



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109061204 A

(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201810853328.6

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2018.07.30

(71)申请人 杭州莱和生物技术有限公司

地址 310052 浙江省杭州市滨江区长河街
道滨安路688号2幢B楼一层、五层505-
512室

(72)发明人 葛秀龙 欧阳云 方芳 郑水娣

(74)专利代理机构 杭州千克知识产权代理有限
公司 33246

代理人 黎双华 李欣玮

(51)Int.Cl.

G01N 33/94(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

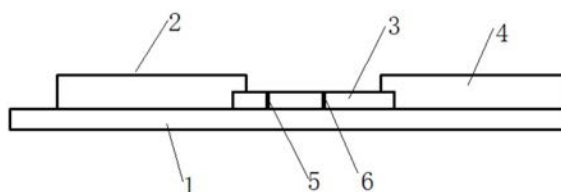
权利要求书1页 说明书18页 附图1页

(54)发明名称

一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒。该试剂盒包括样品裂解液,荧光免疫层析试纸条;裂解液用于将毒品小分子从毛发中溶出;荧光免疫层析试纸条包含PVC衬板、硝酸纤维素膜、样品垫和吸收垫,样品垫、硝酸纤维素膜和吸收垫依次交错固定于PVC衬板之上;样品垫上有毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物;硝酸纤维素膜上设有检测线和质控线,检测线包被有毒品抗原-牛血清白蛋白复合物,质控线包被有羊抗兔抗体。本发明能够快速、准确、灵敏的对毛发中的毒品进行检测。



1. 一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,包括样品裂解液,荧光免疫层析试纸条;

所述裂解液用于将毒品小分子从毛发中溶出;

所述荧光免疫层析试纸条包含PVC衬板、硝酸纤维膜、样品垫和吸收垫,所述样品垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次交错固定于PVC衬板之上;

所述样品垫上有毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物;

所述硝酸纤维膜上设有检测线和质控线,检测线包被有毒品抗原-牛血清白蛋白复合物,质控线包被有羊抗兔抗体。

2. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,裂解液和毛发的质量比为100:1。

3. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述裂解液包含表面活性剂、角蛋白酶和缓冲溶液。

4. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述表面活性剂优选非离子表面活性剂。

5. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述缓冲溶剂优选为TRIS(无水四硼酸钠)-EDTA缓冲溶液。

6. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述裂解液还包括碳酸氢钠。

7. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述裂解液中表面活性剂的质量百分比为1-2%、角蛋白酶的含量为10000-50000IU/ML。

8. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述量子点纳米颗粒的荧光发射波长范围为600-620nm,更优选的,发射波长为610nm。

9. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述量子点纳米颗粒为单一化合物形成的量子点或是几种化合物组装成的复合物量子点。

10. 根据权利要求1所述的一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,其特征在于,所述化合物选自ZnS、CdS、HgS、MgS、CdSe、ZnSe、ZnCdSe中的一种或多种。

一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于生物检测技术领域,特别是涉及一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒。

背景技术

[0002] 从最原始的罂粟,加工成鸦片、可卡因和海洛因,到现在的冰毒、吗啡、大麻等,毒品一直离人们的生活很近。毒品不仅影响了吸毒者的健康,而且对吸毒者的家庭、社会、国家都造成了巨大的危害。为了与毒品作斗争,各国政府投入了大量的资金,我国在挽救、治疗吸毒者,开展禁毒教育和科研,加大缉毒力度等方面也投入了大量的人力、物力和财力。然而如何针对吸毒人员作出有效、快速、准确、稳定的检测成为了亟待解决的问题。

[0003] 随着检测手段的进步,对人体毒品残留的检测中,相较于传统血液、尿液等检测对象,毛发检测的标本容易获得,现场操作简单,避免了吸毒人员的取证不配合,标本掺假,成为了一种重要的毒品检测对象。

[0004] 目前,气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、高效液相色谱法、毛细管电泳法、免疫分析法等多种检测方法已经被用于对毒品的检测。例如中国专利 CN101750458B公开了一种检测人体中毒品残留的方法,其采用 HPLC-Chip-MS/MS和HPLC-MS/MS来检测毒品残留,具有费用低,准确性和稳定性高的优点。中国专利CN104422762A公开了一种检测尿液、唾液、血液、毛发中毒品的酶联免疫试剂盒和检测方法,该酶联免疫试剂盒具有高特异性、高灵敏度等特点。

[0005] 随着禁毒形势的愈发严峻,新型、有效、快速、准确、稳定的检测方法和装置的需求进一步被放大。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒。本发明能够快速、准确、灵敏的对毛发中的毒品进行检测。

[0007] 为了达到上述的目的,本发明采取以下技术方案:

[0008] 一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒,包括样品裂解液,荧光免疫层析试纸条;

[0009] 所述裂解液用于将毒品小分子从毛发中溶出;

