



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105004844 A

(43) 申请公布日 2015. 10. 28

(21) 申请号 201410240647. 1

(22) 申请日 2014. 05. 30

(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国际信息
产业基地高新四街 8 号

(72) 发明人 万宇平 赵正苗 刘叶 冯静
聂雯莹 何方洋 孙倩倩

(51) Int. Cl.

G01N 33/04(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/532(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用。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庆大霉素单克隆抗体;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,检测区包被有庆大霉素半抗原-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庆大霉素的方法简单、快速、直观、准确、成本低、易推广使用。

1. 一种庆大霉素残留检测试纸条,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,检测区包被有庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物,质控区包被有羊抗鼠抗抗体,所述微孔试剂中冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物。

2. 根据权利要求1所述的庆大霉素残留检测试纸条,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所述的庆大霉素残留检测试纸条,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所述的庆大霉素残留检测试纸条,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所述的庆大霉素残留检测试纸条,其特征在于所述庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物由庆大霉素半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白可为卵清蛋白、牛血清白蛋白、甲状腺蛋白、人血清白蛋白、血蓝蛋白。

6. 根据权利要求1所述的庆大霉素残留检测试纸条,其特征在于所述庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物中的庆大霉素单克隆抗体是以庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得的。

7. 一种制备权利要求1-6任一项所述的庆大霉素残留检测试纸条的方法,其包括步骤:

- 1) 制备冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂;
- 2) 制备具有包被庆大霉素半抗原-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;
- 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)制备好的冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

8. 一种检测牛奶中庆大霉素残留的方法,其包括步骤:

- 1) 用权利要求1-6任一项所述的庆大霉素残留检测试纸条进行检测;
- 2) 分析检测结果。

一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用,具体涉及一种用于检测牛奶中庆大霉素残留的试纸条。

背景技术

[0002] 庆大霉素 (Gentamicin, GM) 属于氨基糖甙类抗生素,主要作用于革兰氏阴性细菌,由于其具有广谱抑菌和杀菌作用,被广泛应用于兽医临床和动物饲料添加剂。但 GM 的血清有效浓度与毒性浓度很相近,安全范围较小,在其应用过程中易产生毒副作用,尤其大剂量不规范使用,易导致动物性食品中 GM 残留超标。对人体健康构成危害,造成肾毒性和耳毒性。许多国家在动物生产中严禁使用 GM 或规定有严格的最高残留限量 (MRL),我国农业部 235 号公告规定,动物性食品中 GM 的 MRL 为 100ng/g。

[0003] 目前庆大霉素残留检测方法主要有气相色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法、高效毛细管电泳法和免疫学检测法。仪器法检测价格昂贵,不适合在基层推广使用和大量筛选。免疫学测定方法灵敏度较高,特异性强,使用方便。因此,大规模筛选检测以免疫学检测方法更实际、更具有应用前景。胶体金免疫层析法检测时间短,稳定性好、操作简便、无需其他仪器设备,结果判断直观可靠,适用于进行现场快速筛选。

发明内容

[0004] 本发明的一个目的是提供一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用。

[0005] 本发明所提供的庆大霉素残留检测试纸条包括试纸和微孔试剂,试纸包括反应膜、样品吸收垫、吸水垫、保护膜、底板;反应膜上包括检测区和质控区,检测区包被有庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物,质控区包被有羊抗鼠抗抗体。所述微孔试剂中冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物,微孔试剂具有微孔塞。

[0006] 所述庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物是由庆大霉素半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白可为卵清蛋白、牛血清白蛋白、甲状腺蛋白、人血清白蛋白、血蓝蛋白。

[0007] 所述庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物中的庆大霉素单克隆抗体是以庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得的庆大霉素单克隆抗体。

[0008] 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。

[0009] 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,均呈与所述试纸的长相垂直的条带状。

[0010] 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。

[0011] 本发明的另一个目的是提供一种制备上述庆大霉素残留检测试纸条的方法,其包括步骤:

[0012] 1) 制备冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂;

