



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106771271 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(21)申请号 201611112561.6

(22)申请日 2016.12.07

(71)申请人 无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司

地址 214070 江苏省无锡市蠡园开发区建筑西路599号1幢305室

(72)发明人 赵春城 徐静 吴敏芳 胡勇
蒋韦艳 刘金杰

(51)Int.Cl.

G01N 33/94(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡

(57)摘要

本发明公开了一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡,检测卡制作包括如下步骤:S1,替米考星与卵清蛋白偶联物的制备,取20-24mg替米考星、14-16mgN,N'-羧基二咪唑用1.4-1.6ml N,N-二甲基甲酰胺溶解,室温搅拌反应1h,即可得到反应液,取卵清蛋白32-40mg,使卵清蛋白充分溶解在3-4ml 50mol/L碳酸钠溶液中,将反应液逐渐缓慢滴加到卵清蛋白溶液中,在室温中反应24-30h,用0.01mol/L PBS透析3天,每天换液3-4次。该禽肉中替米考星检测方法及检测卡,通过将所需的大部分原料整合到检测卡上,通过检测卡插入进微孔试剂中进行检测,大大缩短了检样时间,且样品无需特殊处理,等待4-6min即可得出结果,检测过程无需特殊仪器辅助,普通人员均可操作,不需要专业培训,极易使用。

1. 一种禽肉中替米考星检测卡,其特征在于:检测卡制作包括如下步骤:

S1,替米考星与卵清蛋白偶联物的制备,取20-24mg替米考星、14-16mgN,N'-羧基二咪唑用1.4-1.6ml N,N-二甲基甲酰胺溶解,室温搅拌反应1h,即可得到反应液,取卵清蛋白32-40mg,使卵清蛋白充分溶解在3-4ml 50mol/L碳酸钠溶液中,将反应液逐渐缓慢滴加到卵清蛋白溶液中,在室温中反应24-30h,用0.01mol/L PBS透析3天,每天换液3-4次,以出去未反应的小分子物质,最后以12000r/min离心25-35min,收集上清液,分别进行储存,放于-20℃保存备用;

S2,人工抗原的鉴定,将替米考星、卵清蛋白、替米考星-卵清蛋白偶联物用PH7.4的PBS配成0.4-0.6mg/ml的溶液,以0.01mol/L PH7.4PBS调零,用紫外分光光度计在波长200-600范围内扫描,得到替米考星、卵清蛋白、替米考星-卵清蛋白偶联物的吸收曲线,通过显示出三条不同的吸收曲线,表示替米考星与载体蛋白偶联成功;

S3,替米考星单克隆抗体的制备,将替米考星-卵清蛋白偶联物注入Balb/c小鼠体内,使小鼠进行免疫,剂量为140-160μg/只,使其产生抗血清,取免疫Balb/c小鼠细胞,按8:1比例与SP2/0骨髓瘤细胞融合,筛选得到稳定分泌替米考星单克隆抗体的替米考星单克隆再叫瘤细胞株,将杂交瘤细胞用冻存液制成 5×10^6 个/ml的细胞悬液,在液氨中长期保存,复苏时取出冻存管,放入到37℃水浴中速溶,离心取出冻存液后,移入培养瓶内培养,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-包河硫酸铵法将得到的培养液进行钝化,得到单克隆抗体,-20℃保存;

S4,羊抗鼠抗抗体的制备,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;

S5,胶体金的制备,用双蒸水离子水将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2-3ml 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;

S6,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的制备,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24μg的标准向胶体金溶液中加入上述替米考星单克隆抗体,搅拌均匀,室温静置8-12min,加入10%卵清蛋白,使其在胶体金溶液中的终浓度为1%,静置8-12min,然后在12000r/min,4℃的温度下离心35-45min,弃掉上层清液,沉淀用复溶缓冲液洗涤两到三次,用体积为初始胶体金1/10的复溶缓冲液将沉淀重置,放在4℃下备用;

S7,向微孔试剂微孔板中加入100μl替米考星单克隆抗体-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,得到冻干有替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂,密封保存;

S8,反应膜的制备,用磷酸缓冲液将替米考星-卵清蛋白偶联物稀释到10mg/ml,用点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的检测线,包被量为 $1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,然后用0.01mol/L PH7.4的磷酸盐缓冲液将羊抗鼠IgG抗体稀释到160-240μg/ml,用点膜仪将其包被与硝酸纤维素膜上的质控线,包被量为 $1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,将包被好的反应膜置于37℃条件下干燥2-3h,备用,将样品吸收垫置于含0.5%卵清蛋白、PH7.2 0.1mol/L磷酸盐缓冲液中浸泡2-3h,37℃烘干2-3h备用;

