



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 203981685 U

(45) 授权公告日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201420336227. 9

(22) 申请日 2014. 06. 23

(73) 专利权人 河南知微生物工程有限公司

地址 453011 河南省新乡市凤泉区产业集聚区

专利权人 河南科技学院

(72) 发明人 姜金庆 李桂平 马金友 王毅红

刘耀东 郭芳 吴宁鹏 杨英军

(74) 专利代理机构 新乡市平原专利有限责任公

司 41107

代理人 路宽

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

G01N 33/15(2006. 01)

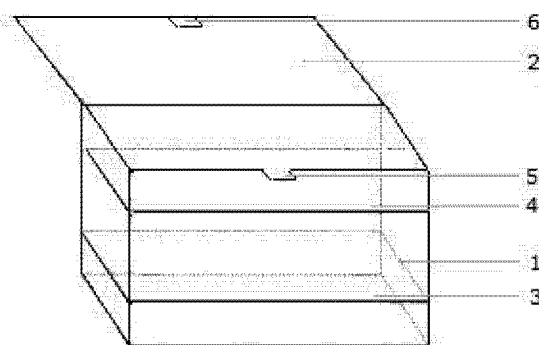
权利要求书1页 说明书3页 附图2页

(54) 实用新型名称

一种四环素的免疫学检测试剂盒

(57) 摘要

本实用新型公开了一种四环素的免疫学检测试剂盒。试剂盒包括盒体、盒盖、设置于盒体内的底部固定座和顶部固定座,所述的底部固定座上有各种试剂瓶下凹瓶位,用于放置四环素抗体工作液、酶标二抗工作液、显色液、终止液、浓缩洗涤液、四环素标准液、基质稀释液和 Tween-20 备用液,所述的顶部固定座上有各种卡槽或凹槽,用于放置酶标板、微孔条、吸管、比色卡和 pH 试纸。该实用新型采用间接竞争 ELISA 方法进行四环素含量的定性、定量检测,具有操作简单、灵敏度高、成本低廉等优点,适合大批量样品的现场快速检测。



1. 一种四环素的免疫学检测试剂盒,包括盒体和连接于盒体上的盒盖,开口一侧的盒盖与盒体上分别设有相对应的盒盖卡头和盒体卡槽,其特征在于:所述的盒体内部由上到下依次设有顶部固定座和底部固定座,其中底部固定座由底部间隔分为 A、B 两部分,A 部分设有 7 个试剂瓶下凹瓶位,B 部分设有 5 个试剂瓶下凹瓶位,A 部分的 7 个试剂瓶下凹瓶位内分别放置有四环素抗体工作液、酶标二抗工作液、显色剂 A 液、显色剂 B 液、终止液、浓缩洗涤液和四环素标准液,B 部分的 5 个试剂瓶下凹瓶位内分别放置有肌肉稀释液、肝脏稀释液、牛奶稀释液、饲料稀释液和 Tween-20 备用液,所述的顶部固定座由手柄分为 A、B 两部分,A 部分设有 2 个卡槽,B 部分设有 6 个凹槽,A 部分的 2 个卡槽内分别放置有 96 孔酶标板和酶标反应微孔条,B 部分的 6 个凹槽内分别放置有 1.0mL 吸管、100 μ L 微吸管、60 μ L 微吸管、50 μ L 微吸管、比色卡和 pH 试纸,在顶部固定座 B 部分的上方放置有基质标准曲线和说明书。

2. 根据权利要求 1 所述的四环素的免疫学检测试剂盒,其特征在于:所述的酶标板由聚苯乙烯制成,采用 96 孔试剂板作为固相载体,放于铝铂袋内,并置于酶标板卡槽中,且酶标板由外框支撑架和放置其上的可拆装酶标反应微孔条组成,每个可拆装酶标反应微孔条有 12 个反应孔,其上预包被四环素偶联抗原。

一种四环素的免疫学检测试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型涉及一种医药生物领域的检测试剂盒,具体涉及一种用于测定样品溶液中四环素残留含量的免疫学检测试剂盒。

