



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110987548 A

(43)申请公布日 2020.04.10

(21)申请号 201910962991.4

(22)申请日 2019.10.11

(71)申请人 广州万孚生物技术股份有限公司

地址 510663 广东省广州市萝岗区科学城
荔枝山路8号

(72)发明人 张秋平 洪裕好 王继华

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 林青中

(51)Int.Cl.

G01N 1/28(2006.01)

G01N 1/38(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

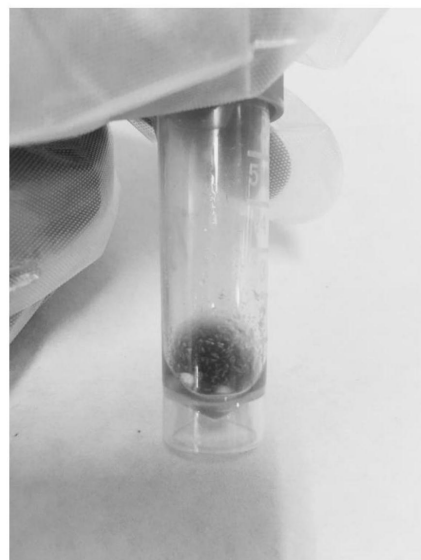
权利要求书2页 说明书13页 附图6页

(54)发明名称

毛发中毒品检测方法、前处理试剂与试剂盒

(57)摘要

本发明提供了一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其中包括含有羟基的化合物,其属于可以断开二硫键的还原剂,将毛发微粒中的二硫键打开,能够使得嵌合在毛发缝隙中的毒品分子暴露出来,从而在不影响毒品分子的结构或性质的前提下,提高毛发中毒品分子释放量,使得检测毛发中毒品的方法对于毒品检出的检测限降低,能够检出毛发中更低含量的毒品分子。



1. 一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述样品前处理试剂中含有还原剂,所述还原剂为含羟基的化合物。

2. 根据权利要求1所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述含羟基的化合物选自抗坏血酸和还原性糖中的至少一种。

3. 根据权利要求2所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述还原性糖为麦芽糖。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述含羟基的化合物在所述样品前处理试剂中所占的质量百分比为0.1%-20%。

5. 根据权利要求1-3任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述样品前处理试剂中还含有分散剂和缓冲液,所述分散剂为阴离子分散剂或非离子型分散剂。

6. 根据权利要求5所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述样品前处理试剂中包括以下组分:

质量百分比为0.1%-10%的还原剂;

质量百分比为0.1%-10%的分散剂;

TRIS缓冲液0.02M-1M。

7. 根据权利要求6所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其特征在于,所述分散剂为羧酸盐类物质。

8. 含羟基的化合物作为还原剂在制备检测毛发中毒品用样品前处理试剂或制备检测毛发中毒品用试剂盒中的应用。

9. 一种检测毛发中毒品用试剂盒,其特征在于,包括如权利要求1-7任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂和撞击物。

10. 根据权利要求9所述的检测毛发中毒品用试剂盒,其特征在于,所述撞击物为撞珠,所述撞珠的粒径的范围为1.8-3.4mm。

11. 根据权利要求10所述的检测毛发中毒品用试剂盒,其特征在于,所述撞珠包括第一撞珠和第二撞珠,所述第一撞珠的粒径的范围为1.8-2.4mm,所述第二撞珠的粒径范围为2.8-3.4mm;和/或

所述第一撞珠和所述第二撞珠的个数比为15:5-1:19。

12. 根据权利要求9-11任一项所述的检测毛发中毒品用试剂盒,其特征在于,所述撞珠为:玻璃珠、瓷珠、锆珠或钢珠。

13. 根据权利要求12所述的检测毛发中毒品用试剂盒,其特征在于,还包括:用于检测毒品的免疫层析试纸条或免疫层析试剂杯或试剂卡。

14. 一种用于检测毛发中毒品的毛发前处理方法,其特征在于,包括以下步骤:将待测毛发样品与如权利要求1-7任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂、及权利要求9-11任一项所述的撞击物振荡混合。

15. 根据权利要求14所述的毛发前处理方法,其特征在于,所述振荡混合为:以2500-3500rpm转速振荡混合100-150s。

16. 一种检测毛发中毒品的方法,其特征在于,包括以下步骤:将待测毛发样品与如权利要求1-7任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂、及权利要求9-11任一项所述

的撞珠振荡混合,得待测液;

通过用于检测毒品的免疫层析试纸条或免疫层析试剂杯或试剂卡或检测卡检测。

毛发中毒品检测方法、前处理试剂与试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于毒品检测领域,具体涉及一种毛发中毒品检测方法与试剂盒。

背景技术

[0002] 当前毒品检测样本主要有尿液,血液,唾液、毛发。检测方法有化学方法、色谱法、光谱法、免疫法等。

[0003] 大多数毒品是通过尿液排泄,通常情况下只需收集被测者的尿液作为检测的标本,尿液作为样本,成本低,操作简单,但具有一定的私密性以及存在造假的可能,且尿液样本只能反映吸毒者近几天的吸毒情况,采集要及时。血液也是常用的毒品检测样本,血液中含有高浓度的毒品及代谢物,是较为理想的材料,但血液也只能反映最近几天甚至几小时内的毒品滥用,且血液中含有传染性病毒,取样存在危险性。唾液也常被用来作为样本进行毒品检验,收集方便,收集设备简单,易净化,但唾液作为样本检测窗口时间也较短,易污染,某些毒品检测灵敏度低。

[0004] 毛发样本可以克服很多液体样本存在的缺点:第一,仅需常温、避光保存数年;第二,可以追溯几个月甚至半年内毒品滥用情况;第三,检测取材简单,难掺假。毛发中的毒品来源主要是通过吸收入血,经过细胞膜扩散进入毛发;其次是经扩散至汗腺或皮脂腺被毛囊吸收收入毛发;当外界有药物(毒品)污染时也会被动吸附于毛发上。毛发生长速度比较慢,例如头发的平均生长率约为每月1.1cm,这构成了毛发检测的理论基础。

