



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 208283400 U

(45)授权公告日 2018.12.25

(21)申请号 201821010101.7

(22)申请日 2018.06.28

(73)专利权人 上海雄图生物科技有限公司

地址 201600 上海市松江区广富林路697弄
21号1324-1室

(72)发明人 汪劲能

(74)专利代理机构 北京东正专利代理事务所

(普通合伙) 11312

代理人 李梦福

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

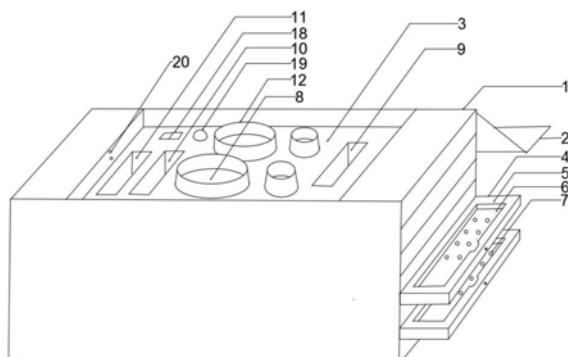
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)实用新型名称

一种黄曲霉素B1荧光免疫定量检测试剂盒

(57)摘要

本实用新型公开一种黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,该试剂盒包括:底面和前后左右四面围合而成的盒体(1),与盒体(1)活动连接的盒盖(2),盒体(1)内还填充有试剂板(3),其特征在于,盒体(1)左右两个侧面分别设置有抽拉盒(4),抽拉盒(4)底部开有通风孔(7),抽拉盒(4)内衬垫泡沫板(5),泡沫板(5)上切割成能容纳试剂条的凹槽(6),凹槽(6)的底部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7');试剂板(3)的底部装有送风系统。该试剂盒是一种成本低、灵敏度高、特异性强、操作简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。



1. 一种黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,该试剂盒包括:底面和前、后、左、右四面围合而成的盒体(1),与盒体(1)活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置说明书1份, ID卡1个,条形码1个;盒体(1)内还填充有试剂板(3),盒体(1)左右两个侧面分别嵌插安装有抽拉盒(4),抽拉盒(4)底部开有通风孔(7),抽拉盒(4)内衬垫泡沫板(5),泡沫板(5)上切割形成容纳试剂条的凹槽(6),凹槽(6)的底部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7');试剂板(3)上分别设置有控制开关(18)、指示灯(19)、放置试剂瓶的孔(8)、放置ID卡的插槽(9)、放置条形码的插槽(10)和放置说明书的插槽(11),4个孔(8)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上,孔(8)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(8)上安有中空圆柱状干燥装置(12);试剂板(3)的底部装有送风系统。

2. 根据权利要求1所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述送风系统由固定在试剂板(3)底部的风扇(15),2组导风板(16)以及恒温装置(17)组成。

3. 根据权利要求2所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述风扇放置在孔(8)的下方,S曲面的导风板(16)放置在风扇(15)两侧,恒温装置(17)放置在风扇(15)的出风口。

4. 根据权利要求2所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述送风系统中的风扇和恒温装置都与蓄电板连接,蓄电板与控制开关连接,控制开关与指示灯连接。

5. 根据权利要求1所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述干燥装置(12)为内层(S1)和外层(S2)两层套合成一个中空圆柱状结构,夹层放置有干燥剂,干燥装置(12)的内层开有通风孔(13)。

6. 根据权利要求5所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,所述干燥装置(12)外层为透明材料制成。

7. 根据权利要求1所述黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,第一层抽拉盒(4)的顶部开有向干燥装置(12)方向延伸的通风管路(20)。

一种黄曲霉素B1荧光免疫定量检测试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型属于检测试剂盒领域,具体涉及一种黄曲霉素B1荧光免疫定量检测试剂盒。

