



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101144819 B

(45) 授权公告日 2011.08.17

(21) 申请号 200710177136.X

(22) 申请日 2007.11.09

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 2197 2007.10.16

(73) 专利权人 北京望尔生物技术有限公司

地址 100094 北京市海淀区圆明园西路2号
院10号房

(72) 发明人 沈建忠 何方洋 万宇平 冯才伟
赵正苗 吴小平 冯才茂 朱亮

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

代理人 王朋飞

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

C12N 5/12(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1807601 A, 2006.07.26, 说明书第1页倒数第5段至第2页第2段, 第5-6页实施例2, 以及图2.

CN 1888056 A, 2007.01.03, 说明书第2页第2段至第3页第1段, 第8-9页实施例2, 以及图2.

CN 1811437 A, 2006.08.02, 说明书第1页倒数第4段至第2页.

审查员 王航

权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种检测磺胺喹噁啉药物残留的胶体金试纸卡

(57) 摘要

本发明提供了一种检测磺胺喹噁啉药物的胶体金免疫试纸卡, 包括反应膜、样本垫、结合物释放垫、吸水垫和背衬, 其特征在于, 所述反应膜上具有包被磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠 IgG 的质控区, 所述结合物释放垫包被磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物。本发明还提供了一种应用上述试纸卡检测磺胺喹噁啉药物的方法, 它包括步骤: 首先进行样本前处理, 然后用试纸卡进行检测, 最后分析检测结果。本发明提供的试纸卡可用于检测动物源性食品如鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝、尿液、蜂蜜中的磺胺喹噁啉药物残留量, 其操作简单、成本低、灵敏度高、检测速度快、适合大规模推广、能够现场监控且适合大量样本筛查。

1. 一种检测磺胺喹噁啉药物的胶体金试纸卡,包括反应膜、样本垫、结合物释放垫、吸水垫和背衬,其特征在于,所述反应膜上具有包被磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠 IgG 的质控区,所述结合物释放垫包被磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物;

其中,磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物中的磺胺喹噁啉药物单克隆抗体是由磺胺喹噁啉药物单克隆杂交瘤细胞株 C-1-1,保藏号为 CGMCC No. 2197 分泌获得。

2. 如权利要求 1 所述的胶体金试纸卡,其特征在于,磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物由磺胺喹噁啉与对羧基苯甲醛反应得到含一个苯环间隔臂的磺胺喹噁啉半抗原,然后与载体蛋白偶联得到。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的胶体金试纸卡,其特征在于,所述磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物中的磺胺喹噁啉药物单克隆抗体是,以磺胺喹噁啉与对羧基苯甲醛反应得到含一个苯环间隔臂的磺胺喹噁啉半抗原与载体蛋白偶联作为免疫原制备获得。

4. 权利要求 1 ~ 3 任一项所述的胶体金试纸卡在检测磺胺喹噁啉药物残留中的应用。

5. 一种制备权利要求 1 ~ 3 任一项所述胶体金试纸卡的方法,其包括步骤:

1) 制备包被磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物的结合物释放垫;

2) 制备具有包被磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠 IgG 的质控区的反应膜;

3) 将 1) 和 2) 制备好的结合物释放垫、反应膜与样本垫、吸水垫和背衬组装成试纸卡。

6. 一种检测样本中磺胺喹噁啉药物残留的方法,其包括步骤:

1) 样本前处理;

2) 用权利要求 1 ~ 3 任意一项所述的试纸卡进行检测;

3) 分析检测结果。

7. 一种磺胺喹噁啉药物的单克隆杂交瘤细胞株 C-1-1,其保藏号为 CGMCC No. 2197。

一种检测磺胺喹噁啉药物残留的胶体金试纸卡

技术领域

[0001] 本发明属于兽药残留的免疫化学速测技术领域,借助胶体金标记显色的免疫层析反应,快速检测磺胺喹噁啉药物残留。

背景技术

[0002] 磺胺喹噁啉 (Sulfaquinoxaline) 是一类预防和治疗细菌感染性疾病的化学治疗药物。曾对畜禽疾病控制和治疗起到了重要作用。但由于存在严重的副作用,在人体中长期存在会导致细菌对磺胺喹噁啉产生抗药性,且有潜在的致癌性。因此我国、美国、欧盟等规定了动物源性食品中磺胺喹噁啉药物最高残留限量 (MRLS) 为 0.1mg/kg。

