



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101706506 A

(43) 申请公布日 2010.05.12

(21) 申请号 200910154753.7

(22) 申请日 2009.12.03

(71) 申请人 杭州迪恩科技有限公司

地址 310013 浙江省杭州市天目山路 313 号
18 号楼 3 楼

(72) 发明人 王旻子 张明洲 鲍伟华 程晔
魏建良 于洪侠 陈宗伦

(74) 专利代理机构 杭州宇信知识产权代理事务
所(普通合伙) 33231

代理人 张宇娟

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

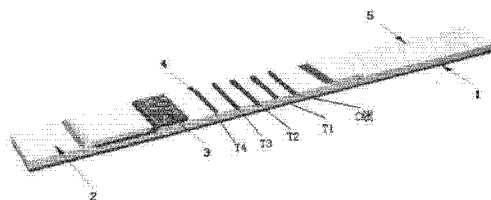
权利要求书 2 页 说明书 35 页 附图 2 页

(54) 发明名称

检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸及其检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸及其检测方法,该试纸的胶体金属标记垫所包被物质为一种 β 兴奋剂抗体或多种 β 兴奋剂抗体的胶体金属标记物的混合物,该试纸检测反应区上的检测线的条数与胶体金属标记垫包被 β 兴奋剂抗体的数目相应,每条检测线上分别包被有与胶体金属标记抗体相应的单一的 β 兴奋剂检测用抗原。本发明的试纸操作简单方便,对牛奶、血清、动物尿液可直接检测,动物组织、动物内脏、饲料、小麦、玉米、大麦等样品简单处理后即可检测,3-5min 以后便可观察结果。本方法适用面宽,能满足食品安全、饲料安全及政府检测机构快速检测 β 兴奋剂的需求。



1. 一种检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸,其包括在试纸底板上依次粘贴的样品吸收垫、胶体金属标记垫、检测反应区及吸收垫,检测反应区上设有包被有检测用抗原的检测线和包被有二抗的质控线,其特征在于:胶体金属标记垫所包被物质为一种或多种胶体金属标记 β 兴奋剂抗体,所述的检测线的条数与胶体金属标记垫包被 β 兴奋剂抗体的数目相应,每条检测线上分别包被有与胶体金属标记 β 兴奋剂抗体相应的单一的 β 兴奋剂检测用抗原。

2. 根据权利要求 1 所述的试纸,其特征在于: β 兴奋剂抗体优选为克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺或齐帕特罗的多克隆抗体或单克隆抗体中的一种或多种,检测用抗原相应的分别为克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺或齐帕特罗的检测用抗原中的一种或多种。

3. 根据权利要求 1 所述的试纸,其特征在于:胶体金属为 Ag、Au、Pd、Pt、Rh、Ir、Ru、Os 中的一种。

4. 根据权利要求 2 所述的试纸,其特征在于所述试纸为下列试纸中一种:齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇四联检测试纸;齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三联检测试纸;齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸;莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸;齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸;莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸;齐帕特罗和莱克多巴胺二联检测试纸;克伦特罗和莱克多巴胺二联检测试纸;齐帕特罗和克伦特罗二联检测试纸;齐帕特罗和沙丁胺醇二联检测试纸;沙丁胺醇和克伦特罗二联检测试纸;莱克多巴胺检测试纸;克伦特罗检测试纸;沙丁胺醇检测试纸中的一种。

5. 根据权利要求 1 所述的试纸,其特征在于:检测用抗原为 β 兴奋剂与载体物质偶联形成的偶合物,其中,所述的载体物质选自蛋白质或蛋白质片段中的一种。

6. 一种如权利要求 1-5 所述的胶体金属标记 β 兴奋剂抗体制备方法,其特征在于按如下步骤制备:在磁力搅拌下,用碳酸钾溶液调胶体金属的 pH 值,加入 β 兴奋剂抗体,继续搅拌混匀,静置;低温高速离心,弃上清,沉淀重悬,备用。

7. 根据权利要求 6 所述的胶体金属标记 β 兴奋剂抗体的制备方法,其特征在于所述制备方法具体为:在磁力搅拌下,用 0.1M 碳酸钾调胶体金的 pH 值至 8.2,按 10-20 μ g 抗体/ml 胶体金加入 β 兴奋剂抗体,继续搅拌混匀 30min,加入 10% BSA 至终浓度为 0.5%,静置 30min。12000rpm、4 $^{\circ}$ C 离心 30min,弃上清,沉淀用 1/20 初始胶体金体积的 0.02M pH9.0 的硼酸盐缓冲液重悬,置 4 $^{\circ}$ C 备用。

8. 一种检测 β 兴奋剂的检测方法,其特征在于:被检样品为牛奶、血清或尿样,采用如权利要求 1~5 任意一项权利要求所述的检测 β 兴奋剂的胶体金免疫层析试纸,直接滴牛奶、血清或尿样于样品垫上,3~5min 后,观察颜色。

9. 一种检测 β 兴奋剂的检测方法,其特征在于:被检样品为小麦、玉米、大麦或饲料,称取充分研磨的样品,加入 PBS 中,充分混匀,离心,取上清液,采用如权利要求 1~6 任意一项权利要求所述的检测 β 兴奋剂的胶体金免疫层析试纸,直接滴于样品垫上,3~5min 后,观察颜色。

10. 一种检测 β 兴奋剂的检测方法,其特征在于:被检样品为动物组织或内脏,称取充分研磨的样品,90 $^{\circ}$ C 水浴 5min,恢复至室温,取渗出液作检测样品,采用如权利要求 1~6 任意一项权利要求所述的检测 β 兴奋剂的胶体金免疫层析试纸,直接滴于样品垫上,3~

5min 后,观察颜色。

检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于 β 兴奋剂检测技术领域,尤其涉及检测多种 β 兴奋剂的免疫层析试纸及其方法。

背景技术

[0002] 自从我国加入 WTO 后,国外对于我国出口的食品提出了更高的要求,而我国出口肉制品常因兽药残留等问题而受阻,造成了巨大的经济损失。同时,随着人民生活水平的提高,人们也越来越需要健康、营养、安全的食品。因此,对 β -兴奋剂的分析研究及综合治理在食品安全方面具有重要的意义。

[0003] 克伦特罗 (Clenbuterol) 又名瘦肉精,医学上又称克喘素、氨哮素、氨双哮素或苯甲醇胺等,是 β 2-肾上腺素能受体兴奋剂(即 β -兴奋剂)的主要代表,其化学本质为儿茶酚胺衍生物、人工合成的类肾上腺素物质。目前,人工合成的 β -兴奋剂产品除克伦特罗外主要有莱克多巴胺、沙丁胺醇(舒喘宁)、齐帕特罗等。这些都是我国政府明令禁止使用的动物促生长剂。当其用量为临床用量的 5-10 倍时,又是良好的营养重分配剂和生长促进剂。其在动物机体内的残留一旦通过食物链进入人体,会对食用者的安全产生极大的危害,特别是对心脏病、糖尿病、高血压、甲亢、青光眼、前列腺肥大等病人或老人儿童危害更大,甚至会导致死亡。目前许多国家和地区规定任何 β -激动剂不可用于食用动物的促生长。在欧洲,1986 年就颁布了禁用 β -肾上腺素受体激动剂的禁令,1997 年,我国农业部发布了《关于严禁非法使用兽药的通知》,严禁将 β -肾上腺激动剂等药物作为动物促生长剂使用。1999 年 5 月 29 日,国务院颁布的《饲料和饲料添加剂管理条例》中明文规定:“生产饲料和饲料添加剂不得添加激素类药品”。2002 年 3 月,国家农业部发布了《食品动物禁用的兽药及其他化合物清单》,其中 β -激动剂被列为一种禁用的药物。

[0004] 为了打击非法使用违禁药物,保护消费者的健康安全,我们除了健全法律法规,建立有效的监督管理体系外,还需要健全相应的检测方法。因此,建立快速、灵敏、有效的 β 兴奋剂检测方法具有重要的意义。

[0005] 目前 β 兴奋剂的检测技术主要有色谱技术和免疫分析技术等。色谱技术为经典技术,主要有高压液相色谱(HPLC),高压液相色谱/荧光(HPLC/FLD),液相色谱-质谱连用(LC-MS),气相色谱-质谱连用(GC-MS),毛细管电泳等方法。这些方法灵敏准确,但是样品处理烦琐费时,成本高,而且需要有经过专门训练的专业人员来操作复杂的仪器设备。而酶联免疫分析技术灵敏、特异、快速,一次能检测大量样品,已成为当今农产品有害物质检测技术的主要发展方向之一,但该方法也需酶标仪等仪器设备,仍需在实验室完成,分析时间一般 1-4 小时,对于 β 兴奋剂检测仍有一定局限性。因此,很有必要研究更加简捷、方便、适于现场的多种 β 兴奋剂快速检测方法。

