



## (12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 209215397 U

(45)授权公告日 2019.08.06

(21)申请号 201820923161.1

(22)申请日 2018.06.14

(73)专利权人 上海雄图生物科技有限公司

地址 201600 上海市松江区广富林路697弄  
21号1324-1室

(72)发明人 汪劲能

(74)专利代理机构 北京东正专利代理事务所  
(普通合伙) 11312

代理人 李梦福

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

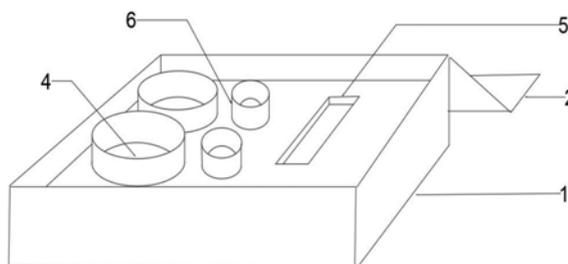
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

### (54)实用新型名称

一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒

### (57)摘要

本实用新型公开一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒,该试剂盒包括盒体(1)与之活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置有检验试纸条1盒,说明书1份,ID卡1个,条形码1张;盒体(1)内还设置有试剂板(3)其特征在于,试剂板(3)上分别设置有放置试剂瓶的孔(4)和放置试剂纸条塑料卡壳的凹槽(5),4个孔(4)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上,孔(4)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(4)上装有中空圆柱状干燥装置(6)。该试剂盒是一种成本低、灵敏度高、特异性强、操作简便快速、准确定量的检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮含量的试剂盒。



1. 一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒,该试剂盒包括盒体(1)与之活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置有检验试纸条1盒,说明书1份,ID卡1个,条形码1张;盒体(1)内还设置有试剂板(3),其特征在于,试剂板(3)上分别开有放置试剂瓶的孔(4)和放置试剂纸条的凹槽(5),4个孔(4)分成两排,每排两个分布在试剂板(3)上,孔(4)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(4)上装有中空圆柱状干燥装置(6),所述干燥装置(6)为内层(S1)和外层(S2)两层套合成一个中空圆柱状结构,夹层中放置有干燥剂,干燥装置(6)的内层开有通风孔(7)。

2. 根据权利要求1所述试剂盒,其特征在于,所述干燥装置(6)夹层用密封胶带密封。

3. 根据权利要求1所述试剂盒,其特征在于,所述干燥装置(6)外层为透明材料制成。

4. 根据权利要求1中所述试剂盒,其特征在于,所述的检验试纸条包括:样品吸收垫、荧光微球结合物垫、硝酸纤维素反应膜、检测线、质控线、吸水垫和PVC塑料卡壳。

5. 根据权利要求4中所述试剂盒,其特征在于,塑料卡壳上设有样品吸收垫相配合的加样孔;塑料卡壳还设有硝酸纤维素反应膜检测线和硝酸纤维素反应膜质控线相配合的荧光读数窗口。

## 一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本实用新型属于检测试剂盒领域,具体涉及一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 呋喃唑酮为硝基呋喃类抗菌药,是上世纪40年代后期开始使用的人工合成广谱抗菌药物,能杀灭多种革兰氏阳性菌和阴性细菌,在畜牧、水产养殖种得到了广泛的应用,但呋喃唑酮及代谢物在动物源性食品中的残留可以通过食物链传递给人类,长期摄入会引起各种疾病,对人体有致癌、致畸胎等副作用。美国、日本和我国已经禁止在水产养殖中使用该药物,但该药物在体内代谢很快,自2005年11月以来,我国在出口的鳗鱼产品中多次被检出呋喃唑酮代谢产物,而引起人们高度重视。

