

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/535 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610037948.X

[43] 公开日 2006年8月2日

[11] 公开号 CN 1811454A

[22] 申请日 2006.1.19

[21] 申请号 200610037948.X

[71] 申请人 镇江出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心

地址 212008 江苏省镇江市东吴路84号

共同申请人 江苏省微生物研究所有限责任公司

[72] 发明人 潘荣生 宓晓黎 李平 李利东
徐文久 陆茂林 朱金连 周洪斌
袁建兴 成恒嵩

[74] 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所
代理人 时旭丹

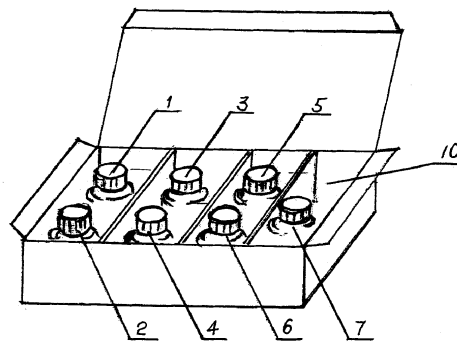
权利要求书2页 说明书8页 附图1页

[54] 发明名称

一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒

[57] 摘要

一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒，涉及酶免疫分析技术。本发明采用酶免疫吸附、蛋白质偶联和生物化学制备技术制备了本检测试剂盒。其关键技术是将四环素族经改造后以琥珀酸酐为桥与蛋白 BSA 偶联制备包被抗原，四环素族以戊二醛为桥与蛋白 BSA 偶联合成免疫抗原。再用酶免疫吸附间接竞争法检测四环素族。试剂盒具有简便、快速、准确检测动物性食品中四环素族抗生素的优点，其检测范围在 1950ng/g - 1.90ng/g 之间，检测时间仅需 4 小时。本方法平均回收率 80% - 120%，批内误差小于 8%，批间误差小于 10%。适用于奶制品、蜂产品、水产品、肉类产品中四环素族抗生素的检测。



1. 一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒，其特征是由标准品溶液试剂瓶(1)、酶标抗抗体溶液试剂瓶(2)、抗体溶液试剂瓶(3)、底物溶液试剂瓶(4)、显色剂溶液试剂瓶(5)、终止液试剂瓶(6)、洗涤液试剂瓶(7)、酶标板(8)及酶标板支架(9)、箱体(10)所组成，试剂瓶(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)和酶标板(8)及酶标板支架(9)均安装在箱体(10)内，包被酶标板的包被抗原，制备抗体的人工免疫抗原均由四环素族与 BSA 蛋白偶合人工合成；

a) 标准品溶液配制：准确称取标准盐酸四环素族 1mg，精确到 0.00002g，配成 0.5mg/mL 标准品溶液母液，灌装入试剂瓶 (1)，使用时，用磷酸盐缓冲液稀释成所需的浓度 10-1000ng/mL 的系列标准品溶液；

b) 酶标抗抗体溶液配制：酶标抗抗体为辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 原液，灌装入试剂瓶 (2)，使用时用洗涤液按 1:4000 配制成工作浓度；

c) 抗体溶液配制：用人工免疫抗原免疫动物制备所得到的多克隆或单克隆抗体，将所得的四环素族抗体用磷酸盐缓冲液稀释成工作浓度 1:4000，灌装入试剂瓶 (3)；

d) 底物溶液配制：使用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液，再配制质量浓度 0.3% H_2O_2 作贮备液，每 1ml 缓冲液中加入 14 μ L 贮备液，灌装入试剂瓶 (4)；

e) 显色剂溶液配制：用丙酮配制成 10mg/mL 的四甲基联苯胺溶液，用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液配制成 0.2mg/mL 的四甲基联苯胺溶液，灌装入试剂瓶 (5)；

f) 终止液配制：2mol/L H_2SO_4 溶液，灌装入试剂瓶 (6)；

g) 洗涤液配制：含 0.05%吐温 20 的磷酸盐缓冲液，0.01mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液中含 0.15mol/L 的氯化钠，灌装入试剂瓶 (7)；

h) 酶标板的包被：取四环素族人工包被抗原 150—200 μ L，加入反应板孔中，4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜，倒出孔内液体，用洗涤液 (7) 洗涤 3-5 次，将酶标板倒置在吸水纸上拍打，吸干，在已包被抗原的酶标板小孔中加 200 μ L 1%BSA PBS 封闭液，37 $^{\circ}$ C 恒温培育 1h，用洗涤液 (7) 洗涤，重复 3 次，用吸水纸吸干，封装。