发明内容

[0006] 为了解决上述的技术问题,本发明的第一个目的是在于提供一种简便、灵敏、价格

低廉的检测 β 兴奋剂的胶体金免疫层析试纸,本发明的另外一个目的是提供使用上述的试纸进行 β 兴奋剂检测的方法。

[0007] 为了实现上述的第一个目的,本发明采用了以下的技术方案:

[0008] 检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸,其包括在试纸底板上依次粘贴的样品吸收垫、胶体金属标记垫、检测反应区及吸收垫,检测反应区上设有包被有检测用抗原的检测线和包被有二抗的质控线,胶体金属标记垫所包被物质为一种 β 兴奋剂抗体或多种 β 兴奋剂抗体的胶体金属标记物的混合物,所述的检测线的条数与胶体金属标记垫包被 β 兴奋剂抗体的数目相应,每条检测线上分别包被有与胶体金属标记抗体相应的单一的 β 兴奋剂检测用抗原。

[0009] 作为优选,上述的抗体为 β 兴奋剂抗体,上述的检测用抗原为 β 兴奋剂检测用抗原。作为再优选,上述的 β 兴奋剂抗体分别为克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺或齐帕特罗的多克隆抗体或单克隆抗体中的一种或多种,检测用抗原相应的分别为克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺或齐帕特罗的检测用抗原中的一种或多种。

[0010] 作为优选,上述的试纸为齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇四联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体、克伦特罗抗体、莱克多巴胺抗体和沙丁胺醇抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 4 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测用抗原。

[0011] 或者,上述的试纸为齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体、克伦特罗抗体和沙丁胺醇抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 3 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇的检测用抗原。

[0012] 或者,上述的试纸为齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体、克伦特罗抗体和莱克多巴胺抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 3 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺的检测用抗原。

[0013] 或者,上述的试纸为齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体、莱克多巴胺抗体和沙丁胺醇抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 3 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测用抗原。

[0014] 或者,上述的试纸为莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为克伦特罗抗体、莱克多巴胺抗体和沙丁胺醇抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 3 条,每条检测线上分别包被克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测用抗原。

[0015] 或者,上述的试纸为齐帕特罗和克伦特罗二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体和克伦特罗抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗和克伦特罗的检测用抗原。

[0016] 或者,上述的试纸为齐帕特罗和沙丁胺醇二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体和沙丁胺醇抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗和沙丁胺醇的检测用抗原。

[0017] 或者,上述的试纸为沙丁胺醇和克伦特罗二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物

质为沙丁胺醇抗体和克伦特罗抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被沙丁胺醇和克伦特罗的检测用抗原。

[0018] 或者,上述的试纸为沙丁胺醇和莱克多巴胺二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为沙丁胺醇抗体和莱克多巴胺抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被沙丁胺醇和莱克多巴胺的检测用抗原。

[0019] 或者,上述的试纸为莱克多巴胺和克伦特罗二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为莱克多巴胺抗体和克伦特罗抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被莱克多巴胺和克伦特罗的检测用抗原。

[0020] 或者,上述的试纸为齐帕特罗和莱克多巴胺二联检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体和莱克多巴胺抗体胶体金标记物的混合,检测线的条数为 2 条,每条检测线上分别包被齐帕特罗和莱克多巴胺的检测用抗原。

[0021] 或者,上述的试纸为克伦特罗检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为克伦特罗抗体胶体金标记物,检测线的条数为 1 条,检测线上包被克伦特罗的检测用抗原。

[0022] 或者,上述的试纸为沙丁胺醇检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为沙丁胺醇抗体胶体金标记物,检测线的条数为 1 条,检测线上包被沙丁胺醇的检测用抗原。

[0023] 或者,上述的试纸为莱克多巴胺检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为莱克多巴胺抗体胶体金标记物,检测线的条数为 1 条,检测线上包被莱克多巴胺的检测用抗原。

[0024] 或者,上述的试纸为齐帕特罗检测试纸,胶体金属标记垫包被物质为齐帕特罗抗体胶体金标记物,检测线的条数为 1 条,检测线上包被齐帕特罗的检测用抗原。

[0025] 作为优选,上述的 β 兴奋剂抗体可以采用 β 兴奋剂单克隆抗体或 β 兴奋剂多克隆抗体。

[0026] 作为优选,上述的胶体金属为 Ag、Au、Pd、Pt、Rh、Ir、Ru 和 Os 中的一种,优选胶体金,下面所述的检测 β 兴奋剂的免疫层析试纸简称试纸。

[0027] 作为优选,检测用抗原为 β 兴奋剂与载体物质偶联形成的偶合物,其中载体物质选自蛋白质或蛋白质片段中的一种,如血清白蛋白、球蛋白、脂蛋白。作为再优选,载体物质选自牛血清白蛋白、卵清白蛋白与血蓝蛋白中的一种。

[0028] 本发明的免疫层析试纸特异性强,4-40℃都可使用;操作简单方便,对牛奶、血清、动物尿液可直接检测,动物组织、动物内脏、饲料、小麦、玉米、大麦等样品简单处理后即可检测,3-5min 以后便可观察结果。本方法适用面宽,能满足食品安全、饲料安全及政府检测机构快速检测 β 兴奋剂的需求。

附图说明

[0029] 图 1 为本发明一种 β 兴奋剂免疫层析试纸实施例的结构示意图。

[0030] 图 2 为一种四联检测试纸实施例检测结果示意图,结果有效图示。

[0031] 图 3 为一种四联检测试纸实施例检测结果示意图,结果无效图示。

[0032] 图 4 为一种三联检测试纸实施例检测结果示意图,结果有效图示。

[0033] 图 5 为一种三联检测试纸实施例检测结果示意图,结果无效图示。

[0034] 图 6 为一种二联检测试纸实施例检测结果示意图,结果有效图示。

[0035] 图 7 为一种二联检测试纸实施例检测结果示意图,结果无效图示。

[0036] 图 8 为一种单一 β 兴奋剂检测试纸实施例检测结果示意图。

具体实施方式

[0037] 1、 β 兴奋剂偶合抗原合成：

[0038] (1) 克伦特罗偶合抗原合成：

[0039] 克伦特罗的免疫抗原和包被抗原是克伦特罗与载体蛋白通过重氮化法偶联获得。

[0040] (2) 齐帕特罗抗原的合成：

[0041] 齐帕特罗的免疫抗原和包被抗原是齐帕特罗与载体蛋白通过重氮化法偶联获得。

[0042] (3) 沙丁胺醇抗原的合成：

[0043] 沙丁胺醇的免疫抗原和包被抗原是沙丁胺醇与载体蛋白通过混合酸酐法偶联获得。

[0044] (4) 莱克多巴胺抗原的合成：

[0045] 莱克多巴胺的免疫抗原和包被抗原是莱克多巴胺与载体蛋白通过混合酸酐法偶联获得。

[0046] 2、 β 兴奋剂单克隆抗体制备

[0047] (1) 免疫动物：

[0048] 取健康 6-10 周龄雌性二级 Balb/c 小鼠 6 只进行免疫。第一次基础免疫将 0.5-1.0mg/mL β 兴奋剂免疫用抗原（克伦特罗、齐帕特罗、沙丁胺醇或莱克多巴胺免疫用抗原）分别与等量完全弗氏佐剂用搅拌器充分混匀乳化，进行皮下多点注射，注射量 0.1-0.3mL/点。三周后开始进行加强免疫，剂量同上，佐剂换为不完全弗氏佐剂，二免后，定期测定抗体效价，每隔三周加强免疫一次，末次免疫 3d 后取脾脏融合。

[0049] (2) 脾细胞悬液的制备：

[0050] 效价高的小鼠，拉颈处死，70%酒精浸泡消毒 10min，用手术剪将小鼠腹部剪开一小口，剥开皮肤，露出腹腔，在无菌条件下取出脾脏，用不完全的培养液洗一次，置平皿中不锈钢筛网上，用注射器针芯研磨成细胞悬液后计数。

[0051] (3) 细胞融合和克隆化：

[0052] 取对数生长的骨髓瘤细胞，1000rpm 离心 5 分钟，弃上清，用不完全培养液混悬细胞后计数，取所需的细胞数，用不完全培养液洗涤 2 次。同时制备免疫脾细胞悬液，用不完全培养液洗涤 2 次。将骨髓瘤细胞与脾细胞按 1 : 10 或 1 : 5 的比例混合在一起，在 50ml 塑料离心管内用不完全培养液洗 1 次，1200rpm，5-10 分钟。弃上清，轻轻弹击离心管底，使细胞沉淀略加松动。在室温下融合：加入预热的 1ml 50% PEG，边加边搅拌；加预热的不完全培养液，终止 PEG 作用。离心，弃上清，先用 6ml 左右 20% 小牛血清轻轻混悬。将融合后细胞悬液加入含有饲养细胞的 96 孔板，100 μ l/孔，37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养。融合一天后，加 HAT 选择培养液。融合后 7d，用 HT 培养液换液 1 次，在 13d 后根据增殖情况改用 20% NBS 的完全培养液。待集落长至孔底 1/3 时，可取上清检测相应的特异性抗体。细胞完全克隆化后，将细胞注入小鼠腹腔，将腹水用蛋白 A 免疫亲和层析纯化后，即得到 β 兴奋剂单克隆抗体。