[0005] 而针对毛发中样品的金标准方法,目前司法和用工市场认可的常用方法为LC-MS/MS检测法,主要流程是洗涤-吹干-研磨-超声溶解-萃取-上机等步骤。其操作流程极其复杂,需要大型液相色谱质谱联用仪和场地、专业人员,其出结果很慢,不适用于流水化操作。

发明内容

[0006] 基于此,本发明的目的在于提供一种简单、快捷的毛发中毒品提取和检测的方法与试剂盒,以适用于毛发中毒品的快速、流水化检测。

[0007] 为实现上述目的,本发明具体技术方案如下:

[0008] 一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂,所述样品前处理试剂中含有还原剂,所述还原剂为含羟基的化合物。

[0009] 本发明还提供了一种含羟基的化合物的应用,具体为:作为还原剂在制备检测毛发中毒品用样品前处理试剂或制备检测毛发中毒品用试剂盒中的应用。

[0010] 本发明还提供了一种检测毛发中毒品用试剂盒,具体技术方案如下:

[0011] 一种检测毛发中毒品用试剂盒,包括如上所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂和撞击物。

[0012] 本发明还提供了一种用于检测毛发中毒品的毛发前处理方法,具体技术方案如下:

[0013] 一种用于检测毛发中毒品的毛发前处理方法,包括以下步骤:将待测毛发样品与

如上所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂、及如上所述的撞击物振荡混合。

[0014] 本发明还提供了一种检测毛发中毒品的方法,具体技术方案如下:

[0015] 一种检测毛发中毒品的方法,包括以下步骤:将待测毛发样品与如上所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂、及如上所述的撞击物振荡混合,得待测液;

[0016] 通过用于检测毒品的免疫层析试纸条或免疫层析试剂杯或试剂卡检测。

[0017] 基于上述技术方案,本发明具有以下有益效果:

[0018] 本发明所述的一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂,其中包括含有羟基的化合物,其属于可以断开二硫键的还原剂,将毛发微粒中的二硫键打开,能够使得嵌合在毛发缝隙中的毒品分子暴露出来,从而在不影响毒品分子的结构或性质的前提下,提高毛发中毒品分子释放量,使得检测毛发中毒品的方法对于毒品检出的检测限降低,能够检出毛发中更低含量的毒品分子。

[0019] 本发明所述的试剂盒,其中还包括撞珠,合理粒径的撞珠可将坚硬的毛发组织经机械作用裂解成浑浊的粥状液体,且撞珠撞击生热,可配合以还原剂,提供合适的温度,更加有利于进一步粉碎毛发,且将毛发微粒中的二硫键打开,能够使得嵌合在毛发缝隙中的毒品分子暴露出来,提高毛发中毒品分子释放量,进一步使得检测毛发中毒品的方法对于毒品检出的检测限降低。

[0020] 而且,将本发明所述的检测毛发中毒品用前处理试剂用于毛发前处理,得到的待测液采用免疫层析法进行检测,有利于简化传统的大型液相色谱质谱联用仪检测的流程,加快检测速度,且可流水化操作,适用于现场的及时、大批量的筛选。

附图说明

[0021] 图1为玻璃珠作为撞珠对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0022] 图2为锆珠作为撞珠对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0023] 图3为钢珠作为撞珠对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0024] 图4为2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠个数比分别为20:0对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0025] 图5为2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠个数比分别为15:5对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0026] 图6为2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠个数比分别为10:10对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0027] 图7为2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠个数比分别为5:15对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0028] 图8为2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠个数比分别为0:20对毛发进行处理的样品处理结果示意图;

[0029] 图9免疫层析试剂杯的结构示意图;

[0030] 图10免疫层析试剂卡的结构示意图;

[0031] 图11为麦芽糖裂解后阴性参考品的检测结果;

[0032] 图12为麦芽糖裂解后阳性参考品的检测结果;

[0033] 图13为麦芽糖加分散剂CF裂解后阴性参考品的结果;

[0034] 图14为麦芽糖加分散剂CF裂解后阳性参考品的结果。

具体实施方式

[0035] 为了便于理解本发明,下面将参照实施例对本发明进行更全面的描述,以下给出了本发明的较佳实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。应理解,下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。实施例中所用到的各种常用试剂,均为市售产品。

[0036] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。本文所使用的术语“和/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意的和所有的组合。

[0037] 本发明的一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂,所述样品前处理试剂中含有还原剂,所述还原剂为含羟基的化合物。

[0038] 优选地,所述含羟基的化合物在所述样品前处理试剂中所占的质量百分比为0.1%-20%。超过范围显色会偏深,容易导致假阴性的结果。

[0039] 优选地,所述含羟基的化合物选自抗坏血酸或还原性糖中的至少一种。

[0040] 更优选地,所述还原性糖为麦芽糖。

[0041] 优选地,所述样品前处理试剂中还含有分散剂和缓冲液,所述分散剂为阴离子分散剂或非离子型分散剂。

[0042] 更优选地,所述分散剂为羧酸盐类物质。更优选地,所述分散剂为分散剂CF。本发明具体实施例中所使用的产品名称为CH7000,购买自日本竹本油脂株式会社。

[0043] 进一步优选地,所述样品前处理试剂中包括以下组分:

[0044] 质量百分比为0.1%-10%的还原剂;

[0045] 质量百分比为0.1%-10%的分散剂;

[0046] TRIS缓冲液0.02M-1M。

[0047] 本发明的一种检测毛发中毒品用试剂盒,包括如上任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂和撞珠。

[0048] 可选地,所述撞珠的粒径的范围为1.8-3.4mm。

[0049] 可选地,所述撞珠为至少一种粒径大小的撞珠。撞珠可以为一种粒径大小,或两种、三种、四种粒径大小。优选地,当撞珠只有一种粒径大小时,其粒径范围为2.8-3.4mm,优选为3-3.2mm。

