



## (12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 210775511 U

(45)授权公告日 2020.06.16

(21)申请号 201921390314.1

(22)申请日 2019.08.29

(73)专利权人 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司

地址 550009 贵州省贵阳市经济技术开发区科技路1号勤邦研发大楼8楼

(72)发明人 胡鹏 谢体波 王兆芹 张凯  
雷雨田 陈鑫 杨玉洁

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/541(2006.01)

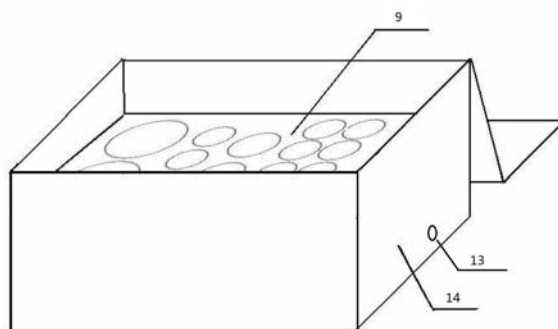
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

### (54)实用新型名称

一种酶联免疫检测试剂盒

### (57)摘要

本实用新型提供一种酶联免疫检测试剂盒，试剂盒内包括瓶体限位器、若干试剂瓶、瓶盖海绵层、酶标板分隔层、酶标板、操作说明书。上述试剂盒的瓶体限位器有温度计开口，可将温度计插入瓶体限位器，使得试剂盒内温度可以使用温度计进行监测。上述试剂盒的酶标板分隔层，在试剂盒内可以收纳酶标板，防止酶标板移动，同时，在进行检测操作时，可以用酶标板分隔层反向盖住酶标板，以达到酶标板反应过程的避光需求。上述瓶盖海绵层，根据试剂瓶瓶盖位置及高度进行开孔，使其能够将瓶盖完整罩住，且内部设有白色吸水纸，一方面可以加强试剂盒内试剂瓶的固定，另一方面，若试剂瓶发生试剂泄漏，可以及时吸收漏液并使操作者及时发现漏液问题。



1. 一种酶联免疫检测试剂盒,其特征在于,试剂盒内包括瓶体限位器、若干试剂瓶、瓶盖海绵层、酶标板分隔层、酶标板、操作说明书,所述试剂盒中的瓶体限位器有温度计开口,所述瓶体限位器温度计开口对应的试剂盒盒体位置预留有盒体温度计开口,戳破试剂盒体外标记的薄膜,可将温度计插入瓶体限位器,使得试剂盒内试剂温度可以使用温度计进行监测;所述试剂盒中的酶标板分隔层,在试剂盒内可以收纳酶标板,防止酶标板移动。

2. 根据权利要求1所述的酶联免疫检测试剂盒,其特征在于,所述瓶体限位器的温度计开口直至两个试剂瓶瓶体之间,可使得操作时插入的温度计可以直接接触试剂瓶表面。

3. 根据权利要求1所述的酶联免疫检测试剂盒,其特征在于,所述酶标板分隔层,其背面有表明试剂盒种类的标签及空白标签纸,可以用于操作时与其他试剂盒区分开来,同时便于记录实验过程数据。

4. 根据权利要求1所述的酶联免疫检测试剂盒,其特征在于,所述酶标板分隔层,在进行检测操作时,可以反向盖住酶标板,以满足酶标板反应过程的避光需求。

## 一种酶联免疫检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及食品安全检测试剂盒领域,具体地说,涉及一种酶联免疫检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 酶联免疫试剂盒(ELISA试剂盒)是酶免疫测定技术中应用最广的技术,其基本方法是将已知的抗原或抗体吸附在固相载体表面,使酶标记的抗原抗体反应在固相表面进行,用洗涤法将液相中的游离成分洗除。在食品安全快速检测领域,通常是采用间接竞争ELISA法,在酶标板酶标反应孔条上预包被偶联抗原,待检测样本中残留的待测物质与酶标板酶标反应孔条上的抗原竞争待测物质抗体,加入酶标二抗后,用底物液显色,样本吸光值与其所含残留物质(待测物质)的含量成负相关,与标准曲线比较再乘以对应的稀释倍数即可得到待测物质的残留量。酶联免疫试剂盒可实现对农药残留、兽药残留、非法添加物、重金属等各种指标的快速、准确、低成本检测。