背景技术

[0002] 黄曲霉毒素B1 (Aflatoxin B1简写为AFB1) 是二氢呋喃氧杂萘邻酮的衍生物,具有强致癌性以及剧毒性,是迄今发现的各种真菌毒素中最稳定、致癌性最强的的一种。从1993年开始黄曲霉毒素被认定为世界卫生组织 (WHO) 的癌症研究机构划定的一类致癌物,是世界公认的三大强致癌物质之一,天然食物中以黄曲霉毒素B1最为多见,危害性也最强。黄曲霉毒素B1污染的食物主要是花生、玉米、稻谷、小麦、花生油等粮油食品,且以南方高温、高湿地区受污染最为严重。国家质检总局规定黄曲霉毒素B1是大部分食品的必检项目之一。目前,GB 2761-2017《食品安全国家标准食品中真菌毒素限量》中对粮食谷物及其制品中黄曲霉毒素B1的最高限量为20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。GB13078-2001《饲料卫生标准》中对不同种类的饲料中黄曲霉毒素B1的最高限量标准为10-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0003] 黄曲霉毒素AFB1的检测方法有薄层色谱法 (TLC)、放射性免疫测定法 (RIA)、高效液相色谱法 (HPLC)、酶联免疫 (ELISA) 检测方法等。薄层色谱法和放射性免疫测定法,灵敏度差,对环境污染等现代检测中已很少使用;目前,国标法测定黄曲霉毒素AFB1采用HPLC法,此方法需要大型的仪器设备,设备价格昂贵,操作过程复杂、时间较长,且无法在现场和基础小型实验室使用,也不适合大批量样品的检测;酶联免疫吸附法 (ELISA) 快速、灵敏、准确、可定量、无需贵重仪器设备,但应用时必须通过多次洗涤和反应,操作繁琐,影响到结果的重复性,而且检测时间较长,无法满足现场快速检测的要求。除此之外,也有采用胶体金快速检测试纸条等方法,此类方法用于大量样品的筛查,具有操作简便,检测快速,成本较低等优点,但准确性差,容易造成假阳性或者假阴性,只能给出半定量结果。因此,急需一种既简便快速,又能准确定量的检测方法来检测样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。

发明内容

[0004] 为了克服现有方法检测黄曲霉毒素AFB1价格昂贵、操作复杂、检测时间长、无法现场检测的困难,解决实时快速定量检测食品、饲料、粮食谷物等样品里黄曲霉毒素AFB1的含量。本实用新型实用新型提供了一种利用黄曲霉毒素AFB1 时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。该试剂盒采用在试剂瓶口处加装干燥装置,避免了在检测环境中由于湿度大造成的试剂在应用和添加时混入水分而造成的准确性降低,本试剂盒将可以有效的杜绝这种现象,从而更安全简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。通过免疫反应的高度特异性和独特的荧光微球作为抗体示踪标记物,并与高灵敏度的时间分辨荧光免疫层析技术和POCT理念相结合,发明了一种新型非放射性、灵敏度高、特异性强、线性范围宽、操作简单快捷新的检测方法。

[0005] 为了实现上述目的,本实用新型采用了以下技术方案,其特征步骤如下:

[0006] 一种黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,该试剂盒包括:底面和前后左右四面围合而成的盒体(1),与盒体(1)活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置说明书1份, ID卡1个,条形码1个;盒体(1)内还填充有试剂板(3),其特征在于,盒体(1)左右两个侧面分别嵌插安装有抽拉盒(4),抽拉盒(4)底部开有通风孔(7),抽拉盒(4)内衬垫泡沫板(5),泡沫板(5)上切割成一个能容纳试剂条的凹槽(6),凹槽(6)的底部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7');试剂板(3)上分别设置有控制开关(18)、指示灯(19)、放置试剂瓶的孔(8)、放置ID卡的插槽(9)、放置条形码的插槽(10)和放置说明书的插槽(11),4个孔(8)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上,孔(8)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(8)上安有中空圆柱状干燥装置(12);试剂板(3)的底部装有送风系统。

[0007] 进一步说明,所述送风系统,由设置在试剂板(3)底部的风扇(15),2组导风板(16)以及恒温装置(17)组成。

[0008] 进一步说明,所述风扇放置在孔(8)的下方,S曲面的导风板(16)放置在风扇(15)两侧,恒温装置(17)放置在风扇(15)的出风口。

[0009] 进一步说明,所述送风系统中风扇(15)和恒温装置(17)都与蓄电板连接,蓄电板与控制开关连接,控制开关与指示灯连接。

[0010] 进一步说明,所述干燥装置(12)为内层(S1)和外层(S2)两层套合成一个中空圆柱状结构,夹层放置有干燥剂,干燥装置(12)的内层开有通风孔(13)。

[0011] 进一步说明,所述干燥装置(12)夹层顶部用密封胶带密封。

[0012] 进一步说明,第一层抽拉盒(4)的顶部开有向干燥装置(12)方向延伸的通风管路(20)。

[0013] 进一步说明,所述试管包括样品提取液试管和样品稀释液试管,样品提取液试管内存储的液体是80%甲醇溶液,样品稀释液试管内存储的液体是含有0.5% (m/v)牛血清白蛋白、2.5% (m/v)蔗糖溶液的0.01mol/L pH7.4的磷酸缓冲溶液。

