

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710063873.7

[51] Int. Cl.

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 33/566 (2006.01)

G01N 33/535 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 8 月 8 日

[11] 公开号 CN 101013131A

[22] 申请日 2007.2.13

[21] 申请号 200710063873.7

[71] 申请人 北京望尔康泰生物技术有限公司

地址 100085 北京市昌平区西三旗龙兴园中
区 10 号楼东侧二层

共同申请人 北京望尔生物技术有限公司

[72] 发明人 沈建忠 冯才伟 何方洋 万宇平
冯才茂 吴小平 赵正苗 汪善良
余厚美 屈晓丽 罗贵昆 刘平
陈炜琳 丁双阳 张素霞 江海洋

[74] 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司
代理人 王朋飞

权利要求书 3 页 说明书 19 页 附图 1 页

[54] 发明名称

呋喃妥因代谢物酶联免疫分析试剂盒及其应用

[57] 摘要

本发明提供了一种检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，它含有：包被有包被原的酶标板，酶标记物，呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，呋喃妥因代谢物标准品溶液或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液，底物显色液，终止液，浓缩洗涤液，浓缩复溶液。本发明还公开了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测呋喃妥因代谢物的方法，它包括步骤：首先进行样品前处理，然后用试剂盒进行检测，最后分析检测结果。本发明提供的是检测动物源性食品如鸡肉、猪肉、鱼虾、牛奶、蜂蜜和鸡蛋等样品中呋喃妥因代谢物残留量的酶联免疫试剂盒及检测方法操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本筛查。

1、一种检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，其特征在于它含有：

- (1) 包被有包被原的酶标板；
- 5 (2) 酶标记物；
- (3) 呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体；
- (4) 呋喃妥因代谢物标准品溶液或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液；
- 10 (5) 底物显色液；
- (6) 终止液；
- (7) 浓缩洗涤液；
- (8) 浓缩复溶液。

2、如权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：酶标板中包被的包被原为呋喃妥因代谢物包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物包被抗原、呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体或抗抗体。

3、如权利要求 2 所述的试剂盒，其特征在于：呋喃妥因代谢物衍生物包被抗原为呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白的偶联物，呋喃妥因代谢物包被抗原为呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白的偶联物；呋喃妥因代谢物衍生物包被抗原是将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白通过混合酸酐法偶联得到；呋喃妥因代谢物包被抗原是将呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白通过混合酸酐法偶联得到的；所述载体蛋白为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清白蛋白、卵清蛋白或血蓝蛋白；所述抗体为单克隆抗体或多克隆抗体，多克隆抗体是用呋喃妥因代谢物或呋喃妥因代谢物衍生物免疫抗原进行免疫得到的，单克隆抗体是采用细胞融合和克隆细胞的方法得到的；所述抗抗体可为羊抗鼠抗抗体或羊抗兔抗抗体；羊抗鼠抗抗体是将鼠源抗体对无病原体羊进行免疫得到的，羊抗

兔抗抗体是将兔源抗体对无病原体山羊进行免疫得到的。

4、如权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：酶标记物为酶标记抗抗体、酶标记呋喃妥因代谢物抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原、酶标记呋喃妥因代谢物特异性抗体或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体；抗抗体为羊抗鼠抗抗体或羊抗兔抗抗体；标记酶为辣根过氧化物酶或细菌提取碱性磷酸酯酶；酶标记抗抗体是采用过碘酸钠法或碳化二亚氨法将抗抗体与标记酶偶联得到；酶标记呋喃妥因代谢物抗原是将呋喃妥因代谢物半抗原与标记酶采用混合酸酐法或过碘酸钠法偶联得到的，酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原是将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与标记酶采用混合酸酐法或过碘酸钠法偶联得到的；酶标记呋喃妥因代谢物特异性抗体是将呋喃妥因代谢物特异性抗体与标记酶通过过碘酸钠法或碳化二亚氨法偶联得到，酶标记呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体是将呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体与标记酶通过过碘酸钠法或碳化二亚氨法偶联得到。

5、如权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体在酶标板上包被抗原且酶标记物为酶标记抗抗体或酶标板上包被抗抗体且酶标记抗原时含有；呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体为工作液、浓缩液或冻干粉的形式。

6、如权利要求 1-5 任一项所述的试剂盒，其特征在于：当标记酶为辣根过氧化物酶时底物显色液 A 液为过氧化氢或过氧化脲、底物显色液 B 液为邻苯二胺或四甲基联苯胺，终止液为 1~2mol/L 的硫酸或盐酸缓冲液；当标记酶为细菌提取碱性磷酸酯酶时底物显色液为对硝基磷酸盐缓冲液、终止液为 2mol/L 的氢氧化钠；浓缩洗涤液为 0.02M，pH 7.4，含有 0.8%~1.2%吐温 20 和 0.05%硫柳汞防腐剂的磷酸盐缓冲液；浓缩复溶液为 0.2M-0.5M 含有 0.1%曲拉通的磷酸盐缓冲液。

7、如权利要求 3 所述的试剂盒，其特征在于：呋喃妥因代谢物免疫抗原是采用混合酸酐法或过碘酸钠法将呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白偶联得到；呋喃妥因代谢物衍生物免疫抗原是采用混合酸

酞法或过碘酸钠法将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白偶联得到。

8、如权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液的浓度分别为 $0\mu\text{g/L}$ ，

5 $0.1\mu\text{g/L}$ ， $0.3\mu\text{g/L}$ ， $0.9\mu\text{g/L}$ ， $2.7\mu\text{g/L}$ ， $8.1\mu\text{g/L}$ 。

9、一种检测动物源性食品中呋喃妥因代谢物残留量的方法，包括步骤：

(1) 样品前处理；

(2) 用权利要求 1-8 任一所述的试剂盒进行检测；

10 (3) 分析检测结果。

10、权利要求 1~8 之任一项所述的试剂盒在检测呋喃妥因代谢物残留中的应用。

呋喃妥因代谢物酶联免疫分析试剂盒及其应用

技术领域

本发明涉及免疫检测领域，具体涉及一种检测动物源性食品中呋喃妥因代谢物残留量的酶联免疫试剂盒及其应用。

背景技术

硝基呋喃类药物因有非常好的抗菌作用和药动力学的特性，曾经被广泛应用，并作为禽类、水产和猪的促生长添加剂。但在长时间的实验研究过程中发现，硝基呋喃类药物和代谢物均可以使实验动物发生癌变和基因突变，因此此类药物禁止在治疗和饲料中使用。呋喃妥因在1995年被禁用。