S9, 样品吸收垫、反应膜、吸水垫和保护膜依次按顺序粘贴在底板上, 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, 保护膜覆盖在样品吸收垫上, 为检测面, 上面印有标记线, 检测线含有替米考星-载体蛋白偶联物, 质控线含有羊抗鼠抗抗体。

2. 根据权利要求1所述的一种禽肉中替米考星检测卡, 其特征在于: 所述复溶缓冲液含卵清蛋白0.05%-0.35%、吐温-80 0.02%-0.22%和PH7.2的0.02-0.03mol/L磷酸盐缓冲液。

3. 根据权利要求1所述的一种禽肉中替米考星检测卡, 其特征在于: 所述底板为PVC底板、样品吸收垫为吸滤纸、反应膜为硝酸纤维膜、吸水垫为吸水纸、保护膜为PE材质保护膜。

4. 根据权利要求1所述的一种禽肉中替米考星检测卡, 其特征在于: 所述仪器包括离心机、紫外分光光度计、培养瓶、细胞培养基、恒温电磁搅拌器、冷冻干燥机和点膜仪。

5. 根据权利要求2所述的一种禽肉中替米考星检测卡, 其特征在于: 所述复溶缓冲液含卵清蛋白0.1%-0.3%、吐温-80 0.05%-0.2%和PH7.2的0.02mol/L磷酸盐缓冲液。

6. 一种禽肉中替米考星检测方法, 其特征在于: 滴加待检禽肉中样品溶液180-220 μ l到微孔试剂中, 搅拌均匀后, 在室温中培育4-6min, 将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中, 在室温培育4-6min, 观察结果, 替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时, 替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合, 金标抗体上的抗原结合位点封闭, 从而在检测线上因为竞争反应, 不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带, 阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应, 将会在检测线和质控线上出现红色条带, 阳性: 质控线显示一条红色条带, 而检测线不显色, 检测卡以显示红色线一条, 判定为阳性, 阴性: 质控线显示一条红色条带, 检测线同时也显示出一条红色条带, 检测卡以显示红色线两条, 判定为阴性, 当质控线不显示红色条带, 则无论检测线显示出红色与否, 都判定检测卡为无效。

一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡

技术领域

[0001] 本发明涉及替米考星技术领域,具体为一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡。

背景技术

[0002] 替米考星是由泰乐菌素的一种水解产物半合成的畜禽专用抗生素,药用其磷酸盐,替米考星是20世纪80年代开发的半合成大环内酯类畜禽专用抗生素,分子量869.15。将泰乐菌素与3,5-二甲基吡啶反应生成替米考星碱,再加磷酸和水即形成磷酸替米考星,它是顺反异构体的混合物。替米考星是在研究泰乐菌素脱糖后进行醛基的胺化反应得到的一个活性很好的产物,该胺化反应采用以甲酸作催化剂的Wallach反应,能获得收率很高的替米考星。

[0003] 目前大多数替米考星检测都是采用高效液相色谱法进行检测,但这些方法过于繁琐,耗时较长,检测成本较高,不能满足快速检测的要求,为此提供一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡。

发明内容

[0004] (一)解决的技术问题

针对现有技术的不足,本发明提供了一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡,解决了检测耗时长和检测成本高的问题。

[0005] (二)技术方案

为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:一种禽肉中替米考星检测卡,检测卡制作包括如下步骤:

S1,替米考星与卵清蛋白偶联物的制备,取20-24mg替米考星、14-16mgN³-羧基二咪唑用1.4-1.6ml N,N-二甲基甲酰胺溶解,室温搅拌反应1h,即可得到反应液,取卵清蛋白32-40mg,使卵清蛋白充分溶解在3-4ml 50mol/L碳酸钠溶液中,将反应液逐渐缓慢滴加到卵清蛋白溶液中,在室温中反应24-30h,用0.01mol/L PBS透析3天,每天换液3-4次,以出去未反应的小分子物质,最后以12000r/min离心25-35min,收集上清液,分别进行储存,放于-20℃保存备用;