[0013] 2) 制备具有包被庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物的检测区和包被羊抗鼠抗

体的质控区的反应膜；

[0014] 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；

[0015] 4) 将 1) 和 3) 制备好的冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

[0016] 具体地说,步骤包括：

[0017] 1) 将庆大霉素与对溴甲基苯甲酸反应,制备庆大霉素半抗原；

[0018] 2) 将庆大霉素半抗原与载体蛋白偶联,制备庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物；

[0019] 3) 用庆大霉素半抗原-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,得到分泌庆大霉素单克隆抗体的杂交瘤细胞株；

[0020] 4) 提取小鼠 IgG 免疫健康山羊,得到羊抗鼠抗抗体；

[0021] 5) 用柠檬酸三钠与氯金酸反应制备胶体金；

[0022] 6) 将制备的庆大霉素单克隆抗体加入到制备的胶体金中,得到庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物；

[0023] 7) 将庆大霉素单克隆抗体-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；

[0024] 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；

[0025] 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；

[0026] 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。

[0027] 本发明的另一个目的是提供一种应用上述庆大霉素残留检测试纸条检测样品中庆大霉素残留的方法,它包括步骤：

[0028] (1) 用试纸条进行检测；

[0029] (2) 分析检测结果。

[0030] 本发明中用试纸条检测样品时,将待检样品溶液滴加于微孔试剂中,混匀后室温孵育 5min,将标有 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；若待检样品液中庆大霉素的含量高,则扩散过程中待检样品液中的庆大霉素可与金标抗体相结合,进而完全封闭金标抗体上庆大霉素的抗原结合点,阻止金标抗体与反应膜上庆大霉素半抗原-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；若待检样品液中庆大霉素的含量低或无,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庆大霉素半抗原-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 4a、4b、4c、4d 所示。

[0031] 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。

[0032] 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。

[0033] 无效：当质控区(C)不显示条带,试纸失效。

[0034] 本发明采用将高特异性的庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物冻干在微孔试剂中,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,增加整个体系的反应灵敏度。本发明的试纸条具有灵敏度高、成本低、操作简单、检测时间短、储存简单、保质期长的优点。用本发明的试纸条检测庆大霉素,方法简单、快速、直观、准确、成本低、易推广

使用。

附图说明

- [0035] 图 1 为试纸剖面结构示意图。
[0036] 图 2 为试纸俯视图。
[0037] 图 3 为微孔试剂图。
[0038] 图 4a、4b、4c、4d 为试纸检测结果判定图。
[0039] 图 5 为庆大霉素半抗原合成路线图。
[0040] 图 6 为庆大霉素半抗原核磁共振氢谱图。

具体实施方式

- [0041] 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。
[0042] 实施例 1 庆大霉素残留检测试纸条的构成
[0043] 一、试纸(图 1)
[0044] 所述试纸是由底板、样品吸收垫、反应膜、吸水垫、保护膜组成;
[0045] 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;
[0046] 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);
[0047] 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。检测区包被有庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物(庆大霉素半抗原-卵清蛋白的偶联物),质控区包被有羊抗鼠抗体;
[0048] 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。
[0049] 二、微孔试剂(图 3)
[0050] 所述微孔试剂 8 具有微孔塞 9,微孔试剂中冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物。
[0051] 将上述试纸、微孔试剂组装成试纸条,在 2~8℃环境中保存,有效期 12 个月。
[0052] 实施例 2 实施例 1 中所述的庆大霉素残留检测试纸条的制备方法
[0053] 一、试纸条的制备
[0054] 试纸条的制备方法主要包括以下步骤:
[0055] 1) 制备冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂;
[0056] 2) 制备具有包被庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物的检测区和包被羊抗鼠抗体的质控区的反应膜;
[0057] 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;
[0058] 4) 将 1) 和 3) 制备好的冻干有庆大霉素单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂和试纸组装成试纸条。