[0010] 所述荧光免疫层析试纸条包含PVC衬板、硝酸纤维膜、样品垫和吸收垫,所述样品垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次交错固定于PVC衬板之上;

[0011] 所述样品垫上有毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物;

[0012] 所述硝酸纤维膜上设有检测线和质控线,检测线包被有毒品抗原-牛血清白蛋白复合物,质控线包被有羊抗兔抗体。

[0013] 本发明检测对象为毛发相对于常规检测方法要验血、验尿或者验口水,可以克服

毒品测试取证困难和被测人员的不配合。

[0014] 在上述试剂盒中,裂解液和毛发的质量比为100:1。

[0015] 在上述试剂盒中,优选的,所述裂解液包含表面活性剂、角蛋白酶和缓冲溶液。其中,角蛋白酶能够腐蚀毛发表面,使毛发形成粗糙表面,从而利于毒品小分子从待测样品中溶出。表面活性剂能够洗涤毛发表面的污渍,使角蛋白酶能充分跟毛发接触,进一步提高毒品的溶出率。缓冲溶液能够中和角蛋白酶分解毛发产生的副反应物,提高角蛋白酶的生物活性。

[0016] 进一步地,所述表面活性剂优选非离子表面活性剂,例如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、Triton X 100、Triton X 114、Triton X 405、Tween 20、Tween 60、Tween 80。相对于离子型表面活性剂,非离子表面活性剂不容易对离子强度产生影响,从而避免了影响后续试剂条中的免疫反应,提高了免疫检测的准确度。

[0017] 进一步地,所述缓冲溶剂优选为TRIS(无水四硼酸钠)-EDTA缓冲溶液。本发明的缓冲体系相对于其它缓冲体系来说pH范围接近8,性质温和,且溶液稳定性更高。

[0018] 进一步地,所述裂解液还包括碳酸氢钠。碳酸氢钠的添加主要是为了进一步调整裂解液的pH。

[0019] 进一步地,所述裂解液中表面活性剂的质量百分比为1-2%、角蛋白酶的含量为10000-50000IU/ML。

[0020] 在上述试剂盒中,优选的,所述量子点纳米颗粒的荧光发射波长范围为600-620nm,更优选的,发射波长为610nm。激发光的波长范围为360-430nm,更优选的,激发光的波长为365nm。

[0021] 在上述试剂盒中,优选的,所述量子点纳米颗粒为单一化合物形成的量子点或是几种化合物组装成的复合物量子点。更优选的,所述化合物选自ZnS、CdS、HgS、MgS、CdSe、ZnSe、ZnCdSe中的一种或多种。

[0022] 本发明荧光免疫层析试剂盒采用量子点纳米颗粒作为荧光发射物质,量子点在光学性能上表现出激发光谱宽二连续,发射光谱窄且对称,荧光强度高,荧光寿命长,稳定性好等特点,能够克服常规的稀土微球,胶乳微球等荧光材料,信号衰退快,信号梯度不明显等缺陷。本发明的荧光免疫试纸条显示的荧光信号可以在2个小时内不发生明显衰减,且信号的梯度非常明显,可以有效分层,使测试的荧光信号更加稳定和便于检测提高检测的灵敏度和准确度。此外,量子点荧光稳定,信号强且变化明显的性质,也使得荧光信号量值转化效果好,利于定量分析。

[0023] 本发明荧光免疫层析试纸条的检测原理为竞争法,T线(检测线)包被的抗原和待检样品中的毒品抗原竞争结合毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物,当待检样品中无毒品抗原存在,毒品抗体-量子点纳米复合物在泳动过程中先和T线包被毒品抗原-牛血清白蛋白复合物结合,T线处形成毛发荧光免疫分析仪可测的荧光信号;当待检样品中有毒品抗原存在,则样品中的毒品抗原、包被毒品抗原和毒品抗原-牛血清白蛋白复合物竞争结合,此时T线处信号强度会随着样品中毒品抗原的增加而逐渐减弱;而兔IgG-量子点纳米颗粒复合物会继续泳动和质控线(C线)包被的羊抗兔抗体结合,在C线处形成稳定不变的信号;如果C线处检测不到信号,则试纸条已报废,不能再使用。

[0024] 本发明可采用配套的荧光检测分析仪,可以根据每个试剂批次分别导入相关的

量值曲线,快速进样检测读数,控制时间在10秒以内,可以将荧光信号转化为对应的毒品或代谢物成分的浓度值,并且在显示屏幕上清晰显示,仪器可以保存500组以上的测试结果,且可以即时打印相关结果,包含对应的试剂批号,标本编号,测试时间,以及测试人员代码等信息。

[0025] 本发明可检测的毒品包括吗啡、病毒、氯胺酮等。

[0026] 本发明具有以下优点:

[0027] 1) 本发明的荧光免疫检测毒品的试剂盒采用毛发作为检测样品,对毛发中的毒品含量进行定量检测,取样简单,克服毒品检测取样困难的问题;