由于硝基呋喃类药物在体内很快就能被代谢，而在组织中结合的代谢产物则能存留较长的一段时间，所以在分析此类药物的残留时经常要分析其代谢后的产物，管理部门就以检测代谢产物为手段达到检测硝基呋喃类残留的目的。

用来检测呋喃妥因代谢物的最常用方法是LC-UV，LC-MS和LC-MS/MS，由于复杂的仪器设备和繁琐的过程，不适合现场监控和大量样本筛查。

发明内容

本发明的目的在于提供一种结构简单、使用方便、价格便宜、便于携带的用于动物源性食品中呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，并提供一种高效、准确、简便、适于大批量样品筛选的定性、定量检测方法。

本检测试剂盒的主要内容物采用了方便使用的工作液形式，工作液保存性及稳定性好，克服了大多数本领域产品的技术问题；本试剂盒采用的检测方法降低了样本检测下限，提高的检测灵敏度，高于本领域仪器检测方法的样本检测灵敏度。

本发明提供了一种用于检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，它含有：

- (1) 包被有包被原的酶标板；
- (2) 酶标记物；
- 5 (3) 呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体；
- (4) 呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液；
- (5) 底物显色液；
- 10 (6) 终止液；
- (7) 浓缩洗涤液；
- (8) 浓缩复溶液。

上面所述酶标记物为酶标记的抗抗体、酶标记呋喃妥因代谢物抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原、酶标记呋喃妥因代谢物特异性抗体或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体；所述抗抗体为羊抗鼠抗抗体或羊抗兔抗抗体。并且当包被原为呋喃妥因代谢物抗原或呋喃妥因代谢物衍生物抗原时，酶标记物为酶标抗抗体；当包被原为抗抗体时，酶标记物为抗原。

所述酶标记物的标记酶为辣根过氧化物酶或细菌提取碱性磷酸酯酶，其中优选辣根过氧化物酶；酶标记羊抗鼠抗抗体或酶标记羊抗兔抗抗体是采用过碘酸钠法或碳化二亚氨法将标记酶与抗抗体进行偶联得到的，辣根过氧化物酶可采用现有技术中的多种方法将其与抗抗体进行偶联，如碳化二亚氨法，过碘酸钠法等，本发明经过长期的劳动创造将过碘酸钠法进行了改良，使其省时、降低辣根过氧化物酶与抗抗体的浓度比率，节省了原材料。

所述呋喃妥因代谢物特异性抗体可为呋喃妥因代谢物单克隆抗体或呋喃妥因代谢物多克隆抗体，呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体可为呋喃妥因代谢物衍生物单克隆抗体或呋喃妥因代谢物衍生物多克隆抗体；呋喃妥因代谢物多克隆抗体是用呋喃妥因代谢物半抗原与

载体蛋白采用混合酸酐法得到的偶联物作为免疫原进行免疫得到的，
呋喃妥因代谢物衍生物多克隆抗体是用呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法得到的偶联物作为免疫原进行免疫得到的；呋喃妥因代谢物单克隆抗体是用呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法得到的偶联物作为免疫原进行免疫得到的脾细胞，再经过细胞融合和克隆细胞得到单克隆抗体，呋喃妥因代谢物衍生物单克隆抗体是用呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法得到的偶联物作为免疫原进行免疫得到的脾细胞，再经过细胞融合和克隆细胞得到单克隆抗体；所述呋喃妥因代谢物多克隆抗体可为鼠源、马源、羊源、兔源或豚鼠源抗体，呋喃妥因代谢物衍生物多克隆抗体可为鼠源、马源、羊源、兔源或豚鼠源抗体；所述呋喃妥因代谢物单克隆抗体优选为呋喃妥因代谢物鼠单克隆抗体，呋喃妥因代谢物衍生物单克隆抗体优选为呋喃妥因代谢物衍生物鼠单克隆抗体；所述呋喃妥因代谢物多克隆抗体优选为呋喃妥因代谢物兔多克隆抗体，呋喃妥因代谢物衍生物多克隆抗体优选为呋喃妥因代谢物衍生物兔多克隆抗体。

所述载体蛋白可为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白（BCG）、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清白蛋白、卵清蛋白或血蓝蛋白等常用载体蛋白；所述呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白的偶联物可通过混合酸酐法将呋喃妥因代谢物半抗原和载体蛋白进行偶联得到；所述呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白的偶联物可通过将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原和载体蛋白用混合酸酐法进行偶联得到。

为了方便现场监控和大量样本筛查，所述试剂盒还包括呋喃妥因代谢物标准品溶液、显色剂、终止液、浓缩洗涤液、浓缩复溶液。

所述浓缩洗涤液为 0.02M，pH 7.4，含有 0.8% ~ 1.2% 吐温 20 和 0.05% 硫柳汞防腐剂的磷酸盐缓冲液。

所述当标记酶为辣根过氧化物酶时，显色剂由显色液 A 液和显色液 B 液组成，显色液 A 液为过氧化氢或过氧化脲，所述显色液 B 液为邻苯二胺或四甲基联苯胺，终止液为 1 ~ 2mol/L 硫酸；当标记酶为细菌提取碱性磷酸酯酶时，显示液为对硝基苯磷酸酯缓冲液，终止

液为 2mol/L 氢氧化钠溶液。

所述浓缩复溶液为 0.2M-0.5M 含有 0.1% 曲拉通的磷酸盐缓冲液。

其中酶标板在制备过程中所用的包被缓冲液为 pH9.6, 0.05mol/L 的碳酸盐缓冲液; 所用的封闭液含有 5% 小牛血清, 1% 酪蛋白的磷酸盐缓冲液。

本发明中酶标板的制备过程为: 用包被缓冲液将包被原稀释成 0.1~1 μ g/ml, 每孔加入 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C 温育 2h, 再 4 $^{\circ}$ C 过夜, 倾去包被液, 用洗涤液洗涤 2 次, 每次 30 秒, 拍干, 然后在每孔中加入 150-200 μ l 封闭液, 37 $^{\circ}$ C 温育 1-2h, 倾去孔内液体拍干, 干燥后用铝膜真空密封保存。