S2,人工抗原的鉴定,将替米考星、卵清蛋白、替米考星-卵清蛋白偶联物用PH7.4的PBS配成0.4-0.6mg/ml的溶液,以0.01mol/L PH7.4PBS调零,用紫外分光光度计在波长200-600范围内扫描,得到替米考星、卵清蛋白和替米考星-卵清蛋白偶联物的吸收曲线,通过显示出三条不同的吸收曲线,表示替米考星与载体蛋白偶联成功;

S3,替米考星单克隆抗体的制备,将替米考星-卵清蛋白偶联物注入Balb/c小鼠体内,使小鼠进行免疫,剂量为140-160μg/只,使其产生抗血清,取免疫Balb/c小鼠细胞,按8:1比例与SP2/0骨髓瘤细胞融合,筛选得到稳定分泌替米考星单克隆抗体的替米考星单克隆再叫瘤细胞株,将杂交瘤细胞用冻存液制成5X10⁶个/ml的细胞悬液,在液氨中长期保存,复苏时取出冻存管,放入到37℃水浴中速溶,离心取出冻存液后,移入培养瓶内培养,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-包河硫酸铵法将得到的培养液进行钝化,得到单克隆抗体,-20℃保存;

S4,羊抗鼠抗抗体的制备,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;

S5,胶体金的制备,用双蒸水离子水将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2-3ml 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;

S6,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的制备,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24μg的标准向胶体金溶液中加入上述替米考星单克隆抗体,搅拌均匀,室温静置8-12min,加入10%卵清蛋白,使其在胶体金溶液中的终浓度为1%,静置8-12min,然后在12000r/min,4℃的温度下离心35-45min,弃掉上层清液,沉淀用复溶缓冲液洗涤两到三次,用体积为初始胶体金1/10的复溶缓冲液将沉淀重置,放在4℃下备用;

S7,向微孔试剂微孔板中加入100μl替米考星单克隆抗体-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,得到冻干有替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂,密封保存;

S8,反应膜的制备,用磷酸缓冲液将替米考星-卵清蛋白偶联物稀释到10mg/ml,用点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的检测线,包被量为 $1.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$,然后用0.01mol/L PH7.4的磷酸盐缓冲液将羊抗鼠IgG抗体稀释到160-240μg/ml,用点膜仪将其包被与硝酸纤维素膜上的质控线,包被量为 $1.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$,将包被好的反应膜置于37℃条件下干燥2-3h,备用,将样品吸收垫置于含0.5%卵清蛋白、PH7.2 0.1mol/L磷酸盐缓冲液中浸泡2-3h,37℃烘干2-3h备用;

S9,样品吸收垫、反应膜、吸水垫和保护膜依次按顺序粘贴在底板上,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,保护膜覆盖在样品吸收垫上,为检测面,上面印有标记线,检测线含有替米考星-载体蛋白偶联物,质控线含有羊抗鼠抗抗体。

[0006] 优选的,所述复溶缓冲液含卵清蛋白0.05%-0.35%、吐温-80 0.02%-0.22%和PH7.2的0.02-0.03mol/L磷酸盐缓冲液。

[0007] 优选的,所述底板为PVC底板、样品吸收垫为吸滤纸、反应膜为硝酸纤维素膜、吸水垫为吸水纸、保护膜为PE材质保护膜。

[0008] 优选的,所述仪器包括离心机、紫外分光光度计、培养瓶、细胞培养基、恒温电磁搅拌器、冷冻干燥机和点膜仪。

[0009] 优选的,所述复溶缓冲液含卵清蛋白0.1%-0.3%、吐温-80 0.05%-0.2%和PH7.2的0.02mol/L磷酸盐缓冲液。

[0010] 一种禽肉中替米考星检测方法,滴加待检禽肉中样品溶液180-220μl到微孔试剂中,搅拌均匀后,在室温中培育4-6min,将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中,在室温培育4-6min,观察结果,替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合,金标抗体上的抗原结合

位点呗封闭,从而在检测线上因为竞争反应,不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带,阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在检测线和质控线上出现红色条带,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0011] (三)有益效果

本发明提供了一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡,具备以下有益效果:

(1)该禽肉中替米考星检测方法及检测卡,通过将所需的大部分原料整合到检测卡上,通过检测卡插入进微孔试剂中进行检测,大大缩短了检样时间,且样品无需特殊处理,等待4-6min即可得出结果,检测过程无需特殊仪器辅助,普通人员均可操作,不需要专业培训,极易使用。