[0003] 目前 SQX 残留常用的检测方法有两种。一种是色谱分析,如高效液相色谱法 (HPLC),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。另一种为免疫学方法,如酶联免疫吸附法 (ELISA)。它的缺点是检测时间长,费用较高,不利于在基层单位推广使用。而且,这两种方法都需要专业技术人员进行操作。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于针对上述不足提供一种敏感度高、成本低、操作简单、检测时间短的试纸卡。

[0005] 本发明提供了一种用于检测 SQX 胶体金免疫试纸卡,包括样本垫、包被有 SQX 单克隆抗体-胶体金标记物的结合物释放垫、具有包被 SQX-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠 IgG 的质控区的反应膜、吸水垫、背衬。

[0006] 本发明的磺胺喹噁啉 (SQX) 快速检测试纸卡采用高度特异性的抗体抗原反应及免疫层析分析技术,在反应膜测试区包被 SQX-载体蛋白偶联抗原、结合物释放垫包被胶体金标记的 SQX 单克隆抗体,利用竞争法来检测待测样品中是否含有 SQX。通过待测样品中 SQX 与包被在反应膜上的 SQX-载体蛋白偶联物共同竞争 SQX 单克隆抗体-胶体金标记物,根据测试区红色条带有无或颜色深浅来判断待测样品液中是否含有 SQX 或含量多少。

[0007] 检测时,样品滴入试剂卡孔内,当 SQX 在样品中浓度低于 10ng/ml 时,胶体金抗体在层析过程中会被固定在反应膜上的磺胺喹噁啉偶联物结合,在测试区 (T) 质控区 (C) 内会出现各一条红色条带。如果 SQX 在样品中浓度高于 10ng/ml 时,胶体金抗体与 SQX 全部结合,从而在 (T) 区内因为竞争反应不会与磺胺喹噁啉偶联物结合而不出现红色条带。阴性样品在检测过程中由于缺少抗原抗体竞争反应,将会在 (T) 区与 (C) 区内出现红色条带。

[0008] 阳性:当 (C) 区显示出红色条带,而 (T) 区不显色时,判为阳性。

[0009] 阴性:当 (C) 区显示出红色条带,(T) 区同时也显示出红色条带,且 (T) 区颜色接近 (C) 线或者浅于 (C) 线时,判为阳性。

[0010] 无效:当 (C) 区不显示出红色条带,则无论 (T) 区显示出红色条带与否,该试纸卡判为无效。

[0011] 本发明还提供了制备上述试纸卡的方法,其包括步骤:

- [0012] 1) 制备包被磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物的结合物释放垫；
- [0013] 2) 制备具有包被磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠 IgG 的质控区的反应膜；
- [0014] 3) 将 1) 和 2) 制备好的结合物释放垫、反应膜与样本垫、吸水垫和背衬组装成试纸卡。
- [0015] 具体地说,其步骤包括：
- [0016] (1) 半抗原制备:将磺胺喹恶啉与对羧基苯甲醛反应得到含一个苯环间隔臂的磺胺喹恶啉半抗原；
- [0017] (2) 将磺胺喹噁啉与载体蛋白偶联,形成磺胺喹噁啉-载体蛋白偶联物；
- [0018] (3) 用磺胺喹噁啉-载体蛋白偶联物免疫小鼠,将小鼠脾细胞和小鼠骨髓瘤细胞通过融合、筛选,得到分泌 SQX 的单克隆抗体杂交瘤细胞株；
- [0019] (4) 提取小鼠 IgG 免疫健康山羊,得到羊抗鼠 IgG 抗体；
- [0020] (5) 用柠檬酸三钠与氯金酸反应制备胶体金；
- [0021] (6) 将制备的 SQX 单克隆抗体加入步骤 5) 制备的胶体金中,得到 SQX 单克隆抗体-胶体金标记物；
- [0022] (7) 将 SQX 单克隆抗体-胶体金标记物包被在结合物释放垫上,用含 0.1~1.5% 卵清蛋白的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠配制的缓冲液浸湿 30 秒,37℃ 烘 2h 备用；
- [0023] (8) 将磺胺喹噁啉-人血清白蛋白偶联物 (HSA) 包被在反应膜上构成测试区,并将羊抗鼠 IgG 包被在反应膜上构成质控区,用含 0.1% 牛血清的封闭液进行封闭；
- [0024] (9) 将样本垫:0.1~1.5% 的兔血清蛋白、1~1.5% 吐温-20 用磷酸氢二钠和磷酸二氢钠配制的缓冲液浸泡 2h,37℃ 烘 2h 备用；
- [0025] (10) 磺胺喹噁啉胶体金试纸卡的组装:在背衬上按顺序依次粘附反应膜、吸水垫、结合物释放垫和样本垫,然后切成 3mm 宽的小条,加塑料盒,真空包装。本发明的试纸卡将样本垫盖住结合物释放垫可以延长检测结果的观察时间,样本垫也可以将检测液体充分吸收能与金标抗体完全接触充分反应、减少误差。
- [0026] 本发明的胶体金试纸卡具有敏感度高、价格低、操作简单、检测时间短、适合各种单位使用、储存简单、保质期长等优点。