[0003] 目前对于呋喃唑酮药物在动物源性食品中残留分析方法主要有高效液相色谱法、液相色谱-质谱分析法、酶联免疫吸附测定法。高效液相色谱法、液相色谱-质谱分析法,需要大型的仪器设备,设备价格昂贵,操作过程复杂、时间较长,且无法在现场和基础小型实验室使用。酶联免疫吸附测定法相对于仪器分析,操作简单、成本低,但准确性差,操作繁琐,容易造成假阳性或者假阴性等。因此,急需一种既简便快速,又能准确定量的检测方法检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮的含量,满足现场即快速方便又准确定量检测的要求。

### 发明内容

[0004] 为了克服现有方法检测呋喃唑酮价格昂贵、操作复杂、检测时间长、无法现场检测的困难,解决实时快速定量检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮的含量。本实用新型提供了一种利用呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,该试剂盒采用在试剂瓶口处加装干燥装置,避免了在检测环境中由于湿度大造成的试剂在应用和添加时混入水分而造成的准确性降低,尤其是提取液二氯甲烷,由于二氯甲烷和水反应会产生有毒气体,对人体造成有害影响,本试剂盒将可以有效的杜绝这种现象,从而更安全简便快速、准确定量的检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮药物的含量。通过免疫反应的高度特异性和独特的荧光微球作为抗体示踪标记物,并与高灵敏度的时间分辨荧光免疫层析技术和POCT理念相结合,发明了一种灵敏度高、特异性强、线性范围宽、操作简单快捷新的检测试剂盒,满足国家兽药残留检测要求。

[0005] 为了实现上述目的,本实用新型采用了以下技术方案,其特征步骤如下:

[0006] 一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒,该试剂盒包括盒体(1)与之活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置有检验试纸条1盒,说明书1份,ID卡1个,条形码1张;盒体(1)内还设置有试剂板(3)其特征在于,试剂板(3)上分别开有放置试剂瓶的孔(4)和放置试剂纸条塑料卡壳的凹槽(5),4个孔(4)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上,孔(4)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(4)上装有中空圆柱状干燥装置(6)。

[0007] 进一步说明,所述干燥装置(6)为内层(S1)和外层(S2)两层套合成一个中空圆柱状结构,夹层中放置有干燥剂,干燥装置(6)的内层开有通风孔(7)。

[0008] 进一步说明,所述干燥装置(6)夹层上方用密封胶带密封。

[0009] 进一步说明,所述干燥装置(6)外层为透明材料制成。

[0010] 进一步说明,所述的检验试纸条包括:样品吸收垫、荧光微球结合物垫、硝酸纤维素反应膜、检测线、质控线、吸水垫和PVC塑料卡壳。

[0011] 进一步说明,塑料卡壳上设有样品吸收垫相配合的加样孔;塑料卡壳还设有硝酸纤维素反应膜检测线和硝酸纤维素反应膜质控线相配合的荧光读数窗口。

[0012] 本发明产生的有益效果是:

[0013] (1) 本实用新型提供了一种利用呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,克服了现有方法检测呋喃唑酮价格昂贵、操作复杂、检测时间长、无法现场检测的困难,解决了实时快速定量检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮的含量。

[0014] (2) 该试剂盒采用在试剂瓶口处加装干燥装置,避免了在检测环境中由于湿度大造成的试剂在应用和添加时混入水分而造成的准确性降低。

[0015] (3) 该试剂盒采用在试剂瓶口处加装干燥装置,尤其是对于提取液二氯甲烷,由于二氯甲烷和水反应会产生有毒气体,对人体造成有害影响,本试剂盒将可以有效的杜绝这种现象。

[0016] 综上所述,该试剂盒更简便快速、准确定量的检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮药物的含量。通过免疫反应的高度特异性和独特的荧光微球作为抗体示踪标记物,并与高灵敏度的时间分辨荧光免疫层析技术和POCT理念相结合,发明了一种灵敏度高、特异性强、线性范围宽、操作简单快捷新的检测试剂盒,满足国家兽药残留检测要求。