[0050] 优选地,所述撞珠包括第一撞珠和第二撞珠,所述第一撞珠的粒径的范围为1.8-2.4mm,所述第二撞珠的粒径范围为2.8-3.4mm。

[0051] 更优选地,所述第一撞珠的粒径的范围为2.0-2.2mm,所述第二撞珠的粒径范围为3.0-3.2mm。

[0052] 优选地,所述第一撞珠和所述第二撞珠的个数比为15:5-1:19。

[0053] 更优选地,所述第一撞珠和所述第二撞珠的个数比为12:8-8:12。进一步优选地,所述第一撞珠和所述第二撞珠的个数比为10:10。

[0054] 优选地,所述撞珠和所述缓冲液的使用浓度比为:每2ml缓冲液中,含有18-22个撞珠。更优选为每2ml缓冲液中,含有20个撞珠。

[0055] 优选地,所述撞珠为:玻璃珠、镉珠或钢珠。更优选地,所述撞珠为镉珠。

[0056] 本发明还提供一种用于检测毛发中毒品的毛发前处理方法,包括以下步骤:将待测毛发样品与如上任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂振荡混合。

[0057] 优选地,所述振荡混合为:以2500-3500rpm转速振荡混合100-150s。

[0058] 本发明还提供了一种检测毛发中毒品用试剂盒,包括如上所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂。

[0059] 优选地,所述试剂盒还包括:用于检测毒品的免疫层析试纸条或免疫层析试剂杯或试剂卡。

[0060] 优选地,所述用于检测毒品的免疫层析试纸条包括依次设置于底板上的样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水纸;所述硝酸纤维素膜上包括检测区和控制区,所述检测区包被有毒品分子偶联BSA,所述控制区包被有羊抗鼠抗体;所述玻璃纤维膜上含有胶体金颗粒标记物,所述胶体金标记物包括胶体金标记鼠IgG抗体和胶体金标记抗毒品分子抗体。

[0061] 在其他一些实施方式中,所述胶体金标记,还可以采用其他免疫层析试纸条常用的标记方法,例如酶标法等。

[0062] 在其中一些实施例中,所述免疫层析试剂杯的结构如图9所示。所述免疫层析试剂卡的类型如图10所示。

[0063] 本发明还提供一种检测毛发中毒品的方法,包括以下步骤:将待测毛发样品与如上任一项所述的检测毛发中毒品用样品前处理试剂振荡混合,得待测液;通过用于检测毒品的免疫层析试纸条或免疫层析试剂杯或试剂卡检测。

[0064] 实施例1毛发中毒品前处理试剂盒中撞珠材质的影响

[0065] 一种检测毛发中毒品前处理试剂盒,含有撞珠和毛发前处理试剂。撞珠材质的不同,对于检测灵敏度的影响,测试步骤如下:

[0066] 分别取多份毛发至毛发处理管中,然后加入3.0-3.2mm粒径和2.0-2.2mm粒径的撞珠,二者添加的个数比为10:10,共20颗。将2ml毛发前处理试剂加入至处理管中,然后用毒品毛发现场检测仪于3200rpm震荡120s。其中,毛发前处理试剂中含有1%还原剂、0.2%分散剂和0.2M缓冲液,所述还原剂为抗坏血酸,分散剂为分散剂CF(聚羧酸衍生物),缓冲液的组分为TRIS缓冲液。

[0067] 采用免疫层析试剂杯或试剂卡进行测试,免疫层析试剂杯或试剂卡上,包括样品垫、含有胶体金颗粒标记物的玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水纸依次相连并设置于底板上,所述硝酸纤维素膜上包括包被有毒品分子安非他命(AMP)偶联BSA的检测区和包被有羊抗鼠抗体的控制区。所述胶体金颗粒标记物包括胶体金标记鼠IgG抗体和抗毒品分子抗体。其中,撞珠分别采用玻璃珠、镉珠和钢珠,结果对比如表1:

[0068] 表1不同材质撞珠对相同毛发样品的检测效果对比

[0069]	处理方式		玻璃珠	镉珠	钢珠
	撞击后		图 1 珠磨损破碎	图 2 完整	图 3 完整，管盖破碎
	性能评估	阳性企业参考品 P1	+1.5 3/3	+1.5 3/3	+1.5 3/3
		阴性企业参考品 N1	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3

[0070] *注:“+5 3/3”表示3次重复中有3次显色结果均为+5;+5表示显色的深度,数字越大显色越深,范围在“+0~+5”之间。

[0071] 不同撞珠对性能测试无影响,在物理性能上有差异,玻璃珠容易破碎,钢珠由于较强的硬度,对管壁的压力承受力要高。现有条件下,优选镉珠。

[0072] 实施例2毛发中毒品检测试剂盒中撞珠的粒径及混合比例的影响

[0073] 一种检测毛发中毒品前处理试剂盒,含有撞珠和毛发前处理试剂。撞珠粒径及混合比例的不同,对于检测灵敏度的影响,测试步骤如下:

[0074] 分别取多份毛发至毛发处理管中,然后加入2.0-2.2mm粒径和3.0-3.2mm粒径的混合撞珠共20颗,两个不同粒径撞珠添加的个数比分别为20:0、15:5、10:10、5:15、0:20。将2ml毛发前处理试剂加入至处理管中,然后用毒品毛发现场检测仪于3200rpm震荡120s。其中,毛发前处理试剂中含有还原剂、分散剂和缓冲液,还原剂为抗坏血酸,分散剂为分散剂CF(聚羧酸衍生物),缓冲液的组分为TRIS缓冲液。

[0075] 采用免疫层析试剂杯或试剂卡进行测试,结果如表2所示。

[0076] 表2不同比例撞珠对相同毛发样品的检测效果对比

[0077]	处理方式		20:0	15:5	10:10	5:15	0:20
	处理后的毛发液体状态		毛发没完全裂解(图4)	毛发裂解,但管壁上肉眼可见的短发(图5)	完全匀质液(图6)	毛发裂解,静止会分层(图7)	毛发裂解,但管壁上肉眼可见的短发(图8)
	性能	阳性参	+3 3/3	+2 3/3	+1 3/3	+1.5 3/3	+1.5 3/3
[0078]	评估	考品					
		阴性参考品	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3

