包被有羊抗鼠抗抗体;
[0047] 所述底板为 PVC 底板;所述样品吸收垫为吸滤纸;所述吸水垫为吸水纸;所述反应膜为硝酸纤维素膜;所述保护膜为 PE 材质保护膜。
[0048] 二、微孔试剂(图 3)
[0049] 所述微孔试剂上冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物,冻干量 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{g/mL}$;所述微孔试剂 8 具有微孔塞 9。
[0050] 将上述试纸、微孔试剂组装成试纸条,在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 环境中保存,有效期 12 个月。
[0051] 实施例 2 实施例 1 中所述试纸条的制备方法
[0052] 一、试纸条的制备
[0053] 试纸条的制备方法主要包括以下步骤:

[0054] 1) 制备冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂；

[0055] 2) 制备具有包被新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的检测区和包被羊抗鼠抗抗体的质控区的反应膜；

[0056] 3) 将 2) 制备好的反应膜与样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板组装成试纸；

[0057] 4) 将 1) 和 3) 制备好的冻干有新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

[0058] 下面分步详细叙述：

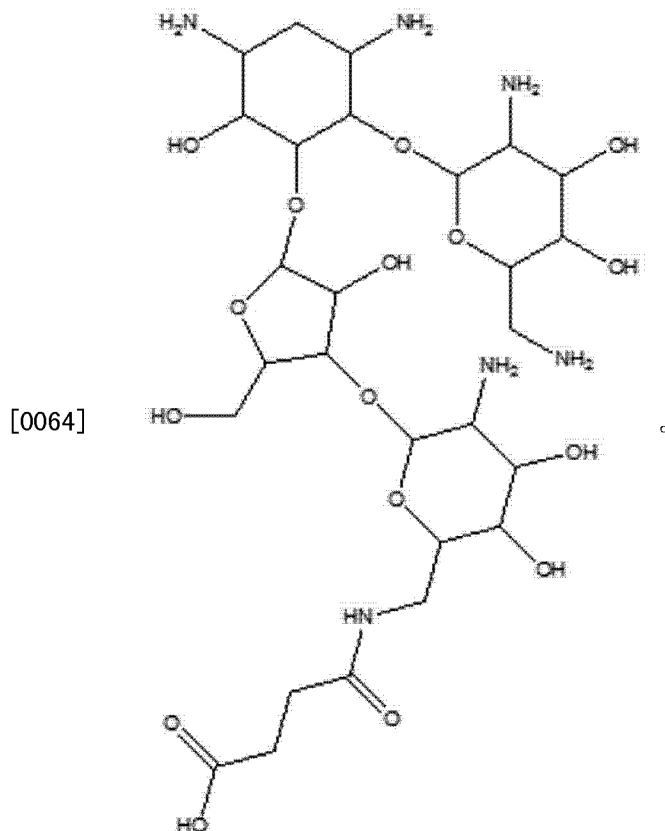
[0059] (一) 各部件的制备

[0060] 1. 新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的合成与鉴定

[0061] (1) 新霉素半抗原的合成和鉴定

[0062] 半抗原的合成(合成路线如图 5)

[0063] 将 0.61g 新霉素加入到三口瓶中,同时加入 15ml 乙醇溶解,再加入 0.1g 琥珀酸酐,加热至 60℃,反应 2h,用薄层色谱进行跟踪监测反应程度,去除溶剂,重结晶,得到新霉素半抗原——新霉素单琥珀酸酐。分子结构如下：



[0065] 半抗原的鉴定

[0066] 取上述产物经核磁共振氢谱测定,如图 6 所示,图谱中 12ppm 附近新增加的羧酸信号峰以及 8ppm 左右出现的酰胺中 NH 信号峰,说明目标半抗原合成成功。