附图说明

- [0027] 图 1 为本发明检测试纸卡的组装示意图；
- [0028] 图 2 为本发明的检测结果分析示意图。
- [0029] 图中 1、样本垫；2、结合物释放垫；3、反应膜；4、吸收垫；5、测试区；6、质控区；7、背衬。

具体实施方式

[0030] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不是用来限制本发明的范围。

[0031] 实施例 1 SQX 检测试纸卡的制备

[0032] 1、SQX-载体蛋白偶联物的合成与鉴定

[0033] (1) SQX-人血清蛋白(HSA)偶联物的合成

[0034] 用 0.1mol/L 盐酸溶液配置 4mol/L 的 SQX, 滴加 1% NaNO₂(过量), 4℃持续搅拌。NaNO₂的加入量可用淀粉-碘化钾试纸或在白色瓷砖上加 1%淀粉和 50mol/L KI 进行监控。游离亚硝酸可将碘化物氧化成碘。碘再与淀粉反应变成黑蓝色。溶液变成黑蓝色后, 继续反应 15min。用 pH8.6 浓度为 2.0mol/L 的硼酸缓冲液溶解人血清蛋白质。边搅拌边加入重氮化的半抗原(防止局部发生酸过量现象), 调节 pH 至 9.5。冰箱中搅拌反应 2h, 调节 pH 至 9.0。用 PBS 透析 2 天, -20℃保存(浓度为 20mg/ml)。

[0035] (2) 磺胺喹噁啉-卵清蛋白的合成

[0036] 取碳化二亚胺 100mg 用 pH8.0 的 10mol/LPBS 液 2.5ml 充分溶解(简称 1 液); 取磺胺喹噁啉 20mg 用 0.2mol/L 氢氧化钠溶液 2ml 溶解(2 液); 取卵清蛋白 25mg 溶于 4ml 10mol/L 的 PB(pH8.0) 液中(3 液); 将(2 液)与(3 液)混合, 在磁力搅拌下逐渐加入(1 液)(余下 0.5ml)。4℃搅拌 12h。静置 10h(4℃)。用蒸馏水使之充分透析(约 48h), 得免疫原。

[0037] (3) 磺胺喹噁啉-载体偶联物的鉴定

[0038] 将载体蛋白、SQX 半抗原、SQX-载体蛋白偶联物用 pH7.4 的 PBS 配成 0.5mg/ml 的溶液, 以 0.01mol/LpH7.4 PBS 调零, 用紫外分光光度计在波长 200-800nm 范围内扫描, 得到载体蛋白、SQX 半抗原、SQX-载体蛋白偶联物的吸收曲线。三者出现不同的吸收曲线, 表明 SQX 与载体蛋白偶联成功。