[0079] *注:“+5 3/3”表示检测的重复数,即3次重复测试中有3次显色结果均为+5;+5表示显色的深度,数字越大显色越深,范围在“+0~+5”之间。

[0080] 结果:不同撞珠比例对检测结果有显著影响,其中以两种规格混合的撞珠对性能效果最佳,其次为大颗粒的撞珠,纯比例小撞珠对检测结果效果最差,故优选等比例的撞珠。

[0081] 实施例3毛发中毒品检测试剂盒中毛发前处理试剂组分的影响

[0082] 一种检测毛发中毒品前处理试剂盒,含有撞珠和毛发前处理试剂。毛发前处理试剂的组分不同,对于检测灵敏度的影响,测试步骤如下:

[0083] 分别取多份毛发至毛发处理管中,然后加入3.0-3.2mm粒径和2.0-2.2mm粒径的撞珠,二者添加的个数比为10:10,共20颗。将2ml毛发前处理试剂加入至处理管中,然后用毒品毛发现场检测仪于3200rpm震荡120s。其中,毛发前处理试剂分别采用0.01M的HCl、0.01M

的NaOH、1mg/ml的角蛋白酶、羟基化合物裂解。

[0084] 不同毛发前处理试剂的操作步骤分别为：

[0085] 酸水解：用0.01M的HCL作为毛发前处理试剂2ml加入到毛发样本中，用毒品毛发现场检测仪进行震荡120s，用0.1M NaOH调节pH至7.0，然后免疫层析试纸杯进行测试。

[0086] 碱水解：用0.01M的NaOH作为毛发前处理试剂2ml加入到毛发样本中，用毒品毛发现场检测仪进行震荡120s，用0.1M HCl调节PH至7.0，然后免疫层析试纸杯进行测试。

[0087] 酶水解：用1mg/ml的角蛋白酶作为毛发前处理试剂2ml加入到毛发样本中，用毒品毛发现场检测仪进行震荡120s，用0.1M NaOH调节PH至7.0，然后免疫层析试纸杯进行测试。

[0088] 羟基化合物裂解：用1%抗坏血酸作为毛发前处理试剂2ml加入到毛发样本中，用毒品毛发现场检测仪进行震荡120s，然后免疫层析试纸杯进行测试。

[0089] 结果如表3所示：

[0090] 表3前处理试剂盒中不同毛发前处理试剂对相同毛发样品的检测效果对比

处理方式		① 酸水解	② 碱水解	③ 酶水解	④ 麦芽糖裂解	⑤ 麦芽糖裂解+ 分散剂 CF
处理后的毛发液体 状态		完全匀 质液体	完全匀 质液体	完全匀 质液体	完全匀质 液体	完全匀质液体
性能 评估	阳性参考品	+1 3/3	+1 3/3	+2 3/3	+0 3/3	+0 3/3
	阴性参考品	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3	+5 3/3
物理指标		有毛发 残渣	有毛 发 残渣	有毛 发 残渣	有毛发残 渣	无毛发残渣， 背景亮白

[0092] *注：“+5 3/3”表示检测的重复数，即3次重复测试中有3次显色结果均为+5；+5表示显色的深度，数字越大显色越深，范围在“+0~+5”之间。

[0093] 结果：不同前处理对检测结果有显著影响，酸或碱水解是可行的，但是相同阳性样品中检测到的浓度低于羟基化合物(麦芽糖)裂解的样品，对毛发中毒品的提取效果不如羟基化合物，酶水解效果最差，因为酶反应需要更多的时间。故优选羟基化合物裂解方法。且加入分散剂物质的背景显色更加亮白，结果如图11-14所示，其中图11为麦芽糖裂解后阴性参考品的检测结果，图12为麦芽糖裂解后阳性参考品的检测结果，图13为麦芽糖加分散剂CF裂解后阴性参考品的结果，图14为麦芽糖加分散剂CF裂解后阳性参考品的结果。

[0094] 实施例4空白毛发样本测试

[0095] 1) 分别取多份空白毛发(无吸毒人员的毛发，不含有任何毒品吗啡、冰毒、K粉)至毛发处理管中，然后加入3.0-3.2mm粒径和2.0-2-2mm粒径的撞珠，二者添加的个数比为10:10，共20颗，加2ml纯水作为毛发前处理试剂加入至处理管中，然后用毒品毛发现场检测仪于3200rpm震荡120s。

[0096] 试验设计方案如下表4：

序号	设置方式
----	------

[0098]	1#	水
	2#	水+空白毛发
	3#	水+CUTOFF 标准品
	4#	水+空白毛发+CUTOFF 标准品*
	5#	水+空白毛发+1.2 倍 CUTOFF 标准品

[0099] *注：毒品标准品来源于cerilliant经LC-MS/MS标定过的有证参考物质(CRM)。*CUTOFF标准品指的是检测限浓度的标准品。在本实施例中，针对毒品AMP进行检测，所述标准品是指检测限浓度的标准品AMP。

[0100] 2) 检测：

[0101] 用免疫层析试剂杯或试剂卡进行测试，5min判读结果。其中免疫层析试剂杯或试剂卡上，包括样品垫、含有胶体金颗粒标记物的玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水纸依次相连并设置于底板上，所述硝酸纤维素膜上包括包被有毒品AMP偶联BSA的检测区和包被有羊抗鼠抗体的控制区。所述胶体金颗粒标记物包括胶体金标记鼠IgG抗体和抗毒品AMP的抗体。

[0102] 3) 试验结果如表5所示：

[0103]	序号	设置方式	显色深度
	1#	水	+5
	2#	水+空白毛发	+5
	3#	水+CUTOFF标准品	+0
	4#	水+空白毛发+CUTOFF标准品	+1
	5#	水+空白毛发+1.2倍CUTOFF标准品	+0