[0003] 目前酶联免疫快速检测试剂盒主要包括酶标板、酶标二抗、抗体工作液、标准品溶液、底物液、终止液、洗涤液、复溶液等。该类试剂盒的保存环境一般为 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ ,工作环境一般为 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ ,进行测试操作时,若试剂温度不在 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 范围内,会导致OD值偏低,影响检测结果。目前试剂盒的使用,确定试剂盒内试剂温度是否在 $20^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 范围内的测量方法通常为感官测试,存在一定的误差,有影响实验结果准确性的风险。

[0004] 同时,试剂盒的测试反应过程对光敏感,需要避光进行,目前试剂盒酶标板的避光方法通常为覆盖盖版膜,该方法避光效果不佳,且存在反应过程中酶标板分隔层被外界干扰例如风吹等原因导致反应过程避光措施失效,影响检测结果。

### 发明内容

[0005] 为了解决上述问题,本实用新型提供一种酶联免疫检测试剂盒,试剂盒内包括瓶体限位器、若干试剂瓶、瓶盖海绵层、酶标板分隔层、酶标板、操作说明书。上述试剂盒的瓶体限位器有温度计开口,开口直至两个试剂瓶瓶体之间,瓶体限位器温度计开口对应的试剂盒盒体位置预留有盒体温度计开口,戳破试剂盒体外标记的薄膜,可将温度计插入瓶体限位器,直至内部两个试剂瓶瓶体,使得试剂盒内温度可以使用温度计进行监测。上述试剂盒的酶标板分隔层,在试剂盒内可以收纳酶标板,防止酶标板移动。同时,上述酶标板分隔层,在进行检测操作时,可以反向盖住酶标板,以满足酶标板反应过程的避光需求。同时,上述酶标板分隔层,在盖住酶标板时,其背面有试剂盒的标签,可以标记试剂盒的信息,同时,酶标板分隔层背面标签旁边,还有空白的可以填写内容的标签纸,方便记录实验操作人记录操作过程、结果等内容(例如反应时间、反应温度等)。上述瓶盖海绵层,根据试剂瓶瓶盖位置及高度进行开孔,使其能够将瓶盖完整罩住,上述瓶盖海绵层,一方面可以加强试剂盒内试剂瓶的固定,另一方面,若试剂瓶发生试剂泄漏,可以及时吸收漏液,减小泄漏试剂造成的额外影响。同时,上述瓶盖海绵层开孔内部,贴有白色吸水纸,便于使用者打开试剂盒

后第一时间确认试剂瓶是否发生漏液。

[0006] 所述试剂盒中的酶标板,由白色塑料外框和透明塑料酶标反应孔组成。上述酶标反应孔每八个组成一个酶标反应孔条,一个酶标板上共有十二个酶标反应孔条。上述白色塑料外框对应酶标反应孔依次以数字1~12编号酶标反应孔条位置,以大写字母ABCDEFGH编号每个酶标反应孔条上每个孔的位置,将酶标板上的每个酶标反应进行编号,方便实验记录,避免混淆。与此同时,酶标板上的每个酶标反应孔底部有数字01~96标记,以进一步区分每个酶标反应孔,以满足使用者在特殊情况下的编号需求,便于操作记录。上述酶标板,其酶标反应孔中包被有偶联抗原。上述酶标板,放入真空铝箔袋中保存,所述真空铝箔袋中放置防潮吸水袋,所述真空铝箔袋带有自封装置,可以重复封口保存。

[0007] 所述试剂盒中的若干试剂瓶,包括:不同浓度标准品六瓶(1ml/瓶),高浓度标准品一瓶(1ml/瓶),酶标二抗浓缩液一瓶(1ml/瓶),抗体工作液一瓶(10ml/瓶),底物液A液一瓶(7ml/瓶),底物液B液一瓶(7ml/瓶),终止液一瓶(7ml/瓶),20倍浓缩洗涤液一瓶(40ml/瓶),2倍浓缩复溶液一瓶(50ml/瓶)。上述试剂瓶以不同颜色瓶盖加以区分,瓶体贴有明显标签以便识别。其中,用黑色瓶盖的棕色玻璃瓶盛装标准品溶液,用蓝色瓶盖的棕色玻璃瓶盛装高浓度标准品溶液,用红色瓶盖的白色PE塑料瓶盛装酶标二抗溶液,用绿色瓶盖的白色PE塑料瓶盛装抗体工作液,用白色瓶盖的白色PE塑料瓶盛装底物液A液,用红色瓶盖的黑色PE塑料瓶盛装底物液B液,用黄色瓶盖的白色PE塑料瓶盛装终止液,用透明瓶盖的半透明PE塑料瓶盛装浓缩洗涤液,用蓝色瓶盖的半透明PE塑料瓶盛装浓缩复溶液。