[0053] 3、 β 兴奋剂多克隆抗体制备

[0054] (1) 免疫动物：

[0055] 免疫动物选用新西兰大白兔,免疫前耳缘静脉取血 5-10mL,作为阴性血清对照。初免将 0.5mg 的免疫抗原与等量弗氏完全佐剂混合,完全乳化后,采用背部皮下多点注射新西兰大白兔;三周后用取相同剂量免疫原与弗氏不完全佐剂混合后同法进行加强免疫;以后每两周加强免疫一次,共免疫 6 次后,血清效价达到很高时,最后一次加强免疫,4d 后颈动脉采全血。

[0056] (2) 抗血清处理:

[0057] 采全血后,3000rpm 离心 20min,取出上层抗血清,与等量甘油混合后保存于 -20℃ 冰箱内。

[0058] (3) 饱和硫酸铵法纯化抗血清:

[0059] 将 5mL 抗血清与等体积的生理盐水混合后,边搅拌边逐滴加入 10mL 的饱和硫酸铵。4℃ 冰箱静置过夜。第二天,4℃,4000rpm 离心 20min,弃上清。沉淀用少量生理盐水重新溶解后,加生理盐水恢复至 10mL,然后边轻轻搅拌边逐滴加入 5mL 饱和硫酸铵溶液,4℃ 冰箱静置过夜。4℃,4000rpm 离心 20min,弃上清,沉淀用饱和硫酸铵重复提取一次。最后获得的沉淀用少量生理盐水溶解后,放入透析袋中于 4℃ 进行透析,以除去残留的硫酸铵。透析完后冷冻干燥,得到纯化的多克隆抗体,与等量甘油混合后 -20℃ 冰箱保存备用。

[0060] 4、样品吸收垫处理

[0061] 将醋酸纤维纸浸入 pH7.4 的 PBS 中 10min,取出,50℃ 烘干或其他方式干燥。

[0062] 5、吸收垫处理

[0063] 将吸水纸室温干燥后,即作为吸收垫。

[0064] 6、试纸组装

[0065] 如图 1 所示。在试纸的底板 1 上依次粘贴有样品吸收垫 2、胶体金属标记垫 3、检测反应区 4 及吸收垫 5,即成 β 兴奋剂免疫层析试纸。

[0066] 本发明所描述的试纸的各部分处理与功能如下:

[0067] 底板:为一面涂有不干胶的不吸水的韧性材料,如 PVC 板,起固定支持试纸其他组成部分的作用。

[0068] 样品吸收垫制备:将醋酸纤维纸浸入 pH7.4 的 PBS 中 10min,取出,50℃ 烘干或其他方式干燥。

[0069] 胶体金标记垫的制备:胶体金溶胶的制备、胶体金标记 β 兴奋剂抗体、胶体金标记垫处理。

[0070] (1) 胶体金溶胶的制备:取 250ml 三角瓶一个,加 100ml 超纯水及 1ml 1% 氯化金,加热沸腾;取 2ml 的 1% 柠檬酸钠加入上述溶液中。混匀,再保持沸腾 30min,溶液颜色首先变黑,再逐渐变红,即为胶体金溶胶。

[0071] (2) 胶体金属标记 β 兴奋剂抗体:在磁力搅拌下,用 0.1M 碳酸钾调胶体金的 pH 值至 8.2,按 10-20 μ g 抗体/ml 胶体金加入 β 兴奋剂抗体,继续搅拌混匀 30min,加入 10% BSA 至终浓度为 0.5%,静置 30min。12000rpm、4℃ 离心 30min,弃上清,沉淀用 1/20 初始胶体金体积的 0.02M pH9.0 的硼酸盐缓冲液(配方:硼酸 0.1237g, PEG-20000 1g,用超纯水定容至 1L,调 pH 至 9.0)重悬,置 4℃ 备用。有效期 60 天。

[0072] 齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇四联检测试纸的胶体金属标记抗体,把齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇四种抗体分别按 10-20 μ g 抗体/ml 胶体金

加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0073] 齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0074] 克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸的胶体金标记抗体,把克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0075] 齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0076] 齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0077] 克伦特罗和莱克多巴胺二联检测试纸的胶体金标记抗体,把克伦特罗和莱克多巴胺二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0078] 莱克多巴胺和沙丁胺醇二联检测试纸的胶体金标记抗体,把莱克多巴胺和沙丁胺醇二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0079] 克伦特罗和沙丁胺醇二联检测试纸的胶体金标记抗体,把克伦特罗和沙丁胺醇二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0080] 齐帕特罗和沙丁胺醇二联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗和沙丁胺醇二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0081] 齐帕特罗和克伦特罗二联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗和克伦特罗二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0082] 齐帕特罗和莱克多巴胺二联检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗和莱克多巴胺二种抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0083] 莱克多巴胺检测试纸的胶体金标记抗体,把莱克多巴胺抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0084] 克伦特罗检测试纸的胶体金标记抗体,把克伦特罗抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0085] 沙丁胺醇检测试纸的胶体金标记抗体,把沙丁胺醇抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0086] 齐帕特罗检测试纸的胶体金标记抗体,把齐帕特罗抗体分别按 10-20 μ g 抗体 /ml 胶体金加入到胶体金中,其他步骤同上。

[0087] (3) 胶体金属标记垫处理:将标记好的抗体倒入一槽中,将玻璃纤维纸浸入 1min,取出,室温干燥。

[0088] 检测反应区制备:硝酸纤维膜上边包被 β 兴奋剂检测用抗原线作为检测线(如图 2,图 3 中的 T1、T2、T3),同时包被羊抗鼠 IgG 或羊抗兔 IgG 线作为质控线(如图 2,图 3 中的 C 线)。此即为检测反应区,该部分主要作用是将反应结果以肉眼可见的颜色表征出来。

[0089] 吸收垫制备:将吸水纸室温干燥后,作为吸收垫,作用在于将移动上来的多余的样

品溶液吸收。

[0090] 试纸组装：在试纸的底板上依次粘贴有样品吸收垫、胶体金标记垫、检测反应区及吸收垫，即成 β 兴奋剂检测试纸。

[0091] 检测原理：胶体金属标记垫的标记对象为 β 兴奋剂抗体，如果样品中含有 β 兴奋剂，样品溶液被试纸的样品吸收垫吸收并通过毛细作用上移到达胶体金标记部分，样品溶液中的 β 兴奋剂与胶体金标记的 β 兴奋剂抗体反应形成结合物，结合物继续上移到检测线，因胶体金标记的 β 兴奋剂抗体只有一个结合位点，样品溶液中的相应的 β 兴奋剂与之结合后，检测线上的相应的检测用抗原就不能再与胶体金标记的 β 兴奋剂抗体结合，于是检测线无色，如图 2 所示；当样品中没有或低于检测限的相应 β 兴奋剂时，胶体金标记的 β 兴奋剂抗体到达检测线时被相应的检测用抗原捕获，则形成肉眼可见红色，此即为阴性，如图 2 所示；无论有无 β 兴奋剂，质控线（C 线）都显红色；如果都不显色或者质控线（C 线）不显红色则表明该试纸已经变质失效，如图 3 所示。

[0092] 7、检测方法

[0093] (1) 牛奶、血清、尿样：

[0094] 直接滴 3 滴牛奶或尿样于样品垫上，3-5min 后，观察颜色。

[0095] (2) 小麦、玉米、大麦、饲料等样品：

[0096] 准确称取 1g 充分研磨的样品，加入 2mL PBS(0.01mol/L pH 7.4) 中，充分混匀，5000rpm 离心 10min，取上清液用于检测（注意不要吸到表面的脂肪层）。直接滴 3 滴于样品垫上，3-5min 后，观察颜色。

[0097] (3) 动物组织、动物内脏等样品：

[0098] 称取匀浆动物组织、肉、肝脏样品，90℃水浴 5min，恢复至室温，取渗出液作检测样品。直接滴 3 滴于样品垫上，3-5min 后，观察颜色。

[0099] 8、试纸保质期试验：

[0100] 试纸的保存条件为 4-40℃，在常温条件下经过 24 个月的测定，样品的在试纸上的层析速度、阴性的显色深度、检测灵敏度、实际样品检测准确度均在正常范围内。考虑到冬季和夏季的温度条件，将试纸在 40℃和 4℃的保存条件下放置 6 个月，进行稳定性加速试验，结果试纸的各项指标都符合要求。将试纸在 70℃条件下可以放置 2 周，结果试纸的各项指标正常。以上结果表明该试纸可以在常温下的保存时间为 2 年左右，在 40℃和 4℃的保存条件下放置 6 个月以上。