[0028] 2) 本发明利用表面活性剂、角蛋白酶和缓冲溶液组成的裂解液对毛发中的毒品进行溶出,表面活性剂、角蛋白酶和缓冲溶液的共同作用,能够有效提高毛发中毒品的溶出率和溶出速度。

[0029] 3) 本发明利用量子点进行荧光标记,荧光稳定,信号强且变化明显,能够较好的将荧光信号进行量值转化,能够定量的对毒品含量进行分析,通过荧光分析仪能够较快的获得结果。

[0030] 4) 本发明试剂盒用于检测毛发中的毒品含量,检测结果准确度高、精密度高、检测范围宽、稳定性高,且抗干扰(如毒品、洗发水、护发素、发胶等)能力强。

附图说明

[0031] 图1是本发明荧光免疫层析试纸条的结构示意图,其中1为PVC衬板,2为样品垫,3为硝酸纤维膜,4为吸收垫,5为检测线,6为质控线。

具体实施方式

[0032] 以下具体实施例是对本发明提供的方法与技术方案的进一步说明,但不应理解成对本发明的限制。

[0033] 一、荧光免疫检测毒品的试剂盒

[0034] 试剂盒包括样品裂解液,荧光免疫层析试纸条(结构参见图1);裂解液用于将毒品小分子从待测样品中溶出;荧光免疫层析试纸条包含PVC衬板1、硝酸纤维膜3、样品垫2和吸收垫4,所述样品垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次交错固定于PVC衬板之上;样品垫上有毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物;硝酸纤维膜上设有检测线和质控线,检测线包被有毒品抗原-牛血清白蛋白复合物,质控线包被有羊抗兔抗体。

[0035] 二、毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物的制备方法:

[0036] (1) 将荧光微球(即ZnS、CdS、HgS、MgS、CdSe、ZnSe、ZnCdSe中的一种或多种形成的量子点纳米颗粒)配制成5wt%工作浓度;

[0037] (2) 加入待标记抗体(毒品抗体或者兔IgG),加入量为10 μ g/ml,搅拌30min;

[0038] (3) 用封闭液封闭,搅拌30min,封闭液为5wt%酪蛋白溶液;

[0039] (4) 然后用离心机在4 $^{\circ}$ C下离心,离心速度为10000r/min,离心30min,然后去上清液;

[0040] (5) 用聚合物将沉淀物复溶, 比例为0.1ml沉淀物加入1ml聚合物溶液, 聚合物可以为聚苯乙烯、聚丁烯等。

[0041] 三、荧光免疫层析试纸条的生产步骤为

[0042] 1) 将毒品抗原-牛血清白蛋白复合物和羊抗兔抗体用点膜机分别点于硝酸纤维素膜的测试区(T)和质控区(C)上, 充分干燥, 使硝酸纤维素膜牢固地吸附原料。

[0043] 2) 将毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物溶液混匀后处理在样本垫上, 充分干燥。

[0044] 3) 将上述硝酸纤维素膜复合在PVC塑料薄板上。

[0045] 4) 将复合好的塑料薄板置于切割机上, 切割成单人份试纸。

[0046] 5) 将单人份试纸装入配套使用的塑料盒内。

[0047] 6) 将塑料盒、干燥剂、滴管放入包装袋内, 封口、待检。

[0048] 7) 待检品抽检其灵敏度、特异性和稳定性合格出厂。

[0049] 四、荧光免疫试剂盒的检测方法

[0050] 选择离头皮0.5厘米内的毛发, 取毛发5mg用剪刀剪成长度为1-2mm, (10cm长度约10根), 用剪刀剪成1-2mm小段于对折的取样纸上;

[0051] 将剪碎的毛发倒入装有毛发裂解液的瓶子内, 盖紧瓶盖, 震荡混匀1分钟。用滴管吸取毛发裂解液的上清, 滴加2滴在试剂板的加样孔中。

[0052] 荧光检测分析仪检测试纸条荧光信号, 并将荧光信号转化为电信号, 然后通过每批次试纸条ID卡上的标准曲线信息自动计算浓度, 并呈现在仪器的显示屏上。

[0053] 五、本发明产品的性能研究

[0054] 采用荧光标记物为: 聚苯乙烯微球中包埋了量子点ZnCdSe/ZnS形成的颗粒。

[0055] 裂解液配方为:

[0056]

化剂名称	用量g/L
无水四硼酸钠	10
角蛋白酶	5
PVP-10	10
曲拉通-100	15
碳酸氢钠	20
EDTA	5

[0057] 1、线性范围

[0058] 将吗啡企业参考品各稀释成0ng/mg、0.05ng/mg、0.1ng/mg、1ng/mg、2.5ng/mg、5ng/mg、10ng/mg、15ng/mg、20ng/mg, 然后按照说明书的检测步骤, 分别检测吗啡/冰毒/氯胺酮毛发快速检测试剂产品各3批, 每个浓度检测3份取平均值。要求线性相关系数 $R \geq 0.99$, 相对偏差在 $\pm 10\%$ 。结果如下表1。

