

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 933—2005

尿液中盐酸克仑特罗的测定 胶体金免疫层析法

Detection of clenbuterol hydrochloride in urine
Colloidal gold immunochromatographic method

2005-09-21 发布

2005-12-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准由国家饲料质量监督检验中心、江西中德大地生物工程有限公司和中国医学科学院基础医学研究所负责起草。

本标准起草人：杨曙明、赖卫华、陈实平、高生、王彤、杨晓慧、陈高明、熊勇华、李林、王迪。

尿液中盐酸克仑特罗的测定 胶体金免疫层析法

1 范围

本标准规定了用胶体金免疫层析法检测尿液中的盐酸克仑特罗。

本标准适用于猪、牛尿液中盐酸克仑特罗的快速检测。检测限为 3 ng/mL。

2 原理

本试验为竞争抑制法。将氯金酸用还原法制成一定直径的金溶胶颗粒,标记抗体。以硝酸纤维素膜为载体,利用了微孔膜的毛细管作用,滴加在膜条一端的液体慢慢向另一端渗移。在移动的过程中,会发生相应的抗原抗体反应,并通过免疫金的颜色而显示出来。样本中的盐酸克仑特罗在流动的过程中与胶体金标记的特异性单克隆抗体结合,抑制了抗体和硝酸纤维素(NC)膜检测线上盐酸克仑特罗-BSA 偶联物的结合,使检测线不显颜色,结果为阳性;反之,检测线显红色,结果为阴性。

3 试剂和材料

3.1 胶体金免疫层析快速检测装置组成。

3.1.1 盐酸克仑特罗全抗原的偶联率为 1:10~1:20(BSA:CL)。

3.1.2 抗盐酸克仑特罗抗体,多抗或单抗。多抗可以由兔或羊血清获得,效价应 $>5\,000$ (间接 ELISA 法),或有效抗体含量应 $>0.05\text{ mg/mL}$;特异性应 $>5\,000$ (间接抑制 ELISA 法)。单抗由鼠腹水获得,效价应 $>15\,000$ (间接 ELISA 法),或有效抗体含量应 $>0.5\text{ mg/mL}$;特异性应 $>5\,000$ (间接抑制 ELISA 法)。抗体相对亲和力为 3.56×10^9 (结合率下降 50%时,相对应的抗体浓度的倒数)。

3.1.3 样品垫:玻璃纤维或纸质薄片。

3.1.4 金释放垫:玻璃纤维片,免疫金释放时间 $<5\text{ min}$,释放效率 $>80\%$ 。

3.1.5 NC 膜:孔径为 $0.45\text{ }\mu\text{m}$,4 cm 毛细管时间 $\geq 140\text{ s}$ 。

3.1.6 吸水纸。

3.1.7 底板。

3.1.8 塑料盒。

3.2 塑料吸管。

3.3 阴性对照:盐酸克仑特罗阴性尿样。

3.4 阳性对照:盐酸克仑特罗阳性尿样,含量为 3 ng/mL。

3.5 待检尿样。

4 实验步骤

4.1 从包装袋中取出盐酸克仑特罗胶体金免疫层析快速检测装置,置于平整的台面上待测。检测装置取出后,应即开即用。

4.2 用塑料吸管(4.2)垂直滴加 3 滴无气泡的待检尿样(约 $60\text{ }\mu\text{L}$)于加样孔内。每批需做阴性对照和

阳性对照各一孔,加样方法同样本。如果尿液呈浑浊状态,建议做离心(5 000 r/min,5 min)或过滤处理后,再使用测试装置。

4.3 加样 15 min 后立即判断结果。

5 结果判断

5.1 阴性对照出现红色条带,阳性对照不出现红色条带,说明检测装置有效。可进行检测。

5.2 如阴性对照不出现红色条带,或阳性对照出现红色条带,出现任何一种现象或两种同时出现,说明检测装置失效,不能进行检测。

5.3 待检尿样出现红色条带为阴性(不含盐酸克仑特罗或盐酸克仑特罗的含量 <3 ng/mL)。

5.4 待检尿样不出现红色条带为阳性(盐酸克仑特罗的含量 ≥ 3 ng/mL)。

6 结果的确认

阳性样品应用质谱方法进行确认。