[0067] (2) 免疫原的制备

[0068] 取新霉素半抗原 9 mg,溶解于 1 mL 二甲基甲酰胺(DMF)中,得到溶液 I ;取 30mg 碳化二亚胺(EDC)和 N- 羟基琥珀酰亚胺(NHS)用 0.2 mL 水充分溶解后,加入到溶液 I 中,室温下搅拌 24 h,得到溶液 II ;称取牛血清白蛋白(BSA)50 mg,使之溶解在 3.8 mL 的 pH 为

7.2 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,得到溶液III,将溶液II逐滴缓慢地滴加到溶液III中,并于室温下搅拌 24h,再将搅拌后得到的溶液用 0.01mol/L 的 PBS 于 4℃透析 3 天,每天换 3 次透析液,最终得到新霉素免疫原。

[0069] (3) 包被原的制备

[0070] 取新霉素半抗原 9 mg,溶解于 1 mL 二甲基甲酰胺(DMF)中,得到溶液 I ;取 30mg 碳化二亚胺(EDC)和 N- 羟基琥珀酰亚胺(NHS)用 0.2 mL 水充分溶解后,加入到溶液 I 中,室温下搅拌 24 h,得到溶液 II ;称取卵清白蛋白(OVA) 50 mg,使之溶解在 3.8 mL 的 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,得到溶液III,将溶液 II 逐滴缓慢地滴加到溶液III中,并于室温下搅拌 24h,再将搅拌后得到的溶液用 0.01mol/L 的 PBS 于 4℃透析 3 天,每天换 3 次透析液,最终得到新霉素包被原。

[0071] (4) 新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的鉴定

[0072] 将载体蛋白、新霉素半抗原、新霉素半抗原-载体蛋白偶联物用 pH7.4 的 PBS 配成 0.5mg/mL 的溶液,以 0.01mol/L pH7.4 PBS 调零,用紫外分光光度计在波长 200~800nm 范围内扫描,得到载体蛋白、新霉素半抗原、新霉素半抗原-载体蛋白偶联物的吸收曲线。三者出现不同的吸收曲线,表明新霉素半抗原与载体蛋白偶联成功。

[0073] 2. 新霉素单克隆抗体的制备

[0074] (1) 动物免疫

[0075] 将步骤 1 得到的免疫原注入 Balb/c 小鼠体内,免疫剂量为 150 μ g/ 只,使其产生抗血清。

[0076] (2) 细胞融合和克隆化

[0077] 取免疫 Balb/c 小鼠脾细胞,按 10:1 (数量配比) 比例与 SP2/0 骨髓瘤细胞融合,筛选得到稳定分泌新霉素单克隆抗体的新霉素单克隆杂交瘤细胞株。将该新霉素单克隆抗体杂交瘤细胞株命名为 E-1-1,该细胞株已于 2012 年 6 月 19 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号,中国科学院微生物研究所),保藏号为 CGMCC No. 6237。

[0078] (3) 细胞冻存和复苏

[0079] 将杂交瘤细胞用冻存液制成 1×10^9 个 /ml 的细胞悬液,在液氮中长期保存。复苏时取出冻存管,立即放入 37℃ 水浴中速融,离心去除冻存液后,移入培养瓶内培养。

[0080] (4) 单克隆抗体的制备与纯化

[0081] 增量培养法:将杂交瘤细胞置于细胞培养基中,在 37℃ 条件下进行培养,用辛酸-饱和硫酸铵法将得到的培养液进行纯化,得到单克隆抗体,-20℃ 保存。

[0082] 所述细胞培养基为向 RPMI-1640 培养基中添加小牛血清和碳酸氢钠,使小牛血清在细胞培养基中的终浓度为 20% (质量百分含量),使碳酸氢钠在细胞培养基中的终浓度为 0.2% (质量百分含量);所述细胞培养基的 pH 为 7.4。