[0039] 2、磺胺喹噁啉单克隆抗体的制备

[0040] (1) 动物免疫

[0041] 将免疫原注入到 Balb/c 小鼠体内, 免疫剂量为 80 μg/只, 使其产生多克隆抗体。

[0042] (2) 细胞融合和克隆化

[0043] 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, 采用间接竞争 ELISA 法测定细胞上清液, 筛选阳性孔。利用有限稀释法对阳性孔进行克隆化, 直到得到稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。取其中一效价较高的单克隆细胞株命名为 c-1-1, 该细胞株已于 2007 年 10 月 16 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(地址:北京市朝阳区大屯路, 中国科学院微生物研究所), 保藏号为 CGMCC No. 2197。

[0044] (3) 细胞冻存和复苏

[0045] 将磺胺喹噁啉的单克隆杂交瘤细胞株 c-1-1 用冻存液制成 1×10^8 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℃水浴中速融, 离心去除冻存液后, 移入培养瓶内培养。

[0046] (4) 单克隆抗体的制备与纯化

[0047] 将 Balb/c 小鼠腹腔注入灭菌石蜡油 0.4ml/只, 7 天后腹腔注射磺胺喹噁啉的单克隆杂交瘤细胞株 c-1-1 5×10^5 个/只, 7 天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行纯化, 纯化后的腹水放入 -20℃环境保存。

[0048] 3、羊抗鼠抗抗体的制备: 以山羊作为免疫动物, 以鼠源抗体为免疫原对无病原体山羊进行免疫, 得到羊抗鼠抗抗体。

[0049] 4、SQX 单克隆抗体-胶体金标记物的制备

[0050] (1) 胶体金的制备

[0051] 用双蒸去离子水将 1% 氯金酸稀释成 0.01%，置磁力加热棒搅拌器上搅拌煮沸，每 100ml 0.01% 氯金酸加入 2ml 1% 柠檬酸三钠，继续煮沸，至液体呈红色时停止加热，冷却至室温后补足失水。制备好的胶体金外观应纯净、透亮、无沉淀和漂浮物，有效期为一个月。

[0052] (2) SQX 单克隆抗体 - 胶体金标记物的制备

[0053] 在磁力搅拌下，用 0.1M 碳酸钾调胶体金的 pH 值至 8.2，按 1~2 $\mu\text{g/ml}$ 抗体胶体金加入抗体 SQX 单克隆抗体，继续搅拌混匀 30min，加入 10% BSA 至终浓度为 1%，静置 30min。12000rpm、4℃ 离心 30min，弃上清液，沉淀用复溶缓冲液洗涤两次，用初始胶体金体积 1/20 的复溶缓冲液将沉淀重悬，置 4℃ 备用，保存 60 天。

[0054] 复溶缓冲液：用含牛血清白蛋白 (BSA) 0.02~0.1%，吐温 -200.05~0.2%，PVP-300 吡咯烷酮 0.3%，0.02M pH9.0 的硼酸复溶缓冲液。

[0055] 5、结合物释放垫的包被

[0056] 将结合物释放垫浸泡于含有 0.1~1.5% 的卵清蛋白的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠配制的缓冲液中浸湿 30 秒，37℃ 烘 2h；用 Biodot 点膜仪将制备好的 SQX 单克隆抗体 - 胶体金标记物均匀包被在结合物释放垫上，每 5cm² 结合垫包被 9 μL SQX 单克隆抗体 - 胶体金标记物，真空干燥，真空封装，置 4℃ 备用。

[0057] 6、硝酸纤维素膜的处理

[0058] 处理：包被 SQX-载体蛋白偶联物构成测试区，包被羊抗鼠 IgG 构成质控区，再用含 0.1% 牛血清的封闭液进行封闭。

[0059] 包被过程：将硝酸纤维素膜用磷酸缓冲液（含 3% 的甲醇）将磺胺嘧啶 - 人血清白蛋白 (HSA) 偶联物稀释到 10mg/mL，用 Biodot 点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜作为测试区，包被量为 0.7 $\mu\text{g/cm}^2$ ，测试区靠近结合垫端，距结合垫端约 8mm；用 0.01M pH7.4 PBS 缓冲液（含 3% 的甲醇）将羊抗鼠 IgG 抗体稀释到 200 $\mu\text{g/ml}$ ，用 Biodot 点膜仪将其包被于纤维素膜作为质控区，包被量为 0.7 $\mu\text{g/cm}^2$ ，质控区靠近吸水垫，距吸收垫约 8mm，两线距离 5~8mm。37℃ 烘干，封装。