[0059] 表1吗啡线性范围检测结果

[0060]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %
0ng/mg	1	0.02	0.03	/	1	0.04	0.03	/	1	0.03	0.04	/
	2	0.04			2	0.02			2	0.04		
	3	0.02			3	0.02			3	0.04		
0.05ng/mg	1	0.03	0.03	-40	-40	0.03	0.03	-40	1	0.03	0.03	-40
	2	0.03			2	0.03			2	0.03		
	3	0.04			3	0.03			3	0.04		
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		
1ng/mg	1	0.97	1.02	2	1	0.96	0.99	-1	1	0.92	0.95	-5
	2	1.09			2	0.93			2	0.95		
	3	0.99			3	1.07			3	0.99		
2.5ng/mg	1	2.54	2.56	2.4	1	2.41	2.47	-1.2	1	2.63	2.46	-1.6
	2	2.52			2	2.53			2	2.42		
	3	2.61			3	2.47			3	2.32		
5ng/mg	1	5.38	5.12	2.4	1	4.66	5.17	3.4	1	5.35	4.86	-2.8
	2	4.79			2	5.43			2	4.67		
	3	5.18			3	5.42			3	4.57		
10ng/mg	1	10.81	10.43	4.3	1	9.38	9.47	-5.3	1	10.18	10.29	2.9
	2	9.86			2	9.62			2	9.8		
	3	10.61			3	9.41			3	10.89		
15ng/mg	1	11.57	12.44	-17.07	1	12.52	11.61	-22.6	1	12.31	12.12	-19.2
	2	12.98			2	11.26			2	13.16		

[0061]

	3	12.77			3	11.06			3	10.9		
20ng/mg	1	16.9	15.99	-20.05	1	16.1	15.78	-21.1	1	17.79	16.43	-17.85
	2	15.39			2	14.25			2	14.91		
	3	15.67			3	17			3	16.58		

[0062] 根据检测结果可知,浓度<0.1ng/mg时相对偏差>10%,浓度>10ng/mg时相对偏差>10%,不符合要求;在0.1-10ng/ml的范围内,产品线性的相关系数 $R \geq 0.99$,相对偏差在 $\pm 10\%$ 因此三个产品的线性范围为0.1-10ng/mg。

[0063] 2、准确度

[0064] 取3个批号的吗啡毛发快速检测试剂产品,按照说明书的检测步骤,分别检测为2.5ng/mg、5ng/mg的标准品,每个浓度检测6份取平均值并计算相对偏差。结果如下表2:

[0065] 表2吗啡准确度检测结果

[0066]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001			Lot 2: MOP201706002			Lot 3: MOP201706003		
	检测结果	平均值	相对偏差%	检测结果	平均值	相对偏差%	检测结果	平均值	相对偏差%
2.5ng/mg	1 2.45	2.47	-1.2	1 2.46	2.48	-0.8	1 2.53	2.53	1.03
	2 2.41			2 2.45			2 2.46		
	3 2.48			3 2.43			3 2.62		
	4 2.58			4 2.55			4 2.58		
	5 2.45			5 2.58			5 2.43		
	6 2.43			6 2.40			6 2.55		
5ng/mg	1 5.11	4.97	-0.6	1 4.68	4.97	-0.6	1 5.21	5.01	0.12
	2 4.86			2 4.87			2 5.11		
	3 5.01			3 5.02			3 4.90		
	4 5.21			4 4.95			4 4.91		
	5 4.87			5 5.05			5 5.21		
	6 4.76			6 5.22			6 4.71		

[0067] 根据检测结果可知,吗啡毛发快速检测试剂的准确度所有浓度相对偏差都在 $\pm 10\%$ 以内。

[0068] 3、精密度

[0069] 取3个批次的吗啡毛发快速检测试剂10份,按照说明书的检测步骤,对浓度为2.5ng/mg、5ng/mg的标准品进行检测并计算变异系数CV。结果如下表3:

[0070] 表3吗啡精密度检测结果

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001			Lot 2: MOP201706002			Lot 3: MOP201706003		
	检测结果		CV%	检测结果		CV%	检测结果		CV%
2.5ng/mg	1	2.41	3.49	1	2.57	3.63	1	2.41	3.82
	2	2.39		2	2.46		2	2.37	
	3	2.57		3	2.41		3	2.63	
	4	2.51		4	2.56		4	2.46	
	5	2.53		5	2.38		5	2.43	
	6	2.46		6	2.43		6	2.61	
	7	2.66		7	2.58		7	2.39	
	8	2.47		8	2.45		8	2.54	
	9	2.63		9	2.39		9	2.46	
	10	2.53		10	2.63		10	2.38	
5ng/mg	1	4.81	4.09	1	4.91	3.58	1	5.25	4.23
	2	5.11		2	4.69		2	4.90	
	3	4.65		3	5.23		3	5.30	
	4	5.20		4	5.02		4	5.05	
	5	4.98		5	4.79		5	4.79	
	6	4.74		6	5.05		6	5.00	
	7	5.06		7	5.22		7	4.80	
	8	4.91		8	4.85		8	4.69	
	9	5.15		9	5.10		9	5.13	