[0083] 3. 羊抗鼠抗抗体的制备

[0084] 以羊作为免疫动物,以鼠源抗体为免疫原对无病原体羊进行免疫,得到羊抗鼠抗抗体。

[0085] 4. 新霉素单克隆抗体-胶体金标记物的制备

[0086] (1) 胶体金的制备

[0087] 用双蒸去离子水将 1% 氯金酸(购于 sigma 公司,产品目录号 T09041)稀释成 0.01% (质量百分含量),取 100ml 置于锥形瓶中,用恒温电磁搅拌器加热至沸腾,在持续高温、持续搅拌下加入 2.5ml 1% 柠檬酸三钠,继续匀速搅拌加热至溶液呈透亮的红色时停止,冷却至室温后用去离子水恢复到原体积,4℃ 保存。制备好的胶体金外观纯净、透亮、无沉淀和漂浮物。

[0088] (2) 新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的制备

[0089] 在磁力搅拌下,用 0.2mol/L 碳酸钾调胶体金的 pH 值至 7.2,按每毫升胶体金溶液中加入 $10 \sim 20 \mu\text{g}$ 抗体的标准向胶体金溶液中加入上述新霉素单克隆抗体,继续搅拌混匀 30min,加入 10% 牛血清白蛋白(BSA)使其在胶体金溶液中的终浓度为 1% (体积百分含量),静置 30min。12000r/min,4℃ 离心 30min,弃上清液,沉淀用复溶缓冲液洗涤两次,用体积为初始胶体金体积 1/10 的复溶缓冲液将沉淀重悬,置 4℃ 备用。

[0090] 复溶缓冲液:含牛血清白蛋白(BSA)0.2%~0.5% (体积百分含量)、吐温 -80 0.05%~0.2% (质量百分含量)、pH7.2 的 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0091] 5. 将新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物冻干到微孔试剂上

[0092] 向微孔试剂微孔板中加入 $50 \mu\text{l}$ 新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物,放入冷冻干燥机中,在冷阱温度为 -50℃ 条件下,预冻 3h 后,再真空干燥 15h,即可取出,得到冻干有新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的微孔试剂,密封保存。新霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物冻干量 $1 \mu\text{g/mL}$ 。

[0093] 6. 样品吸收垫的制备

[0094] 将样品吸收垫置于含牛血清白蛋白 [牛血清白蛋白在缓冲液中的终浓度为 0.5% (体积百分含量)]、pH7.2、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液中浸泡 2h,37℃ 烘 2h 备用。

[0095] 7. 反应膜的制备

[0096] 包被过程:用磷酸缓冲液将新霉素半抗原 - 卵清白蛋白偶联物稀释到 1 mg/mL ,用 Isoflow 点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的检测区(T),包被量为 $1.0 \mu\text{l/cm}$;用 0.01mol/L、pH7.4 的磷酸盐缓冲液将羊抗鼠 IgG 抗体稀释到 $200 \mu\text{g/mL}$,用 Isoflow 点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的质控区(C),包被量为 $1.0 \mu\text{l/cm}$ 。将包被好的反应膜置于 37℃ 条件下干燥 2h,备用。

[0097] (二) 各部件的组装

[0098] 1. 试纸的组装

[0099] 将所述样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜依次按顺序粘贴在所述底板上;样品吸收垫的末端与反应膜的始端相连,反应膜的末端与吸水垫的始端相连,样品吸收垫的始端与底板的始端对齐,吸水垫的末端与底板的末端对齐;在组装好的试纸样品吸收垫上粘贴保护膜,保护膜上印有 MAX 标记线。

[0100] 2. 试纸条的组装

[0101] 将上述步骤 1 得到的试纸与微孔试剂组装成试纸条,在 2~8℃ 的环境中贮存,有效期 12 个月。

[0102] 实施例 3 试纸条的应用

[0103] 本发明的试纸条可以检测牛奶中的新霉素残留。一般的检测方法如下:

[0104] 1、检测方法

[0105] 从原包装中取出所需数目的微孔试剂和试纸,并做好标记;用微量移液器移取 200 μ l 待检牛奶样品于微孔中,缓慢抽吸且充分与微孔中试剂混匀,室温(20℃-25℃)孵育 5min 后;将印有“MAX”线端朝下插入微孔中,使之充分浸入溶液中;室温(20℃-25℃)孵育 5min 后,取出试纸,判定结果。