## 附图说明

[0017] 图1为试剂盒构造图,包括以下部件:1、盒体,2、盒盖(2),3、试剂板,4、孔,5、凹槽,6、干燥装置。

[0018] 图2为干燥装置剖面图,7、通气孔,S1干燥装置外层,S2干燥装置内层。

[0019] 图3荧光免疫定量试纸条构造图,包括以下部件:1'.样品垫,2'.结合垫,3'.检测线T,4'.质控线C,5'.吸水垫,6'.硝酸纤维素膜,7'.PVC板,8'.检测线T上包埋的呋喃唑酮-BSA抗原以及与之反应的荧光微球标记的单克隆抗体,9'.质控线C上包埋的羊抗兔二抗以及结合垫上与之反应的荧光微球标记兔IgG抗体。

## 具体实施方式

[0020] 下面将对本发明通过具体实施例进一步进行阐述,如在通篇说明书及权利要求中所提及的“包含”或“包括”为一开放式用语,故应解释成“包含但不限于”。说明书后续描述为实施本发明的较佳实施方式,然所述描述乃以说明书的一般原则为目的,并非用以限定本发明的范围。本发明的保护范围当视所附权利要求所界定者为准。

[0021] 1. 制备呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT快速检测试剂盒,其试剂盒包括以下内容

[0022]

品名	检测试纸条	样品提取液	样品稀释液	说明书	ID卡	条形码
规格	40T/盒	2瓶, 250ml/瓶	2瓶, 5ml/瓶	1份	1个	1张

[0023] 其中检测试纸条主要由:PVC塑料卡壳、硝酸纤维素膜、样品垫、结合垫、T线、C线、吸水垫组成。

[0024] 2. 呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量检测试纸条的组装:先用时间分辨铕(Eu)荧光微球标记呋喃唑酮抗体,然后将其干燥固定于结合垫上,同时结合垫上还喷有时间分辨Eu荧光微球标记的兔IgG抗体,再将呋喃唑酮-BSA抗原固定于硝酸纤维素膜上做成检测线T线,同时在硝酸纤维素膜上包被羊抗兔二抗做成质控C线,37℃烘干,最后将样品垫、荧光微球结合物垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次搭接于PVC板上,再切成4mm宽的试纸条。转入PVC塑料卡壳,塑料卡壳上设有与所述样品垫相配合的加样孔,和与所述反应膜检测T线和质控C线相配合的荧光读数窗口。

[0025] 3. 呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量检测试纸条测试原理:当将待测样品滴加在加样区时,样品中的呋喃唑酮药物与结合垫中荧光微球标记的呋喃唑酮抗体结合并通过毛细作用向前层析,到达检测区后,检测线T线上固定的呋喃唑酮抗原与剩余未结合的荧光微球标记呋喃唑酮抗体结合。检测线T线上结合的荧光微球标记的呋喃唑酮抗体浓度与样品中呋喃唑酮的浓度成反比,质控线C线结合的荧光标记物浓度与样品中呋喃唑酮的浓度无关。层析结束后,采用时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪读取T线的荧光强度和C线的相对荧光强度并计算T/C值,通过试剂盒中写有标准曲线和检测项目信息的ID卡和条形码,用时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪内置的分析软件自动计算出样品中呋喃唑酮的浓度。

[0026] 4. 呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT快速检测试剂盒中样品提取液为二氯甲烷溶液,样品稀释液为含有0.5%(m/v)牛血清白蛋白、2.5%(m/v)Tween20的0.01mol/LpH7.0的磷酸缓冲溶液。说明书为检测原理、操作步骤、注意事项的详细说明。ID卡和条形码写有标准曲线和检测项目信息,用来自动识别检测项目和提取本批次试剂盒的标准曲线信息。