本发明中抗原的合成过程为:

1. 呋喃妥因代谢物衍生物半抗原的制备

将呋喃妥因代谢物和对羧基苯甲醛在水中反应进行衍生化得到呋喃妥因代谢物衍生物半抗原。

2. 呋喃妥因代谢物衍生物抗原的制备

呋喃妥因是小分子物质, 只有免疫反应性, 没有免疫原性, 不能诱发机体产生免疫应答, 必须与大分子载体蛋白偶联后才具有免疫原性。

将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法进行偶联得到免疫原。

将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法进行偶联得到包被抗原。

3. 呋喃妥因代谢物抗原的制备

呋喃妥因是小分子物质, 只有免疫反应性, 没有免疫原性, 不能诱发机体产生免疫应答, 必须与大分子载体蛋白偶联后才具有免疫原性。

将呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法进行偶联得到免疫原。

将呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白采用混合酸酐法进行偶联

得到包被抗原。

4. 呋喃妥因代谢物或代谢物衍生物鼠单克隆抗体的制备

动物免疫程序：采用 **Balb/c** 小鼠作为免疫动物，以呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白偶联物或呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白偶联物为免疫原，得到较好的多克隆抗体，取出肝脏进行细胞融合。

细胞融合与克隆化：取免疫 **BALB/c** 小鼠脾细胞与 **SP2/0** 骨髓瘤细胞融合，筛选细胞株，直到得到稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

5. 呋喃妥因代谢物或代谢物衍生物兔多克隆抗体的制备

采用新西兰大白兔作为免疫动物，以呋喃妥因代谢物半抗原与载体蛋白偶联或呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与载体蛋白偶联物为免疫原对新西兰大白兔进行免疫，采用短程快速免疫方案，多次免疫后测定血清抗体效价得到多克隆抗体。

本发明抗抗体的制备过程：羊抗鼠抗抗体是以羊作为免疫动物，以鼠源抗体为免疫原对无病菌体羊进行免疫，得到羊抗鼠抗抗体；羊抗兔抗抗体是以羊作为免疫动物，以兔源抗体为免疫原对无病菌体羊进行免疫，得到羊抗兔抗抗体。

本发明所述试剂盒中呋喃妥因代谢物标准品溶液：标准品溶液 6 瓶，0 μ g/L，0.1 μ g/L，0.3 μ g/L，0.9 μ g/L，2.7 μ g/L，8.1 μ g/L，3ml/瓶。

本发明的检测原理为：

当在酶标板微孔条上预包被呋喃妥因代谢物偶联包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物偶联包被抗原时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物特异性抗体溶液，样本中残留的呋喃妥因代谢物或呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物标准品衍生物与酶标板上包被的呋喃妥因代谢物偶联包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物偶联包被抗原竞争呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，加入酶标记抗抗体进行放大作用，用显色液显色，样本吸光值与样本中的呋喃妥因代谢物的含量呈负相关，与标准曲线比较即可得出样本中呋喃妥因代谢物

的残留含量。同时也可根据酶标板上的颜色的深浅，与系列浓度的呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中呋喃妥因代谢物残留量的浓度范围。

当在微孔条上预包被呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入酶标记呋喃妥因代谢物抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原溶液，样本中残留的呋喃妥因代谢物或呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品与酶标记呋喃妥因代谢物抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原竞争包被在酶标板上的呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，用显色液显色，样本吸光值与样本中的呋喃妥因代谢物含量呈负相关，与标准曲线比较即可得出样本中呋喃妥因代谢物的残留含量。同时也可根据酶标板上的颜色的深浅，与系列浓度的呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中呋喃妥因代谢物残留量的浓度范围。

当在微孔条上预包被呋喃妥因代谢物偶联包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物偶联包被抗原时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入酶标记呋喃妥因代谢物特异性抗体或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体溶液，样本中残留的呋喃妥因代谢物或呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品与酶标板上包被的呋喃妥因代谢物包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物包被抗原竞争呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，用显色液显色，样本吸光值与样本中的呋喃妥因代谢物的含量呈负相关，与标准曲线比较即可得出样本中呋喃妥因代谢物的残留含量。同时也可根据酶标板上的颜色的深浅，与系列浓度的呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中呋喃妥因代谢物残留量的浓度范围。

当在微孔条上预包被抗抗体时，加入呋喃妥因抗体孵育后，加入样本溶液或标准品溶液，再加入酶标记呋喃妥因代谢物偶联抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物偶联抗原溶液，样本中残留的呋喃妥因代

谢物或呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品与酶标记呋喃妥因代谢物偶联抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物偶联抗原竞争呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，用显色液显色，样本吸光值与呋喃妥因代谢物的含量呈负相关，与标准曲线比较即可得出样本中呋喃妥因代谢物的残留含量。同时也可根据酶标板上的颜色的深浅，与系列浓度的呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中呋喃妥因代谢物残留量的浓度范围。

本发明还提供了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测呋喃妥因代谢物的方法，它包括步骤：

- (1) 样品前处理；
- (2) 用试剂盒进行检测；
- (3) 分析检测结果。

本发明提供呋喃妥因代谢物动物源性食品如鸡肉、猪肉、鱼虾、牛奶、蜂蜜和鸡蛋等样本中的处理方法。

将组织样品解冻，剪碎，置于组织匀浆机中高速匀浆；牛奶样本离心除去脂肪层；蜂蜜样本加蒸馏水溶解均匀；将鸡蛋样本打碎，用玻璃棒搅匀防止泡沫的产生。

本发明中用试剂盒检测是：当包被原为呋喃妥因代谢物偶联包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物偶联包被抗原时，向酶标板微孔中加入标准品溶液或样本溶液再加入抗体，温育后洗涤拍干，再加入酶标抗体，温育后洗涤拍干，显色、终止，用酶标仪测定吸光度值；当包被原为呋喃妥因代谢物偶联包被抗原或呋喃妥因代谢物衍生物偶联包被抗原时，向酶标板微孔中加入标准品溶液或样本溶液再加入酶标记抗体，温育后洗涤拍干，显色、终止，用酶标仪测定吸光度值。