[0012] (2)该禽肉中替米考星检测方法及检测卡,建构简单,生产成本低廉,检测准确率高,从而可以极大的提高青霉素的检测率,以及节约检测成本。

具体实施方式

[0013] 基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0014] 本发明提供一种技术方案:一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡,包括仪器包括离心机、紫外分光光度计、培养瓶、细胞培养基、恒温电磁搅拌器、冷冻干燥机和点膜仪,检测卡制作包括如下步骤:

S1,替米考星与卵清蛋白偶联物的制备,取20-24mg替米考星、14-16mgN,N'-羧基二咪唑用1.4-1.6ml N,N-二甲基甲酰胺溶解,室温搅拌反应1h,即可得到反应液,取卵清蛋白32-40mg,使卵清蛋白充分溶解在3-4ml 50mol/L碳酸钠溶液中,将反应液逐渐缓慢滴加到卵清蛋白溶液中,在室温中反应24-30h,用0.01mol/L PBS透析3天,每天换液3-4次,以出去未反应的小分子物质,最后以12000r/min离心25-35min,收集上清液,分别进行储存,放于-20℃保存备用;

S2,人工抗原的鉴定,将替米考星、卵清蛋白、替米考星-卵清蛋白偶联物用PH7.4的PBS配成0.4-0.6mg/ml的溶液,以0.01mol/L PH7.4PBS调零,用紫外分光光度计在波长200-600范围内扫描,得到替米考星、卵清蛋白、替米考星-卵清蛋白偶联物的吸收曲线,通过显示出三条不同的吸收曲线,表示替米考星与载体蛋白偶联成功;

S3,替米考星单克隆抗体的制备,将替米考星-卵清蛋白偶联物注入Balb/c小鼠体内,使小鼠进行免疫,剂量为140-160μg/只,使其产生抗血清,取免疫Balb/c小鼠细胞,按8:1比例与SP2/0骨髓瘤细胞融合,筛选得到稳定分泌替米考星单克隆抗体的替米考星单克隆再叫瘤细胞株,将杂交瘤细胞用冻存液制成 5×10^6 个/ml的细胞悬液,在液氨中长期保存,复苏时取出冻存管,放入到37℃水浴中速溶,离心取出冻存液后,移入培养瓶内培养,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-包河硫酸铵法将得到的培养液进行钝化,得到单克隆抗体,-20℃保存;

S4,羊抗鼠抗抗体的制备,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;

S5,胶体金的制备,用双蒸水离子水将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2-3ml 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;

S6,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的制备,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24μg的标准向胶体金溶液中加入上述替米考星单克隆抗体,搅拌均匀,室温静置8-12min,加入10%卵清蛋白,使其在胶体金溶液中的终浓度为1%,静置8-12min,然后在12000r/min,4℃的温度下离心35-45min,弃掉上层清液,沉淀用复溶缓冲液洗涤两到三次,复溶缓冲液含卵清蛋白0.05%-0.35%、吐温-80 0.02%-0.22%和PH7.2的0.02-0.03mol/L磷酸盐缓冲液,复溶缓冲液含卵清蛋白0.1%-0.3%、吐温-80 0.05%-0.2%和PH7.2的0.02mol/L磷酸盐缓冲液,用体积为初始胶体金1/10的复溶缓冲液将沉淀重置,放在4℃下备用;

S7,向微孔试剂微孔板中加入100μl替米考星单克隆抗体-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,得到冻干有替米考星单克隆抗体-胶体金标记物的微孔试剂,密封保存;

S8,反应膜的制备,用磷酸缓冲液将替米考星-卵清蛋白偶联物稀释到10mg/ml,用点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的检测线,包被量为 $1.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$,然后用0.01mol/L PH7.4的磷酸盐缓冲液将羊抗鼠1gG抗体稀释到160-240μg/ml,用点膜仪将其包被与硝酸纤维素膜上的质控线,包被量为 $1.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$,将包被好的反应膜置于37℃条件下干燥2-3h,备用,将样品吸收垫置于含0.5%卵清蛋白、PH7.2 0.1mol/L磷酸盐缓冲液中浸泡2-3h,37℃烘干2-3h备用;

S9,样品吸收垫、反应膜、吸水垫和保护膜依次按顺序粘贴在底板上,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,保护膜覆盖在样品吸收垫上,为检测面,上面印有标记线,检测线含有替米考星-载体蛋白偶联物,质控线含有羊抗鼠抗抗体,底板为PVC底板、样品吸收垫为吸滤纸、反应膜为硝酸纤维素膜、吸水垫为吸水纸、保护膜为PE材质保护膜。