2. 根据权利要求 1 所述的检测试剂盒，其特征是酶标板(8)是包被四环素族抗原的聚苯乙烯微量反应板，有 24 孔、或 48 孔、或 96 孔。

3. 根据权利要求 1 所述的检测试剂盒，其特征是包被抗原的制备：将四环素

族改造成 4-亚肼基-4-脱二甲氨基四环素族再通过琥珀酸酐为桥与载体蛋白 BSA 偶联。

4. 根据权利要求 1 所述的检测试剂盒,其特征是人工免疫抗原的制备:四环素族通过戊二醛为桥与载体蛋白 BSA 偶联。

5. 根据权利要求 1 所述的检测试剂盒,其特征是所述的四环素族抗生素为四环素、或金霉素、或土霉素。

一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒

技术领域

一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒，本发明属于酶免疫分析技术领域。应用于对动物源食品，尤其是肉类产品、水产品、蜂产品及奶制品中四环素族抗生素含量的检测。

背景技术

四环素族抗生素包括金霉素、土霉素和四环素等，可作为预防和治疗畜禽疾病的兽药，或作为促进畜禽生长的饲料添加剂，在水产养殖业中用于治疗多种鱼类疾病；在乳业中用于提高奶牛产奶量；在养蜂业中用于预防蜜蜂的感染性疾病。但过量使用不可避免使母体、代谢产物等相关抗生素残留于食源性动物的肌肉、蛋、奶、脏器组织中，通过生物链影响人体健康。在执行食品安全计划中，鉴于抗生素的作用与危害并存，动物性食品中四环素族抗生素的残留问题格外受到关注，各国制定了动物源性食品中兽药最高残留量标准和检测方法。

目前，动物源性食品中四环素族抗生素残留的检测方法主要是微生物抑制法、色谱法和免疫法等。微生物抑制法和免疫分析法适用于常规筛选方法，物理化学法用于鉴定和定量，但微生物抑制法缺乏灵敏度和专一性，物理化学法需要专业化的职员，样品预处理要求高，免疫分析法专一、灵敏，是最有发展潜力的方法之一。而酶联免疫(ELISA)法的推广应用，必须有相应成熟的试剂盒产品。

发明内容

本发明的目的是提供一种结构简单，操作方便，检测快速的四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒。本发明是针对四环素族抗生素残留测定的酶联免疫检测试剂盒，制备能产生四环素族抗体的人工抗原、包被抗原、抗四环素族的抗体，并与四环素族抗生素有一定的交叉反应，将相关试剂组装成可直接使用的试剂盒，应用于动物源食品，尤其是肉类产品、水产品、蜂产品及奶制品中四环素族抗生素含量的检测。

本发明综合采用酶联免疫吸附、蛋白质偶联和生物化学制备等技术制备了四环素族抗生素残留酶联免疫检测试剂盒。将四环素与载体蛋白偶联制备成人工免疫抗原和包被抗原；用人工免疫抗原免疫动物制备抗四环素族的抗体；将四环素族包被抗原包被吸附于固相载体上；并将检测用的试剂配制成可直接使用的试剂。使用时

将标准品或样品和抗体混合后与固相载体上的抗原竞争结合,洗涤去除游离的抗原抗体复合物,结合在固相载体上抗原与酶标抗体结合,用酶底物进行测定,结合的酶标记物将无色的显色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝转变为黄色。用酶标仪在 450nm 处测量,吸收光强度与样品中的四环素族浓度成反比。

本发明的技术方案:本检测试剂盒由 1.标准品溶液试剂瓶、2.酶标抗体溶液试剂瓶、3.抗体溶液试剂瓶、4.底物溶液试剂瓶、5.显色剂溶液试剂瓶、6.终止液试剂瓶、7.洗涤液试剂瓶、8.酶标板及 9.酶标板支架、10.盒体所组成。试剂瓶 1—7 和酶标板及酶标板支架均安装在盒体内。包被酶标板的包被抗原,制备抗体的人工免疫抗原均由四环素族与 BSA 蛋白偶合人工合成。