[0027] 本实用新型的创新是构建呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT检测试纸条,并利用时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,采用竞争免疫反应的原理,仅配合一台时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪,可实现方便快捷、低成本、高灵敏的定量检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮的含量。试纸条中荧光标记物是利用镧系元素Eu经特殊包裹加工而成的荧光微球,荧光强度比普通标记物要高100倍以上,据其发光特点和光谱特性,用时间分辨技术测量发射荧光,通过时间延迟和波长分辨,有效地排除非特异荧光的干扰,极大地提高了分析灵敏度,使本实用新型试剂盒检测方法的稳定性和灵敏度都优于现有检测方法。用本实用新型的试剂盒方法检测呋喃唑酮的灵敏度0.05μg/kg,线性范围是0.2-10μg/kg,准确度添加回收率为80-125%,样本溶液5分钟准确定量测定出呋喃唑酮药物的含量,其检测结果满足美国、中国动物源食品中呋喃唑酮的残留限量。

[0028] 实施例1

- [0029] 以下为本实用新型试剂盒检测呋喃唑酮的检测步骤
- [0030] 1实验材料和方法
- [0031] 1.1试剂和溶液
- [0032] 本实用新型检测方法的试剂溶液均包含在时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒内,无需另外配制试剂。
- [0033] 1.2仪器与设备
- [0034] 1.2.1 XT8201A型时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪(上海雄图生物科技有限公司提供)
- [0035] 1.2.2 XT8202A型恒温孵育器
- [0036] 1.2.3漩涡混匀器
- [0037] 1.2.4低速离心机
- [0038] 1.2.5电子天平
- [0039] 1.2.6均质器
- [0040] 1.3试验方法
- [0041] 1.3.1样品的前处理
- [0042] 1.3.1.1动物肌肉组织、水产品及饲料的处理:将饲料研磨过40目筛,动物肌肉组织和水产品取可食用肉质约200g,用匀浆器彻底匀质后,准确称取 $2.0 \pm 0.02$ g匀质后样品于15ml离心管中,样品提取液打开盖子后放回试剂盒带有干燥装置的放置孔中,取出10ml样品提取液加入样品中,用漩涡振荡器振荡提取5min;提取结束后,4000rpm离心2min,取100 $\mu$ l上清,加入到200 $\mu$ l样品稀释液,混匀后待上样检测。
- [0043] 1.3.2检测过程及结果
- [0044] 1.将恒温孵育器开机,设置温度37 $^{\circ}$ C,待温度升至37 $^{\circ}$ C恒定后方可使用;
- [0045] 2.荧光免疫定量POCT分析仪预热5min后,插入本批次产品所对应的ID卡,并扫描本批次产品所对应的条形码;
- [0046] 3.从铝箔袋中取出呋喃唑酮时间分辨荧光免疫定量POCT检测试纸条,水平置于恒温孵育器上;
- [0047] 4.用移液器吸取100 $\mu$ l经过前处理的待测样品加入试纸条的加样孔中,盖上孵育器盖,开始计时孵育5min;
- [0048] 5.5min后将试纸条插入时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪试纸条插槽中,触摸屏点读数即可,其读数即为样品中呋喃唑酮的含量;
- [0049] 6.如果检测结果超出线性范围的上限,将样品稀释液打开盖子后放回试剂盒带有干燥装置的放置孔中,取出样品稀释液加入样品中,用样品稀释液稀释后再次检测,检测结果乘以稀释倍数,即为样品的最终浓度。