[0008] 上述试剂盒,其盒体为硬纸盒。上述试剂盒中的瓶体限位器,由塑料泡沫制成,柔软有弹性,对瓶体的固定性强。

## 附图说明

[0009] 图1本实用新型酶联免疫检测试剂盒中酶标板的俯视图。

[0010] 图2本实用新型酶联免疫检测试剂盒中酶标板分隔层的立体图。

[0011] 图3本实用新型酶联免疫检测试剂盒中试剂瓶的主视图。

[0012] 图4本实用新型酶联免疫检测试剂盒中瓶体限位器的俯视图。

[0013] 图5本实用新型酶联免疫检测试剂盒中瓶盖海绵层俯视图。

[0014] 图6本实用新型酶联免疫检测试剂盒立体图。

## 具体实施方式

[0015] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本实用新型。应理解,这些实施例仅用于说明本实用新型,而不用来限制本实用新型的范围。

[0016] 实施例1结合附图对本实用新型进行进一步解释。

[0017] 如图1为酶标板的俯视图,8个酶标反应孔3组成酶标反应孔条2,一个酶标板共有12个酶标反应孔条2,固定在塑料外框1上。酶标反应孔条2可以从塑料外框1上取出和放回,酶标反应孔条2可以将酶标反应孔3单独或部分分离。塑料外框1上分别有ABCDEFGH字母和1~12数字为每个酶标反应孔3编码;每个酶标反应孔3底部还有1~96数字为每一个酶标反应孔3单独编码。

[0018] 酶标板分隔层4,其两侧有略微突出部分,可以放置在试剂盒中的最上层,将酶标

板放置在其内部,可以起到分隔作用。操作时,反向可以盖住酶标板以满足操作时的避光需求。

[0019] 图3中试剂瓶5/6/7/8根据大小不同,分别放置于图5瓶体限位器9中的试剂瓶孔10,再将瓶盖海绵层12盖上,有效防止运输、储存过程中试剂瓶移位、漏液。

[0020] 瓶体限位器9中,有温度计开口11,在操作时,可以从试剂盒外部盒体温度计开口13插入试剂盒内部,测量试剂盒温度,确定操作时的反应温度,提升试剂盒操作的准确性。

[0021] 实施例2克百威残留酶联免疫检测试剂盒的使用。

[0022] 一、试验原理:本试剂盒采用间接竞争ELISA方法,在酶标板酶标反应孔条上预包被偶联抗原,样本中残留的克百威和酶标板酶标反应孔条上预包被的偶联抗原竞争抗克百威的抗体,加入酶标二抗后,用TMB底物显色,样本吸光度值与其所含残留物克百威的含量成负相关,与标准曲线比较,再乘以其对应的稀释倍数,即可得出样本中克百威的残留量。

[0023] 二、试剂盒内的材料与试剂:96孔酶标板1块;标准品×6瓶:(1ml/瓶),浓度分别为:0ppb,0.5ppb,1.5ppb,4.5ppb,13.5ppb,40.5ppb;高浓度标准品1瓶(1ml/瓶,1ppm)。

[0024] 三、操作步骤

[0025] 1、将试剂盒从冷藏环境中取出,取出试剂盒中的瓶盖海绵层,观察其是否有漏液痕迹,若发生漏液则放弃使用。把试剂盒放置在常温环境进行回温,将温度计插入温度计孔,待温度升至20℃~25℃时方可进行下一步操作,注意每种液体试剂使用前均须摇匀。

[0026] 2、取出需要数量的酶标反应孔板,将不用的酶标反应孔板放回铝箔袋重新密封,保存于2-8℃(36-46°F)环境中。

[0027] 3、编号:将样本和标准品对应酶标反应孔按序编号,每个样本和标准品做2孔平行,并记录标准孔和样本孔所在的位置或者酶标反应孔底部的编号。

[0028] 4、加标准品/样本和抗体工作液:加入标准品/样本50μl到对应的酶标反应孔中,然后加入抗体工作液50μl/孔,轻轻振荡混匀,用酶标板分隔层盖住后置25℃(77°F)避光环境中反应30min。