[0104] 可知，当样本中加入空白毛发时，阴性样本无影响，但阳性添加样本相比对照显色变深，加大标准品浓度至1.2倍时才显色为+0，说明待测样品液中毛发的存在对检测时的显色有影响。

[0105] 将4#的水+空白毛发+CUTOFF标准品离心后，取上清作为6#，检测效果如下表6：

[0106]	序号	设置方式	显色深度
	4#	水+空白毛发+CUTOFF标准品	+1
	6#	(水+空白毛发+CUTOFF标准品) 上清液	+4

[0107] 由以上结果可见，6#上清显色比溶液4#显色深3个梯度，怀疑是毒品分子粘在毛发上，导致采用免疫层析法检测时，样品垫中层析至与胶体金抗体结合的标准品变少，从而检测显色变深。

[0108] 根据毛发的结构特性、蛋白的特点，在毛发前处理试剂中加入请含羟基类化合物(水+抗坏血酸)，检测结果如下表7：

[0109]	序号	设置方式	显色深度
	4#	水+空白毛发+标准品	+1
	5#	(水+空白毛发+标准品) 上清	+4
	7#	水+抗坏血酸	+5
	8#	水+空白毛发+抗坏血酸	+5

9#	水+空白毛发+抗坏血酸+标准品	+0
----	-----------------	----

[0110] 抗坏血酸对试剂杯本身无影响,对阴性样本检测也无影响。很大的优势在于不影响阴性显色的前提下可以显色更浅,提高产品的灵敏度。

[0111] 实施例5毛发中毒品检测试纸条的制备方法

[0112] 1) 样本垫的制备

[0113] 毛发中毒品检测试纸条的一种样本垫处理液的成分如下表8所示:

[0114] 表8

物质	含量
Tris	10mM
HPMC	0.05%
PAA	1%
兔血清	5%
S9	1%
Na ₂ CO ₃	0.1M
pH	8.4

[0116] 上述原料均为可购买得到的常用试剂。将上述试剂混合后pH调成8.4,按照上表均匀涂布于玻璃纤维素膜(100g/m²),涂布浓度为30ml/cm²。25℃晾干18-22h,待用。

[0117] 2) 金标垫的制备

[0118] 在pH7.0~7.5范围内,按照常规的金颗粒标记方法进行鼠IgG与胶体金颗粒蛋白(最低用量为12μg/ml)标记形成胶体金标记鼠IgG抗体探针。上述金颗粒分别涂布于玻璃纤维素膜(100g/m²),涂布浓度为30ml/cm²。25℃晾干18-22h,湿度10%-30%,待用。

[0119] 3) 硝酸纤维素膜的包被

[0120] 用包被缓冲液(主要成分是三羟甲基氨基甲烷缓冲液、蔗糖)稀释毒品分子抗原-BSA。按膜液量0.18ul/mm,将其细致均匀的喷到硝酸纤维素膜上,置于25℃,湿度10%~30%,烘干处理,18-22h。

[0121] 将样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸依序粘贴于底板上,放入干燥剂,即得本发明所述的试纸条。

[0122] 4) 毛发前处理试剂的制备

[0123] 用纯水将缓冲液和羟基类化合物按照一定比例混合后形成毛发前处理试剂。将毛发前处理试剂与毛发按照1:10(ml:mg)的比例进行混合,放入毒品毛发现场检测仪进行处理。

[0124] 实施例6毛发中毒品检测试纸条的效果检测

[0125] 选择50例健康人做对照,50例不同阳性的样本数例进行临床测试,其中,阴性样本

来源于公司内部未吸食毒品或其他化学药物的健康人群；临床阳性样本来源于国内戒毒所或美国收集的临床样本，经第三方检测机构依据SF/Z JD0107004-2016进行LC-MS/MS毛发定性测定。将处理后的临床样本倒入检测试剂杯中，由于毛细管作用，样品将沿着试纸条向玻璃纤维素膜和硝酸纤维素膜移动，待样品完全通过玻璃纤维素膜以及硝酸纤维素膜，结果开始显示；5分钟后观察显示结果（注：10分钟后显色无效）。临床阴性样本的测试结果如表9所示，临床阳性样本测试的结果如表10所示。

[0126] 表9

样本	样本类型	实施例 检测试剂条 (含麦芽糖)	对比例 检测试剂条 (无麦芽糖)
N1	棕色	+5	+5
N2	棕色	+4	+4
N3	棕色	+5	+5
N4	棕色	+5	+5
N5	棕色	+5	+5
N6	棕色	+4	+4
N7	黄色	+4	+4
N8	黄色	+4	+4
N9	黄色	+4	+4
N10	黄色	+4	+4
N11	黄色	+4	+4
N12	黄色	+5	+5
N13	玫瑰金	+5	+5
N14	黑白发	+5	+5
N15	黑白发	+5	+5
N16	黑白发	+5	+5
N17	银灰	+5	+5
N18	银灰	+5	+5
N19	黑发	+5	+5
N20	黑发	+5	+5
N21	黑发	+5	+5
N22	黑发	+4	+4
N23	黑发	+4	+4
N24	红发	+4	+4
N25	黑发	+4	+4
N26	黑发	+4	+4
N27	黑发	+4	+4
N28	黑发	+4	+4
N29	黑发	+5	+5
N30	黑发	+5	+5
N31	黑发	+5	+5
N32	黑发	+5	+5
N33	黑发	+5	+5

[0127]

[0128]

样本	样本类型	实施例 检测试剂条 (含麦芽糖)	对比例 检测试剂条 (无麦芽糖)
N34	黑发	+4	+4
N35	黑发	+4	+4
N36	黑发	+4	+4
N37	黑发	+4	+4
N38	黑发	+4	+4
N39	黑发	+4	+4
N40	黑发	+4	+4
N41	黑发	+4	+4
N42	黑发	+4	+4
N43	黑发	+4	+4
N44	黑发	+5	+5
N45	黑发	+5	+5
N46	黑发	+5	+5
N47	黑发	+5	+5
N48	黑发	+5	+5
N49	黑发	+5	+5
N50	黑发	+5	+5