[0060] 7、胶体金免疫试纸卡的组装

[0061] 在 PVC 背衬上按顺序粘附硝酸纤维素膜、吸水垫、结合物释放垫和样本垫，将贴样本垫盖住结合物释放垫，然后切成 3mm 宽的小条，加塑料盒，真空包装。原包装应在 18~25℃ 的环境中储存，有效期一年。本发明的试纸卡将样本垫盖住结合物释放垫可以延长检测结果观察时间，样本垫也可以将检测液体充分吸收能与金标抗体完全接触、充分反应，从而减少误差。

[0062] 实施例 3 样本中残留的检测

[0063] 1、样本前处理

[0064] (1) 动物组织（鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝）样本

[0065] 称取 2.0±0.05g 匀质过的组织样本于离心管中，盖紧瓶盖。将装有样品的离心管在微沸的水浴锅中水浴 10min，吸取三滴以上煮出的溶液倒入 1.5ml 的离心管中。如有明显黄色浑浊请离心，则使用上清液作为待测样品溶液。

[0066] (2) 尿液样本处理

[0067] 尿样本：一般可以直接检测，当尿液呈浑浊状态则采用滤纸过滤处理后，再进行点

样检测。

[0068] (3) 蜂蜜样本处理

[0069] 称取 $2.0 \pm 0.05\text{g}$ 蜂蜜置洁净的容器中,加 4ml 的硼酸盐缓冲液进行稀释。

[0070] 2、用试纸卡检测

[0071] 将样品用滴管滴入试剂卡孔内,滴加 3 滴,加后计时,5 ~ 8min 内观察结果。超过 10min 样品检测判读无效。

[0072] 3、检测结果分析

[0073] SQX 在样品中浓度高于 10ng/ml 时,胶体金抗体与 SQX 全部结合,从而在 (T) 区内因为竞争反应不会与 SQX 偶联物结合而不出现红色条带。阴性样品在检测过程中由于缺少抗体抗原竞争反应,将会在 (T) 区与 (C) 区内出现红色条带。如图 2 所示。

[0074] 阳性;当 (C) 区显红色条带,而 (T) 区不显色,判为阳性。

[0075] 阴性:当 (C) 区显示出红色条带,(T) 区同时也显示出红色条带,且 (T) 区颜色接近或浅于 (C) 区时,判为阴性。

[0076] 无效:当 (C) 区不显示出红色条带,则无论 (T) 区显示出红色条带与否,该试纸卡判为无效。

[0077] 实施例 4 样品检测实例

[0078] 取已知含有 SQX 浓度大于 10ng/g 的鸡蛋、鸡肉、蜂蜜样品各 15 份和阴性样品各 15 份,每个样品重复检测 2 次,计算其阴阳性率。结果如表 1、表 2 和表 3 所示。

[0079] 表 1 鸡蛋样本阴阳性率检测

[0080]

| | | | | | | | | | | | |
|----------|----------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| 阴性 样本 | 样本 编号 | 样本 1 | | 样本 2 | | 样本 3 | | 样本 4 | | 样本 5 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 样本 编号 | 样本 6 | | 样本 7 | | 样本 8 | | 样本 9 | | 样本 10 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| | 样本 编号 | 样本 11 | | 样本 12 | | 样本 13 | | 样本 14 | | 样本 15 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|----------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| 阳性 样本 (> 10 ng/ g) | 样本 编号 | 样本 1 | | 样本 2 | | 样本 3 | | 样本 4 | | 样本 5 | |
| | 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 样本 编号 | 样本 6 | | 样本 7 | | 样本 8 | | 样本 9 | | 样本 10 | |
| | 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 样本 编号 | 样本 11 | | 样本 12 | | 样本 13 | | 样本 14 | | 样本 15 | |
| | 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 结果 | | | | | | | | | | | |