[0014] 进一步说明,所述的检验试纸条包括:样品吸收垫、荧光微球结合物垫、硝酸纤维素反应膜、检测线T上包埋有黄曲霉毒素B1抗原、质控线C上包埋有羊抗兔二抗抗体、吸水垫和PVC塑料卡壳。

[0015] 进一步说明,塑料卡壳上设有标签(10');塑料卡壳上设有与样品吸收垫匹配的加样孔;塑料卡壳设有硝酸纤维素反应膜检测线和硝酸纤维素反应膜质控线相匹配的荧光读数窗口;塑料卡壳的背部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7")。

[0016] 本发明产生的有益效果是:

[0017] (1)本实用新型提供了一种利用黄曲霉毒素AFB1时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,克服了现有方法检测黄曲霉毒素AFB1价格昂贵、操作复杂、检测时间长、无法现场检测的困难,解决了简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。

[0018] (2)该试剂盒采用在试剂瓶口处加装干燥装置,避免了在检测环境中由于湿度大造成的试剂在应用和添加时混入水分而造成的准确性降低。

[0019] (3)试剂盒侧面的设计可以方便取用试剂条,通过通风装置在试验前可以对试剂条进行干燥和预热,对试剂进行预热,从而增加检测的准确度并减少试验时间,提高了试验

效率;S曲面导风板可以使气流均匀通过通气孔减少噪声,最主要是可以使气流的温度恒定在37度。顶部开有通风管路可以进一步利用通风管路将热空气送至干燥装置处,使得干燥装置吸收的水分蒸发,延长干燥装置的寿命。

[0020] 综上所述,该试剂盒能够更加简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。通过免疫反应的高度特异性和独特的荧光微球作为抗体示踪标记物,并与高灵敏度的时间分辨荧光免疫层析技术和POCT理念相结合,发明了一种新型非放射性、灵敏度高、特异性强、线性范围宽、操作简单快捷新的试剂盒。

附图说明

[0021] 图1为试剂盒构造图,包括以下部件:1)盒体、2)盒盖、3)试剂板、4)抽拉盒、5)泡沫板、6)凹槽、7')通风孔、8)孔、9)ID卡的插槽、10)条形码的插槽、11)说明书的插槽、12)净化干燥装置、18)开关、19)指示灯、通风管路(20)。

[0022] 图2为试剂盒剖面图,包括以下部件:7)通风孔、15)风扇、16)导风板、17)恒温装置。

[0023] 图3为净化干燥装置剖面图

[0024] 图4为塑料卡壳构造图,包括以下部件:7")通风孔、10')标签、11')荧光读数窗口、12')加样孔。

[0025] 图5荧光免疫定量试纸条构造图,包括以下部件:1'.样品垫,2'.结合垫,3'.检测线T,4'.质控线C,5'.吸水垫,6'.硝酸纤维素膜,7'.PVC板,8'.检测线T上包埋的黄曲霉毒素AFB1抗原,9'.质控线C上包埋的羊抗兔二抗抗体。

具体实施方式

[0026] 下面将对本发明通过具体实施例进一步进行阐述,如在通篇说明书及权利要求当中所提及的“包含”或“包括”为一开放式用语,故应解释成“包含但不限于”。说明书后续描述为实施本发明的较佳实施方式,然所述描述乃以说明书的一般原则为目的,并非用以限定本发明的范围。本发明的保护范围当视所附权利要求所界定者为准。

[0027] 如图1-5所示一种黄曲霉毒素B1荧光免疫定量检测试剂盒,其特征在于,该试剂盒包括:底面和前后左右四面围合而成的盒体(1),与盒体(1)活动连接的盒盖(2),盒体(1)内放置说明书1份, ID卡1个,条形码1个;盒体(1)内还填充有试剂板(3),其特征在于,盒体(1)左右两个侧面分别嵌插安装有抽拉盒(4),抽拉盒(4)底部开有通风孔(7),抽拉盒(4)内衬垫泡沫板(5),泡沫板(5)上切割成一个能容纳试剂条的凹槽(6),凹槽(6)的底部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7');试剂板(3)上分别设置有控制开关(18)、指示灯(19)、放置试剂瓶的孔(8)、放置ID卡的插槽(9)、放置条形码的插槽(10)和放置说明书的插槽(11),4个孔(8)分成两排每排两个分布在试剂板(3)上,孔(8)里分别放置了2瓶样品提取液和2瓶样品稀释液,孔(8)上安有中空圆柱状干燥装置(12);试剂板(3)的底部装有送风系统。