酶标板(8)是包被四环素族抗原的聚苯乙烯微量反应板,有 24 孔、或 48 孔、或 96 孔。

所用试剂的配制和酶标板的包被为:

a) 标准溶液的配制:准确称取标准盐酸四环素族 1mg,精确到 0.00002g,配成 0.5mg/mL 标准品溶液母液,灌装入试剂瓶(1)中,使用时,用 PBS(磷酸盐缓冲液)稀释成所需的浓度(10-1000ng/mL)。

b) 酶标抗体溶液配制:辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 原液,灌装入试剂瓶(2)中,使用时用洗涤液按 1:4000 配制成工作浓度;

c) 抗体溶液配制:用人工免疫抗原免疫动物制备所得到的多克隆或单克隆抗体,将所得的四环素族抗体用磷酸盐缓冲液稀释成工作浓度 1:4000,灌装入试剂瓶(3)。

d) 底物溶液配制:使用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液,再配制成质量浓度 0.3% H_2O_2 作贮备液,每 1ml 缓冲液中加入 14 μ L 储备液,灌装入试剂瓶(4)。

e) 显色剂溶液配制:用丙酮配制成 10mg/mL 的四甲基联苯胺溶液,用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液配制成 0.2mg/mL 的四甲基联苯胺溶液,灌装入试剂瓶(5)。

f) 终止液配制:2mol/L H_2SO_4 溶液,灌装入试剂瓶(6)。

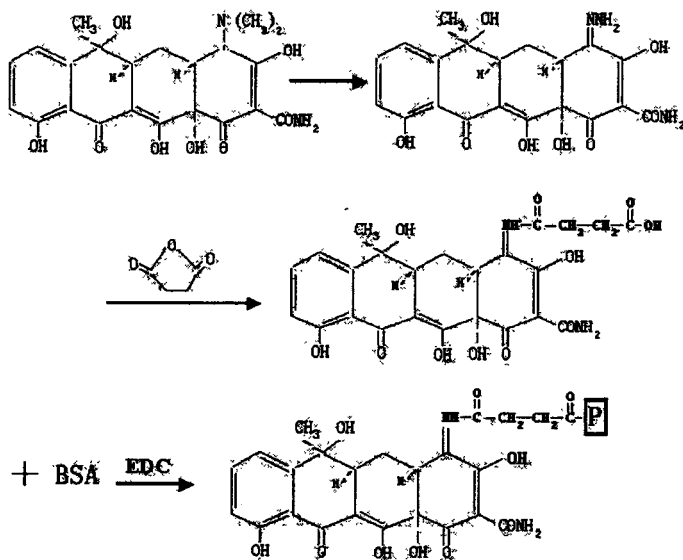
g) 洗涤液配制(PBST):含 0.05%吐温 20 的磷酸盐缓冲液,磷酸盐缓冲液(PBS):0.01mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液中含 0.15mol/L 的氯化钠,灌装入试剂瓶(7)。

h) 酶标板的包被:包被抗原的聚苯乙烯微量反应板,取四环素族人工包被抗原 150—200 μ L,加入反应板孔中,4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜,倒出孔内液体,用洗涤液(7)洗涤 3-5 次,将酶标板倒置在吸水纸上拍打,吸干,在已包被抗原的酶标板小孔中

加 200 μ L 1%BSA PBS 封闭液, 37 $^{\circ}$ C 恒温培育 1h, 用洗涤液 (7) 洗涤, 重复 3 次, 用吸水纸吸干, 封装。

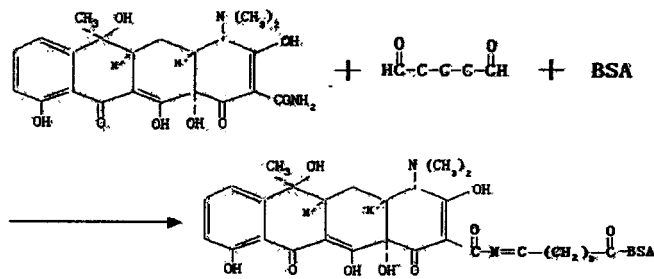
所用包被抗原的制备如下:

将四环素族改造成 4-亚肼基-4-脱二甲氨基四环素族, 再通过琥珀酸酐为桥与载体蛋白 BSA 偶联, 反应式如下图:



所用免疫抗原的制备:

四环素族通过戊二醛为桥与载体蛋白 BSA 偶联, 反应式如下:



所用四环素族抗体的制备如下:

将上述人工免疫抗原免疫动物制备多克隆或单克隆抗体。

多克隆抗体的制备

体重 1.5-2kg 临床健康的雄性新西兰兔, 用四环素族人工抗原为免疫原, 按体重 500 μ g/kg 的剂量免疫, 首次用含福氏完全佐剂的免疫原皮下或皮内多点注射,

此后每间隔四周用含福氏不完全佐剂的免疫原加强免疫，前后共四次，最后一次免疫后 10 天，宰杀、采血、分离血清后冷藏备用。

单克隆抗体的制备

用四环素族人工抗原为免疫原，免疫 BALB/C 小白鼠，免疫剂量 $40\mu\text{g}$ ，含福氏完全佐剂的免疫原首次免疫，以后每隔四周，用含福氏不完全佐剂的免疫原加强免疫，前后共四次，最后一次免疫后 10 天，采血，取脾细胞。取免疫小白鼠的脾细胞与小白鼠的骨髓瘤细胞杂交融合，制备杂交瘤细胞。采用有限稀释法筛选杂交瘤细胞，筛选能稳定分泌四环素族单克隆抗体的杂交瘤细胞株。单克隆抗体的生产与纯化，小鼠腹腔注射杂交瘤细胞，采集腹水，经硫酸铵盐析纯化，分装待用。

检测方法

本发明的四环素族抗生素检测试剂盒的检测方法是将标准溶液或样品溶液与适当稀释的四环素族抗体加入酶标板小孔中，同时设置空白和阴性对照孔， $25-37^{\circ}\text{C}$ 恒温培育 0.5-1 h，倒出孔内液体，重复用洗涤液洗涤 2-5 次，将酶标板倒置在吸水纸上拍打；加入适当稀释度的酶标抗体溶液于酶标板小孔中， $25-37^{\circ}\text{C}$ 恒温培育 0.5-1 h，用洗涤液重复洗 3-5 次，吸干；加入底物溶液和显色溶液到待测酶标板小孔中， $25-37^{\circ}\text{C}$ 恒温培育 15min，再加入终止液，立即显黄色；用酶标仪在波长 450nm 处测定吸收值 A，以不加抗体的小孔作为空白调零。测定系列四环素族标准溶液孔的吸收值 A，以四环素各浓度的吸收值为纵坐标对应四环素族浓度 log 值为横坐标，在半对数坐标纸上或以 EXCEL 绘制标准曲线图。以待测样品溶液的吸收值，在标准曲线上查出相应四环素浓度，再换算出样品中四环素的含量。

本发明的有益效果

所制备的酶联免疫快速检测试剂盒，具有简便、快速、准确的特点。并适用于奶制品、蜂产品、水产品、肉类产品中四环素族抗生素的检测。其检测范围在 $1950\text{ng/g}-1.90\text{ng/g}$ 之间，检测时间仅需 4 小时。本方法平均回收率 80%-120%，批内误差小于 8%，批间误差小于 10%。

附图说明

图 1 四环素族抗生素检测试剂盒示意图。

1、标准品溶液试剂瓶，2、酶标抗体溶液试剂瓶，3、抗体溶液试剂瓶，4、底物溶液试剂瓶，5、显色剂溶液试剂瓶，6、终止液试剂瓶，7、洗涤液试剂瓶，8、酶标板，9、酶标板支架，10、盒体。

图 2 酶标板示意图。

具体实施方式

实施例 1

1 包被抗原的制备

称取盐酸四环素 1 克溶于 50mL 水中，加入 2.7 克氯代琥珀酰亚胺，反应 30 分钟后，过滤，用水洗涤粗制品。粗制品用 150mL 水和乙醚（体积比 1: 1）处理，弃水相，蒸干乙醚相，再用水洗涤，过滤，即得纯品（约 5.6 克），为改造四环素。

取 20mg 改造的四环素和 6mg 琥珀酸酐溶于 2mL 二氧六环，置 37°C 反应 2h，置 4°C 过夜，此为①液。另取 35mg 卵清蛋白（OVA）溶于 2mL 水，再加入 1mL 二氧六环，此为②液。再取 1-乙基-3-(3-二甲胺丙基)碳二亚胺盐酸盐（EDC）125mg 溶于 2mL 水中，此为③液，取③液 1mL 缓慢加入①液中搅拌 0.5h，将此反应液缓慢滴入②液中，搅拌 4h，再加入③液 0.5mL。继续搅拌 4h 后，再加入③液 0.5mL，搅拌过夜，次日对蒸馏水透析后回收。