背景技术

[0002] 四环素类药物(Tetracycline, TCs)是由链霉菌产生的一类碱性广谱抗生素,在化学结构上属于多环并四苯羧基酰胺母核的衍生物,包括金霉素、土霉素、四环素和去甲金霉素,以及半合成的多西环素和米诺环素等。该类药物能特异性地与细菌核糖体 30S 亚基的 A 位置结合,阻止氨基酰-tRNA 在该位置上的联结,从而抑制肽链的增长、影响细菌蛋白质的合成。四环素类药物主要用于立克氏次体、衣原体、支原体及回归热螺旋体等非细菌性感染,以及治疗敏感菌引起的呼吸道、胆道、尿路及皮肤软组织等部位的多种感染性疾病。在畜禽生产中,四环素类药物被广泛作为治疗药物和药物添加剂使用,用于防治消化道感染、促进生长和提高奶牛产奶量。

[0003] 随着四环素类抗生素被大量、广泛的应用于禽畜养殖业,其造成的食品残留给人类身心健康带来极大的安全隐患。人长期摄入四环素类抗生素会引起各种慢性和蓄积性疾病,主要表现为对胃、肠、肝脏的损害,以及牙齿的染色,还会造成过敏反应、二重感染、致畸胎等,同时还会导致人体肠道中菌群平衡的失调以及耐药菌株的产生。因此,世界各国对 TCs 残留检测十分关注。日本要求进口畜禽肉中四环素族残留量不得超过 0.05mg/kg,澳大利亚规定四环素类总量不得大于 0.3mg/kg,欧盟一律标准为 0.01mg/kg,美国药品监督管理局规定 TCs 在动物肌肉组织中残留总量不超过 0.02mg/kg,牛奶中为 0.3mg/kg。我国农业部于 2002 年修订了《动物性食品中兽药最高残留限量》,其中规定牛/羊奶以及所有动物肌肉中四环素类抗生素的最高残留量为 0.1mg/kg,对动物肝脏、肾脏、蛋中四环素残留也有相应限量规定。

[0004] 食品中四环素类抗生素残留检测方法有高效液相色谱法、毛细管电泳法、电化学分析、化学发光及液相色谱-质谱联用法等,这些方法对待测样品的前处理要求高,且操作烦琐,需要精密的仪器设备。而免疫学方法具有快速、灵敏、特异性强等特点,是兽药残留检测的有效方法之一。因此,研制快速、灵敏、高效的四环素残留检测间接竞争 ELISA 试剂盒对于保障动物性食品安全具有十分重要的意义。

发明内容

[0005] 本实用新型的目的是提供了一种小巧轻便的四环素的免疫学检测试剂盒,使用该试剂盒操作简便,灵敏度高,成本低,稳定性好,可进行一次连续多个样品中四环素含量的测定,减少了样品检测所需要的时间。

[0006] 本实用新型的技术方案是:

[0007] 一种四环素的免疫学检测试剂盒,包括盒体和连接于盒体上的盒盖,开口一侧的盒盖与盒体上分别设有相对应的盒盖卡头和盒体卡槽,其特征在于:所述的盒体内部由上

到下依次设有顶部固定座和底部固定座,其中底部固定座由底部间隔分为 A、B 两部分,A 部分设有 7 个试剂瓶下凹瓶位,B 部分设有 5 个试剂瓶下凹瓶位,A 部分的 7 个试剂瓶下凹瓶位内分别放置有四环素抗体工作液、酶标二抗工作液、显色剂 A 液、显色剂 B 液、终止液、浓缩洗涤液和四环素标准液,B 部分的 5 个试剂瓶下凹瓶位内分别放置有肌肉稀释液、肝脏稀释液、牛奶稀释液、饲料稀释液和 Tween-20 备用液,所述的顶部固定座由手柄分为 A、B 两部分,A 部分设有 2 个卡槽,B 部分设有 6 个凹槽,A 部分的 2 个卡槽内分别放置有 96 孔酶标板和酶标反应微孔条,B 部分的 6 个凹槽内分别放置有 1.0mL 吸管、100 μ L 微吸管、60 μ L 微吸管、50 μ L 微吸管、比色卡和 pH 试纸,在顶部固定座 B 部分的上方放置有基质标准曲线和说明书。