[0029] 5、洗板:小心揭开酶标板分隔层,将孔内液体甩干,加入洗涤工作液(见配液4)250μl/孔,充分洗涤4-5次,每次间隔10s,泼掉板孔内洗涤液,用吸水纸拍干(拍干后未被清除的气泡可用未使用过的枪头戳破)。

[0030] 6、加酶标二抗:加入酶标二抗100μl/孔,轻轻振荡混匀,用酶标板分隔层盖住后置25℃(77°F)避光环境中反应30min,取出重复洗板步骤6。

[0031] 7、显色:加入底物液A液50μl/孔,再加入底物液B液50μl/孔,轻轻振荡混匀,用酶标板分隔层盖住后置25℃(77°F)避光环境中反应15min。

[0032] 8、测定:加入终止液50μl/孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪于450nm处,测定每孔 OD 值。

[0033] 四、结果判定

[0034] 结果判定有两种方法,粗略判定可用第1种方法,定量判定用第2种方法。注意样本吸光度值与其所含克百威的含量成负相关。

[0035] 1、用样本的平均吸光度值与标准值比较即可得出其浓度范围(ppb)。假设样本1的吸光度值为0.310,样本2的吸光度值为0.78,标准品吸光度值分别是:0ppb为1.820;0.5ppb为1.431;1.5ppb为1.05;4.5ppb为0.61;13.5ppb为0.27,40.5ppb为0.12,则样本1的浓度范

围是4.5ppb-13.5ppb再乘以其对应的稀释倍数即可得出样本中克百威残留的浓度范围；样本2的浓度范围是1.5ppb-4.5ppb再乘以其对应的稀释倍数即可得出样本中克百威残留的浓度范围。

[0036] 2、定量分析

[0037] (1) 百分吸光率的计算,标准品或样本的百分吸光率等于标准品或样本的平均吸光度值除以第一个标准品(0标准)的平均吸光度值,再乘以100%,即

$$[0038] \quad \text{百分吸光率 (\%)} = \frac{B}{B_0} \times 100\%$$

[0039] B—标准品或样本溶液的平均吸光度值；

[0040] B<sub>0</sub>—0ppb标准溶液的平均吸光度值。

[0041] (2) 标准曲线的绘制与计算以标准品百分吸光率为纵坐标,以克百威标准品浓度(ppb)的对数为横坐标,绘制标准曲线图。将样本的百分吸光率代入标准曲线中,从标准曲线上读出样本所对应的浓度,乘以其对应的稀释倍数即为样本中克百威的实际浓度。