2 免疫抗原的制备

称取盐酸四环素 170mg 溶于 2ml 甲醇，缓慢加入 0.1mol/mL pH4.0 醋酸 100ml 缓冲液中，再依次加入 8ml 25%戊二醛溶液、20mg BSA，室温搅拌 5 小时。将反应液通过 0.01mol/mL pH4.0 醋酸缓冲液平衡过的 SephadexG-75 层析柱(1x22cm)，用同样缓冲液进行洗脱，部分收集器收集在 280nm 和 356nm 波长处有并存峰的洗脱液，用聚乙二醇 6000 吸收浓缩得到人工免疫抗原四环素-戊二醛-BSA。

3 四环素族多克隆抗体的制备

体重 1.5-2kg 临床健康的雄性新西兰兔，以四环素-戊二醛-BSA 为免疫原，按体重 500 μ g/kg 的剂量免疫四次，第一次用含 1.5mL 福氏完全佐剂的免疫原皮下或皮内多点注射，此后每间隔四周，用含 1.5mL 福氏不完全佐剂的免疫原加强免疫，前后共四次，每次加强免疫后采血测定抗体的消长情况，末一次免疫后 10 天，宰杀、采血、分离血清后冷藏备用。

4 试剂盒的制备

a) 包被抗原的聚苯乙烯微量反应板：取 1-10 μ g/ml 浓度的抗原溶液 200 μ L，加入到酶标板小孔中，摇匀，置 4°C 冰箱中过夜。倒出孔内液体，用 PBST 洗涤液洗涤，重复 3-5 次，将酶标板倒置在吸水纸上拍打，吸干。在已包被抗原的酶标板小孔中加 200 μ L 1%BSA PBS 封闭液，37°C 恒温培育 1h，用洗涤液洗涤，重复 3 次，用吸水纸吸干。封装。

b) 标准溶液的配制：准确称取标准盐酸四环素 1mg（精确到 0.00002g），配成 0.5mg/mL 母液，用 PBS 稀释成所需的浓度(10-1000ng/mL)。灌装为试剂 1。

c) 酶标抗体溶液：辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 原液。灌装为试剂 2。

d) 四环素抗体溶液: 抗四环素抗体用磷酸盐缓冲液按 1:4000 稀释成工作浓度。灌装为试剂 3。

e) 底物溶液: 先用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液配制成 0.3% H_2O_2 贮备液, 每 1mL 缓冲液中加入 14 μ L 贮备液。灌装为试剂 4。

f) 显色溶液: 先用丙酮配制 10mg/mL 的四甲基联苯胺溶液, 用 0.1mol/L pH5.0 的醋酸钠-柠檬酸缓冲液配制成 0.2mg/mL 的四甲基联苯胺溶液。灌装为试剂 5。

g) 终止液: 2mol/L H_2SO_4 溶液。灌装为试剂 6。

h) 洗涤液 (PBST): 含 0.05%吐温 20 的磷酸盐缓冲液。磷酸盐缓冲液 (PBS): 0.01mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液中含 0.15mol/L 的氯化钠。灌装为试剂 7。