[0101] 实施例 1 齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇四联检测试纸（试纸 1）：

[0102] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 2 所示，T4 距离检测区底部 4-6mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 4-6mm；C 线与 T1，T1 与 T2，T2 与 T3，T3 与 T4 两条线之间间隔 2-4mm。

[0103] 检测结果判定：

[0104] 1、如图 2 中 A 所示检测线 T1、T2、T3、T4 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三种 β 兴奋剂含量低于检测限。

[0105] 2、如图 2 中 B 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 显红色，检测线 T4 不显色，检测结果为沙丁胺醇阳性，齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇含

量高于检测限,齐帕特罗、莱克多巴胺和克伦特罗含量低于检测限。

[0106] 3、如图 2 中 C 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 显红色,检测线 T4、T3 不显色,检测结果为齐帕特罗和克伦特罗阴性,莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限,莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0107] 4、如图 2 中 D 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色,检测线 T2、T4、T3 不显色,检测结果为齐帕特罗阴性,克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限,克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0108] 5、如图 2 中 E 所示检测线 T1、T2、T3、T4 都不显色,质控线 C 显红色,检测结果为齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0109] 6、如图 2 中 F 所示检测线 T2 不显色,检测线 T1、T3、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果为克伦特罗阳性,莱克多巴胺、齐帕特罗和沙丁胺醇阴性,表明被检测样品克伦特罗含量高于检测限,莱克多巴胺、齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0110] 7、如图 2 中 G 所示检测线 T1 不显色,检测线 T2、T3、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗阳性,莱克多巴胺、沙丁胺醇和克伦特罗阴性,表明被检测样品齐帕特罗含量高于检测限,莱克多巴胺、沙丁胺醇和克伦特罗含量低于检测限。

[0111] 8、如图 2 中 H 所示检测线 T3 不显色,检测线 T1、T2、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果莱克多巴胺为阳性,沙丁胺醇、齐帕特罗和克伦特罗阴性,表明被检测样品莱克多巴胺含量高于检测限,沙丁胺醇、齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0112] 9、如图 2 中 I 所示检测线 T3、T2 不显色,检测线 T1、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果为莱克多巴胺和克伦特罗阳性,齐帕特罗和沙丁胺醇阴性,表明被检测样品莱克多巴胺和克伦特罗含量高于检测限,齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0113] 10、如图 2 中 K 所示检测线 T1、T2 不显色,检测线 T3、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗和克伦特罗阳性,莱克多巴胺和沙丁胺醇阴性,表明被检测样品齐帕特罗和克伦特罗含量高于检测限,莱克多巴胺和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0114] 11、如图 2 中 L 所示检测线 T4、T2 不显色,检测线 T3、T1 和质控线 C 都显红色,检测结果为沙丁胺醇和克伦特罗阳性,齐帕特罗和莱克多巴胺阴性,表明被检测样品沙丁胺醇和克伦特罗含量高于检测限,齐帕特罗和莱克多巴胺含量低于检测限。

[0115] 12、如图 2 中 M 所示检测线 T1、T4 不显色,检测线 T2、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗和沙丁胺醇阳性,莱克多巴胺和克伦特罗阴性,表明被检测样品齐帕特罗和沙丁胺醇含量高于检测限,莱克多巴胺和克伦特罗含量低于检测限。

[0116] 13、如图 2 中 N 所示检测线 T1、T3、T4 不显色,检测线 T2 和质控线 C 都显红色,检测结果为克伦特罗阳性,莱克多巴胺、齐帕特罗和沙丁胺醇阴性,表明被检测样品克伦特罗含量高于检测限,莱克多巴胺、齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0117] 14、如图 2 中 O 所示检测线 T3 不显色,检测线 T1、T2、T4 和质控线 C 都显红色,检测结果为莱克多巴胺阳性,沙丁胺醇、齐帕特罗和克伦特罗阴性,表明被检测样品莱克多巴胺含量高于检测限,沙丁胺醇、齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0118] 15、如图 2 中 P 所示检测线 T4 不显色,检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为沙丁胺醇阳性,莱克多巴胺、齐帕特罗和克伦特罗阴性,表明被检测样品沙丁胺醇

含量高于检测限, 莱克多巴胺、齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0119] 16、如图 3 所示检测线 T1、T2、T3、T4 和质控线 C 都不显色, 或者质控线 C 不显红色, 检测结果无效。

[0120] 灵敏度试验:

[0121] 用 PBS 配制标准品梯度: 0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 1 三批来检测, 每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 1 检测克伦特罗、齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测限为 3ng/ml, 具体结果见表 1-1、表 1-2、表 1-3、表 1-4。

[0122] 表 1-1 试纸 1 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0123]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 1 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 3	-	-	+	+	+	+

[0124] 表 1-2 试纸 1 克伦特罗灵敏度试验结果

[0125]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 1 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 3	-	-	+	+	+	+

[0126] 表 1-3 试纸 1 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0127]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 1 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 3	-	-	+	+	+	+

[0128] 表 1-4 试纸 1 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0129]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 1 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 1 批 3	-	-	+	+	+	+

[0130] 注:“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0131] 试纸的准确度试验:

[0132] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 1-5、表 1-6、表 1-7、表 1-8。

[0133] 表 1-5 试纸 1 齐帕特罗准确度试验结果

样品 \ 抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0135] 表 1-6 试纸 1 克伦特罗准确度试验结果

样品 \ 抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0137] 表 1-7 试纸 1 沙丁胺醇准确度试验结果

样品 \ 抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0139] 表 1-8 试纸 1 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0141] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0142] 实施例 2 齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸（试纸 2）：

[0143] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 4 所示，T3 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2，T2 与 T3 两条线之间间隔 2-4mm。

[0144] 检测结果判定：

[0145] 1、如图 4 中 A 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇三种 β 兴奋剂含量低于检测限。

[0146] 2、如图 4 中 B 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 显红色，检测线 T3 不显色，检测结果为沙丁胺醇阳性，齐帕特罗、克伦特罗阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量高于检测限，齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0147] 3、如图 4 中 C 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2、T3 不显色，检测结果为齐帕特罗阴性，克伦特罗和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限，克伦特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0148] 4、如图 4 中 D 所示检测线 T1、T2、T3 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0149] 5、如图 4 中 E 所示检测线 T1、T2 不显色，检测线 T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗和克伦特罗阳性，沙丁胺醇阴性，表明被检测样品齐帕特罗和克伦特罗含量高于检测限，沙丁胺醇含量低于检测限。

[0150] 6、如图 4 中 F 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2、T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗阳性，克伦特罗和沙丁胺醇阴性，表明被检测样品中齐帕特罗含量高于检测限，克伦特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0151] 7、如图 4 中 G 所示检测线 T2 不显色，检测线 T1、T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗和沙丁胺醇阴性，克伦特罗阳性，表明被检测样品中齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限，克伦特罗含量高于检测限。

[0152] 8、如图 4 中 H 所示检测线 T1、T3 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为克伦特罗阴性，齐帕特罗和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中克伦特罗含量低于检测限，齐帕特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0153] 9、如图 5 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检

测结果无效。

[0154] 灵敏度试验：

[0155] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 2 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 2 检测克伦特罗、齐帕特罗和沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 2-1、表 2-2、表 2-3。

[0156] 表 2-1 试纸 2 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0157]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 2 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 3	-	-	+	+	+	+

[0158] 表 2-2 试纸 2 克伦特罗灵敏度试验结果

[0159]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 2 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 3	-	-	+	+	+	+

[0160] 表 2-3 试纸 2 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0161]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 2 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 2 批 3	-	-	+	+	+	+

[0162] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0163] 试纸的准确度试验：

[0164] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 2-4、表 2-5、表 2-6。

[0165] 表 2-4 试纸 2 齐帕特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0167] 表 2-5 试纸 2 克伦特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0169] 表 2-6 试纸 2 沙丁胺醇准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0171] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0172] 实施例 3 莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇三联检测试纸（试纸 3）：

[0173] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 4 所示，T3 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2，T2 与 T3 两条线之间间隔 2-4mm。

[0174] 检测结果判定：

[0175] 1、如图 4 中 A 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇三种 β 兴奋剂含量低于检测限。

[0176] 2、如图 4 中 B 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 显红色，检测线 T3 不显色，检测结果为沙丁胺醇阳性，莱克多巴胺、克伦特罗阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量高于检测限，莱克多巴胺和克伦特罗含量低于检测限。