[0072]

	10	5.25		10	5.05		10	5.21	
--	----	------	--	----	------	--	----	------	--

[0073] 根据检测结果可知,吗啡毛发快速检测试剂批内精密度 $CV \leq 10\%$ 。

[0074] 4、最低检出度

[0075] 取3个批号的吗啡毛发快速检测试剂各10份,按照说明书的检测步骤,对 标准品基质进行检测,计算测定结果平均值X和标准偏差SD。结果如下表4:

[0076] 表4吗啡最低检出限检测结果

[0077]

参 考 品	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测 结果	平 均 值	标准 偏差	最低 检出 限	检测 结果	平 均 值	标准 偏差	最低 检出 限	检测 结果	平 均 值	标准 偏差	最低 检出 限
标准 品基 质	1	0. 04	0.0 1	0.04	1	0. 03	0.0 1	0.04	1	0. 05	0.0 1	0.04
	2	0. 02			2	0. 04			2	0. 02		
	3	0. 06			3	0. 05			3	0. 04		
	4	0. 05			4	0. 04			4	0. 05		
	5	0. 04			5	0. 05			5	0. 06		
	6	0. 06			6	0. 02			6	0. 06		
	7	0. 03			7	0. 03			7	0. 02		
	8	0. 04			8	0. 06			8	0. 05		
	9	0.			9	0.			9	0.		

[0078]

	04				04				05			
1	0.				1	0.			1	0.		
0	05				0	02			0	03		

[0079] 根据检测结果可知,吗啡毛发快速检测试剂的最低检出限 ($X+3SD$) $\leq 0.1\text{ng/mg}$ 。

[0080] 5、干扰实验

[0081] 5.1、毒品物质干扰

[0082] 取3个批号的吗啡毛发快速检测试剂各8份,将浓度为 $10\mu\text{g/mL}$ 的甲基安非他明、美沙酮、咖啡因、地西洋、苯巴比妥、氯胺酮、曲马多、雷尼替丁按照说明书的检测步骤分别进行检测,每种交叉物质各做一次。要求结果呈阴性反应。结果如下表5:

[0083] 表5毒品物质干扰检测结果

干扰物质	检测结果		
	Lot 1: MOP201706001	Lot 2: MOP201706002	Lot 3: MOP201706003
甲基安非他明	0.05	0.04	0.06
美沙酮	0.04	0.03	0.05
咖啡因	0.06	0.03	0.05
地西洋	0.04	0.03	0.04
苯巴比妥	0.06	0.04	0.04
氯胺酮	0.03	0.04	0.05
曲马多	0.05	0.05	0.03
雷尼替丁	0.05	0.04	0.03

[0085] 根据检测结果可知,吗啡毛发快速检测试剂在上述干扰物质浓度为10ug/ml 时无干扰。

[0086] 5.2、洗发水护发素的干扰

[0087] 随机取一批次毛发快速检测试剂72份,然后取阴性毛发和阳性毛发各3 份,分别使用洗发水和护发素清洗毛发样本,用自来水漂洗三遍(模拟正常洗 发过程)。之后对清洗后的头发进行检测,以未清洗的毛发样本为对照,每种 各做一次。结果如下表6-7:

[0088] 表6洗发水对毛发快速检测试剂的影响

[0089]

洗发水品牌	毛发样本	是否清洗	吗啡 检测结果	甲基安非他明 检测结果	氯胺酮 检测结果
洗发水 1	阴性样本 1	否	0.03	0.05	0.05
		是	0.06	0.05	0.04
	阴性样本 2	否	0.03	0.04	0.04
		是	0.03	0.05	0.04
	阴性样本 3	否	0.06	0.06	0.06
		是	0.06	0.06	0.03
	阳性样本 1	否	2.65	4.86	2.78
		是	2.97	4.57	2.65
	阳性样本 2	否	0.2	2.28	3.93
		是	0.22	2.1	3.88
	阳性样本 3	否	1.37	1.12	0.81
		是	1.4	0.92	0.92
洗发水 2	阴性样本 1	否	0.06	0.03	0.05
		是	0.04	0.06	0.05
	阴性样本 2	否	0.03	0.05	0.06
		是	0.06	0.03	0.03
	阴性样本 3	否	0.05	0.03	0.03
		是	0.05	0.06	0.04
	阳性样本 1	否	2.95	4.42	2.99
		是	2.68	4.41	3.11
	阳性样本 2	否	0.2	2.26	3.91
		是	0.2	2.14	3.73
	阳性样本 3	否	1.44	0.94	0.92