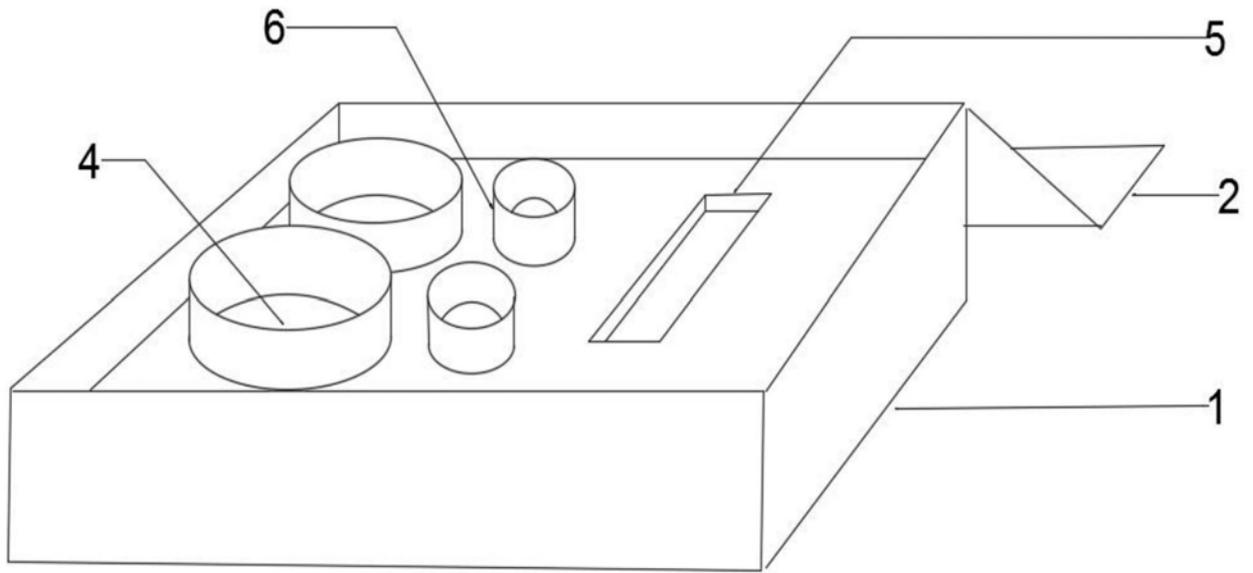


图1

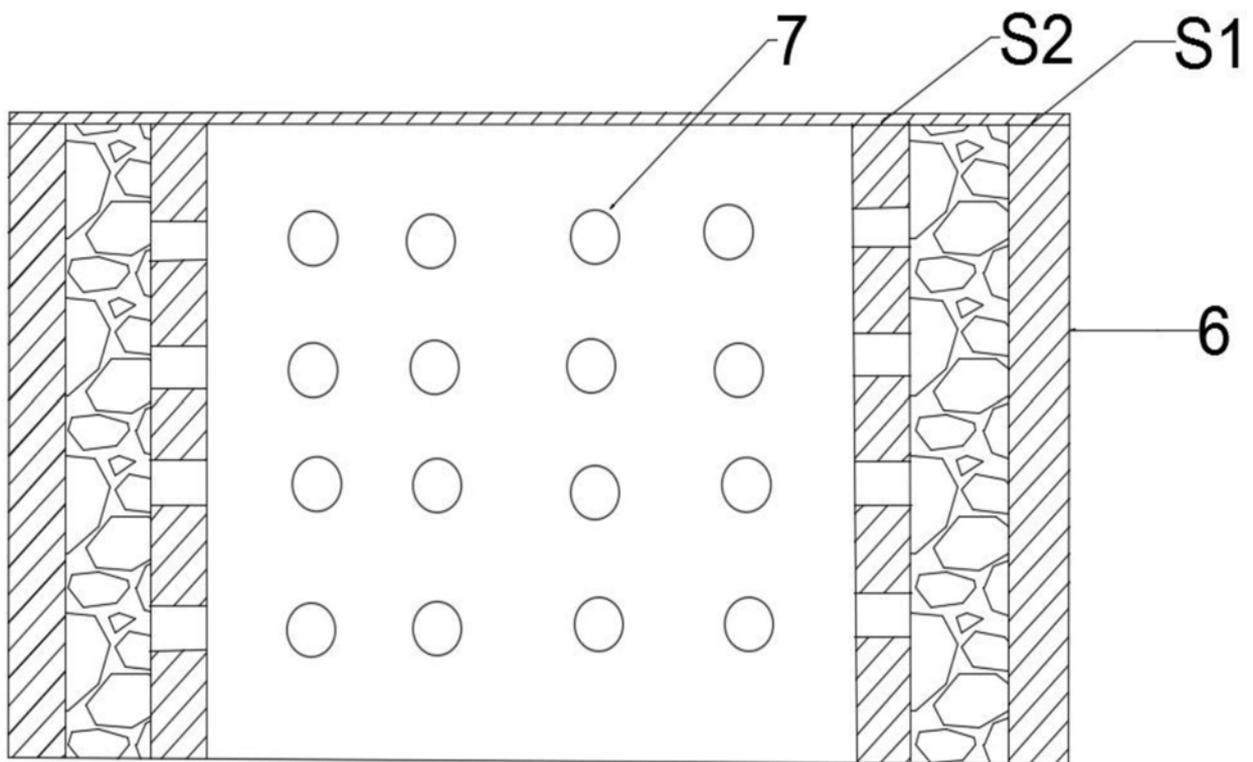


图2

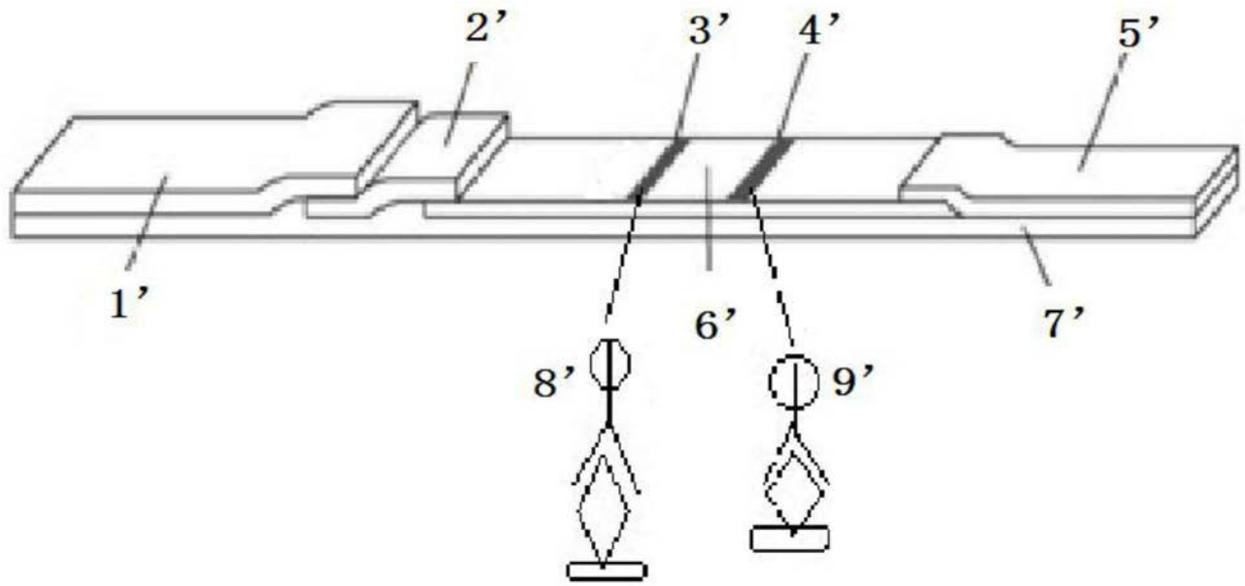


图3

专利名称(译)	一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN209215397U</a>	公开(公告)日	2019-08-06
申请号	CN201820923161.1	申请日	2018-06-14
[标]发明人	汪劲能		
发明人	汪劲能		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N21/64		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本实用新型公开一种呋喃唑酮荧光免疫定量检测试剂盒，该试剂盒包括箱体(1)与之活动连接的盒盖(2)，箱体(1)内放置有检验试纸条1盒，说明书1份，ID卡1个，条形码1张；箱体(1)内还设置有试剂板(3)其特征在在于，试剂板(3)上分别设置有放置试剂瓶的孔(4)和放置试剂纸条塑料卡壳的凹槽(5)，4个孔(4)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上，孔(4)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液，孔(4)上装有中空圆柱状干燥装置(6)。该试剂盒是一种成本低、灵敏度高、特异性强、操作简便快速、准确定量的检测动物肌肉组织、水产品及饲料等样品中呋喃唑酮含量的试剂盒。