[0177] 3、如图 4 中 C 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色,检测线 T2、T3 不显色,检测结果为莱克多巴胺阴性,克伦特罗和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中莱克多巴胺含量低于检测限,克伦特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0178] 4、如图 4 中 D 所示检测线 T1、T2、T3 不显色,质控线 C 显红色,检测结果为莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0179] 5、如图 4 中 E 所示检测线 T1、T2 不显色,检测线 T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为莱克多巴胺和克伦特罗阳性,沙丁胺醇阴性,表明被检测样品莱克多巴胺和克伦特罗含量高于检测限,沙丁胺醇含量低于检测限。

[0180] 6、如图 4 中 F 所示检测线 T1 不显色,检测线 T2、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为莱克多巴胺阳性,克伦特罗和沙丁胺醇阴性,表明被检测样品中莱克多巴胺含量高于检测限,克伦特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0181] 7、如图 4 中 G 所示检测线 T2 不显色,检测线 T1、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为莱克多巴胺和沙丁胺醇阴性,克伦特罗阳性,表明被检测样品中莱克多巴胺和沙丁胺醇含量低于检测限,克伦特罗含量高于检测限。

[0182] 8、如图 4 中 H 所示检测线 T1、T3 不显色,检测线 T2 和质控线 C 都显红色,检测结果为克伦特罗阴性,莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性,表明被检测样品中克伦特罗含量低于检测限,莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0183] 9、如图 5 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都不显色,或者质控线 C 不显红色,检测结果无效。

[0184] 灵敏度试验:

[0185] 用 PBS 配制标准品梯度:0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 3 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 3 检测克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 3-1、表 3-2、表 3-3。

[0186] 表 3-1 试纸 3 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0187]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
--------------	------------	--------------	--------------	--------------	-------------	--------------

[0188]

试纸 3 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 3	-	-	+	+	+	+

[0189] 表 3-2 试纸 3 克伦特罗灵敏度试验结果

[0190]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 3 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 3	-	-	+	+	+	+

[0191] 表 3-3 试纸 3 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0192]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 3 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 3 批 3	-	-	+	+	+	+

[0193] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0194] 试纸的准确度试验：

[0195] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 3-4、表 3-5、表 3-6。

[0196] 表 3-4 试纸 3 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度 阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0198] 表 3-5 试纸 3 克伦特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度 阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+

[0200]

动物内脏	-	-	+	+	+
------	---	---	---	---	---

[0201] 表 3-6 试纸 3 沙丁胺醇准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0202] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0203] 实施例 4 齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三联检测试纸（试纸 4）：

[0204] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 4 所示，T3 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2，T2 与 T3 两条线之间间隔 2-4mm。

[0205] 检测结果判定：

[0206] 1、如图 4 中 A 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇三种 β 兴奋剂含量低于检测限。

[0207] 2、如图 4 中 B 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 显红色，检测线 T3 不显色，检测结果为沙丁胺醇阳性，齐帕特罗、莱克多巴胺阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量高于检测限，齐帕特罗和莱克多巴胺含量低于检测限。

[0208] 3、如图 4 中 C 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2、T3 不显色，检测结果为齐帕特罗阴性，莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限，莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0209] 4、如图 4 中 D 所示检测线 T1、T2、T3 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0210] 5、如图 4 中 E 所示检测线 T1、T2 不显色，检测线 T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗和莱克多巴胺阳性，沙丁胺醇阴性，表明被检测样品齐帕特罗和莱克多巴胺含量高于检测限，沙丁胺醇含量低于检测限。

[0211] 6、如图 4 中 F 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2、T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗阳性，莱克多巴胺和沙丁胺醇阴性，表明被检测样品中齐帕特罗含量高于检测限，莱克多巴胺和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0212] 7、如图 4 中 G 所示检测线 T2 不显色，检测线 T1、T3 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗和沙丁胺醇阴性，莱克多巴胺阳性，表明被检测样品中齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限，莱克多巴胺含量高于检测限。

[0213] 8、如图 4 中 H 所示检测线 T1、T3 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为莱克多巴胺阴性，齐帕特罗和沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量低于检测限，齐帕特罗和沙丁胺醇含量高于检测限。

[0215] 9、如图 5 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都不显色,或者质控线 C 不显红色,检测结果无效。

[0216] 灵敏度试验:

[0217] 用 PBS 配制标准品梯度:0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 4 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 4 检测莱克多巴胺、齐帕特罗和沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 4-1、表 4-2、表 4-3。

[0218] 表 4-1 试纸 4 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0219]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 4 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 3	-	-	+	+	+	+

[0220] 表 4-2 试纸 4 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0221]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 4 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 3	-	-	+	+	+	+

[0222] 表 4-3 试纸 4 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0223]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 4 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 4 批 3	-	-	+	+	+	+

[0224] 注:“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0225] 试纸的准确度试验

[0226] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测,每个样品重复 5 次,检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 4-4、表 4-5、表 4-6。

[0227] 表 4-4 试纸 4 准齐帕特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
[0228] 牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
[0229] 动物内脏	-	-	+	+	+

[0230] 表 4-5 试纸 4 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
[0231] 牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0232] 表 4-6 试纸 4 沙丁胺醇准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
[0233] 牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0234] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0235] 实施例 5 齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三联检测试纸（试纸 5）：

[0236] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 4 所示，T3 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2，T2 与 T3 两条线之间间隔 2-4mm。

[0237] 检测结果判定：

[0238] 1、如图 4 中 A 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺三种 β 兴奋剂含量低于检测限。

[0239] 2、如图 4 中 B 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 显红色，检测线 T3 不显色，检测结果为莱克多巴胺阳性，齐帕特罗、克伦特罗阴性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量高于检测

限,齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0240] 3、如图 4 中 C 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色,检测线 T2、T3 不显色,检测结果为齐帕特罗阴性,克伦特罗和莱克多巴胺阳性,表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限,克伦特罗和莱克多巴胺含量高于检测限。

[0241] 4、如图 4 中 D 所示检测线 T1、T2、T3 不显色,质控线 C 显红色,检测结果为齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺阳性,表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗和莱克多巴胺含量高于检测限。

[0242] 5、如图 4 中 E 所示检测线 T1、T2 不显色,检测线 T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗和克伦特罗阳性,莱克多巴胺阴性,表明被检测样品齐帕特罗和克伦特罗含量高于检测限,莱克多巴胺含量低于检测限。

[0243] 6、如图 4 中 F 所示检测线 T1 不显色,检测线 T2、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗阳性,克伦特罗和莱克多巴胺阴性,表明被检测样品中齐帕特罗含量高于检测限,克伦特罗和莱克多巴胺含量低于检测限。

[0244] 7、如图 4 中 G 所示检测线 T2 不显色,检测线 T1、T3 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗和莱克多巴胺阴性,克伦特罗阳性,表明被检测样品中齐帕特罗和莱克多巴胺含量低于检测限,克伦特罗含量高于检测限。

[0245] 8、如图 4 中 H 所示检测线 T1、T3 不显色,检测线 T2 和质控线 C 都显红色,检测结果为克伦特罗阴性,齐帕特罗和莱克多巴胺阳性,表明被检测样品中克伦特罗含量低于检测限,齐帕特罗和莱克多巴胺含量高于检测限。

[0246] 9、如图 5 所示检测线 T1、T2、T3 和质控线 C 都不显色,或者质控线 C 不显红色,检测结果无效。

[0247] 灵敏度试验:

[0248] 用 PBS 配制标准品梯度:0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 5 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 5 检测克伦特罗、齐帕特罗和莱克多巴胺的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 5-1、表 5-2、表 5-3。

[0249] 表 5-1 试纸 5 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0250]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 5 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 3	-	-	+	+	+	+

[0251] 表 5-2 试纸 5 克伦特罗灵敏度试验结果

[0252]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 5 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 3	-	-	+	+	+	+

[0253] 表 5-3 试纸 5 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0254]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 5 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 5 批 3	-	-	+	+	+	+

[0255] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0256] 试纸的准确度试验：

[0257] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 5-4、表 5-5、表 5-6。

[0258] 表 5-4 试纸 5 齐帕特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶		-	-	+	+	+
尿		-	-	+	+	+
血清		-	-	+	+	+
饲料		-	-	+	+	+
动物组织		-	-	+	+	+
动物内脏		-	-	+	+	+

[0260] 表 5-5 试纸 5 克伦特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶		-	-	+	+	+
尿		-	-	+	+	+
血清		-	-	+	+	+
饲料		-	-	+	+	+
动物组织		-	-	+	+	+
动物内脏		-	-	+	+	+

[0261]

[0262] 表 5-6 试纸 5 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0264] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0265] 实施例 6 莱克多巴胺和克伦特罗二联检测试纸（试纸 6）：