[0106] 2. 检测结果分析

[0107] 阳性:当质控区(C)显示出条带,检测区(T)不显色,判为阳性,用“+”表示,如图 4a;阴性:当质控区(C)和检测区(T)均显示出条带,无论颜色深浅,均判为阴性,用“-”表示,如图 4b;无效:当质控区(C)不显示条带,试纸失效,如图 4c 和 4d 所示。

[0108] 实施例 4 试纸条技术参数的确定

[0109] 1. 检测限试验

[0110] 向空白牛奶样品中添加新霉素标准品(购自 Sigma 公司)至终浓度分别为 0、100、200、400 μ g/L,用试纸条进行牛奶样品检测,结果为:当新霉素标准品浓度为 0、100 μ g/L 时,试纸上显示出肉眼可见的两条红色线条,呈阴性;当新霉素标准品浓度为 200、400 μ g/L 时,试纸质控区显色,但检测区不显色,呈阳性,表明本试纸条对牛奶样品新霉素检测限为 200 μ g/L。

[0111] 2. 假阳性率、假阴性率试验

[0112] 取已知新霉素含量大于 200 μ g/L 的牛奶阳性样品 20 份和新霉素含量小于 200 μ g/L 的牛奶阴性样品 20 份,用 3 个批次的试纸条分别进行检测,结果见表 1、表 2。

[0113] 表 1 检测阳性样品结果

	浓度 批次	阳性牛奶样品 (20 份)
[0114]	1	20 份阳性
	2	20 份阳性
	3	20 份阳性

[0115] 表 2 检测阴性样品结果

	浓度 批次	阴性牛奶样品 (20 份)
[0116]	1	20 份阴性
	2	20 份阴性
	3	20 份阴性

[0117] 结果表明:用 3 个批次生产的试纸条检测阳性牛奶样品时,结果全为阳性,可知阳性样本符合率为 100%,假阴性率为 0。检测 20 份阴性牛奶样品时,结果全为阴性,可知阴性样本符合率为 100%,假阳性率为 0。

[0118] 3. 特异性试验

[0119] 特异性常用交叉反应率表示,是指抗体与结构不同的抗原决定簇发生结合的能力。将样品中常检的其他药物(磺胺类、氟喹诺酮类、氯霉素类和四环素类药物)用 pH7.2、

0.2mol/L 的磷酸盐缓冲液进行稀释,用实施例 1 中所述的试纸条进行检测。结果显示,用该试纸条检测 500 μ g/L 磺胺类、氟喹诺酮类、氯霉素类和四环素类药物时,试纸条质控区和检测区均显色,说明本试纸条对这些药物无交叉反应。