[0081] 表 2 鸡肉样本阴阳性率检测

[0082]

| | | | | | | | | | | | |
|----------|----------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| 阴性 样本 | 样本 编号 | 样本 1 | | 样本 2 | | 样本 3 | | 样本 4 | | 样本 5 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 样本 编号 | 样本 6 | | 样本 7 | | 样本 8 | | 样本 9 | | 样本 10 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 样本 编号 | 样本 11 | | 样本 12 | | 样本 13 | | 样本 14 | | 样本 15 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

| | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|----------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| 阳性 样本 (> 10 ng/ g) | 样本 编号 | 样本 1 | | 样本 2 | | 样本 3 | | 样本 4 | | 样本 5 | |
| | 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 样本 编号 | 样本 6 | | 样本 7 | | 样本 8 | | 样本 9 | | 样本 10 | |
| | 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 样本 编号 | 样本 11 | | 样本 12 | | 样本 13 | | 样本 14 | | 样本 15 | |
| 检测 结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | |

[0083] 表 3 蜂蜜样本阴阳性率检测

[0084]

| | | | | | | | | | | | |
|------------------|------------|--------|---|--------|---|--------|---|--------|---|--------|---|
| 阴 性 样 本 | 样 本 编 号 | 样 本 1 | | 样 本 2 | | 样 本 3 | | 样 本 4 | | 样 本 5 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 样 本 编 号 | 样 本 6 | | 样 本 7 | | 样 本 8 | | 样 本 9 | | 样 本 10 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| | 样 本 编 号 | 样 本 11 | | 样 本 12 | | 样 本 13 | | 样 本 14 | | 样 本 15 | |
| | 检测 结果 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 阳 性 | 样 本 | 样 本 1 | | 样 本 2 | | 样 本 3 | | 样 本 4 | | 样 本 5 | |

[0085]

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| 样本 (> 10 ng/g) | 编号 | | | | | | | | | | |
| | 检测结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 检测结果 | 样本 6 | | 样本 7 | | 样本 8 | | 样本 9 | | 样本 10 | |
| | 检测结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | 样本编号 | 样本 11 | | 样本 12 | | 样本 13 | | 样本 14 | | 样本 15 | |
| | 检测结果 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

[0086] 结果表明鸡蛋、鸡肉、蜂蜜样品各 15 份和阴性样品各 15 份,每个样品重复检测 2 次,鸡蛋中假阳性率 7% 以下,其阳性符合率均为 100%,阴性符合率均为 93% 以上。鸡肉其阴阳性符合率均为 100%。蜂蜜中假阳性率 5% 以下,其阳性符合率均为 100%,阴性符合率均为 95% 以上。说明本发明的检测试纸卡完全可以作为常规方法用于市场上对 SQX 残留的快速检测。

[0087] 实验例 1 敏感性和特异性试验

[0088] 敏感性试验

[0089] 将 SQX 的标准液稀释为 0、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20ng/ml,用本发明检测结果为:滴试 0~8ng/ml 的标准液时,试纸卡显示出肉眼可见的两条红色条带,滴试 9ng/ml 的标准液时,试纸卡也出现肉眼可见的两条红色条带,但 (T) 区颜色很淡很模糊,当滴试 10ng/ml 和 10ng/ml 以上的标准液时试纸卡测试区不显色,试验结果为本试纸卡检测 SQX 的检测灵敏度为 10ng/ml。

[0090] 特异性试验

[0091] 用本发明检测试纸卡阳性检测浓度为 10ng/ml,检测 SQX 及阴性标准品,同样将磺胺间甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑、甲氧苄氨嘧啶按 5、10、20、100、500、1000、5000、25000ng/ml 进行稀释,用本发明试纸卡进行检测,结果为:SQX 在 10ng/ml 浓度时测试区不显色,通过计算可得出交叉反应率为:磺胺喹噁啉为 100%、其余的全都小于 1%,如表 4 所示。交叉反应越大,说明此试纸卡对 QNs 检测的特异性就越好。

[0092] 表 1 本发明试纸卡特异性试验结果

[0093]

| 药物 | 交叉反应率 (%) |
|---------|-----------|
| 甲氧嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺二甲氧嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺间甲氧嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺二甲嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺甲噁唑 | 小于 0.1% |
| 甲氧苄氨嘧啶 | 小于 0.1% |
| 磺胺喹噁啉 | 100% |