当包被原为呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体时，向酶标板微孔中加入标准品溶液或样本溶液再加入酶标记呋喃妥因代谢物抗原或酶标记呋喃妥因代谢物衍生物抗原，温育后洗涤拍干，显色、终止，用酶标仪测定吸光度值；当包被原为抗

抗体时,向酶标板微孔中加入呋喃妥因代谢物抗体或呋喃妥因代谢物衍生物抗体,温育后洗涤拍干,再加入标准品溶液或样品溶液后加入酶标呋喃妥因代谢物抗原或酶标呋喃妥因代谢物衍生物抗原,温育后洗涤拍干,显色、终止,用酶标仪测定吸光度值。

- 5 本发明中检测结果分析过程为:用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值(B)除以第一个标准溶液(0标准)的吸光度值(B_0)再乘以100%,即百分吸光度值。计算公式为:

$$\text{百分吸光度值 (\%)} = (B/B_0) \times 100 \%$$

- 10 以呋喃妥因代谢物标准品或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液的浓度($\mu\text{g/L}$)的半对数值为X轴,百分吸光度值为Y轴,绘制标准曲线图。用同样的办法计算样品溶液的百分吸光度值,相对应每一个样品的浓度则可从标准曲线上读出样本中呋喃妥因代谢物的残留量。

- 15 本发明中检测结果的分析也可以采用回归方程法,计算出样品溶液浓度。

本发明中检测结果的分析还可以利用计算机专业软件,此法更便于大量样品的快速分析,整个检测过程只需1.5小时可以完成,最低检测限为 $0.1\mu\text{g/L}$ 。

- 20 本发明检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒主要采用间接竞争ELISA方法定性或定量检测样品中呋喃妥因代谢物的残留量;对样品的前处理要求低,样品前处理过程简单,能同时快速检测大批样品;采用高特异性的呋喃妥因代谢物单克隆抗体或呋喃妥因代谢物衍生物单克隆抗体,主要试剂以工作液的形式提供,检验方法方便易行,具有特异性高、灵敏度高、精确度高、准确度高等特点。

- 25 本检测试剂盒的主要内容物采用了方便使用的工作液形式,工作液保存性及稳定性好,克服了大多数本领域产品的技术问题;本试剂盒采用的检测方法降低了样本检测下限。提高的检测灵敏度,高于本领域仪器检测方法的样本检测灵敏度。

附图说明

图1: 呋喃妥因代谢物的检测标准曲线图。

具体实施方式

下面实施例用于对本发明的进一步说明,但不用来限制本发明的范围。

5 实施例1 试剂盒组分的制备

1. 抗原的合成

a. 呋喃妥因代谢物衍生物半抗原的合成

将呋喃妥因代谢物和对羧基苯甲醛在水中反应进行衍生化得到呋喃妥因代谢物衍生物半抗原。

10 呋喃妥因代谢物衍生物半抗原的制备过程:

取呋喃妥因代谢物1000 mg溶于12ml纯水中。将1000mg对羧基苯甲醛溶解于26ml水中,加入到呋喃妥因代谢物溶液中室温反应48小时,得到淡黄色沉淀即为呋喃妥因代谢物衍生物半抗原。用50ml水反复清洗5~6次,经烘干得到呋喃妥因代谢物衍生物半抗原。

15 b. 免疫原合成

将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与血蓝蛋白采用混合酸酐法进行偶联得到免疫原。

免疫原的制备过程: 取呋喃妥因代谢物衍生物半抗原 200mg 溶于 10ml 水中, 加入 1.5ml 氯甲酸异丁酯 4℃反应 12 小时, 取血蓝蛋白 500mg 溶于 20ml 纯水中, 加入到活化的呋喃妥因代谢物衍生物半抗原中 4℃反应过夜 (16 小时), 再用纯水透析 5 天, 浓缩得到呋喃妥因代谢物衍生物免疫原, 分装冻存。

c. 包被原呋喃妥因代谢物衍生物偶联抗原的制备

将呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与甲状腺蛋白采用混合酸酐法进行偶联得到包被原。

包被原的制备过程: 取呋喃妥因代谢物衍生物半抗原 200mg 溶于 10ml 水中, 加入 1.5ml 氯甲酸异丁酯 4℃反应 12 小时, 取甲状腺蛋白 500mg 溶于 20ml 纯水中, 加入到活化的呋喃妥因代谢物衍生物半抗原中 4℃反应过夜 (16 小时), 再用纯水透析 5 天, 浓缩得到呋喃妥因代谢物衍生物包被原, 分装冻存。

2. 单克隆抗体的制备

a. 动物免疫

将免疫原注入到 Balb/c 小鼠体内，免疫剂量为 100 μ g/只，使其产生多克隆抗体。

5 b. 细胞融合和克隆化

取免疫 Balb/c 小鼠脾细胞，按 5 : 1 比例与 SP2/0 骨髓瘤细胞融合，得到单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

c. 细胞冻存和复苏

10 将杂交瘤细胞用冻存液制成 1×10^6 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 $^{\circ}$ C 水浴中速融，离心去除冻存液后，移入培养瓶内培养。

d. 单克隆抗体的制备与纯化

15 将 Balb/c 小鼠腹腔注入灭菌石蜡油 0.4ml/只，7 天后腹腔注射杂交瘤细胞 5×10^5 个/只，7 天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行腹水纯化，-20 $^{\circ}$ C 保存。

3. 多克隆抗体的制备

20 采用新西兰大白兔作为免疫动物，以呋喃妥因代谢物衍生物半抗原与卵清蛋白偶联物为免疫原，免疫剂量为 1.5mg/kg，首免时将免疫原与等量的弗氏完全佐混合制成乳化剂，颈背部皮下多点注射，间隔 3~4 周取相同剂量免疫原加等量弗氏不完全佐剂混合乳化，加强免疫一次，共免疫 5 次，最后一次不加佐剂。最后一次免疫 10 天后采血，测定血清抗体效价，心脏采血，用硫酸铵分级沉淀得到纯化的多克隆抗体。