[0266] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 6 所示，T2 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0267] 检测结果判定：

[0268] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中莱克多巴胺和克伦特罗含量低于检测限。

[0269] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2 不显色，检测结果为莱克多巴胺阴性，克伦特罗阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量低于检测限，克伦特罗含量高于检测限。

[0270] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为莱克多巴胺、克伦特罗阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺、克伦特罗含量高于检测限。

[0271] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为莱克多巴胺阳性，克伦特罗阴性，表明被检测样品莱克多巴胺含量高于检测限，克伦特罗含量低于检测限。

[0272] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0273] 灵敏度试验：

[0274] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 6 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 6 检测克伦特罗、莱克多巴胺的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 6-1、表 6-2。

[0275] 表 6-1 试纸 6 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0276]

试纸类型	抗原浓度					
	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 6 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 6 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 6 批 3	-	-	+	+	+	+

[0277] 表 6-2 试纸 6 克伦特罗灵敏度试验结果

[0278]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 6 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 6 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 6 批 3	-	-	+	+	+	+

[0279] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0280] 试纸的准确度试验：

[0281] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 6 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 6-3、表 6-4。

[0282] 表 6-3 试纸 6 莱克多巴胺准确度试验结果

抗原浓度 样品	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+

动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0285] 表 6-4 试纸 6 克伦特罗准确度试验结果

抗原浓度 样品	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0287] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0288] 实施例 7 莱克多巴胺和沙丁胺醇二联检测试纸（试纸 7）：

[0289] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 6 所示，T2 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0290] 检测结果判定：

[0291] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中莱克多巴胺和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0292] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2 不显色，检测结果为莱克多巴胺阴性，沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量低于检测限，沙丁胺醇含量高于检测限。

[0293] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为莱克多巴胺、沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺、沙丁胺醇含量高于检测限。

[0294] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为莱克多巴胺阳性，沙丁胺醇阴性，表明被检测样品莱克多巴胺含量高于检测限，沙丁胺醇含量低于检测限。

[0295] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0296] 灵敏度试验：

[0297] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 7 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 7 检测莱克多巴胺和沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 7-1、表 7-2。

[0298] 表 7-1 试纸 7 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0299]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 7 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 7 批 2	-	-	+	+	+	+

[0300]

试纸 7 批 3	-	-	+	+	+	+
----------	---	---	---	---	---	---

[0301] 表 7-2 试纸 7 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0302]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 7 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 7 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 7 批 3	-	-	+	+	+	+

[0303] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0304] 试纸的准确度试验：

[0305] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 7 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测

结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 7-3、表 7-4。

[0306] 表 7-3 试纸 7 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0308] 表 7-4 试纸 7 沙丁胺醇准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0310] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0311] 实施例 8 沙丁胺醇和克伦特罗二联检测试纸（试纸 8）：

[0312] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 6 所示，T2 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0313] 检测结果判定：

[0314] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇和克伦特罗含量低于检测限。

[0315] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2 不显色，检测结果为沙丁胺醇阴性，克伦特罗阳性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量低于检测限，克伦特罗含量高于检测限。

[0316] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为沙丁胺醇、克伦特罗阳性，表明被检测样品中沙丁胺醇、克伦特罗含量高于检测限。

[0317] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为沙丁胺醇阳性，克伦特罗阴性，表明被检测样品沙丁胺醇含量高于检测限，克伦特罗含量低于检测限。

[0318] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0319] 灵敏度试验：

[0320] 用 PBS 配制标准品梯度 :0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 8 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 8 检测克伦特罗、沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 8-1、表 8-2。

[0321] 表 8-1 试纸 8 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0322]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 8 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 8 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 8 批 3	-	-	+	+	+	+

[0323] 表 8-2 试纸 8 克伦特罗灵敏度试验结果

[0324]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 8 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 8 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 8 批 3	-	-	+	+	+	+

[0325] 注:“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0326] 试纸的准确度试验:

[0327] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测,每个样品重复 5 次,选用生产的试纸 8 中的其中一批用于检测,检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 8-3、表 8-4。

[0328] 表 8-3 试纸 8 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
[0329]	牛奶	-	-	+	+	+
	尿	-	-	+	+	+

[0330]	血清	-	-	+	+	+
	饲料	-	-	+	+	+
	动物组织	-	-	+	+	+
	动物内脏	-	-	+	+	+

[0331] 表 8-4 试纸 8 克伦特罗准确度试验结果

[0332]

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0333] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0334] 实施例 9 齐帕特罗和沙丁胺醇二联检测试纸（试纸 9）：

[0335] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 6 所示，T2 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0336] 检测结果判定：

[0337] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗和沙丁胺醇含量低于检测限。

[0338] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2 不显色，检测结果为齐帕特罗阴性，沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限，沙丁胺醇含量高于检测限。

[0339] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为齐帕特罗、沙丁胺醇阳性，表明被检测样品中齐帕特罗、沙丁胺醇含量高于检测限。

[0340] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗阳性，沙丁胺醇阴性，表明被检测样品齐帕特罗含量高于检测限，沙丁胺醇含量低于检测限。

[0341] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0342] 灵敏度试验：

[0343] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 9 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 9 检测齐帕特罗和沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 9-1、表 9-2。

[0344] 表 9-1 试纸 9 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0345]

试纸类型	抗原浓度					
	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml

[0346]

试纸 9 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 9 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 9 批 3	-	-	+	+	+	+

[0347] 表 9-2 试纸 9 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0348]

试纸类型 \ 抗原浓度	0	1.5	3.0	4.5	10	100
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
试纸 9 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 9 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 9 批 3	-	-	+	+	+	+

[0349] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0350] 试纸的准确度试验：

[0351] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 9 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 9-3、表 9-4。

[0352] 表 9-3 试纸 9 齐帕特罗准确度试验结果

[0353]

样品 \ 抗原浓度	阴性	1.5	3.0	10	100
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0354] 表 9-4 试纸 9 沙丁胺醇准确度试验结果

[0355]

样品 \ 抗原浓度	阴性	1.5	3.0	10	100
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0356] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0357] 实施例 10 齐帕特罗和克伦特罗二联检测试纸 (试纸 10) :

[0358] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原,如图 6 所示,T2 距离检测区底部 6-8mm ;质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG,距离检测区顶部 6-8mm ;C 线与 T1, T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0359] 检测结果判定 :

[0360] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色,表示检测结果为阴性,表明被检测样品中齐帕特罗和克伦特罗含量低于检测限。

[0361] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色,检测线 T2 不显色,检测结果为齐帕特罗阴性,克伦特罗阳性,表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限,克伦特罗含量高于检测限。

[0362] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色,质控线 C 显红色,检测结果为齐帕特罗、克伦特罗阳性,表明被检测样品中齐帕特罗、克伦特罗含量高于检测限。

[0363] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色,检测线 T2 和质控线 C 都显红色,检测结果为齐帕特罗阳性,克伦特罗阴性,表明被检测样品齐帕特罗含量高于检测限,克伦特罗含量低于检测限。

[0364] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色,或者质控线 C 不显红色,检测结果无效。

[0365] 灵敏度试验 :

[0366] 用 PBS 配制标准品梯度 :0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 10 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 10 检测克伦特罗、齐帕特罗的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 10-1、表 10-2。

[0367] 表 10-1 试纸 10 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0368]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 10 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 10 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 10 批 3	-	-	+	+	+	+

[0369] 表 10-2 试纸 10 克伦特罗灵敏度试验结果

[0370]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 10 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 10 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 10 批 3	-	-	+	+	+	+

[0371] 注 :“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0372] 试纸的准确度试验 :

[0373] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴

奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 10 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 10-3、表 10-4。

[0374] 表 10-3 试纸 10 齐帕特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度					
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml	
牛奶	-	-	+	+	+	
尿	-	-	+	+	+	
血清	-	-	+	+	+	
饲料	-	-	+	+	+	
动物组织	-	-	+	+	+	
动物内脏	-	-	+	+	+	

[0377] 表 10-4 试纸 10 克伦特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度					
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml	
牛奶	-	-	+	+	+	
尿	-	-	+	+	+	
血清	-	-	+	+	+	
饲料	-	-	+	+	+	
动物组织	-	-	+	+	+	
动物内脏	-	-	+	+	+	

[0379] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0380] 实施例 11 齐帕特罗和莱克多巴胺二联检测试纸（试纸 11）：

[0381] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 6 所示，T2 距离检测区底部 6-8mm；质控线包被有浓度为 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 6-8mm；C 线与 T1，T1 与 T2 两条线之间间隔 2-4mm。

[0382] 检测结果判定：

[0383] 1、如图 6 中 A 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中齐帕特罗和莱克多巴胺含量低于检测限。