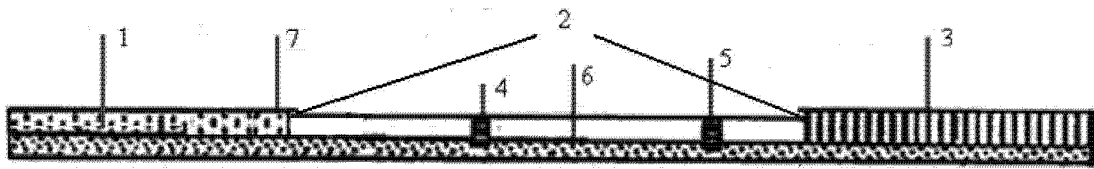


图 1

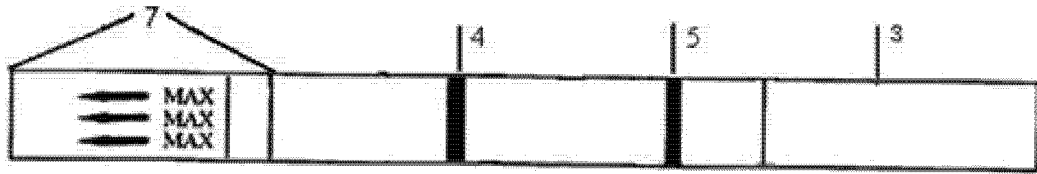


图 2

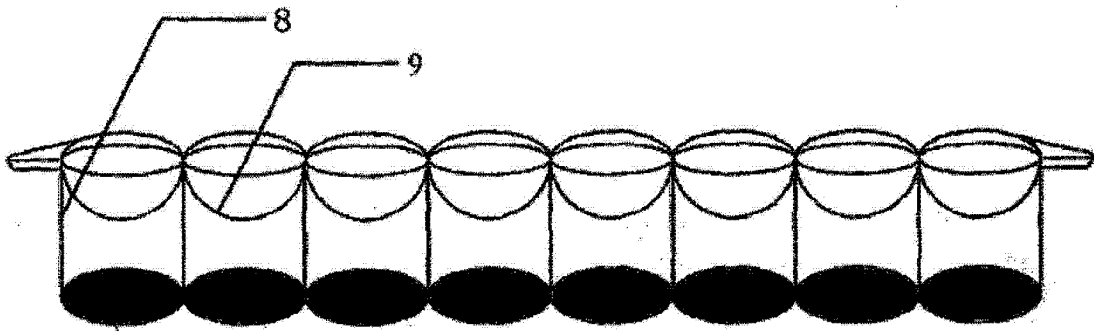


图 3

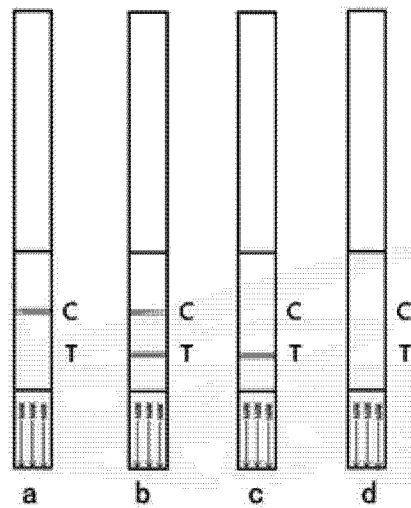


图 4

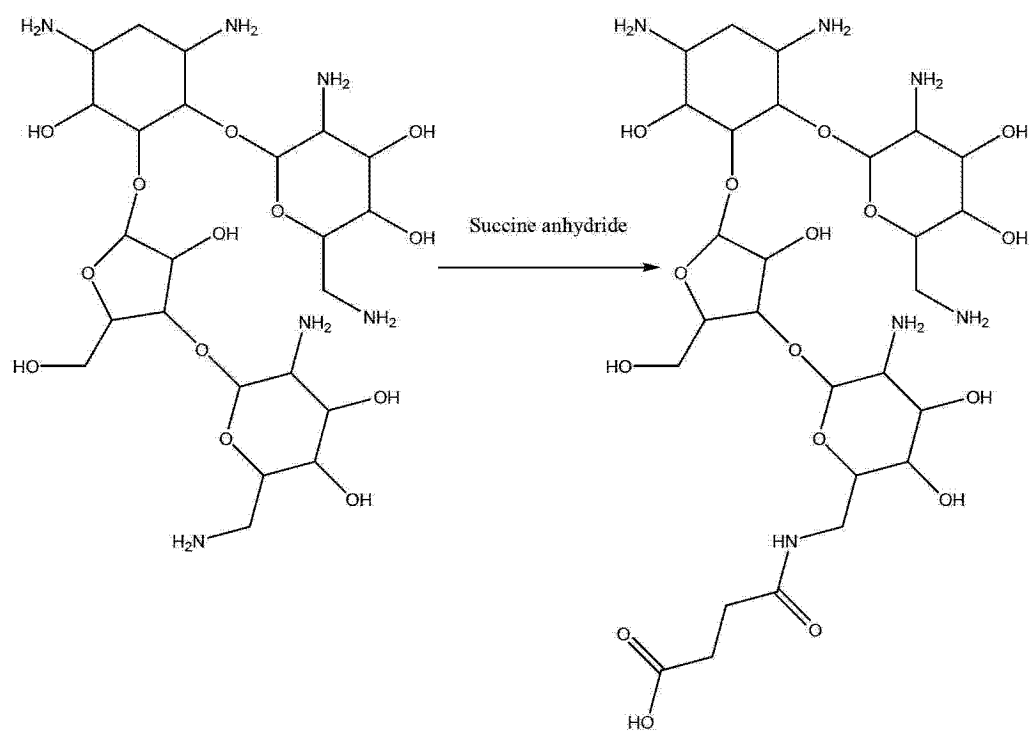


图 5

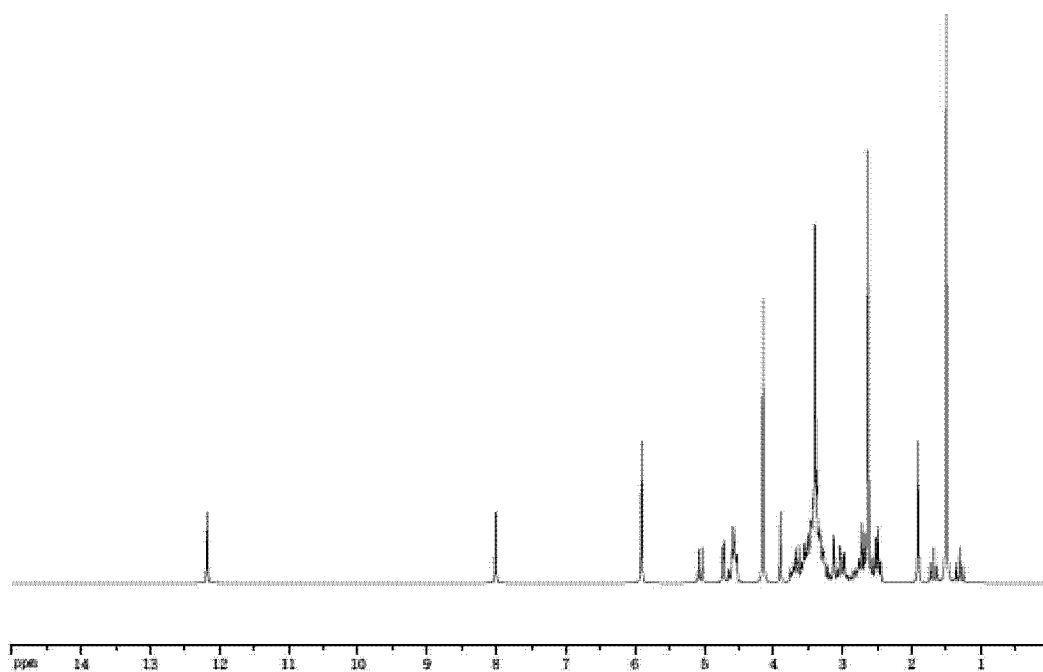


图 6

专利名称(译)	一种检测新霉素的试纸条及方法		
公开(公告)号	CN103575888A	公开(公告)日	2014-02-12
申请号	CN201210272676.7	申请日	2012-08-02
[标]申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
[标]发明人	冯才伟 聂雯莹 何方洋 付军权 罗晓琴 朱亮亮 余厚美 张荃		
发明人	冯才伟 聂雯莹 何方洋 付军权 罗晓琴 朱亮亮 余厚美 张荃		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/558 G01N33/577		
其他公开文献	CN103575888B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测新霉素的试纸条及方法。试纸条包括试纸和微孔试剂，所述微孔试剂中冻干有胶体金标记的新霉素单克隆抗体；所述试纸由样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜、底板依次连接组成，所述反应膜上包括检测区和质控区，检测区包被有新霉素半抗原-载体蛋白偶联物，质控区包被有抗抗体。用本发明试纸条检测新霉素药物的方法简单、快速、直观、准确、适用范围广、成本低、易推广使用。

浓度 批次	阳性牛奶样品 (20 份)
1	20 份阳性
2	20 份阳性
3	20 份阳性