25 4. 羊抗鼠抗抗体的制备过程：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；羊抗兔抗抗体的制备：以羊作为免疫动物，以兔源抗体为免疫原对无病原体羊进行免疫，得到羊抗兔抗抗体。

5. 酶标板的制备

30 用包被缓冲液将呋喃妥因代谢物偶联包被抗原、抗体或抗抗体稀释成 0.1-1 μ g/ml，每孔加入 100 μ l，37 $^{\circ}$ C 温育 2h 或 4 $^{\circ}$ C 过夜，倾去包被

液，用稀释20倍的浓缩洗涤液洗涤2次，每次30秒，拍干，然后在每孔中加入200 μ l封闭液，37℃温育2h，倾去孔内液体，干燥后用铝膜真空密封保存。

6. 酶标记羊抗鼠抗抗体的置备

- 5 将抗抗体与辣根过氧化物酶（HRP）采用改良后的过碘酸钠法进行偶联。传统的过碘酸钠法要求反应体系中酶与抗抗体的摩尔浓度比为4: 1；由于辣根过氧化物酶在强氧化的作用下产生许多与抗抗体结合的位点，这样活化的辣根过氧化物酶分子充当了连接各分子的桥梁，降低了酶标记物的酶活性，使制备的偶联物中混有许多聚合体，
10 为了解决这个问题，我们将传统的方法进行了改良，即：

1) 省去了氨基的封闭过程，因为能产生自身氨基连接的氨基实际很少。

2) 降低了辣根过氧化物酶：抗抗体的摩尔浓度比率至2: 1，改良后的方法比传统的方法简便，对酶的活性的损失减少。

15 实施例2 检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒的组建

组建检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，使其包含下述组分：

- (1) 包被抗呋喃妥因代谢物偶联抗原的酶标板；
(2) 用辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗抗体；
20 (3) 呋喃妥因代谢物单克隆抗体工作液；
(4) 呋喃妥因标准品溶液6瓶，浓度分别为0 μ g/L、0.1 μ g/L、0.3 μ g/L、0.9 μ g/L、2.7 μ g/L、8.1 μ g/L；
(5) 底物显色液由A液和B液组成，底物显色液A液为过氧化脲，底物显色液B液为四甲基联苯胺；
25 (6) 终止液为2mol/L盐酸；
(7) 浓缩洗涤液为0.02M，pH 7.4，含有1.1%吐温20和0.05%硫柳汞防腐剂的磷酸盐缓冲液；
(8) 浓缩复溶液为0.3M 含有0.1%曲拉通的磷酸盐缓冲液。

实施例3 样品中呋喃妥因代谢物残留的检测

30 1. 样品前处理

动物组织（鸡肉、猪肉、鱼虾）

取 $1 \pm 0.05\text{g}$ 的组织样本的均质物，加入 4ml 的蒸馏水，0.5ml 1M HCl 和 100 μl 10mM 的 2-硝基苯甲醛，充分振荡；在 37℃ 过夜孵育（大约 16h）；加入 5ml 0.1M K_2HPO_4 ，0.4ml 1M NaOH 和 5ml 乙酸乙酯，
5 剧烈振荡 30s；在室温下（20-25℃/68-77°F）3000g 以上离心 10min；取出 2.5ml 乙酸乙酯到另一个容器中 50℃ 下氮气吹干或旋转蒸发仪蒸干；用 1ml 正己烷溶解干燥物，用 1ml 已稀释好的复溶液充分混合；在室温下（20-25℃/68-77°F）3000g 以上离心 10min；用 50 μl 下层液体用于分析。

10 2. 用试剂盒检测

向包被有抗呋喃妥因代谢物偶联抗原的酶标板微孔中加入系列标准品溶液或样品溶液 50 μl ，再加入呋喃妥因代谢物单克隆抗体工作液 50 μl ，37℃ 反应 30min。倒出孔中液体，每孔加入稀释后的洗涤液，30s 后倒出孔中液体，如此重复操作共洗板 5 次，用吸水纸拍干。加入
15 100 μl 酶标记抗抗体到每个微孔中，盖板膜盖板后置 37℃ 环境中反应 30min。取出酶标板，将孔内液体甩干，加入稀释后的洗涤液 250 μl 到每个板孔中，洗板 4-5 次，每次间隔 10 秒，用吸水纸拍干。每孔加入底物显色液 A 液过氧化脲 50 μl ，底物显色液 B 液四甲基联苯胺（TMB）50 μl ，轻轻振荡混匀，37℃ 恒温箱避光显色 15~30min。每
20 孔加入终止液 50 μl ，轻轻振荡混匀，用酶标仪波长设定在 450nm 处，测定每孔吸光度值（OD 值）。

3. 检测结果分析

用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值（B）除以第一个标准品溶液（0标准）的吸光度值（ B_0 ）再乘以100%，得到百分
25 吸光度值。以呋喃妥因代谢物标准品浓度（ $\mu\text{g/L}$ ）的半对数值为X轴，百分吸光度值为Y轴，绘制标准曲线图。用同样的办法计算样品溶液的百分吸光度值，相对应每一个样品的浓度，则可从标准曲线上读出呋喃妥因代谢物的残留量。

实施例4 样品中呋喃妥因代谢物残留的检测

30 1. 样品前处理（牛奶）

取出5ml的牛奶样本到玻璃离心管中；分别加入0.36M亚硝基铁氰化钠缓冲液和1M 硫酸锌缓冲液各150 μ l；用振荡器充分混合样本后，用恒温离心机3000g以上离心10min，4-12 $^{\circ}$ C（39-54 $^{\circ}$ F）。取牛奶的离心上清液1.1ml，加入5ml的蒸馏水，1ml 1M HCl和100 μ l 10mM的2-硝基苯甲醛，充分振荡；在37 $^{\circ}$ C过夜孵育（大约16h）；加入5ml 0.1M K_2HPO_4 ，0.4ml 1M NaOH和5ml乙酸乙酯，剧烈振荡30s；在室温下（20-25 $^{\circ}$ C/68-77 $^{\circ}$ F）3000g以上离心10min；取出2.5ml乙酸乙酯到另一个容器中50 $^{\circ}$ C下氮气吹干；用1ml正己烷溶解干燥物，用1ml已稀释好的复溶液充分混合；在室温下（20-25 $^{\circ}$ C/68-77 $^{\circ}$ F）3000g以上离心10min；用50 μ l下层液体用于分析。