[0059] 下面分步详细叙述：

[0060] (一) 各部件的制备

[0061] 1. 庆大霉素半抗原-载体蛋白偶联物的合成与鉴定

[0062] (1) 庆大霉素半抗原的合成和鉴定

[0063] 半抗原的合成(合成路线如图 5)

[0064] 在 100mL 两口烧瓶中加入 0.5g 对溴甲基苯甲酸及 1.05g 庆大霉素和 10mL 乙醇, 搅拌至溶解, 加热至 45℃ 反应 6 小时后, 减压蒸除溶剂。乙醇-水体系中重结晶得到对羧苄基庆大霉素, 得到半抗原产物。

[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, 11.0ppm 的羧基信号峰、7.44ppm 及 8.09ppm 的芳环信号峰, 说明半抗原合成成功。

[0067] (2) 免疫原的制备

[0068] 取 14mg 庆大霉素半抗原用 1mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF) 溶解, 各取 30mg 碳化二亚胺(EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 用 0.2mL 水充分溶解后加入上述溶液中, 室温下搅拌 24h, 即可得到反应液 A; 称取牛血清白蛋白(BSA) 50mg, 使之充分溶解在 3.8mL PBS(pH7.2) 溶液中, 将反应液 A 逐滴缓慢滴加到蛋白溶液中, 并于室温下搅拌 24h; 用 0.01mol/L PBS 溶液在 4℃ 透析 3d, 每天换 3 次透析液, 以除去未反应的小分子物质; 分装, 于 -20℃ 保存备用。

[0069] (3) 包被原的制备

[0070] 将 BSA 换成卵清蛋白(OVA) 按上述(2) 的步骤制备得到庆大霉素包被原。

[0071] 2. 庆大霉素单克隆抗体的制备

[0072] (1) 动物免疫

[0073] 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。

[0074] (2) 细胞融合和克隆化

[0075] 取免疫 Balb/c 小鼠脾细胞, 按 8:1 (数量配比) 比例与 SP2/0 骨髓瘤细胞融合, 筛选得到稳定分泌庆大霉素单克隆抗体的庆大霉素单克隆抗体杂交瘤细胞株。

[0076] (3) 细胞冻存和复苏

[0077] 将杂交瘤细胞用冻存液制成细胞悬液, 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。

[0078] (4) 单克隆抗体的制备与纯化

[0079] 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。

[0080] 所述细胞培养基为向 RPMI1640 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。

[0081] 3. 羊抗鼠抗抗体的制备

[0082] 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。

[0083] 4. 庆大霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的制备

[0084] (1) 胶体金的制备

[0085] 用双蒸去离子水将 1% 氯金酸稀释成 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。

[0086] (2) 庆大霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的制备

[0087] 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 20 ~ 50 μg 抗体的标准向胶体金溶液中加入上述庆大霉素单克隆抗体, 继续搅拌混匀 10min, 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 10min。12000r/min, 4℃ 离心 40min, 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。

[0088] 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 -800.05% ~ 0.2% (质量百分含量)、pH7.2 的 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0089] 5. 将庆大霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物冻干到微孔试剂上

[0090] 向微孔试剂微孔板中加入 50 μL 庆大霉素单克隆抗体 - 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, 得到冻干有庆大霉素单克隆抗体 - 胶体金标记物的微孔试剂, 将微孔试剂加上微孔塞, 密封保存。

[0091] 6. 样品吸收垫的制备

[0092] 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。

[0093] 7. 反应膜的制备

[0094] 包被过程: 用磷酸缓冲液将庆大霉素半抗原 - 卵清蛋白偶联物稀释到 1mg/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 μL/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 μg/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 μL/cm。将包被好的反应膜置于 37℃ 条件下干燥 16h, 备用。