[0015] 一种禽肉中替米考星检测方法,检测方法包括如下步骤:滴加待检禽肉中样品溶液180-220μl到微孔试剂中,搅拌均匀后,在室温中培育4-6min,将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中,在室温培育4-6min,观察结果,替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合,金标抗体上的抗原结合位点呗封闭,从而在检测线上因为竞争反应,不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带,阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在检测线和质控线上出现红色条带,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0016] 实施例1

一种禽肉中替米考星检测方法,检测方法包括如下步骤:

滴加待检禽肉中样品溶液180 μ l到微孔试剂中,搅拌均匀后,在室温中培育4min,将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中,在室温培育4min,观察结果,替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合,金标抗体上的抗原结合位点呗封闭,从而在检测线上因为竞争反应,不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带,阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在检测线和质控线上出现红色条带,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0017] 实施例2

一种禽肉中替米考星检测方法,检测方法包括如下步骤:

滴加待检禽肉中样品溶液200 μ l到微孔试剂中,搅拌均匀后,在室温中培育5min,将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中,在室温培育5min,观察结果,替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合,金标抗体上的抗原结合位点呗封闭,从而在检测线上因为竞争反应,不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带,阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在检测线和质控线上出现红色条带,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0018] 实施例3

一种禽肉中替米考星检测方法,检测方法包括如下步骤:

滴加待检禽肉中样品溶液220 μ l到微孔试剂中,搅拌均匀后,在室温中培育6min,将检测卡标有标记线的一端向下插入培育的微孔试剂中,在室温培育6min,观察结果,替米考星在样本中的含量高于或等于检测卡对其的最低检测限时,替米考星单克隆抗体-胶体金标记物与替米考星结合,金标抗体上的抗原结合位点呗封闭,从而在检测线上因为竞争反应,不会与替米考星-载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带,阴性样板在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在检测线和质控线上出现红色条带,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0019] 综上所述,该禽肉中替米考星检测方法及检测卡,阳性:质控线显示一条红色条带,而检测线不显色,检测卡以显示红色线一条,判定为阳性,阴性:质控线显示一条红色条带,检测线同时也显示出一条红色条带,检测卡以显示红色线两条,判定为阴性,当质控线不显示红色条带,则无论检测线显示出红色与否,都判定检测卡为无效。

[0020] 需要说明的是,在本文中,诸如第一和第二等之类的关系术语仅仅用来将一个实体或者操作与另一个实体或操作区分开来,而不一定要求或者暗示这些实体或操作之间存在任何这种实际的关系或者顺序。而且,术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含,从而使得包括一系列要素的过程、方法、物品或者设备不仅包括那些要

素,而且还包括没有明确列出的其他要素,或者是还包括为这种过程、方法、物品或者设备所固有的要素。在没有更多限制的情况下。由语句“包括一个.....限定的要素,并不排除在包括所述要素的过程、方法、物品或者设备中还存在另外的相同要素”。

[0021] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型,本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。

专利名称(译)	一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡		
公开(公告)号	CN106771271A	公开(公告)日	2017-05-31
申请号	CN201611112561.6	申请日	2016-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
[标]发明人	赵春城 徐静 吴敏芳 胡勇 蒋韦艳 刘金杰		
发明人	赵春城 徐静 吴敏芳 胡勇 蒋韦艳 刘金杰		
IPC分类号	G01N33/94 G01N33/558 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/9446 G01N33/532 G01N33/558		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种禽肉中替米考星检测方法及检测卡，检测卡制作包括如下步骤：S1，替米考星与卵清蛋白偶联物的制备，取20-24mg替米考星、14-16mgN，N'-羧基二咪唑用1.4-1.6ml N,N-二甲基甲酰胺溶解，室温搅拌反应1h，即可得到反应液，取卵清蛋白32-40mg，使卵清蛋白充分溶解在3-4ml 50mol/L碳酸钠溶液中，将反应液逐渐缓慢滴加到卵清蛋白溶液中，在室温中反应24-30h，用0.01mol/L PBS透析3天，每天换液3-4次。该禽肉中替米考星检测方法及检测卡，通过将所需的大部分原料整合到检测卡上，通过检测卡插入进微孔试剂中进行检测，大大缩短了检样时间，且样品无需特殊处理，等待4-6min即可得出结果，检测过程无需特殊仪器辅助，普通人员均可操作，不需要专业培训，极易使用。