[0090]

洗发水 3		是	1.39	1.02	0.83
	阴性样本 1	否	0.06	0.05	0.04
		是	0.03	0.06	0.03
	阴性样本 2	否	0.03	0.03	0.04
		是	0.05	0.05	0.05
	阴性样本 3	否	0.05	0.03	0.05
		是	0.04	0.04	0.04
	阳性样本 1	否	2.88	4.05	2.97
		是	2.98	4.38	2.66
	阳性样本 2	否	0.22	2.28	3.64
		是	0.22	2.01	3.48
	阳性样本 3	否	1.53	0.95	0.9
		是	1.4	1.1	0.94

[0091] 结果显示:洗发水对吗啡毛发快速检测试剂、甲基安非他明毛发快速检测试剂和氯胺酮毛发快速检测试剂均无影响。

[0092] 表7护发素对毛发快速检测试剂的影响

[0093]

护发素品牌	毛发样本	是否清洗	吗啡 检测结果	甲基安非他明 检测结果	氯胺酮 检测结果
护发素 1	阴性样本 4	否	0.06	0.03	0.03
		是	0.03	0.05	0.04
	阴性样本 5	否	0.06	0.06	0.04
		是	0.06	0.03	0.03
	阴性样本 6	否	0.06	0.05	0.03
		是	0.06	0.04	0.06
	阳性样本 4	否	3.98	2.55	3.62
		是	4.2	2.43	3.16
	阳性样本 5	否	1.3	0.83	0.97
		是	1.39	0.99	0.99

[0094]

	阳性样本 6	否	2.78	1.81	1.45
		是	2.7	1.99	1.39
护发素 2	阴性样本 4	否	0.03	0.03	0.05
		是	0.05	0.06	0.04
	阴性样本 5	否	0.05	0.04	0.04
		是	0.06	0.03	0.06
	阴性样本 6	否	0.04	0.04	0.06
		是	0.06	0.03	0.05
	阳性样本 4	否	3.74	2.2	3.64
		是	3.93	2.25	3.47
	阳性样本 5	否	1.46	0.82	0.95
		是	1.35	0.82	0.93
	阳性样本 6	否	2.66	2.06	1.3
		是	2.39	2.05	1.28
护发素 3	阴性样本 4	否	0.03	0.03	0.06
		是	0.06	0.06	0.05
	阴性样本 5	否	0.06	0.05	0.05
		是	0.04	0.04	0.06
	阴性样本 6	否	0.05	0.06	0.03
		是	0.06	0.03	0.05
	阳性样本 4	否	3.81	2.19	3.17
		是	3.71	2.32	3.46
	阳性样本 5	否	1.49	0.9	0.87
		是	1.28	0.86	0.94
	阳性样本 6	否	2.31	1.99	1.23
		是	2.48	1.88	1.46

[0095] 结果显示:护发素对吗啡毛发快速检测试剂、甲基安非他命毛发快速检测试剂 和 氯胺酮毛发快速检测均无影响。

[0096] 5.3、发胶类产品的干扰

[0097] 随机取一批次毛发快速检测试剂36份,然后取阳性毛发和阴性毛发各3 份,模拟发胶的正常使用过程将发胶喷在毛发上或者涂抹在头发上,以未涂抹 的毛发样本为对照,各做一次。结果如下表8:

[0098] 表8发胶对毛发快速检测试剂的影响

[0099]

发胶品牌	毛发样本	是否使用发胶	吗啡检测结果	甲基安非他命检测结果	氯胺酮检测结果
发胶 1	阴性样本 7	否	0.04	0.05	0.04
		是	0.05	0.04	0.04
	阴性样本 8	否	0.06	0.05	0.03
		是	0.04	0.05	0.04
	阴性样本 9	否	0.06	0.04	0.05
		是	0.06	0.05	0.05
	阳性样本 7	否	4.08	0.43	4.1
		是	3.68	0.47	4.4
	阳性样本 8	否	5.66	0.9	5.56
		是	6.7	0.84	5.76
	阳性样本 9	否	1.79	6.71	2.19
		是	2.02	7.28	2.14
发胶 2	阴性样本 7	否	0.05	0.06	0.05
		是	0.05	0.03	0.04
	阴性样本 8	否	0.05	0.05	0.03
		是	0.04	0.04	0.05
	阴性样本 9	否	0.06	0.04	0.04
		是	0.04	0.05	0.04
	阳性样本 7	否	4.13	0.5	4.83

[0100]