[0028] 具体地,如图2所示,所述送风系统,由设置在试剂板(3)底部的风扇(15),2组导风板(16)以及恒温装置(17)组成。风扇放置在孔(8)的下方,表面呈S曲线状的导风板(16)放置在风扇(15)两侧,恒温装置(17)放置在风扇(15)的出风口。所述送风系统中的风扇(15)和恒温装置(17)都与蓄电板连接,蓄电板与控制开关连接,控制开关与指示灯连接。

[0029] 具体地,如图3所示,所述干燥装置(12)为内层(S1)和外层(S2)两层套合成一个中空圆柱状结构,夹层放置有干燥剂,干燥装置(12)的内层开有通风孔(13)。

[0030] 在上述任一实施例的基础上,优选地,所述干燥装置(12)外层为透明材料制成。

[0031] 在上述任一实施例的基础上,优选地,所述干燥装置(12)夹层顶部用密封胶带密封。

[0032] 在上述任一实施例的基础上,优选地,第一层抽拉盒(4)的顶部开有向干燥装置(12)方向延伸的通风管路(20)

[0033] 所述试管包括样品提取液试管和样品稀释液试管,样品提取液试管内存储的液体是80%甲醇溶液,样品稀释液试管内存储的液体是含有0.5% (m/v) 牛血清白蛋白、2.5% (m/v) 蔗糖溶液的0.01mol/L pH7.4的磷酸缓冲溶液。

[0034] 具体地,如图5所示,所述的检测试纸条包括:样品吸收垫、荧光微球结合物垫、硝酸纤维素反应膜、检测线T上包埋有黄曲霉毒素B1抗原、质控线C 上包埋有羊抗兔二抗抗体、吸水垫和PVC塑料卡壳。

[0035] 具体地,如图4所示,塑料卡壳上设有标签(10');塑料卡壳上设有与样品吸收垫相匹配的加样孔(12');塑料卡壳设有硝酸纤维素反应膜检测线和硝酸纤维素反应膜质控线相匹配的荧光读数窗口(11'),塑料卡壳的背部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7")。

[0036] 1. 制备黄曲霉毒素AFB1时间分辨荧光免疫定量POCT快速检测试剂盒,其试剂盒包括以下内容

[0037]

品名	检测试纸条	样品提取液	样品稀释液	说明书	ID 卡	条形码
规格	40T/盒	2 瓶, 120ml/瓶	2 瓶, 5ml/瓶	1 份	1 个	1 张

[0038] 其中检测试纸条主要由:PVC塑料卡壳、硝酸纤维素膜、样品垫、结合垫、T线、C线、吸水垫组成。

[0039] 2.AFB1时间分辨荧光免疫定量检测试纸条的组装及测试原理,当将待测样品滴加在加样区时,样品中的黄曲霉毒素AFB1抗原与结合垫中荧光微球标记的黄曲霉毒素AFB1抗体结合并通过毛细作用向前层析,到达检测区后,检测线 T线上固定的黄曲霉毒素AFB1抗原与剩余未结合的荧光微球标记黄曲霉毒素AFB1抗体结合。检测线T线上结合的荧光微球标记的黄曲霉毒素AFB1抗体浓度与样品中黄曲霉毒素AFB1的浓度成反比,质控线C线结合的荧光标记物浓度与样品中黄曲霉毒素AFB1的浓度无关。层析结束后,采用时间分辨荧光免疫定量 POCT分析仪读取T线的荧光强度和C线的相对荧光强度并计算T/C值,通过试剂盒中写有标准曲线和检测项目信息的ID卡和条形码,用时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪内置的分析软件自动计算出样品中黄曲霉毒素AFB1的浓度。

[0040] 3. 黄曲霉毒素AFB1时间分辨荧光免疫定量POCT快速检测试剂盒中样品提取液为80%甲醇溶液,样品稀释液为含有0.5% (m/v) 牛血清白蛋白、2.5% (m/v) 蔗糖溶液的0.01mol/L pH7.4的磷酸缓冲溶液。说明书为检测原理、操作步骤、注意事项的详细说明。ID