[0384] 2、如图 6 中 B 所示检测线 T1 和质控线 C 显红色，检测线 T2 不显色，检测结果为齐帕特罗阴性，莱克多巴胺阳性，表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限，莱克多巴胺含量高于检测限。

[0385] 3、如图 6 中 C 所示检测线 T1、T2 不显色，质控线 C 显红色，检测结果为齐帕特罗、莱克多巴胺阳性，表明被检测样品中齐帕特罗、莱克多巴胺含量高于检测限。

[0386] 4、如图 6 中 D 所示检测线 T1 不显色，检测线 T2 和质控线 C 都显红色，检测结果为齐帕特罗阳性，莱克多巴胺阴性，表明被检测样品齐帕特罗含量高于检测限，莱克多巴胺含量低于检测限。

[0387] 5、如图 7 所示检测线 T1、T2 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0388] 灵敏度试验：

[0389] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 11 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 11 检测莱克多巴胺、齐帕特罗的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 11-1、表 11-2。

[0390] 表 11-1 试纸 11 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0391]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 11 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 11 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 11 批 3	-	-	+	+	+	+

[0392] 表 11-2 试纸 11 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0393]

抗原浓度 试纸类型	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 11 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 11 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 11 批 3	-	-	+	+	+	+

[0394] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0395] 试纸的准确度试验

[0396] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 11 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 11-3、表 11-4。

[0397] 表 11-3 试纸 11 齐帕特罗准确度试验结果

[0398]

抗原浓度 样品	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0399] 表 11-4 试纸 11 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
	[0400]	牛奶	-	-	+	+
	尿	-	-	+	+	+
	血清	-	-	+	+	+
	饲料	-	-	+	+	+
	动物组织	-	-	+	+	+
	动物内脏	-	-	+	+	+

[0401] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0402] 实施例 12 莱克多巴胺检测试纸（试纸 12）：

[0403] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 8 所示，检测线（T 线）距离检测区底部 8-10mm；质控线包被有浓度 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 8-10mm；两条线之间间隔 4-6mm。

[0404] 检测结果判定：

[0405] 1、如图 8 中 A 所示检测线 T 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量低于检测限。

[0406] 2、如图 8 中 B 所示质控线 C 显红色，检测线 T 不显色，检测结果为阳性，表明被检测样品中莱克多巴胺含量高于检测限。

[0407] 3、如图 8 中 C、D 所示检测线 T 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0408] 灵敏度试验：

[0409] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 12 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 12 检测莱克多巴胺的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 12-1。

[0410] 表 12-1 试纸 12 莱克多巴胺灵敏度试验结果

[0411]

试纸类型	抗原浓度	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
	试纸 12 批 1		-	-	+	+	+
试纸 12 批 2		-	-	+	+	+	+
试纸 12 批 3		-	-	+	+	+	+

[0412] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0413] 试纸的准确度试验：

[0414] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 12 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 12-2。

[0415] 表 12-2 试纸 12 莱克多巴胺准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5	3.0	10	100
			ng/g	ng/g	ng/g	ng/ml
[0416]	牛奶	-	-	+	+	+
	尿	-	-	+	+	+
	血清	-	-	+	+	+
	饲料	-	-	+	+	+
	动物组织	-	-	+	+	+
	动物内脏	-	-	+	+	+

[0417] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0418] 实施例 13 克伦特罗检测试纸（试纸 13）：

[0419] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 8 所示，检测线（T 线）距离检测区底部 8-10mm；质控线包被有浓度 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 8-10mm；两条线之间间隔 4-6mm。

[0420] 检测结果判定：

[0421] 1、如图 8 中 A 所示检测线 T 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中克伦特罗含量低于检测限。

[0422] 2、如图 8 中 B 所示质控线 C 显红色，检测线 T 不显色，检测结果为阳性，表明被检测样品中克伦特罗含量高于检测限。

[0423] 3、如图 8 中 C、D 所示检测线 T 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0424] 灵敏度试验：

[0425] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 13 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 13 检测克伦特罗的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 13-1。

[0426] 表 13-1 试纸 13 克伦特罗灵敏度试验结果

[0427]

抗原浓度	0	1.5	3.0	4.5	10	100
试纸类型	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
试纸 13 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 13 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 13 批 3	-	-	+	+	+	+

[0428] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0429] 试纸的准确度试验：

[0430] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 13 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检

测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 13-2。

[0431] 表 13-2 试纸 13 克伦特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度				
	阴性	1.5 ng/g	3.0 ng/g	10 ng/g	100 ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0433] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0434] 实施例 14 沙丁胺醇检测试纸（试纸 14）：

[0435] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原，如图 8 所示，检测线（T 线）距离检测区底部 8-10mm；质控线包被有浓度 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG，距离检测区顶部 8-10mm；两条线之间间隔 4-6mm。

[0436] 检测结果判定：

[0437] 1、如图 8 中 A 所示检测线 T 和质控线 C 都显红色，表示检测结果为阴性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量低于检测限。

[0438] 2、如图 8 中 B 所示质控线 C 显红色，检测线 T 不显色，检测结果为阳性，表明被检测样品中沙丁胺醇含量高于检测限。

[0439] 3、如图 8 中 C、D 所示检测线 T 和质控线 C 都不显色，或者质控线 C 不显红色，检测结果无效。

[0440] 灵敏度试验：

[0441] 用 PBS 配制标准品梯度：0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 14 三批来检测，每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 14 检测沙丁胺醇的检测限为 3.0ng/ml，具体结果见表 14-1。

[0442] 表 14-1 试纸 14 沙丁胺醇灵敏度试验结果

[0443]

试纸类型	抗原浓度					
	0 ng/ml	1.5 ng/ml	3.0 ng/ml	4.5 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
试纸 14 批 1	-	-	+	+	+	+
试纸 14 批 2	-	-	+	+	+	+
试纸 14 批 3	-	-	+	+	+	+

[0444] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

[0445] 试纸的准确度试验：

[0446] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，

每个样品重复 5 次,选用生产的试纸 14 中的其中一批用于检测,检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 14-2。

[0447] 表 14-2 试纸 14 沙丁胺醇准确度试验结果

样品	抗原浓度	阴性	1.5	3.0	10	100
			ng/g	ng/g	ng/g	ng/ml
[0448] 牛奶		-	-	+	+	+
尿		-	-	+	+	+
血清		-	-	+	+	+
饲料		-	-	+	+	+
动物组织		-	-	+	+	+
动物内脏		-	-	+	+	+

[0449] 注:“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0450] 实施例 15 齐帕特罗检测试纸(试纸 15):

[0451] 试纸检测线包被有浓度为 0.5-2.0mg/mL 的 β 兴奋剂检测用抗原,如图 8 所示,检测线(T 线)距离检测区底部 8-10mm;质控线包被有浓度 0.5-1.5mg/mL 的羊抗鼠 IgG,距离检测区顶部 8-10mm;两条线之间间隔 4-6mm。

[0452] 检测结果判定:

[0453] 1、如图 8 中 A 所示检测线 T 和质控线 C 都显红色,表示检测结果为阴性,表明被检测样品中齐帕特罗含量低于检测限。

[0454] 2、如图 8 中 B 所示质控线 C 显红色,检测线 T 不显色,检测结果为阳性,表明被检测样品中齐帕特罗含量高于检测限。

[0455] 3、如图 8 中 C、D 所示检测线 T 和质控线 C 都不显色,或者质控线 C 不显红色,检测结果无效。

[0456] 灵敏度试验:

[0457] 用 PBS 配制标准品梯度:0、1.5、3、4.5、10、100ng/ml。用生产的试纸 15 三批来检测,每批每个浓度重复试验 5 次。得到的试验结果是以 β 兴奋剂试纸 15 检测齐帕特罗的检测限为 3.0ng/ml,具体结果见表 15-1。

[0458] 表 15-1 试纸 15 齐帕特罗灵敏度试验结果

[0459]

试纸类型	抗原浓度	0	1.5	3.0	4.5	10	100
		ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
试纸 15 批 1		-	-	+	+	+	+
试纸 15 批 2		-	-	+	+	+	+
试纸 15 批 3		-	-	+	+	+	+

[0460] 注:“-”表示检测结果阴性,“+”表示检测结果阳性。

[0461] 试纸的准确度试验:

[0462] 在牛奶、尿样、饲料、血清、动物组织、动物内脏等经确证为阴性样品中添加 β 兴

奋剂使样品中的 β 兴奋剂浓度为 1.5ng/g、3.0ng/g、10ng/g、100ng/g。经过前处理后检测，每个样品重复 5 次，选用生产的试纸 15 中的其中一批用于检测，检测结果与标准品溶液检测结果的检测限符合率 100%。具体结果见表 15-2。