[0008] 所述的酶标板由聚苯乙烯制成,采用 96 孔试剂板作为固相载体,放于铝铂袋内,并置于酶标板卡槽中,且酶标板由外框支撑架和放置其上的可拆装酶标反应微孔条组成,每个可拆装酶标反应微孔条有 12 个反应孔,其上预包被四环素偶联抗原。

[0009] 本实用新型的有益效果是:试剂盒所需仪器较少,操作简单易行,且能快速、准确、批量地用于样品溶液中四环素含量的定量、定性检测。

附图说明

[0010] 图 1 是本实用新型的结构示意图,图 2 是本实用新型中底部固定座的结构示意图,图 3 是本实用新型中顶部固定座的结构示意图。

[0011] 图面说明:1、箱体,2、盒盖,3、底部固定座,4、顶部固定座;5、箱体卡槽,6、盒盖卡头,7、底座间隔,8、四环素抗体工作液瓶位,9、酶标二抗工作液瓶位,10、显色剂 A 液瓶位,11、显色剂 B 液瓶位,12、终止液瓶位,13、浓缩洗涤液瓶位,14、四环素标准液瓶位,15、肌肉稀释液瓶位,16、肝脏稀释液瓶位,17、牛奶稀释液瓶位,18、饲料稀释液瓶位,19、Tween-20 备用液瓶位,20、手柄,21、酶标板卡槽,22、酶标反应微孔条卡槽,23、1.0ml 吸管凹槽,24、100 μ l 微吸管凹槽,25、60 μ l 微吸管凹槽,26、50 μ l 微吸管凹槽,27、比色卡凹槽,28、pH 试纸凹槽。

具体实施方式

[0012] 结合附图详细描述实施例。一种四环素的免疫学检测试剂盒,包括箱体 1、盒盖 2、设置箱体 1 内的底部固定座 3 和顶部固定座 4,所述的箱体 1 上有箱体卡槽 5,与盒盖 2 上的盒盖卡头 6 相对应,用于开关试剂盒。

[0013] 所述的底部固定座 3 由底部间隔 7 分为 A、B 两部分,A 部分设有 7 个试剂瓶下凹瓶位,B 部分设有 5 个试剂瓶下凹瓶位。A 部分四环素抗体工作液瓶位 8 放置有白色塑料试剂瓶封装的 6ml 四环素抗体工作液,酶标二抗工作液瓶位 9 放置有红色塑料试剂瓶封装的 6ml 兔抗鼠酶标二抗(RaMIgG-HRP),显色剂 A 液瓶位 10 放置有黑色塑料试剂瓶封装的 4ml 底物显色剂 A 液,显色剂 B 液瓶位 11 放置有绿色塑料试剂瓶封装的 4ml 底物显色剂 B 液,终止液瓶位 12 放置有黄色塑料试剂瓶封装的 7ml 2M 硫酸溶液,浓缩洗涤液瓶位 13 放置有半透明塑料试剂瓶封装的 40ml 浓缩洗涤液(10 \times),四环素标准液瓶位 14 放置有白色透明塑料试剂瓶封装的 2ml 四环素标准品溶液(1mg/ml)。B 部分肌肉稀释液瓶位 15 放置有红色帽的半透明塑料试剂瓶封装的 50ml 肌肉样品稀释液,肝脏稀释液瓶位 16 放置有黄色帽

的半透明塑料试剂瓶封装的 50ml 肝脏样品稀释液,牛奶稀释液瓶位 17 放置有白色帽的半透明塑料试剂瓶封装的 20ml 牛奶样品稀释液,饲料稀释液瓶位 18 放置有灰色帽的半透明塑料试剂瓶封装的 20ml 饲料样品稀释液,Tween-20 备用液瓶位 19 放置有黑色帽的黑色塑料试剂瓶封装的 3ml Tween-20 表面活性剂。