将上述的试剂瓶、酶标板及酶标板支架装入盒内, 组成四环素酶联免疫检测试剂盒。

实施例 2

抗原: 改用盐酸土霉素标准品、抗体: 改用土霉素抗体溶液。酶标板改用土霉素包被抗原包被, 其余试剂瓶的配置同实施例 1, 即为土霉素酶联免疫检测试剂盒。

实施例 3

抗原: 改用盐酸金霉素标准品、抗体: 改用金霉素抗体溶液。酶标板改用金霉素包被抗原包被, 其余试剂瓶的配置同实施例 1, 即为金霉素酶联免疫检测试剂盒。

实施例 4

1 样品处理

a) 乳制品 脱脂奶可用 PBS 以脱脂奶:PBS 为 1:10 稀释后直接测定, 全脂奶则应离心去脂肪后再经 PBS 以 1:10 稀释后测定。

b) 蜂蜜 称取蜂蜜 10g 以 10%乙醇- PBST 溶解并定容到 25mL, 搅拌均匀并过滤, 取滤液测定。

c) 蜂王浆 称取混和均匀的王浆 200mg, 置于带刻度的离心管中, 加 pH8.0 PBS 至 2mL 刻度处并稀释均匀, 离心取上清液测定。

d) 肉制品 称取样品 5g 用少量 10%乙醇- PBST, 置玻璃研磨器中, 研磨成均匀糊状, 然后用 10%乙醇- PBST 洗出, 并定容到 25 mL, 搅拌均匀后, 经冷冻离心去脂肪, 取上清液测定。

e) 水产品 称取样品 5g 于玻璃匀浆器中, 加少量 2.0%酪蛋白-PBST, 均质后将其定容到 20mL, 离心后取上清液检测。

2 测定步骤

a) 准备

分析前将所有试剂平衡至室温；按要求将有关试剂稀释至使用浓度；分析后立即将所有试剂放回 4℃~8℃冰箱；在所有培育中，避光，盖上微孔板盖。

b) 试剂配置

酶标二抗（试剂 2）的稀释：使用前取酶标二抗 250 μL 用洗涤剂（试剂 7）稀释成使用液。

c) 定位

根据需要设定限量法（见表 1）和定量法（见表 2）。取足够数量的酶标板微孔置于酶标板支架上，记录标准品孔和试样孔的位置。限量法时控制标准孔号中的浓度为限量值/稀释倍数，并通过调节稀释倍数使之浓度在 10-1000mg/mL 测定范围内。

表 1 限量法微孔定位

零标准孔号	控制标准孔号	样品孔号					
1	2	3	4	5	6	7	8

表 2 定量法微孔定位

标准孔浓度 μg/L						样品孔号					
a	b	c	d	e	f	1	2	3	4	5	6

d) 免疫反应

在每孔中依次加入试剂，加入 50μL 标准溶液或试样提取液至相应微孔中；再加入 50μL 抗体溶液到每个微孔中。摇匀，将酶标板放在塑料袋内，置暗处，室温 (25℃~37℃) 反应 1 小时。将微孔中液体倾倒入水池内，倒置微孔支架，在干净纸巾上轻拍，除去所有残留的液体，加洗涤液约 250μL 到每个微孔中洗板，再排空液体，重复洗涤 4 次。在每孔中依次加入 100μL 酶标二抗溶液到每个微孔中。摇匀，将酶标板放在塑料袋内，置暗处，室温 (20℃~30℃) 反应 1 小时。按上述洗涤方法进行洗涤。

e) 显色测定

每孔分别加入底物溶液和显色剂溶液各 50μL (相当于一滴)，充分摇匀，置暗处，室温 (25℃~37℃) 反应 15min。(每次滴溶液前先挤去 2-3 滴后再滴入微孔。) 加 50μL (相当于一滴) 终止液到每孔中，摇匀。用酶标仪在 450nm 处，以空气为空白调零，测定吸收值。在 60min 内读数。

3 结果计算和表述

a) 限量法

若试样孔的吸收值小于标准孔的吸收值, 即 $A_{450\text{nm}}$ 试样孔 $< A_{450\text{nm}}$ 标准孔, 超过限量值, 为阳性。若试样孔的吸收值大于标准孔的吸收值, 即 $A_{450\text{nm}}$ 试样孔 $> A_{450\text{nm}}$ 标准孔, 则小于所设限量值, 为阴性。

b) 定量法

标准曲线的绘制: 所测标准品的吸收值对应四环素族($\mu\text{g/L}$)的半对数坐标作标准曲线图, 曲线在一定范围内应当成线性。根据试样的百分吸收值, 通过标准曲线, 查得相对应浓度。按式(1)计算试样中的四环素族含量。

试样中的四环素族含量 X , 单位为微克每千克 ($\mu\text{g/kg}$), 按下式计算:

$$X = \frac{C V n}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C ——从标准曲线上查得相对应提取液中四环素族浓度, 单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$);