[0095] (二) 各部件的组装

[0096] 1. 试纸的组装

[0097] 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。

[0098] 2. 试纸条的组装

[0099] 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。

[0100] 实施例 3 样品中庆大霉素的检测

[0101] 1. 用试纸条检测样品

[0102] 方法一: 使用前将本试纸条和待检牛奶样本恢复至室温。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 $^{\circ}$ C -25 $^{\circ}$ C) 孵育 5min;将标记好的试纸插入微孔中——印有“MAX”线端朝下,使之充分浸入溶液中;再次室温 (20 $^{\circ}$ C -25 $^{\circ}$ C) 孵育 5min 后,取出试纸,判定结果。

[0103] 方法二:使用前将本试纸条和待检牛奶样本恢复至室温。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 150 μ L 样本稀释液 (磷酸盐缓冲液) 和 50 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,将标记好的试纸插入微孔中——印有“MAX”线端朝下,使之充分浸入溶液中;室温 (20 $^{\circ}$ C -25 $^{\circ}$ C) 孵育 5min 后,取出试纸条,判定结果。

[0104] 2. 检测结果分析

[0105] 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,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。

[0106] 实施例 4 试纸条技术参数的确定

[0107] 1. 检测限试验

[0108] 向空白牛奶样品中分别添加庆大霉素标准品至终浓度为 0、10、20、40 μ g/L,用试纸条按方法一进行牛奶样品检测,结果为:当庆大霉素标准品浓度为 0、10 μ g/L 时,试纸条显示出肉眼可见的两条红色线条,呈阴性;当庆大霉素标准品浓度为 20、40 μ g/L 时,试纸条质控区显色,但检测区不显色,呈阳性,表明本试纸条对牛奶样品庆大霉素检测限 20 μ g/L。

[0109] 向空白牛奶样品中分别添加庆大霉素标准品至终浓度为 0、45、90、180 μ g/L,用试纸条按方法二进行牛奶样品检测,结果为:当庆大霉素标准品浓度为 0、45 μ g/L 时,试纸条显示出肉眼可见的两条红色线条,呈阴性;当庆大霉素标准品浓度为 90、180 μ g/L 时,试纸条质控区显色,但检测区不显色,呈阳性,表明本试纸条对牛奶样品庆大霉素检测限 90 μ g/L。

[0110] 2. 假阳性率、假阴性率试验

[0111] 取已知庆大霉素含量大于 20 μ g/L 的牛奶阳性样品 20 份和庆大霉素含量小于 20 μ g/L 的牛奶阴性样品 20 份,用 3 个批次生产的试纸条按方法一分别进行检测,结果见表 1、表 2。

[0112] 表 1 检测阳性样品结果

	浓度 批次	阳性牛奶样品 (20 份)
[0113]	1	20 份阳性
	2	20 份阳性
	3	20 份阳性

[0114] 表 2 检测阴性样品结果

	浓度 批次	阴性牛奶样品 (20 份)
[0115]	1	20 份阴性
	2	20 份阴性
	3	20 份阴性

[0116] 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，可知阳性样品符合率为 100%，假阴性率为 0。检测 20 份阴性牛奶样品时，结果全为阴性，可知阴性样品符合率为 100%，假阳性率为 0。本发明的检测庆大霉素试纸条可以对牛奶样品中庆大霉素残留进行快速检测。

[0117] 取已知庆大霉素含量大于 $90 \mu\text{g/L}$ 的牛奶阳性样品 20 份和庆大霉素含量小于 $90 \mu\text{g/L}$ 的牛奶阴性样品 20 份，用 3 个批次生产的试纸条按方法二分别进行检测，结果见表 3、表 4。

[0118] 表 3 检测阳性样品结果

	浓度 批次	阳性牛奶样品 (20 份)
[0119]	1	20 份阳性
	2	20 份阳性
	3	20 份阳性

[0120] 表 4 检测阴性样品结果

	浓度 批次	阴性牛奶样品 (20 份)
[0121]	1	20 份阴性
	2	20 份阴性
	3	20 份阴性

[0122] 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，可知阳性样品符合率为 100%，假阴性率为 0。检测 20 份阴性牛奶样品时，结果全为阴性，可知阴性样品符合率为 100%，假阳性率为 0。本发明的检测庆大霉素试纸条可以对牛奶样品中庆大霉素残留进行快速检测。