卡和条形码写有标准曲线和检测项目信息,用来自动识别检测项目和提取本批次试剂盒的标准曲线信息。

[0041] 本实用新型的创新是构建黄曲霉毒素AFB1时间分辨荧光免疫定量POCT检测试纸条,并利用时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒,实现简便快速、准确定量的方法来检测样品中黄曲霉毒素AFB1的含量。试纸条中荧光标记物是利用镧系元素Eu经特殊包裹加工而成的荧光微球,荧光强度比普通标记物要高100 倍以上,使检测灵敏度远远高于现有检测方法。镧系元素Eu及其螯合物的激发波长是340nm,发射波长是610nm,激发波长和发射波长之间有一个较大的Stokes 位移,减少了由激发光引起的特异杂散光对检测的干扰,使本实用新型试剂盒检测方法的稳定性和灵敏度都优于现有检测方法。用本实用新型的试剂盒方法检测黄曲霉毒素AFB1的灵敏度是0.5 μ g/kg,线性范围是1-75 μ g/kg,准确度添加回收率为80-125%,在10000 μ g/kg浓度水平下与其它真菌毒素无交叉反应,样本溶液5分钟准确定量测定出黄曲霉毒素AFB1的含量。

[0042] 实施例1

[0043] 以下为本实用新型试剂盒检测黄曲霉毒素AFB1的检测步骤

[0044] 1实验材料和方法

[0045] 1.1试剂和溶液

[0046] 本实用新型检测方法的试剂溶液均包含在时间分辨荧光免疫定量POCT检测试剂盒内,无需另外配制试剂。

[0047] 1.2仪器与设备

[0048] 1.2.1 XT8201A型时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪(上海雄图生物科技有限公司提供)

[0049] 1.2.2 XT8202A型恒温孵育器

[0050] 1.2.3漩涡混匀器

[0051] 1.2.4低速离心机

[0052] 1.2.5电子天平

[0053] 1.2.6均质机

[0054] 1.3试验方法

[0055] 1.3.1样品的前处理

[0056] 取待测样品500g,粉碎,过20目筛,混匀;准确称取1.0±0.02g粉碎后样品于10ml离心管中,打开试剂盒开关,指示灯亮后,预热5分钟后,拿出试剂,加入5ml样品提取液,用漩涡振荡器振荡提取5min;提取结束后,4000rpm 离心1min,取100 μ l上清,加入到600 μ l样品稀释液,混匀后待上样检测。

[0057] 1.3.2检测过程及结果

[0058] 1.将恒温孵育器开机,设置温度37℃,待温度升至37℃恒定后方可使用;

[0059] 2.荧光免疫定量POCT分析仪预热5min后,插入本批次产品所对应的ID卡,并扫描本批次产品所对应的条形码;

[0060] 3.打开试剂盒开关,指示灯亮后,预热干燥5分钟后,从抽拉盒中取出黄曲霉毒素AFB1时间分辨荧光免疫定量POCT检测试纸条,水平置于恒温孵育器上;

[0061] 4.用移液器吸取100 μ l经过前处理的待测样品加入试纸条的加样孔中,盖上孵育

器盖,开始计时孵育5min;

[0062] 5. 5min后将试纸条插入时间分辨荧光免疫定量POCT分析仪试纸条插槽中,触摸屏点读数即可,其读数值即为样品中黄曲霉毒素AFB1的含量;