[0463] 表 15-2 试纸 15 齐帕特罗准确度试验结果

样品	抗原浓度	1.5	3.0	10	100
	阴性	ng/g	ng/g	ng/g	ng/ml
牛奶	-	-	+	+	+
尿	-	-	+	+	+
血清	-	-	+	+	+
饲料	-	-	+	+	+
动物组织	-	-	+	+	+
动物内脏	-	-	+	+	+

[0465] 注：“-”表示检测结果阴性，“+”表示检测结果阳性。

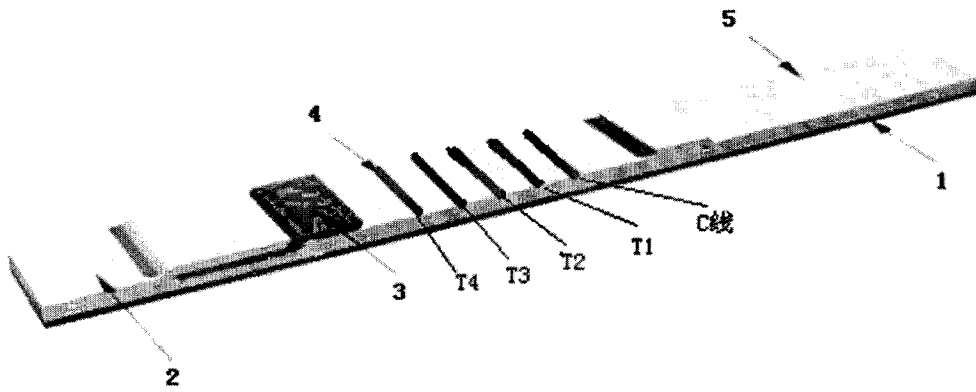


图 1

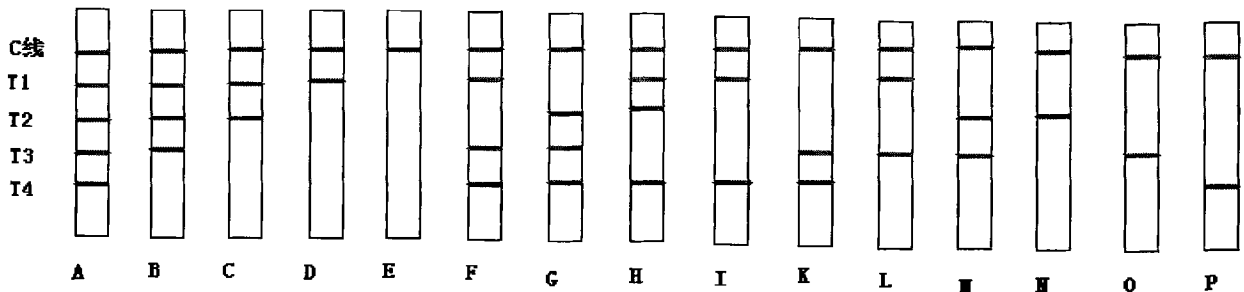


图 2

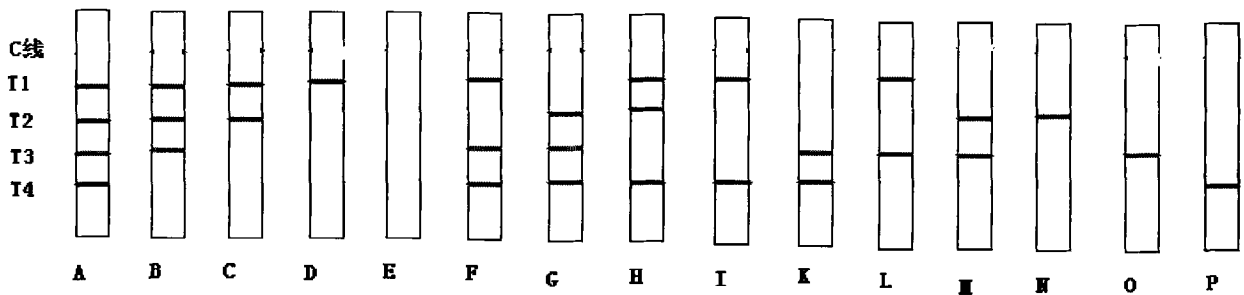


图 3

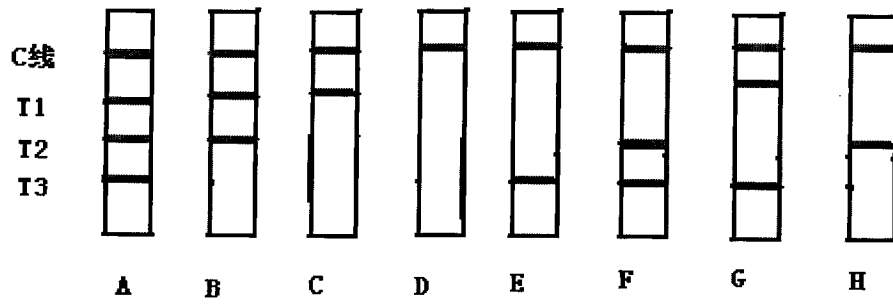


图 4

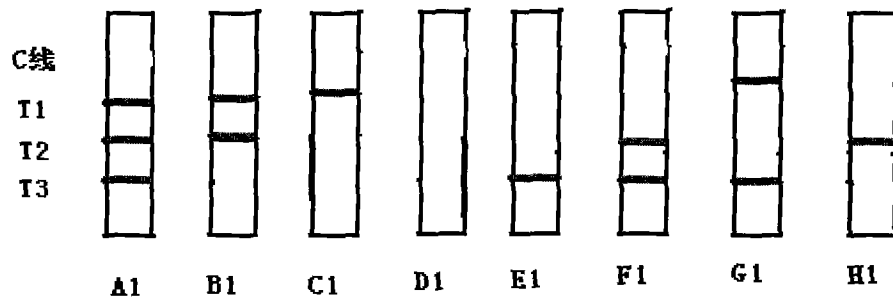


图 5

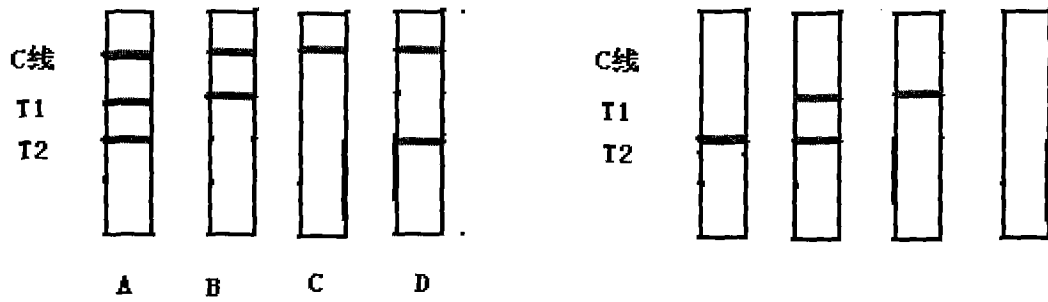


图 6

图 7

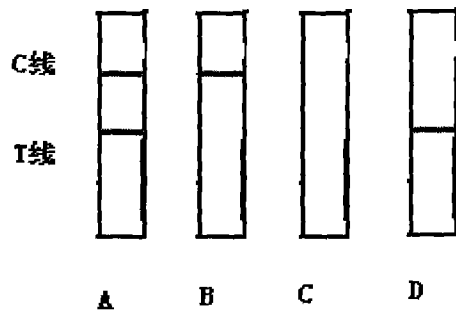


图 8

专利名称(译)	检测β兴奋剂的免疫层析试纸及其检测方法		
公开(公告)号	CN101706506A	公开(公告)日	2010-05-12
申请号	CN200910154753.7	申请日	2009-12-03
[标]申请(专利权)人(译)	杭州迪恩科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	杭州迪恩科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	杭州迪恩科技有限公司		
[标]发明人	王旻子 张明洲 鲍伟华 程晔 魏建良 于洪侠 陈宗伦		
发明人	王旻子 张明洲 鲍伟华 程晔 魏建良 于洪侠 陈宗伦		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/577 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测β兴奋剂的免疫层析试纸及其检测方法，该试纸的胶体金属标记垫所包被物质为一种β兴奋剂抗体或多种β兴奋剂抗体的胶体金属标记物的混合物，该试纸检测反应区上的检测线的条数与胶体金属标记垫包被β兴奋剂抗体的数目相应，每条检测线上分别包被有与胶体金属标记抗体相应的单一的β兴奋剂检测用抗原。本发明的试纸操作简单方便，对牛奶、血清、动物尿液可直接检测，动物组织、动物内脏、饲料、小麦、玉米、大麦等样品简单处理后即可检测，3-5min以后便可观察结果。本方法适用面宽，能满足食品安全、饲料安全及政府检测机构快速检测β兴奋剂的需求。