2. 用试剂盒检测

向包被有抗呋喃妥因代谢物偶联抗原的酶标板微孔中加入系列标准品溶液或样品溶液50 μ l，再加入呋喃妥因代谢物单克隆抗体工作液50 μ l，37 $^{\circ}$ C反应30min。倒出孔中液体，每孔加入稀释后的洗涤液，30s后倒出孔中液体，如此重复操作共洗板5次，用吸水纸拍干。加入100 μ l酶标抗体到每个微孔中，盖板膜盖板后置37 $^{\circ}$ C环境中反应30min。取出酶标板，将孔内液体甩干，加入稀释后的洗涤液250 μ l到每个板孔中，洗板4-5次，每次间隔10秒，用吸水纸拍干。每孔加入底物显色液A液过氧化脲50 μ l，底物显色液B液四甲基联苯胺（TMB）50 μ l，轻轻振荡混匀，37 $^{\circ}$ C恒温箱避光显色15~30min。每孔加入终止液50 μ l，轻轻振荡混匀，用酶标仪波长设定在450nm处，测定每孔吸光度值（OD值）。

3. 检测结果分析

用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值（B）除以第一个标准品溶液（0标准）的吸光度值（ B_0 ）再乘以100%，得到百分吸光度值。以呋喃妥因代谢物标准品浓度（ μ g/L）的半对数值为X轴，百分吸光度值为Y轴，绘制标准曲线图。用同样的办法计算样品溶液的百分吸光度值，相对应每一个样品的浓度，则可从标准曲线上读出呋喃妥因代谢物的残留量。

30 实施例5 样品中呋喃妥因代谢物残留的检测

1. 样品前处理（蜂蜜）

取1g蜂蜜样本到离心管中；加入5ml的蒸馏水振荡溶解，1ml 1M HCl和100 μ l 10mM的2-硝基苯甲醛，充分振荡；在37℃过夜孵育（大约16h）；分别加入5ml 0.1M K_2HPO_4 ，0.6ml 1M NaOH和5ml 乙酸乙酯，
5 剧烈振荡30s；在室温下（20-25℃/68-77°F）3000g以上离心10min；取出2ml 乙酸乙酯到另一个容器中50℃下氮气吹干或旋转蒸发仪蒸干；用1ml正己烷溶解干燥物，用0.5ml已稀释好的复溶液充分混合；在室温下（20-25℃/68-77°F）3000g以上离心10min；用50 μ l下层液体用于分析。

10 2. 用试剂盒检测

向包被有抗呋喃妥因代谢物偶联抗原的酶标板微孔中加入系列标准品溶液或样品溶液50 μ l，呋喃妥因代谢物单克隆抗体工作液50 μ l，37℃反应30min。倒出孔中液体，每孔加入稀释后的洗涤液，30s后倒出孔中液体，如此重复操作共洗板5次，用吸水纸拍干。加入
15 100 μ l酶标记抗抗体到每个微孔中，盖板膜盖板后置37℃环境中反应30min。取出酶标板，将孔内液体甩干，加入稀释后的洗涤液250 μ l到每个板孔中，洗板4-5次，每次间隔10秒，用吸水纸拍干。每孔加入底物显色液A液过氧化脲50 μ l，底物显色液B液四甲基联苯胺（TMB）50 μ l，轻轻振荡混匀，37℃恒温箱避光显色15~30min。每
20 孔加入终止液50 μ l，轻轻振荡混匀，用酶标仪波长设定在450nm处，测定每孔吸光度值（OD值）。

3. 检测结果分析

用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值（B）除以第一个标准品溶液（0标准）的吸光度值（ B_0 ）再乘以100%，得到百分吸光度值。以呋喃妥因代谢物标准品浓度（ μ g/L）的半对数值为X轴，百分吸光度值为Y轴，绘制标准曲线图。用同样的办法计算样品溶液的百分吸光度值，相对应每一个样品的浓度，则可从标准曲线上读出呋喃妥因代谢物的残留量。

实施例6 样品中呋喃妥因代谢物残留的检测

30 1. 样品前处理（鸡蛋）

称取制备好的鸡蛋样本2g，加入到50ml离心管中，分别加入6ml水，1ml 1M HCl，200 μ l 0.36M亚硝基铁氰化钠缓冲液，振荡混匀；加入200 μ l 1M 硫酸锌缓，充分振荡5min，室温（20~25℃）3000g以上离心10min；取全部上清液，加入200 μ l 10mM的2-硝基苯甲醛，充分振荡，50℃水浴2h（中间每半个小时剧烈振荡1-2分钟）；分别加入5ml 0.1M K₂HPO₄，0.5ml 1M NaOH 4ml乙酸乙酯，剧烈振荡30s，室温（20~25℃）3000g以上离心10min；取2.5ml上层有机相于50℃下氮气吹干；1ml正己烷溶解干燥物，加入2ml稀释后的复溶液，振荡10s，3000g以上离心10min；除去上层有机相；取下层水相50 μ l用于分析。

2. 用试剂盒检测

向包被有抗呋喃妥因代谢物偶联抗原的酶标板微孔中加入系列标准品溶液或样品溶液50 μ l，呋喃妥因代谢物单克隆抗体工作液50 μ l，37℃反应30min。倒出孔中液体，每孔加入稀释后的洗涤液，30s后倒出孔中液体，如此重复操作共洗板5次，用吸水纸拍干。加入100 μ l酶标记抗抗体到每个微孔中，盖板膜盖板后置37℃环境中反应30min。取出酶标板，将孔内液体甩干，加入稀释后的洗涤液250 μ l到每个板孔中，洗板4-5次，每次间隔10秒，用吸水纸拍干。每孔加入底物显色液A液过氧化脲50 μ l，底物显色液B液四甲基联苯胺（TMB）50 μ l，轻轻振荡混匀，37℃恒温箱避光显色15~30min。每孔加入终止液50 μ l，轻轻振荡混匀，用酶标仪波长设定在450nm处，测定每孔吸光度值（OD值）。