[0129] 注:N标示健康人样本编号。

[0130] 从上表中可以看出,毛发前处理试剂中有无羟基类化合物对阴性样本检测结果的显色基本一致。

[0131] 表10

[0132]

样本	样本类型	检测试剂条 (含麦芽糖)	检测试剂条 (无麦芽糖)	LC-MS/MS (ng/mg)	LC-MS/MS S 阈值标准
W18-0 1	MOP	+0	+0	检出	0.5ng/mg
W18-0 2	MOP	+0	+1	检出	
W18-0 3	MOP	+0	+0	检出	
W18-0 4	MOP	+0	+0	检出	
W18-0 5	MOP	+0	+0	检出	
W18-0 6	MOP	+0	+0	检出	

[0133]

W18-0 7	COC	+0	+0	检出	0.5ng/mg
W18-0 8	COC	+0	+1	检出	
W18-0 9	COC	+0	+0	检出	
W18-1 0	COC	+0	+1	检出	
W18-1 1	COC	+0	+0	检出	
W18-1 2	COC	+0	+0	检出	
W18-1 3	COC	+0	+0	检出	
W18-1 4	COC	+0	+0	检出	
W18-1 5	COC	+0	+1	检出	
W18-1 6	COC	+0	+0	检出	
W18-1 7	COC	+0	+0	检出	
W18-1 8	COC	+0	+0	检出	
W18-1 9	COC	+0	+0	检出	
W18-2 0	COC	+0	+0	检出	0.5ng/mg
W18-2 1	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 2	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 3	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 4	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 5	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 6	AMP	+0	+1	检出	
W18-2 7	AMP	+0	+0	检出	
W18-2 8	AMP	+0	+0	检出	

[0134]

W18-2 9	AMP	+0	+0	检出	
W18-3 0	AMP	+0	+0	检出	
W18-3 1	AMP	+0	+0	检出	
W18-3 2	AMP	+0	+0	检出	
W18-3 3	THC	+1	+1	检出	0.05ng/mg
W18-3 4	THC	+0	+1	检出	
W18-3 5	THC	+0	+0	检出	
W18-3 6	THC	+1	+1	检出	
W18-3 7	THC	+0	+1	检出	
W18-3 8	THC	+1	+1	检出	
W18-3 9	THC	+0	+0	检出	
W18-4 0	MET	+0	+0	检出	0.5ng/mg
W18-4 1	MET	+0	+0	检出	
W18-4 2	MET	+0	+0	检出	
W18-4 3	MET	+0	+1	检出	
W18-4 4	MET	+0	+1	检出	
W18-4 5	MET	+0	+0	检出	
W18-4 6	BUP	+0	+0	检出	0.04ng/mg
W18-4 7	BUP	+0	+1	检出	
W18-4 8	BUP	+0	+0	检出	
W18-4 9	PCP	+0	+0	检出	0.3ng/mg
W18-5 0	PCP	+0	+0	检出	

[0135] 由上表可见,其中“+0”表示未显色,即毒品含量高于该试纸条可检测的检测限,“+1”表示显色,毒品含量低于该试纸条可检测的检测限则显色。表格中阳性阈值标准是指采用LC-MS/MS检测时,行业内公认的阳性阈值,即大于该数值即为阳性。结果可知,毛发前处

理试剂中含有羟基类化合物(麦芽糖)的前处理液处理过的毛发,采用试纸条检测时,其能够检测得到更低浓度的毒品,毒品检出率高,而未添加有羟基类化合物的前处理液处理过的毛发,采用试纸条检测时,其无法检测较低浓度的毒品,毒品检出率低,灵敏度低。

[0136] 在以上100个样本中,本发明的试剂盒与金标准LC-MS/MS比较的阳性符合率对比如下表11。

[0137] 无麦芽糖的毛发前处理试剂:

[0138] 表11

本发明试剂盒	LC-MS/MS*		总计
	阳性	阴性	
阳性	37	0	37
阴性	13	50	63
总计	50	50	100
阳性符合率	74%	阴性符合率	100%

[0140] 含麦芽糖的毛发前处理试剂:

[0141] 表12

本发明试剂盒	LC-MS/MS*		总计
	阳性	阴性	
阳性	47	0	47
阴性	3	50	53
总计	50	50	100
阳性符合率	94%	阴性符合率	100%

[0143] 注:阳性包含不同项目的所有样本。

[0144] 可见,本发明试剂盒与金标准LC-MS/MS检测结果符合率高,相比对照阳性符合率提升了20%。毛发金标准定量测定由于各个检测机构偏差大而无法认可,目前国内金标准LC-MS/MS全部采用毛发定性检测。因此,无法得到这3例样本的具体含量值是低于试剂的检测限还是高于其检测限。

[0145] 总体上说明试剂的灵敏度是与金标准符合率较高,满足临床样本测定,其能够实现具有良好灵敏度和准确度的检测,且流程简单,不需要大型液相色谱质谱联用仪和场地、专业人员,其出结果很快,适用于可流水化操作。

[0146] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对以上实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0147] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

