

团 体 标 准

T/SATA XXX—20XX

禽蛋类中氟苯尼考及代谢物的快速检测方法 胶体金免疫层析

Rapid Detection Method of florfenicol and its metabolite in Poultry
Colloidal gold immunochromatographic assay

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

深圳市分析测试协会 发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 仪器和设备.....	2
5 鉴定.....	2
6 分级.....	4
7 标识.....	4
8 分级证书.....	4
附录 A.....	5

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2020给出的规则起草。

本标准由深圳市分析测试协会归口。

本标准主要起草单位：深圳计量质量检测研究院、华南农业大学。

本标准主要起草人：冯荣虎、张世伟、雷红涛、徐振林、王弘，。

本标准为首次发布。

禽蛋类中氟苯尼考及代谢物的快速检测

胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了禽蛋类中氟苯尼考及代谢物的胶体金免疫层析快速检测方法。
本方法适用于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋等禽蛋中氟苯尼考及代谢物的快速检测。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的氟苯尼考与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和试纸条或检测卡中检测线（T线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与控制线（C线）颜色深浅比较，对样品中氟苯尼考进行定性判定。

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，试验用水为GB/T 6682规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇

3.1.2 乙酸乙酯

3.1.3 氯化钠

3.1.4 氯化钾

3.1.5 磷酸氢二钠

3.1.6 磷酸二氢钾

3.1.7 稀释液：准确称量 2.90 g 磷酸氢二钠，0.20 g 磷酸二氢钾，8.5 g 氯化钠，0.2 g 氯化钾与 1 L 容量瓶中，加水定容，混合均匀后备用。

3.2 参考物质

参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量见表 1，纯度≥99%。

A.1 表 1 氟苯尼考参考物质中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量
氟苯尼考	Florfenicol	73231-34-2	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₂ FNO ₄ S	358.21

3.3 标准品的配置

3.3.1 氟苯尼考标准储备液（1000 μg/mL）：精密称量适量氟苯尼考标准品（3.2），置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1000 μg/mL 的氟苯尼考标准储备液；或可直接购买氟苯尼考标准储备液。-18 ℃ 避光保存备用，有效期 6 个月。

3.3.2 氟苯尼考标准中间液（1 μg/mL）：分别吸取氟苯尼考标准储备液（1000 μg/mL）（3.3.1）100 μL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.6）稀释至刻度，摇匀，配制成浓度为 1 μg/mL 的氟苯尼考标准中间液。

3.3.3 氟苯尼考标准工作液（10 ng/mL）：分别吸取氟苯尼考中间液（1 μg/mL）（3.3.2）1mL于100 mL容量瓶中，用甲醇（3.1.6）稀释至刻度，摇匀，配制成浓度为1 μg/mL的喹诺酮类标准中间液。

3.4 氟苯尼考胶体金免疫层析试剂盒，适用基质为禽蛋

3.4.1 金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

3.4.2 试剂条或检测卡。

4 仪器和设备

4.1 移液器：10 μL、100 μL、200 μL、1 mL、5 mL。

4.2 涡旋混合器。

4.3 氮气吹干仪。

4.4 电子天平：感量为0.01g。

4.5 环境条件：15℃~35℃，湿度≤80%

4.6 离心机：转速≥4000 r/min。

5 分析步骤

5.1 样品前处理

准确称量样品5.00 g于50 mL离心管中，加入25 mL乙酸乙酯，涡旋5 min，随后5000 rpm/min，4℃离心5 min，在50~60℃氮气下吹干，加入2.5 mL稀释液中，混合均匀，即得到待测溶液。

5.2 测定步骤

5.2.1 检测卡测定步骤

吸取150-200 μL样品待测液于检测卡加样孔（3.4.2）中，室温反应5-8 min，进行结果判定。

5.2.2 试剂条与金标微孔测定步骤

吸取150~200 μL样品待测液于金标微孔（3.4.1）中，抽吸5~10次使混合均匀，不要有气泡，反应5 min，将检测试纸条（3.4.2）样品端垂直向下插入金标微孔中，室温跑样5 min，从微孔中取出试纸条，进行结果判定。

注：试剂条（或检测卡）具体检测步骤可参考相应的说明书操作。

5.3 质控实验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控实验。

5.3.1 空白试验

准备空白样品，按照5.1和5.2步骤与样品同法操作。

5.3.2 加标质控实验

准确称取空白试样5 g（精确至0.01 g）置于50 mL离心管中，加入500 μL氟苯尼考标准工作液（10 ng/mL）（3.3.3），使试样中氟苯尼考终浓度为1 μg/kg，按照5.1和5.2步骤与样品同法操作。