		是	3.51	0.45	4.46
		否	6.34	0.93	5.82
	阳性样本 8	是	6.39	0.99	5.62
	阳性样本 9	否	1.99	7.82	2.15
		是	1.95	7.83	2.27
发胶 3	阴性样本 7	否	0.06	0.06	0.05
		是	0.05	0.04	0.06
	阴性样本 8	否	0.06	0.05	0.06
		是	0.04	0.05	0.03
	阴性样本 9	否	0.06	0.06	0.03
		是	0.05	0.05	0.03
	阳性样本 7	否	3.7	0.51	4.18
		是	3.51	0.46	4.2
	阳性样本 8	否	5.93	1.01	6.23
		是	6.71	0.95	5.89
	阳性样本 9	否	1.77	7.59	2.21
		是	1.95	7.11	2.37

[0101] 结果显示:发胶对吗啡毛发快速检测试剂、甲基安非他命毛发快速检测试剂和氯胺酮毛发快速检测试剂均无影响。

[0102] 6、稳定性

[0103] 每个产品每批次各抽取400人份的成品放入常温的环境下,将检测缓冲液保存在2-8℃的条件下,并在每次检测时,将全部的检测缓冲液从2-8℃冰箱内取出、开瓶,恢复至室温进行检测,检测结束后将检测缓冲液放回2-8℃的环境条件下,检测时间按0、3、6、9、12、18、24、30、31个月进行。(如若在试验过程中,发现产品不稳定,需要使用现配的检测缓冲液进行验证,说明是成品的稳定性原因还是检测缓冲液的原因)。检测项目如下:

[0104] 1) 线性:选择浓度为0.1ng/mg、1ng/mg、2.5ng/mg、5ng/mg、10ng/mg的企业内部标准品进行测量。

[0105] 2) 最低检出限:取产品10份,按照检测步骤对配制企业内部标准品基质进行检测。

[0106] 表9吗啡成品的线性的检测结果(测试时间:0个月)

[0107]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		
1ng/mg	1	1.09	1.06	6	1	1.05	1.01	1	1	0.98	0.99	-1
	2	1.05			2	1.03			2	1.03		
	3	1.05			3	0.96			3	0.97		
2.5ng/mg	1	2.65	2.6	4	1	2.32	2.39	-4.4	1	2.37	2.44	-2.4
	2	2.52			2	2.44			2	2.28		
	3	2.64			3	2.4			3	2.66		
5ng/mg	1	4.64	4.78	-4.4	1	5.32	5.08	1.6	1	5.26	4.96	-0.8
	2	4.68			2	4.65			2	5.05		
	3	5.01			3	5.26			3	4.56		
10ng/mg	1	9.23	9.72	-2.8	1	10.56	10.44	4.4	1	10.51	9.92	-0.8
	2	9.81			2	10.55			2	9.43		
	3	10.13			3	10.22			3	9.83		

[0108] 表10吗啡成品的线性的检测结果(测试时间:3个月)

[0109]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		

[0110]

1ng/mg	1	1.02	1.05	5	1	0.91	0.98	-2	1	0.95	0.99	-1
	2	1.09			2	0.98			2	1.07		
	3	1.05			3	1.06			3	0.96		
2.5ng/mg	1	2.3	2.49	-0.4	1	2.71	2.53	1.2	1	2.65	2.57	2.8
	2	2.66			2	2.53			2	2.39		
	3	2.52			3	2.36			3	2.67		
5ng/mg	1	4.57	4.69	-6.2	1	4.96	5.27	5.4	1	4.91	5.06	1.2
	2	4.9			2	5.42			2	5.42		
	3	4.59			3	5.43			3	4.86		
10ng/mg	1	9.93	9.9	-1	1	10.34	9.92	-0.8	1	9.51	9.9	-1
	2	10.53			2	9.61			2	10.89		
	3	9.23			3	9.8			3	9.3		

[0111] 表11吗啡成品的线性的检测结果(测试时间:6个月)

[0112]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		
1ng/mg	1	0.96	0.94	-6	1	1.07	1.04	4	1	0.98	0.99	-1
	2	0.92			2	0.98			2	1		
	3	0.94			3	1.07			3	0.99		
2.5ng/mg	1	2.65	2.61	4.4	1	2.48	2.59	3.6	1	2.65	2.52	0.8
	2	2.54			2	2.58			2	2.59		
	3	2.65			3	2.72			3	2.33		
5ng/mg	1	5.34	5.15	3	1	4.82	5.03	0.6	1	5.08	4.76	-4.8
	2	4.79			2	4.99			2	4.57		

[0113]

	3	5.31			3	5.27			3	4.64		
10ng/mg	1	10.47	10.19	1.9	1	9.92	9.74	-2.6	1	9.61	9.52	-4.8
	2	10.59			2	9.31			2	9.5		
	3	9.52			3	10.00			3	9.45		

[0114] 表12吗啡成品的线性的检测结果(测试时间:9个月)