3. 检测结果分析

用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值（B）除以第一个标准品溶液（0标准）的吸光度值（B₀）再乘以100%，得到百分吸光度值。以呋喃妥因代谢物标准品浓度（ μ g/L）的半对数值为X轴，百分吸光度值为Y轴，绘制标准曲线图。用同样的办法计算样品溶液的百分吸光度值，相对应每一个样品的浓度，则可从标准曲线上读出呋喃妥因代谢物的残留量。

实验例1

标准品精密度试验：

分别从三个不同的时间段制备的酶标板中各抽出一批酶标板, 每批各抽取10个试剂盒, 每板各抽出20个微孔, 测定0.9 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液的吸光度值, 计算变异系数。

表1 标准可重复性试验 (CV%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
01 批	15.3	13.2	16.7	17.1	10.6	8.6	9.3	15.4	16.9	13.9
CV% 03 批	12.8	11.3	15.2	10.6	10.9	15.4	8.3	8.7	14.5	19.4
09 批	10.3	12.5	14.9	10.3	6.8	7.5	12.9	16.5	18.3	12.7

- 5 通过上述试验结果可以得出, 每批试剂盒各10次标准品变异系数在6.8%-19.4%之间, 符合精密度小于或等于25%的规定。

实验例2

样本精密度和准确度试验

a. 样品精密度试验:

- 10 以1.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度的呋喃妥因代谢物对动物组织、牛奶、蜂蜜和鸡蛋, 添加到样品中, 分别取三个不同批次的试剂盒各五个, 每个浓度重复5次, 分别计算变异系数, 结果见表2~5。

表2 动物组织样品可重复性试验

批号	实测值 ($\mu\text{g/kg}$)					变异系数 CV%
	0.7	0.5	0.6	0.8	0.8	19.2
0601003	0.9	0.8	0.7	1.0	0.8	13.6
	0.7	0.8	0.7	0.6	0.8	11.6
	1.0	0.8	0.9	0.8	0.7	13.6
0603007	0.6	0.8	0.7	0.8	0.8	12.1
	0.9	0.7	0.7	0.6	0.8	15.4
	0.8	0.8	0.7	0.6	0.7	11.6
0605011	0.9	0.6	1.0	0.8	0.7	19.8
	0.8	0.6	0.7	0.5	0.8	19.2

表3 牛奶样品可重复性试验

批号	实测值 ($\mu\text{g/kg}$)					变异系数 CV%
----	--------------------------	--	--	--	--	----------

	0.8	0.6	0.6	0.7	0.9	18.1
0601003	0.7	0.7	0.6	0.9	0.8	15.4
	1.0	0.7	0.8	0.6	0.8	19
	0.8	0.6	0.7	0.8	0.9	15
0603007	0.9	0.9	1.0	0.7	0.8	13.3
	0.8	0.7	0.8	0.8	0.9	8.84
	0.8	0.6	0.7	0.8	1.0	19
0605011	0.6	0.9	0.7	0.6	0.8	18.1
	0.9	0.7	0.8	0.7	0.7	11.8

表4 蜂蜜样品可重复性试验

批号	实测值 (μg/kg)					变异系数 CV%
	0.6	0.8	0.7	0.7	0.9	15.4
0601003	0.7	0.5	0.8	0.6	0.6	17.8
	0.9	0.8	0.7	0.6	0.8	15
	1.1	0.9	0.9	1.0	0.8	12.1
0603007	0.8	0.9	0.9	0.7	0.8	10.2
	0.7	0.7	0.6	0.7	0.8	10.1
	0.9	0.8	0.6	0.7	1.0	19.8
0605011	0.8	0.8	0.6	0.7	0.9	15
	0.8	0.9	0.7	0.9	0.7	12.5

表5 鸡蛋样品可重复性试验

批号	实测值 (μg/kg)					变异系数 CV%
	0.8	0.6	0.9	0.7	0.7	15.4
0601003	0.6	0.9	0.8	0.7	0.8	15
	1.0	0.9	1.0	0.8	0.7	14.8
	0.6	0.8	0.7	0.9	0.9	16.7
0603007	1.0	0.8	0.8	0.9	1.1	14.2
	0.7	0.7	0.8	0.9	0.7	11.8
0605011	0.8	0.8	0.9	0.6	0.7	15
	0.8	0.7	0.9	0.8	0.9	10.2

1.0 0.9 1.1 0.8 0.7 17.6

结果表明，动物组织、牛奶、蜂蜜和鸡蛋样本变异系数均低于25%。

b.样本准确度试验

取两个浓度的呋喃妥因代谢物标准品溶液分别为0.5μg/kg (L) 和1.0μg/kg (L)，分别对样品进行添加回收试验，每个浓度做4个平行，具体方法如实施例1中样品前处理步骤，分别计算准确度。

表6 试剂盒的准确度

样本		肌肉		鱼虾		牛奶		蜂蜜		鸡蛋	
添加浓度 (μg/kg)		0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
准确度%	1	75.3	86.4	82.1	95.1	79.8	84.5	88.2	96.7	72.9	84.6
	2	80.4	86.2	79.4	78.9	88.3	84.9	89.2	90.7	81.0	78.4
	3	72.3	62.5	94.2	85.3	79.8	75.5	94.2	86.7	84.0	78.1
	4	95.1	78.6	72.3	89.4	87.6	92.0	82.8	83.7	75.6	89.1
平均值%		80.8	78.4	82	87.2	83.9	84.2	88.6	89	78.4	82.6

结果表明肌肉、鱼虾、牛奶、蜂蜜和鸡蛋样品添加准确度在62.5%-96.7%之间

10 实验例3

交叉反应率试验：

选择与呋喃妥因代谢物有类似结构和类似功能的3种药物测定交叉反应率。通各种药物的标准曲线分别得到其50%抑制浓度。用下式计算试剂盒对其它药物的交叉反应率。交叉反应越大，那么此试剂盒对呋喃妥因代谢物的检测的特异性就越好。