6 结果判定要求

通过对比控制线和检测线的颜色深浅进行结果判定。由于长时间放置会引起检测线颜色的变化，需在规定时间内进行结果判定。目视结果判读依据如图 1 所示。

6.1 无效

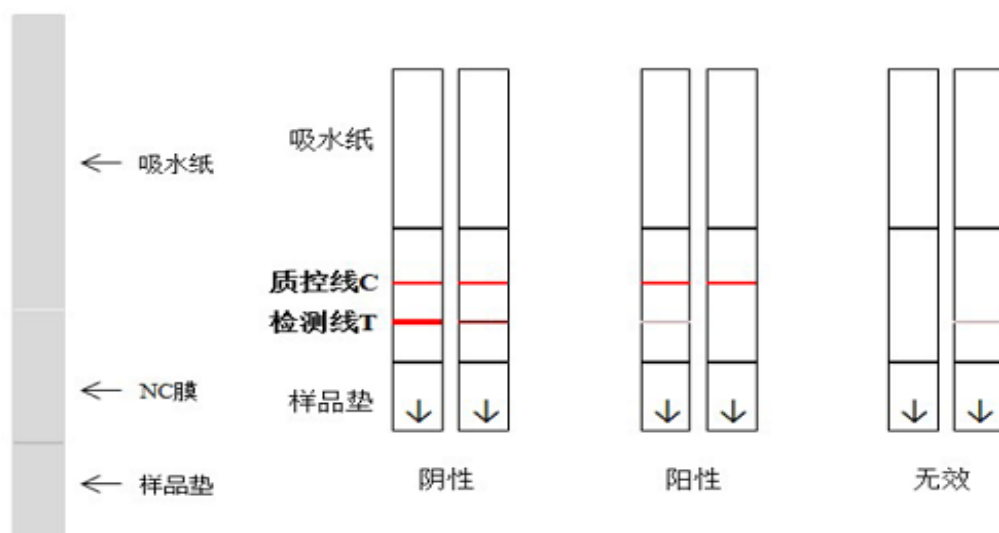
控制线（C 线）不显色，表明不正确操作或试纸条无效。

6.2 阳性结果

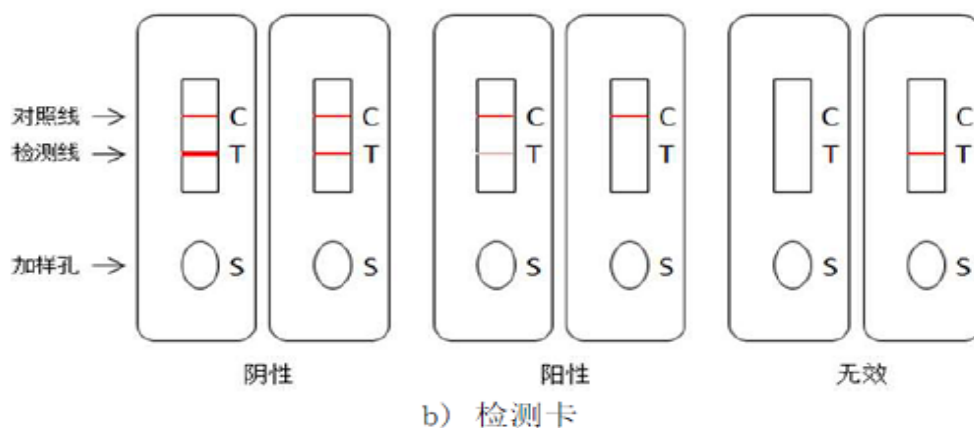
控制线（C 线）显色，检测线（T 线）比控制线（C 线）显色浅或不显色，表明样品中氟苯尼考含量高于方法检测限，判定为阳性（如图 1 试纸条目测判定示意图）。

6.3 阴性结果

控制线（C 线）显色，检测线（T 线）比控制线（C 线）显色深或一样深，表明样品中氟苯尼考含量低于方法检测限，判定为阴性（如图 1 试纸条目测判定示意图）。



a) 试纸条



b) 检测卡

图 1 目测判定示意图

6.4 质控实验要求

空白试验测定结果应为阴性，加标质控试验测定结果应为阳性。

7 结论

氟苯尼考与甲砒霉素有交叉反应，当检测结果为阳性的时候，应对氟苯尼考及其代谢物结果进行确证。

8 性能指标

8.1 检测限

1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

8.2 灵敏度

灵敏度应 $\geq 99\%$

8.3 特异性

特异性应 $\geq 85\%$ 。

8.4 假阴性率

假阴性率应 $\leq 1\%$ 。

8.5 假阳性率

假阳性率应 $\leq 15\%$ 。

注：性能指标计算方法参见附录 A。

9 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息及操作步骤是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定，可根据试剂盒说明书进行操作。方法使用者应使用经过验证的满足本方法规定的各项性能指标的试剂、试剂盒。

本方法参比标准为《可食动物鸡肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱法-串联质谱法》（GB/T 20756-2006）。

本方法使用试剂盒可能与甲砒霉素存在交叉反应，当结果判定为阳性时，应采用实验室仪器方法《可食动物鸡肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱法-串联质谱法》（GB/T 20756-2006）对氟苯尼考及其代谢物结果进行确证。

附录 A
(规范性附录)
快速检测方法性能指标计算表

表 A.1 性能指标计算方法

样品情况 ^a	检测结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异(X^2)	$X^2=(N12-N21 -1)^2/(N12+N21)$, 自由度 (df) =1		
灵敏度 (p+, %)	$p+=N11/N1.$		
特异性 (p-, %)	$p-=N22/N2.$		
假阴性率 (pf-, %)	$pf-=N12/N1.=100-$ 灵敏度		
假阳性率 (pf+, %)	$pf+=N21/N2.=100-$ 特异性		
相对准确度, % ^c	$(N11+N22)/(N1.+N2.)$		
注:			
^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公认值结果;			
^b 由待确认方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。			
N: 任何特定单元的结果数, 第一个下标指行, 第二个下标指列。例如: N11 表示第一行, 第一列, N1.表示所有的第一行, N.2 表示所有的第二列; N12 表示第一行, 第二列。			
^c 为方法的检测结果相对准确性的结果, 与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。			