[0115]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001				Lot 2: MOP201706002				Lot 3: MOP201706003			
	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %	检测结果		平均值	相对偏差 %
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		
1ng/mg	1	1.05	0.99	-1	1	0.93	1.01	1	1	1.07	0.98	-2
	2	0.97			2	1.07			2	0.93		
	3	0.95			3	1.03			3	0.95		
2.5ng/mg	1	2.69	2.54	1.6	1	2.44	2.38	-4.8	1	2.42	2.51	0.4
	2	2.48			2	2.42			2	2.55		
	3	2.45			3	2.29			3	2.57		
5ng/mg	1	5.16	4.99	-0.2	1	5.3	5.19	3.8	1	5.37	5.4	8
	2	4.88			2	5.38			2	5.44		
	3	4.92			3	4.89			3	5.38		
10ng/mg	1	9.83	9.73	-2.7	1	9.46	9.78	-2.2	1	9.47	9.59	-4.1
	2	9.25			2	10.44			2	10.14		
	3	10.12			3	9.44			3	9.15		

[0116] 表13吗啡成品的线性的检测结果(测试时间:12个月)

[0117]

参考品浓度	Lot 1: MOP201706001			Lot 2: MOP201706002			Lot 3: MOP201706003		
	检测结果	平均值	相对偏	检测结果	平均值	相对偏	检测结果	平均值	相对偏

[0118]

				差 %				差 %				差 %
0.1ng/mg	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0	1	0.1	0.1	0
	2	0.1			2	0.1			2	0.1		
	3	0.1			3	0.1			3	0.1		
1ng/mg	1	1.04	1.04	4	1	1.05	1.06	6	1	1.08	1.02	2
	2	1.07			2	1.08			2	1.06		
	3	1.02			3	1.05			3	0.92		
2.5ng/mg	1	2.53	2.56	2.4	1	2.5	2.52	0.8	1	2.63	2.48	-0.8
	2	2.49			2	2.68			2	2.35		
	3	2.65			3	2.38			3	2.46		
5ng/mg	1	5.38	5.01	0.2	1	5.36	5.12	2.4	1	4.81	4.95	-1
	2	4.57			2	5.02			2	5.19		
	3	5.07			3	4.97			3	4.86		
10ng/mg	1	9.41	9.47	-5.3	1	10.5	10.05	0.5	1	10.84	10.43	4.3
	2	9.53			2	9.31			2	10.84		
	3	9.48			3	10.34			3	9.61		

[0119] 以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明方法及其核心思想。应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以对本发明进行若干改进和修饰, 这些改进和修饰也落入本发明权利要求保护范围内。

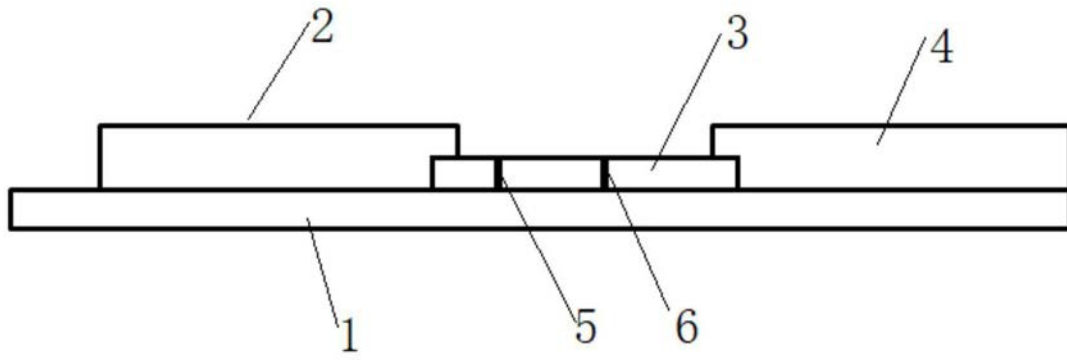


图1

专利名称(译)	一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒		
公开(公告)号	CN109061204A	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201810853328.6	申请日	2018-07-30
[标]申请(专利权)人(译)	杭州莱和生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	杭州莱和生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	杭州莱和生物技术有限公司		
[标]发明人	葛秀龙 欧阳云 方芳 郑水娣		
发明人	葛秀龙 欧阳云 方芳 郑水娣		
IPC分类号	G01N33/94 G01N33/68 G01N33/58 G01N33/558 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/558 G01N33/582 G01N33/588 G01N33/6854 G01N33/94		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种荧光免疫检测毛发痕量毒品的试剂盒。该试剂盒包括样品裂解液，荧光免疫层析试纸条；裂解液用于将毒品小分子从毛发中溶出；荧光免疫层析试纸条包含PVC衬板、硝酸纤维膜、样品垫和吸收垫，样品垫、硝酸纤维膜和吸收垫依次交错固定于PVC衬板之上；样品垫上有毒品抗体-量子点纳米颗粒复合物以及兔IgG-量子点纳米颗粒复合物；硝酸纤维膜上设有检测线和质控线，检测线包被有毒品抗原-牛血清白蛋白复合物，质控线包被有羊抗兔抗体。本发明能够快速、准确、灵敏的对毛发中的毒品进行检测。