交叉反应率(%) = (引起50%抑制呋喃妥因代谢物的浓度/引起50%抑制的类似物浓度) × 100%

表7 试剂盒的特异性

药物名称	交叉反应率(%)
呋喃妥因代谢物	100

呋喃唑酮代谢物	<0.01
呋喃它酮代谢物	<0.01
硝基糠脘（呋喃西林）代谢物	<0.01

实验例4

- 试剂盒保存条件为 2-8℃，经过 6 个月的测定，试剂盒的最大吸光度值（零标准）、50%抑制浓度、呋喃妥因代谢物添加实际测定值均在正常范围之内。考虑在运输和使用过程中，会有非正常保存条件出现，将试剂盒在 37℃保存的条件下放置 6 天，进行加速老化实验，结果表明该试剂盒各项指标完全符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况发生，将试剂盒放入-20℃冰箱冷冻 5 天，测定结果也表明试剂盒各项指标完全正常。从以上结果可得出试剂盒可以在 2-8℃至少可以保存 6 个月以上。

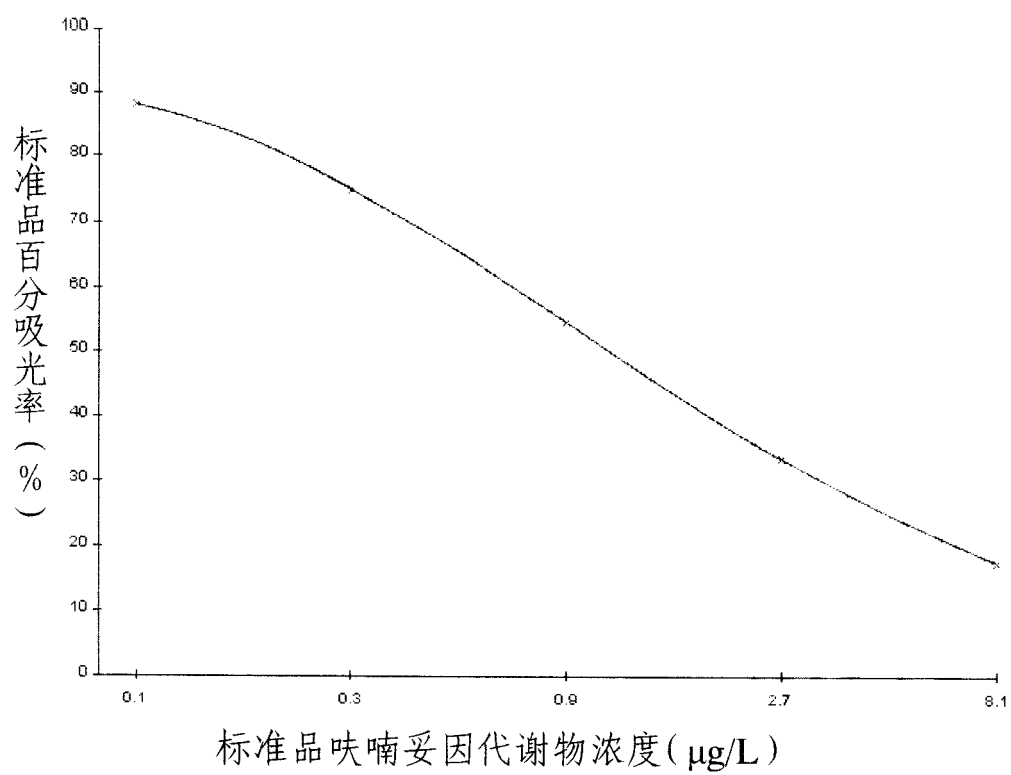


图 1

专利名称(译)	呋喃妥因代谢物酶联免疫分析试剂盒及其应用		
公开(公告)号	CN101013131A	公开(公告)日	2007-08-08
申请号	CN200710063873.7	申请日	2007-02-13
[标]申请(专利权)人(译)	北京望尔康泰生物技术有限公司 北京望尔生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京望尔康泰生物技术有限公司 北京望尔生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京望尔康泰生物技术有限公司 北京望尔生物技术有限公司		
[标]发明人	沈建忠 冯才伟 何方洋 万宇平 冯才茂 吴小平 赵正苗 汪善良 余厚美 屈晓丽 罗贵昆 刘平 陈炜琳 丁双阳 张素霞 江海洋		
发明人	沈建忠 冯才伟 何方洋 万宇平 冯才茂 吴小平 赵正苗 汪善良 余厚美 屈晓丽 罗贵昆 刘平 陈炜琳 丁双阳 张素霞 江海洋		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/577 G01N33/566 G01N33/535		
代理人(译)	王朋飞		
其他公开文献	CN101013131B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种检测呋喃妥因代谢物的酶联免疫试剂盒，它含有：包被有包被原的酶标板，酶标记物，呋喃妥因代谢物特异性抗体或呋喃妥因代谢物衍生物特异性抗体，呋喃妥因代谢物标准品溶液或呋喃妥因代谢物衍生物标准品溶液，底物显色液，终止液，浓缩洗涤液，浓缩复溶液。本发明还公开了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测呋喃妥因代谢物的方法，它包括步骤：首先进行样品前处理，然后用试剂盒进行检测，最后分析检测结果。本发明提供的是检测动物源性食品如鸡肉、猪肉、鱼虾、牛奶、蜂蜜和鸡蛋等样品中呋喃妥因代谢物残留量的酶联免疫试剂盒及检测方法操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本筛查。

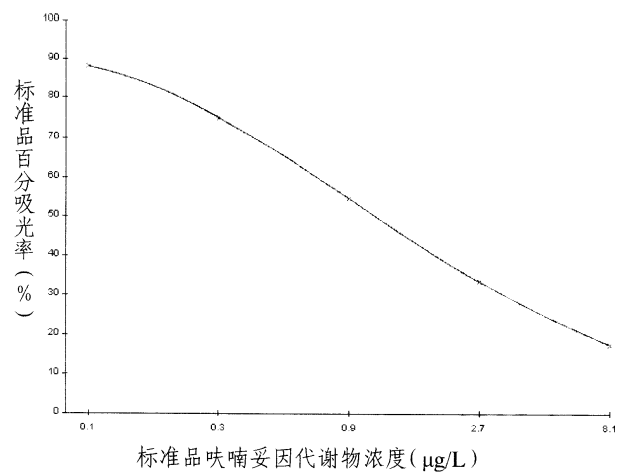


图 1