[0123] 3. 特异性试验

[0124] 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。用该试纸条检测 $500 \mu\text{g/L}$ 的磺胺类、氯霉素、大环内酯类、氟喹诺酮类、四环素类等药物，试纸条质控区和检测区均显色，结果均呈阴性，说明本试纸条对这些药物无交叉反应。



图 1

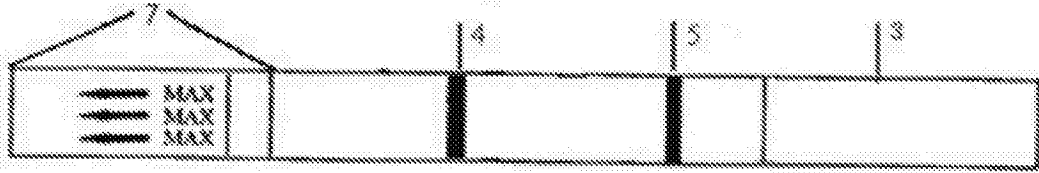


图 2

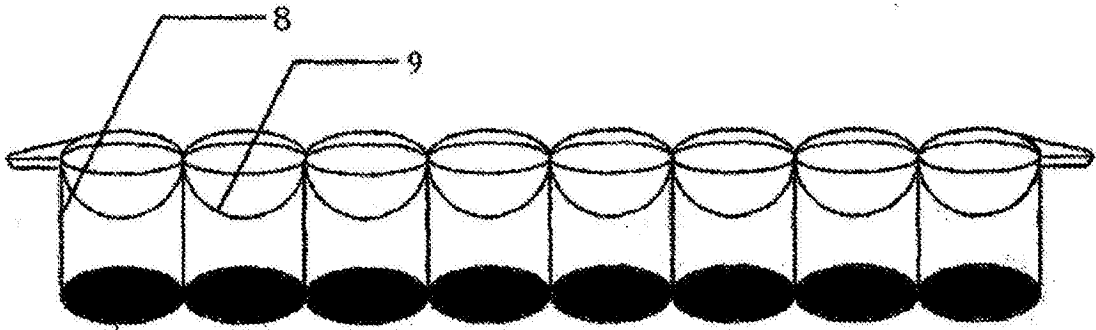


图 3

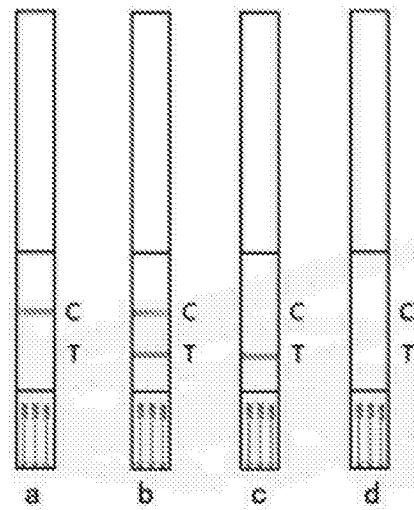


图 4

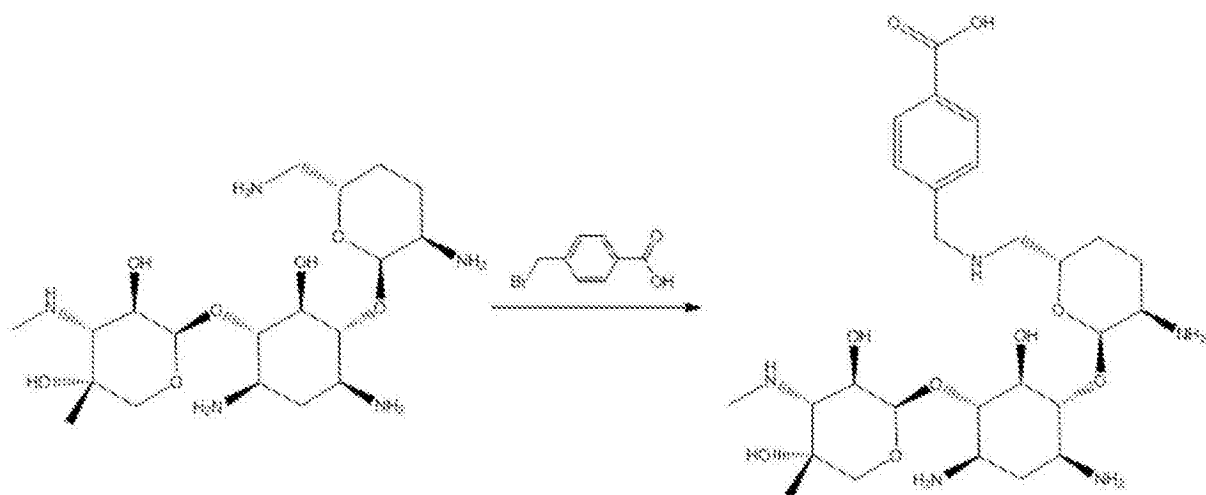


图 5

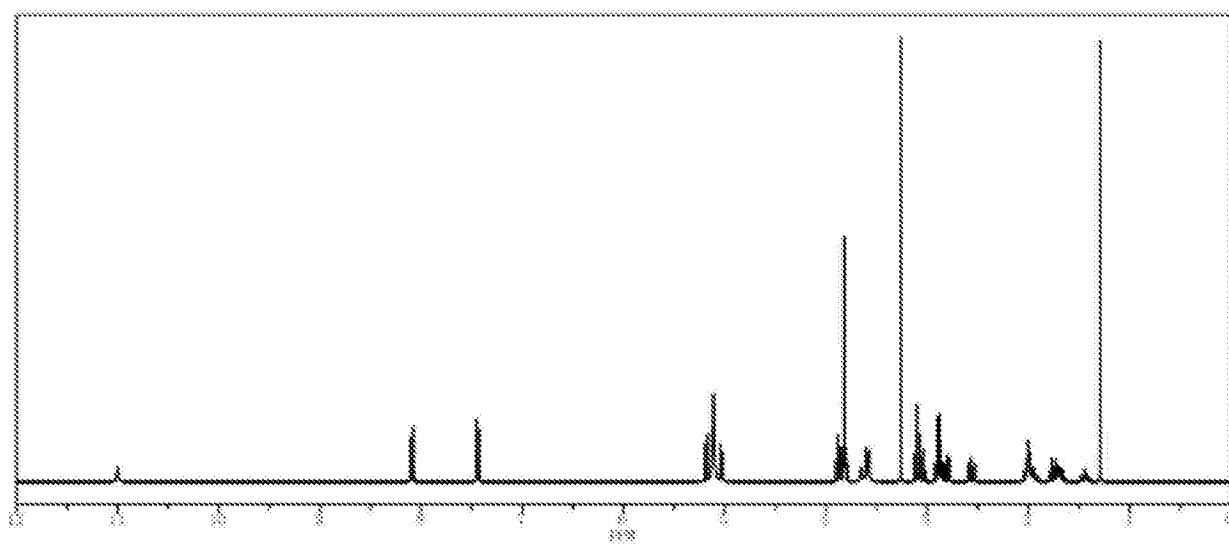


图 6

专利名称(译)	一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用		
公开(公告)号	CN105004844A	公开(公告)日	2015-10-28
申请号	CN201410240647.1	申请日	2014-05-30
[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	万宇平 赵正苗 刘叶 冯静 聂雯莹 何方洋 孙倩倩		
发明人	万宇平 赵正苗 刘叶 冯静 聂雯莹 何方洋 孙倩倩		
IPC分类号	G01N33/04 G01N33/577 G01N33/532		
其他公开文献	CN105004844B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种庆大霉素残留检测试纸条及其应用。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庆大霉素单克隆抗体；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，检测区包被有庆大霉素半抗原-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庆大霉素的方法简单、快速、直观、准确、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