[0063] 6. 如果检测结果超出线性范围的上限,用样品稀释液稀释5倍后再次检测,检测结果乘以5,即为样品的最终浓度。

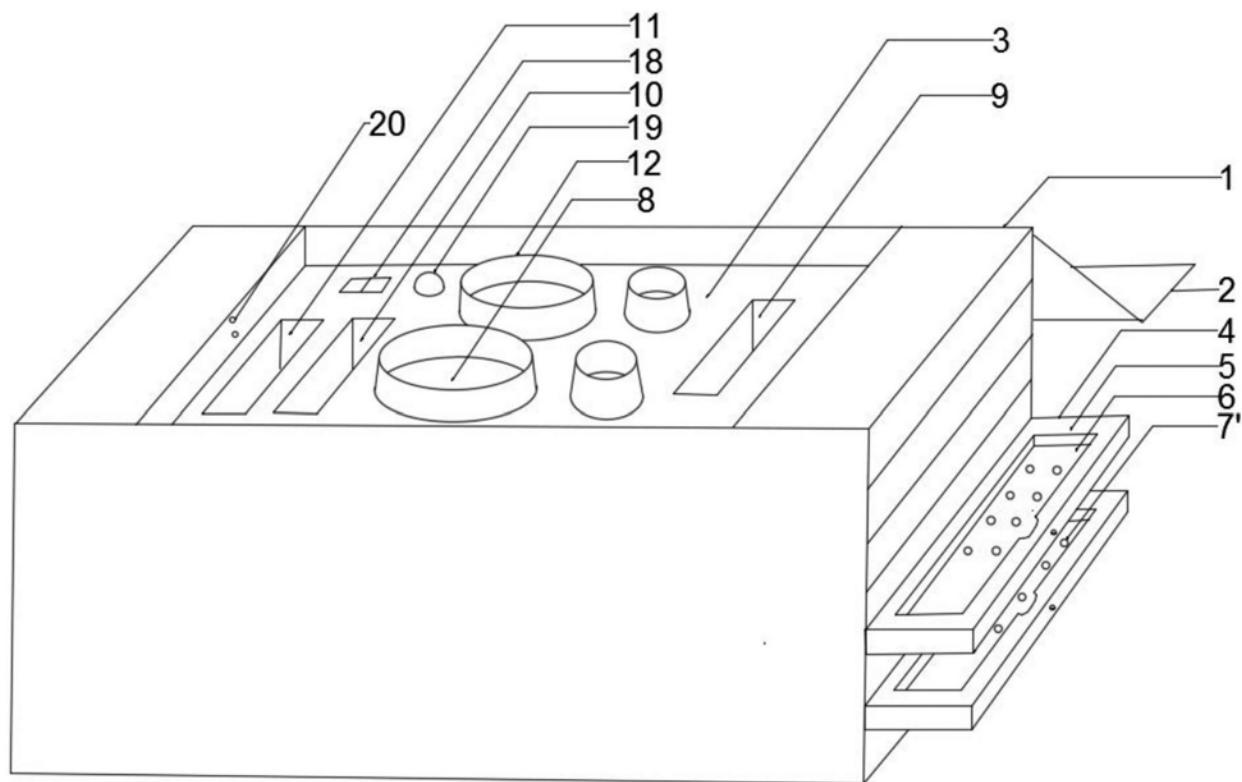


图1

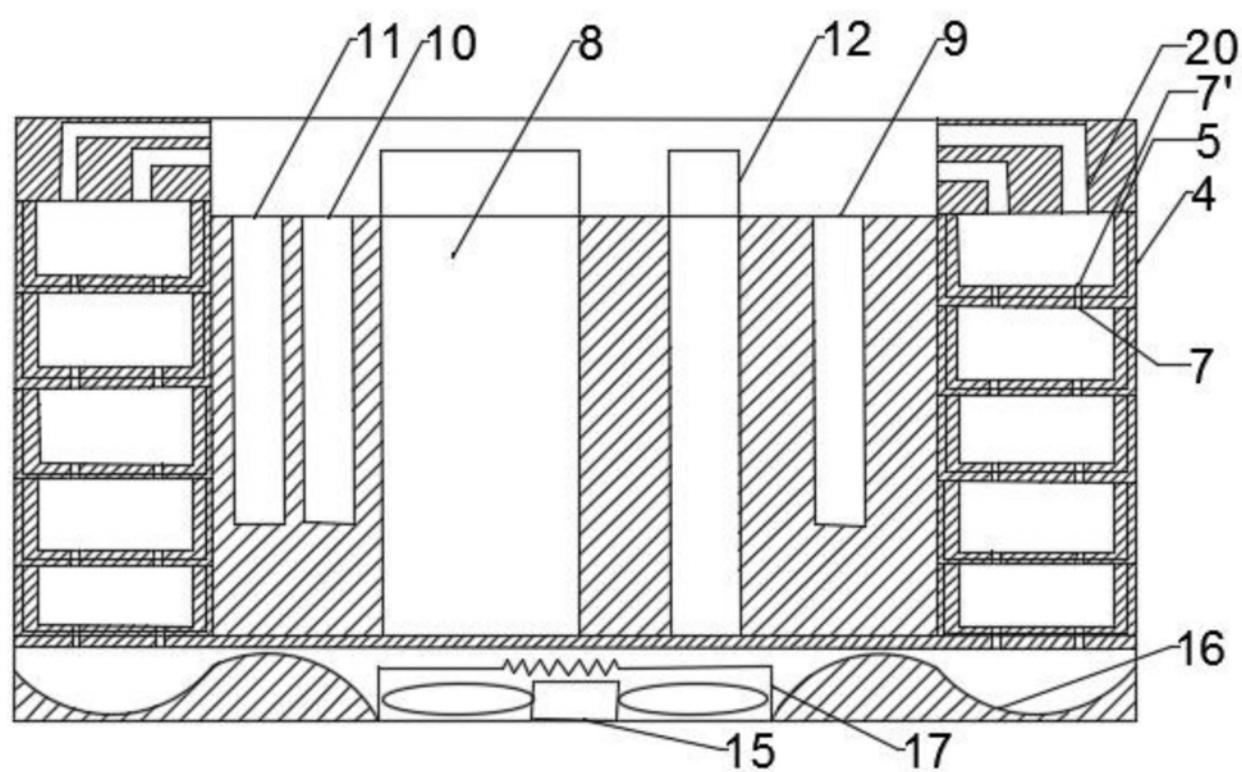


图2

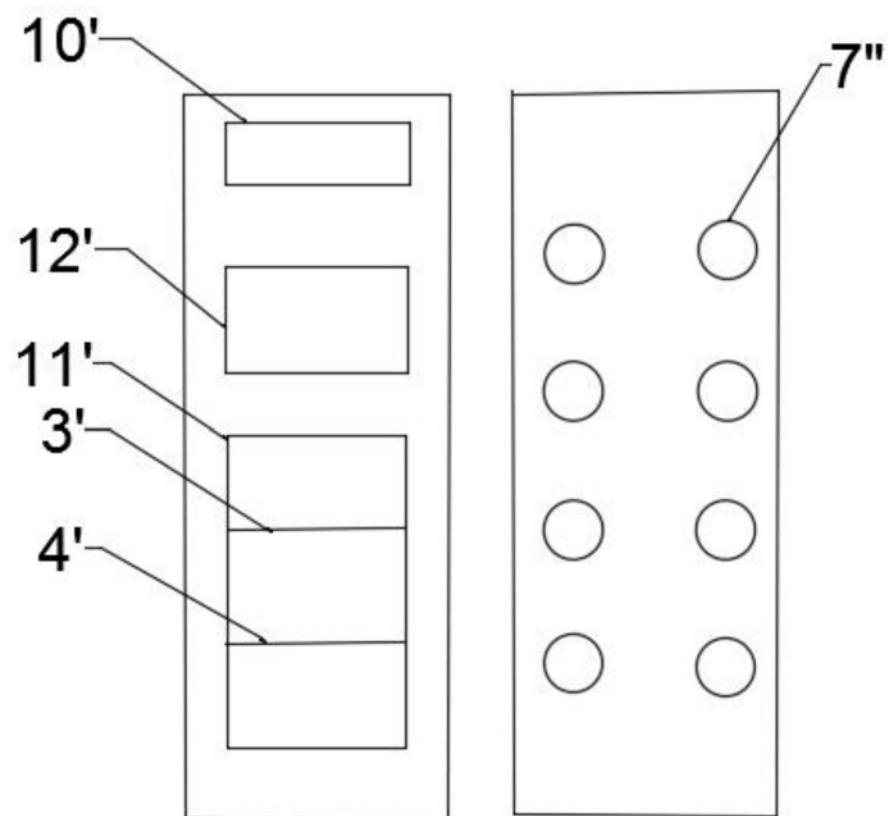


图3

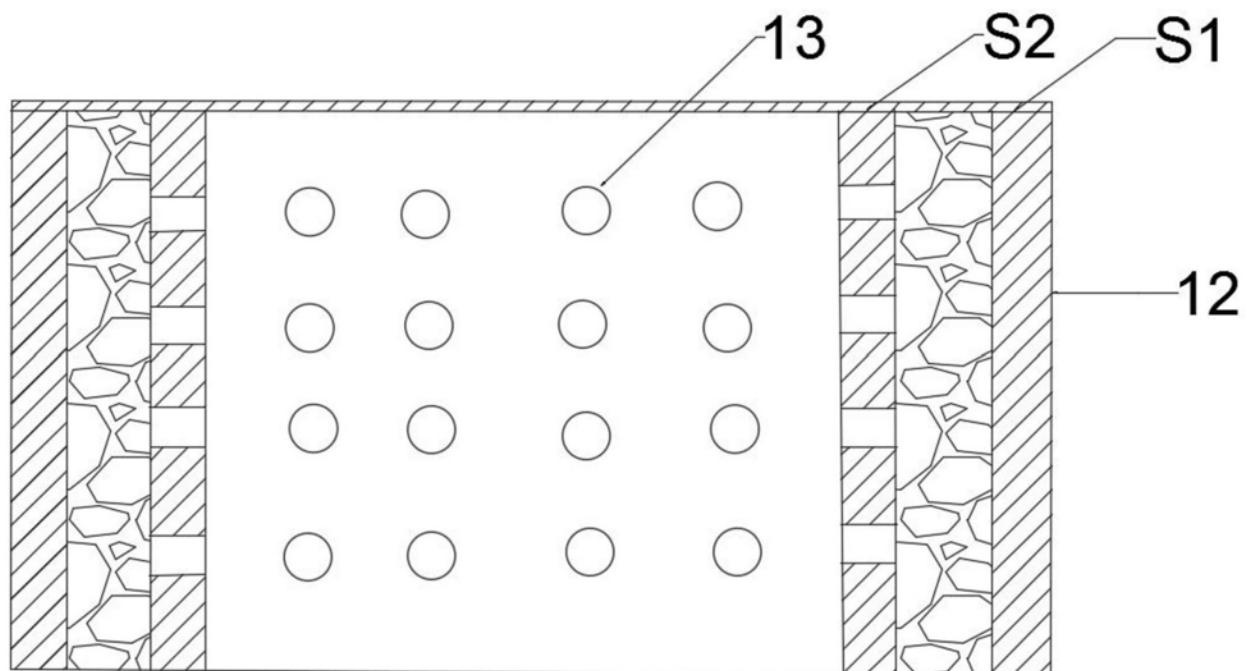


图4