[0014] 所述的顶部固定座 4 由手柄 20 分为 A、B 两部分,A 部分设有 2 个卡槽,B 部分设有 6 个凹槽。A 部分的酶标板卡槽 21 放置一块由聚苯乙烯制成的酶标板,采用 96 孔试剂板作为固相载体,放于铝铂袋内,且酶标板由外框支撑架和放置其上的可拆装酶标反应微孔条组成,每个可拆装酶标反应微孔条有 12 个反应孔,其上预包被四环素偶联抗原,酶标反应微孔条卡槽 22 放置有 24-36 条散装酶标反应微孔条,使用时安装在酶标板外框支撑架上,使试剂盒检测容量扩大 2-3 倍。B 部分的 1.0ml 吸管凹槽 23 放置有 50 根 1.0ml 容量的吸管,用于样品基质的采样,100 μ l 微吸管凹槽 24 放置有 50 根 100 μ l 容量的微吸管,用于添加终止液,60 μ l 微吸管凹槽 25 放置有 50 根 60 μ l 容量的微吸管,用于添加显色剂溶液,50 μ l 微吸管凹槽 26 放置有 50 根 50 μ l 容量的微吸管,用于添加四环素抗体工作液和酶标二抗工作液,比色卡凹槽 27 放置有不同基质条件下的比色卡,显示不同颜色试剂孔对应的吸光度值和四环素残留含量,用于样品含量的大概推算,pH 试纸凹槽 28 放置不同种类的 pH 试纸,用来测定不同溶液的 pH 值。B 部分凹槽的表面还放置有基质标准曲线和说明书,将酶标仪测定的吸光度值代入标准曲线,可准确测定样品溶液中四环素残留含量。

[0015] 动物可食组织中四环素含量测定:

[0016] 1) 样本前处理:称取切碎、匀质后的动物组织样品 1.0 ± 0.05 g 至 5ml 离心管中,加入 2ml pH4.0 的 McIlvaine-EDTA 样品提取液,漩涡混合 3 ~ 5min,室温下 4000r/min 离心 5min;移取 1ml 上清液于 5ml 离心管中,加入 50 μ l 4mol/L NaOH,振荡混匀;再加入 1ml 正己烷,漩涡混合 30s;静置 5min 分层后,吸取至少 100 μ l 下层溶液与等体积 PBS 缓冲液混合后待检。

[0017] 2) 试剂盒的操作步骤:① 将所需试剂从冷藏环境中取出,置于室温平衡 20min 以上,注意每种液体试剂使用前均须摇匀;② 取出所需数量的微孔条,将不用的微孔条放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封,保存于 2-8 $^{\circ}$ C;③ 编号:将样品对应微孔按序编号,每个样品做 2 孔平行,并记录样品孔所在的位置;④ 加样品:加样品 50 μ l 到对应的微孔中,随即加入酶标二抗工作液 50 μ l / 孔,再加入四环素抗体工作液 50 μ l / 孔,轻轻振荡混匀,置 37 $^{\circ}$ C 避光环境中反应 30min;⑤ 洗板:将孔内液体甩干,用洗涤工作液 300 μ l / 孔,充分洗涤 5 次,每次间隔 10s,用吸水纸拍干;⑥ 显色:加入底物显色剂溶液 60 μ l / 孔(A 液和 B 液各 30 μ l),轻轻振荡混匀,置 37 $^{\circ}$ C 避光环境反应 15-20min;⑦ 测定:加入终止液 100 μ l / 孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪于 450nm 处,测定每孔吸光度值。

[0018] 3) 测定样品溶液中四环素含量:

[0019] ① 定性测定:底物显色 15-20min 后,将样品孔蓝色深浅与比色卡对比,获得不同样品基质中四环素残留大概含量。

[0020] ② 定量测定:加入终止液 100 μ l / 孔后,将酶标仪测定的吸光度值代入标准曲线,可准确测定样品溶液中四环素残留含量。

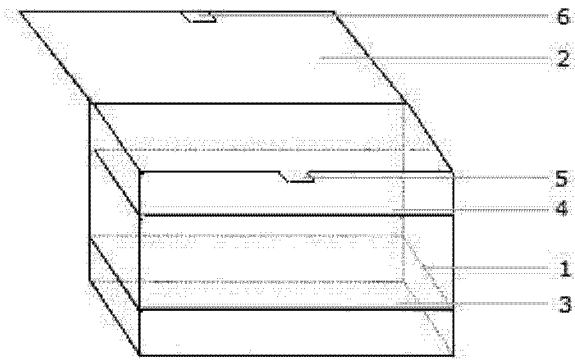


图 1

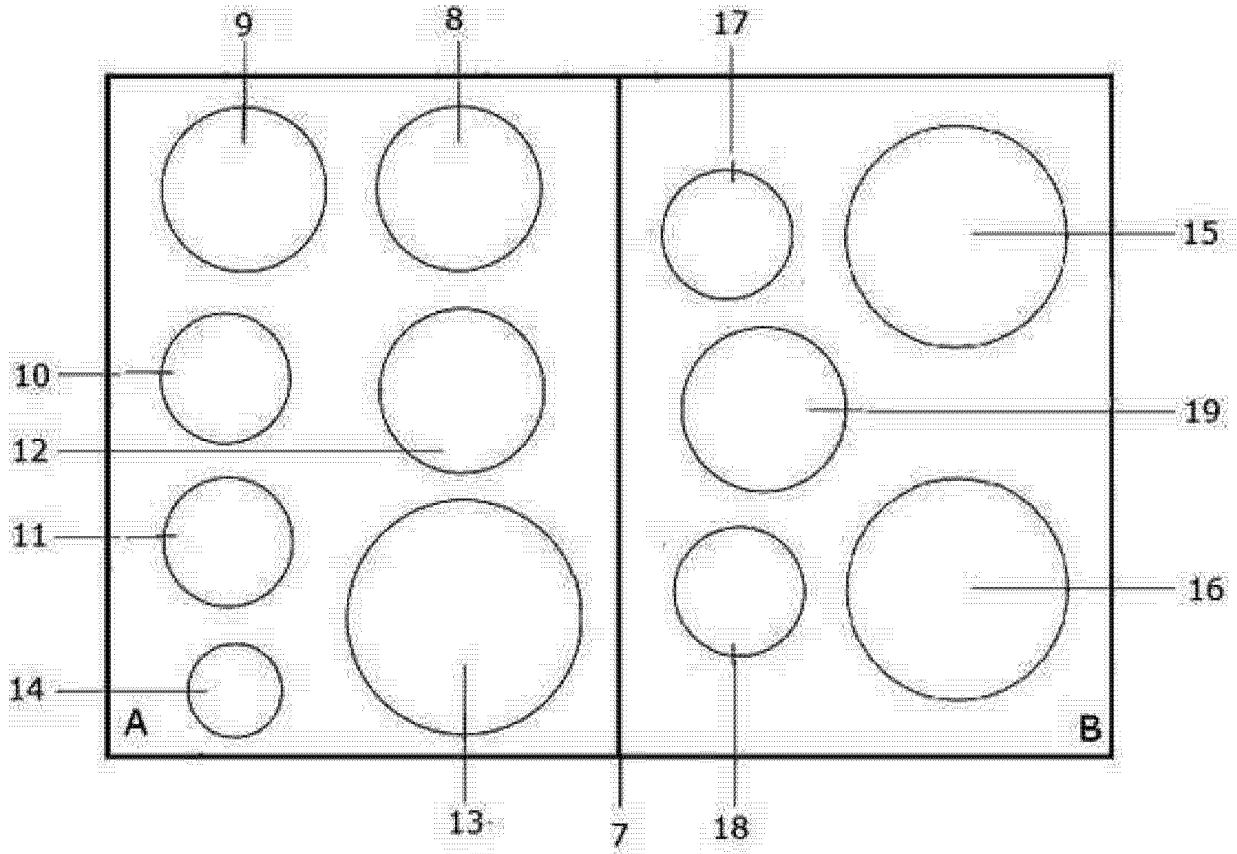


图 2

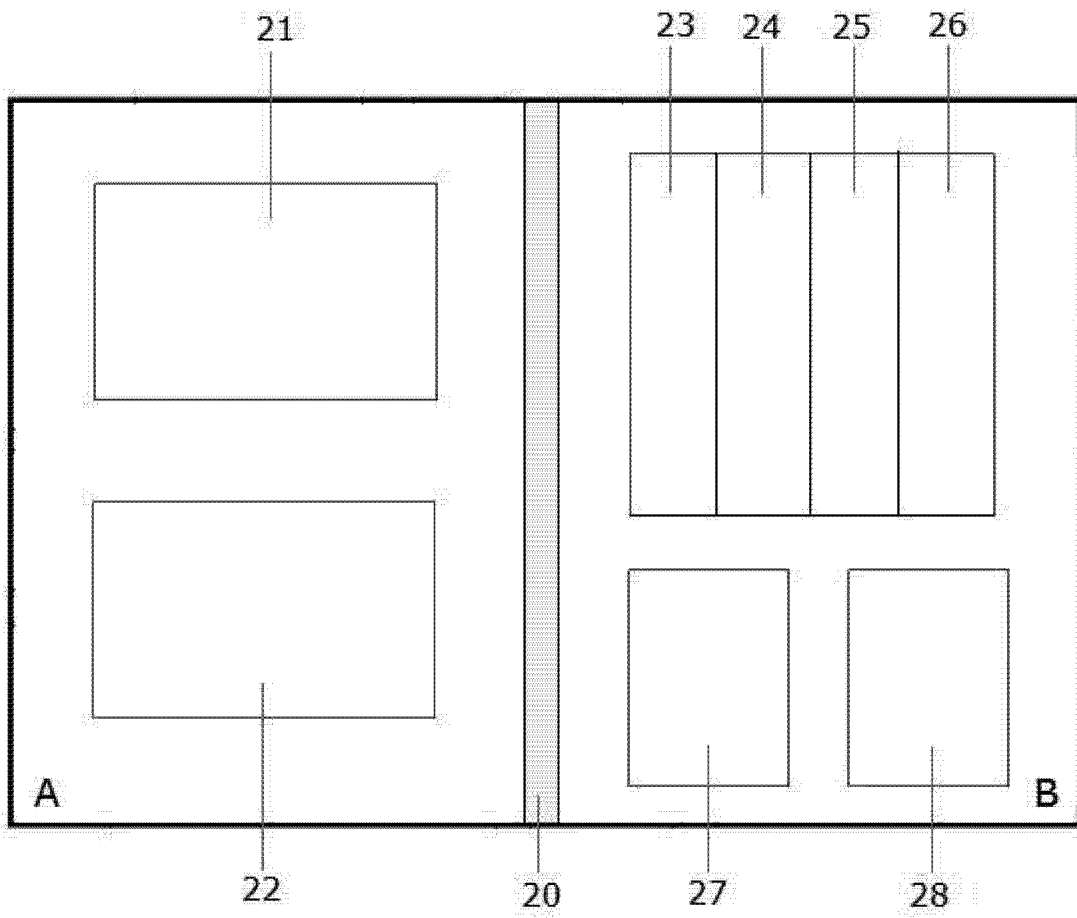


图 3

专利名称(译)	一种四环素的免疫学检测试剂盒		
公开(公告)号	CN203981685U	公开(公告)日	2014-12-03
申请号	CN201420336227.9	申请日	2014-06-23
[标]申请(专利权)人(译)	河南知微生物工程有限公司 河南科技学院		
申请(专利权)人(译)	河南知微生物工程有限公司 河南科技学院		
当前申请(专利权)人(译)	河南知微生物工程有限公司 河南科技学院		
[标]发明人	姜金庆 李桂平 马金友 王毅红 刘耀东 郭芳 吴宁鹏 杨英军		
发明人	姜金庆 李桂平 马金友 王毅红 刘耀东 郭芳 吴宁鹏 杨英军		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/535 G01N33/15		
代理人(译)	路宽		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种四环素的免疫学检测试剂盒。试剂盒包括箱体、盒盖、设置于箱体内的底部固定座和顶部固定座，所述的底部固定座上有各种试剂瓶下凹瓶位，用于放置四环素抗体工作液、酶标二抗工作液、显色液、终止液、浓缩洗涤液、四环素标准液、基质稀释液和 Tween-20 备用液，所述的顶部固定座上有各种卡槽或凹槽，用于放置酶标板、微孔条、吸管、比色卡和 pH 试纸。该实用新型采用间接竞争 ELISA 方法进行四环素含量的定性、定量检测，具有操作简单、灵敏度高、成本低廉等优点，适合大批量样品的现场快速检测。