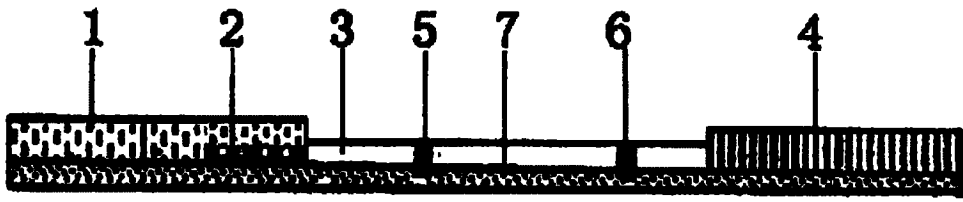


图 1

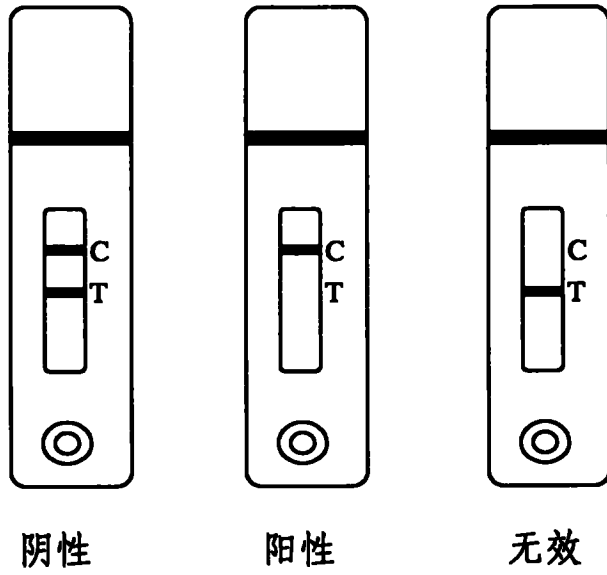


图 2

| | | | |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种检测磺胺喹噁啉药物残留的胶体金试纸卡 | | |
| 公开(公告)号 | CN101144819B | 公开(公告)日 | 2011-08-17 |
| 申请号 | CN200710177136.X | 申请日 | 2007-11-09 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 北京望尔生物技术有限公司 北京望尔康泰生物技术有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 北京望尔生物技术有限公司 北京望尔康泰生物技术有限公司 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 北京望尔生物技术有限公司 | | |
| [标]发明人 | 沈建忠 何方洋 万宇平 冯才伟 赵正苗 吴小平 冯才茂 朱亮 | | |
| 发明人 | 沈建忠 何方洋 万宇平 冯才伟 赵正苗 吴小平 冯才茂 朱亮 | | |
| IPC分类号 | G01N33/577 G01N33/558 G01N33/532 C12N5/12 | | |
| 代理人(译) | 王鹏飞 | | |
| 审查员(译) | 王航 | | |
| 其他公开文献 | CN101144819A | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明提供了一种检测磺胺喹噁啉药物的胶体金免疫试纸卡，包括反应膜、样本垫、结合物释放垫、吸水垫和背衬，其特征在于，所述反应膜上具有包被磺胺喹噁啉药物-载体蛋白偶联物的测试区和包被羊抗鼠IgG的质控区，所述结合物释放垫包被磺胺喹噁啉药物单克隆抗体-胶体金标记物。本发明还提供了一种应用上述试纸卡检测磺胺喹噁啉药物的方法，它包括步骤：首先进行样本前处理，然后用试纸卡进行检测，最后分析检测结果。本发明提供的试纸卡可用于检测动物源性食品如鸡肉、鸡肝、猪肉、猪肝、尿液、蜂蜜中的磺胺喹噁啉药物残留量，其操作简单、成本低、灵敏度高、检测速度快、适合大规模推广、能够现场监控且适合大量样本筛查。

| | | | | | | |
|----------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 阴性 样本 | 样本编号 | 样本 1 | 样本 2 | 样本 3 | 样本 4 | 样本 5 |
| | 检测结果 | - | - | - | - | - |
| | 样本编号 | 样本 6 | 样本 7 | 样本 8 | 样本 9 | 样本 10 |
| | 检测结果 | - | - | + | - | - |
| 阳性 样本 | 样本编号 | 样本 11 | 样本 12 | 样本 13 | 样本 14 | 样本 15 |
| | 检测结果 | - | - | - | - | - |