V ——试样提取液体积, 单位为毫升 (mL);

n ——试样稀释倍数;

m ——试样质量, 单位为克 (g)。

计算结果表示到小数点后一位有效数字。

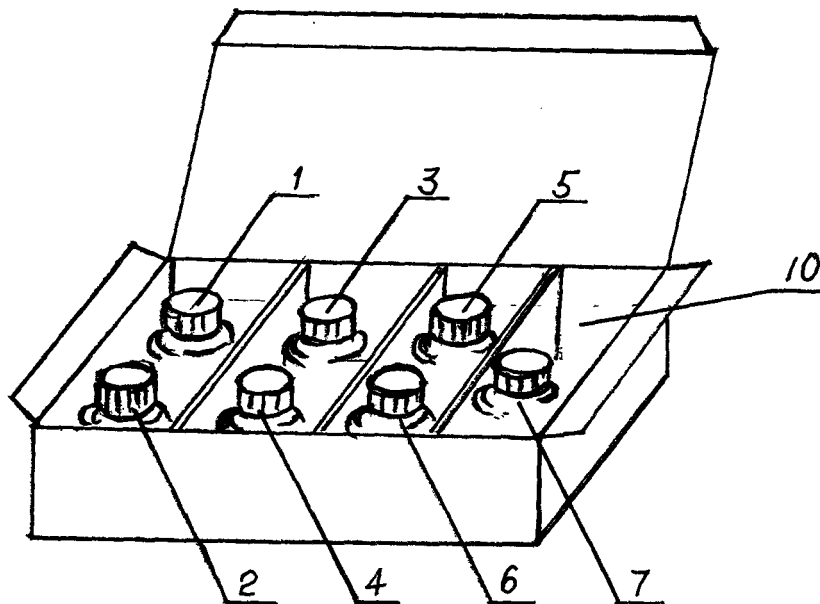


图 1

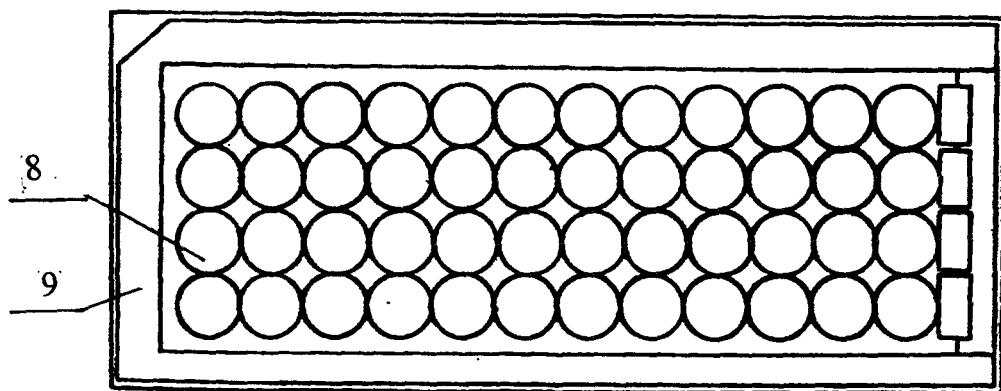


图 2

专利名称(译)	一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒		
公开(公告)号	CN1811454A	公开(公告)日	2006-08-02
申请号	CN200610037948.X	申请日	2006-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	镇江出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心 江苏省微生物研究所有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	镇江出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心 江苏省微生物研究所有限责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	镇江出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心 江苏省微生物研究所有限责任公司		
[标]发明人	潘荣生 宓晓黎 李平 李利东 徐文久 陆茂林 朱金连 周洪斌 袁建兴 成恒嵩		
发明人	潘荣生 宓晓黎 李平 李利东 徐文久 陆茂林 朱金连 周洪斌 袁建兴 成恒嵩		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/543 G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种四环素族抗生素酶联免疫检测试剂盒，涉及酶免疫分析技术。本发明采用酶免疫吸附、蛋白质偶联和生物化学制备技术制备了本检测试剂盒。其关键技术是将四环素族经改造后以琥珀酸酐为桥与蛋白BSA偶联制备包被抗原，四环素族以戊二醛为桥与蛋白BSA偶联合成免疫抗原。再用酶免疫吸附间接竞争法检测四环素族。试剂盒具有简便、快速、准确检测动物性食品中四环素族抗生素的优点，其检测范围在1950ng/g - 1.90ng/g之间，检测时间仅需4小时。本方法平均回收率80% - 120%，批内误差小于8%，批间误差小于10%。适用于奶制品、蜂产品、水产品、肉类产品中四环素族抗生素的检测。