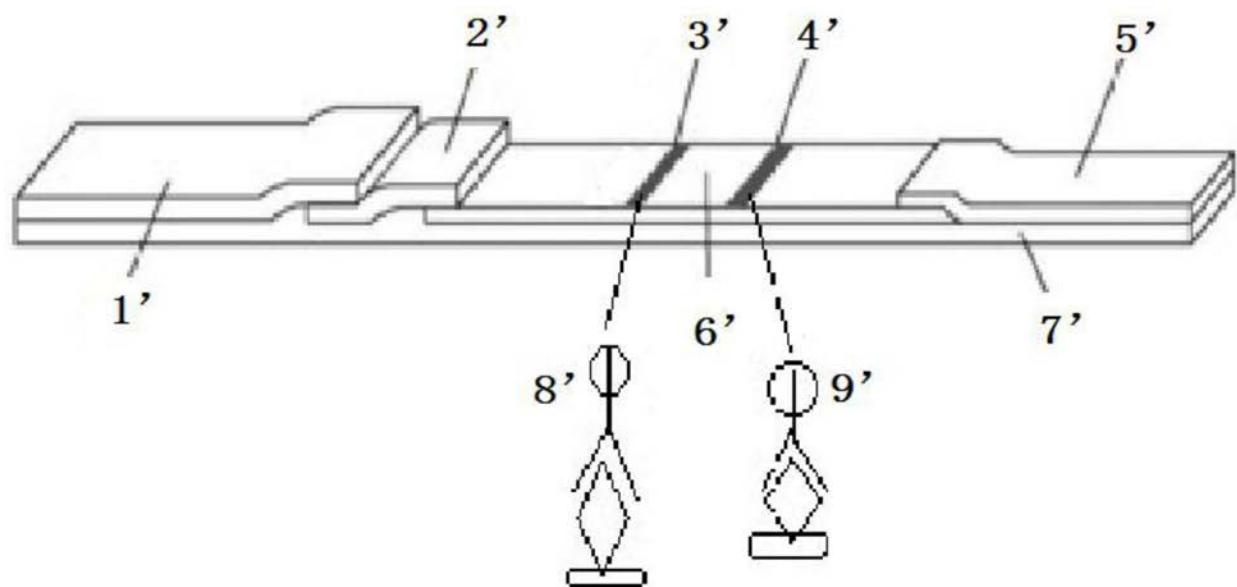


图5

专利名称(译)	一种黄曲霉素B1荧光免疫定量检测试剂盒		
公开(公告)号	CN208283400U	公开(公告)日	2018-12-25
申请号	CN201821010101.7	申请日	2018-06-28
[标]发明人	汪劲能		
发明人	汪劲能		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本实用新型公开一种黄曲霉素B1荧光免疫定量检测试剂盒，该试剂盒包括：底面和前后左右四面围合而成的盒体(1)，与盒体(1)活动连接的盒盖(2)，盒体(1)内还填充有试剂板(3)，其特征在于，盒体(1)左右两个侧面分别设置有抽拉盒(4)，抽拉盒(4)底部开有通风孔(7)，抽拉盒(4)内衬垫泡沫板(5)，泡沫板(5)上切割成能容纳试剂条的凹槽(6)，凹槽(6)的底部开有与抽拉盒(4)底部相匹配的通风孔(7')；试剂板(3)的底部装有送风系统。该试剂盒是一种成本低、灵敏度高、特异性强、操作简便快速、准确定量的检测食品、饲料、粮食谷物等样品中黄曲霉素AFB1的含量。