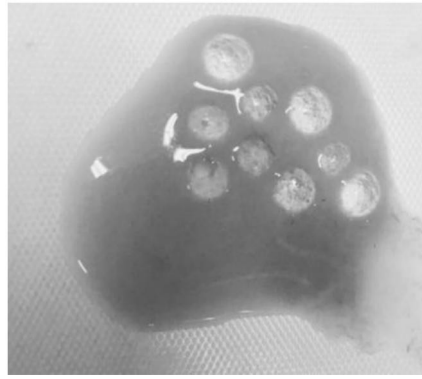


图1



图2

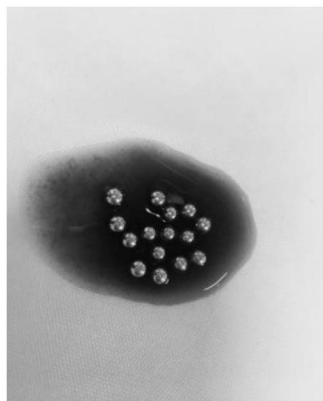


图3

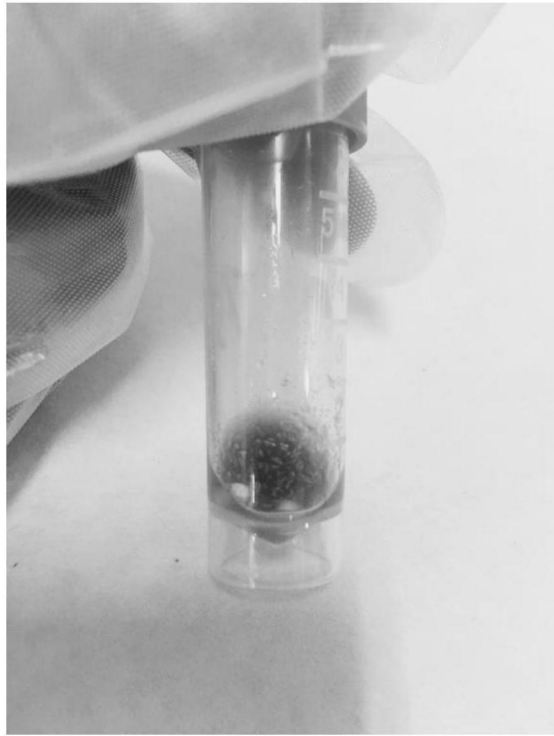


图4

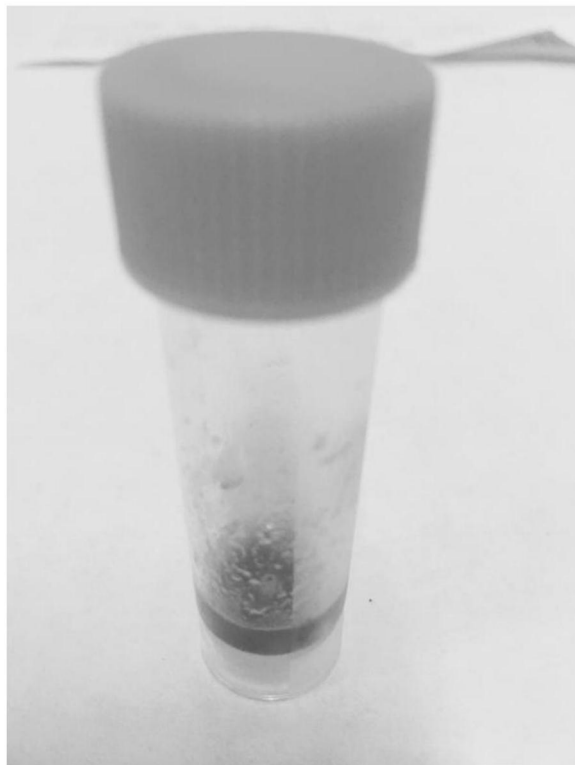


图5



图6

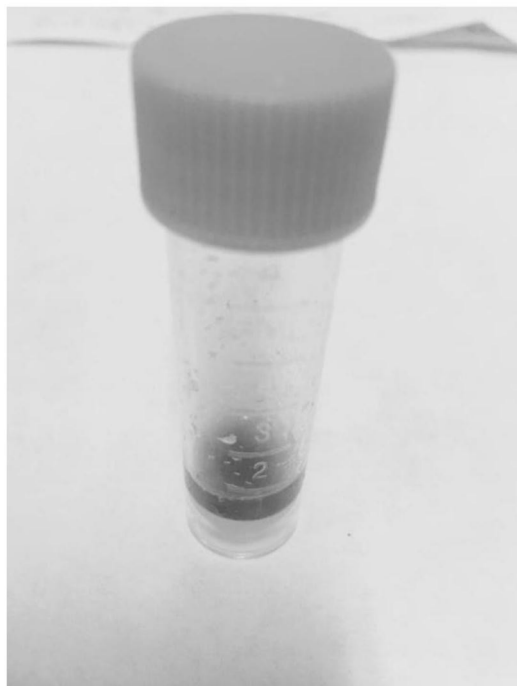


图7



图8

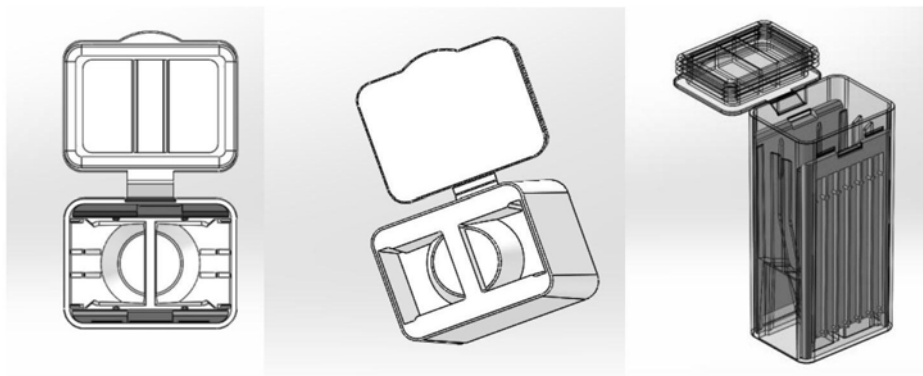


图9

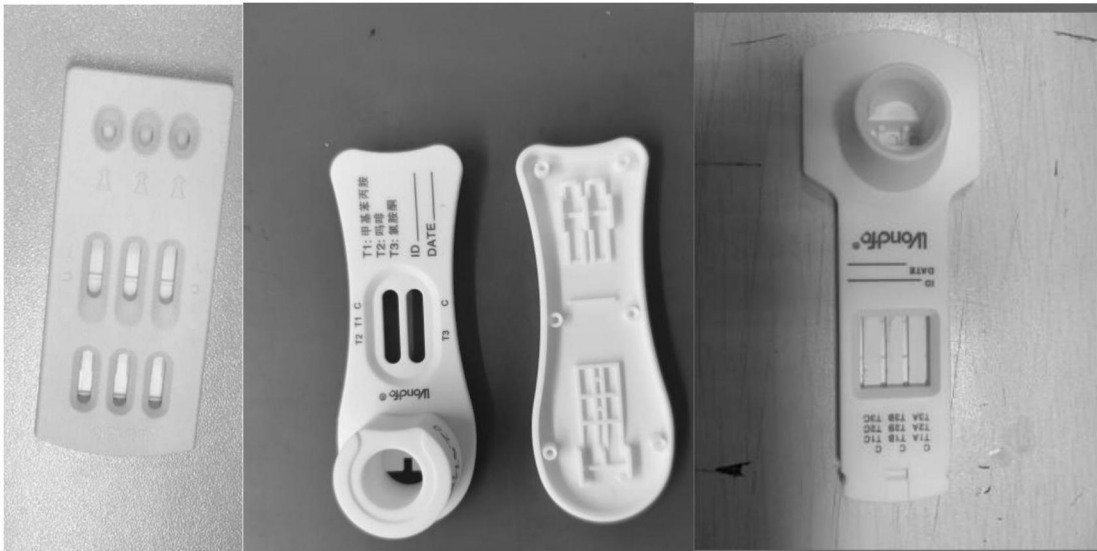


图10

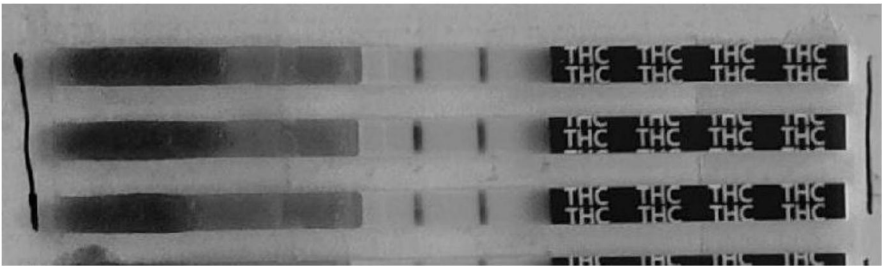


图11

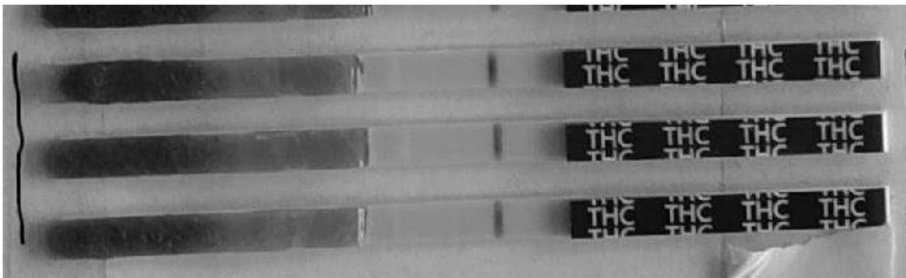


图12

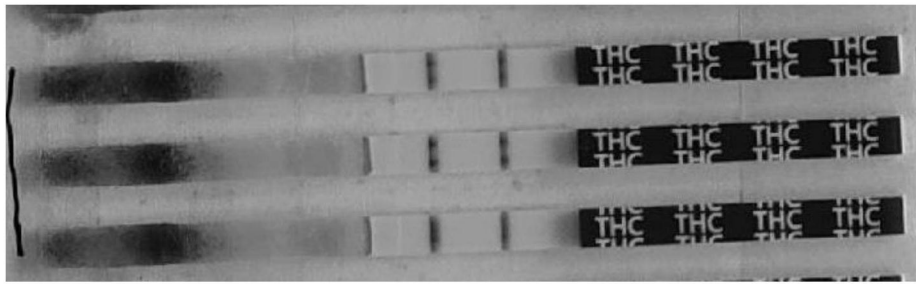


图13

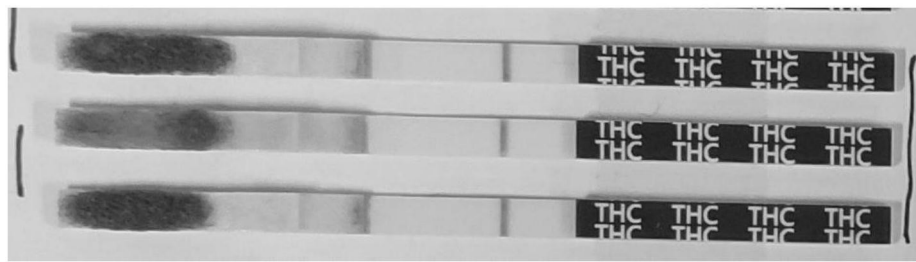


图14

专利名称(译)	毛发中毒品检测方法、前处理试剂与试剂盒		
公开(公告)号	CN110987548A	公开(公告)日	2020-04-10
申请号	CN201910962991.4	申请日	2019-10-11
[标]申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州万孚生物技术股份有限公司		
[标]发明人	张秋平 王继华		
发明人	张秋平 洪裕好 王继华		
IPC分类号	G01N1/28 G01N1/38 G01N33/53		
CPC分类号	G01N1/286 G01N1/38 G01N33/53		
代理人(译)	林青中		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种检测毛发中毒品用样品前处理试剂，其中包括含有羟基的化合物，其属于可以断开二硫键的还原剂，将毛发微粒中的二硫键打开，能够使得嵌合在毛发缝隙中的毒品分子暴露出来，从而在不影响毒品分子的结构或性质的前提下，提高毛发中毒品分子释放量，使得检测毛发中毒品的方法对于毒品检出的检测限降低，能够检出毛发中更低含量的毒品分子。