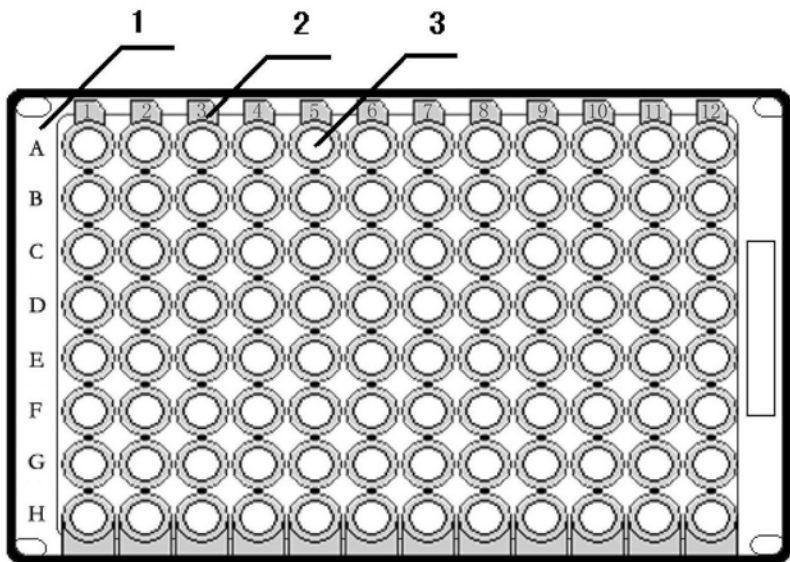


图1

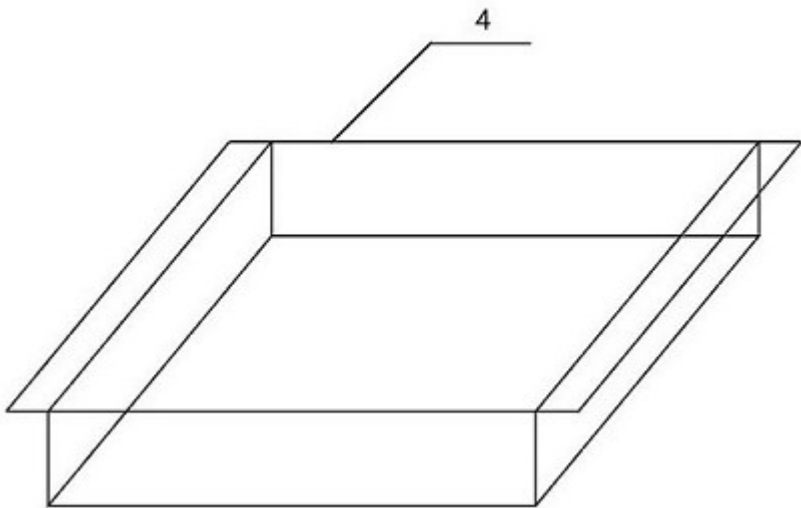


图2

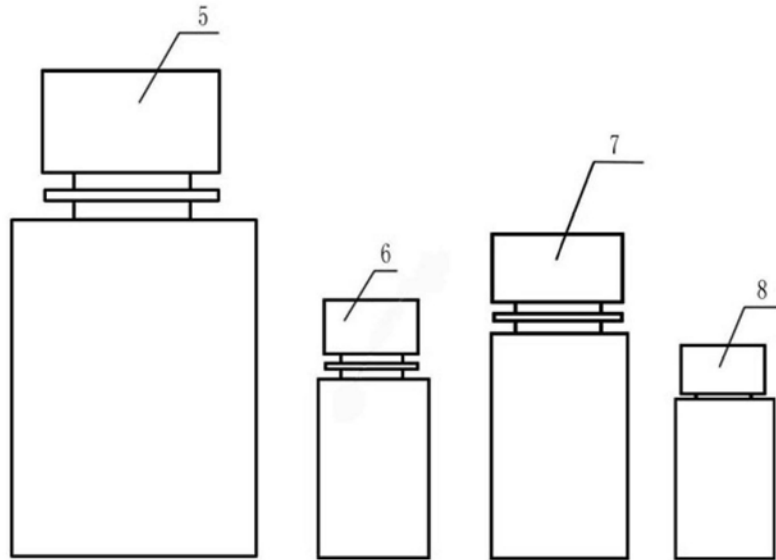


图3

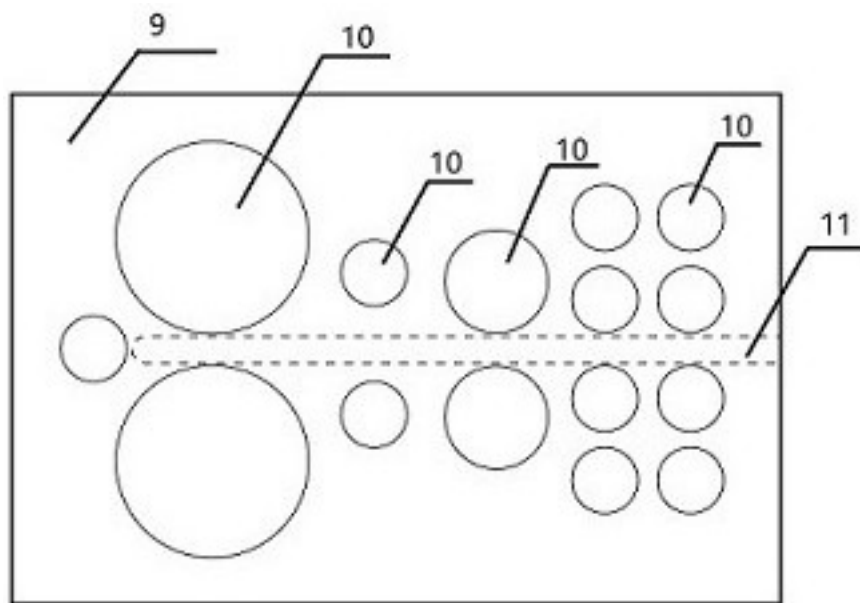


图4

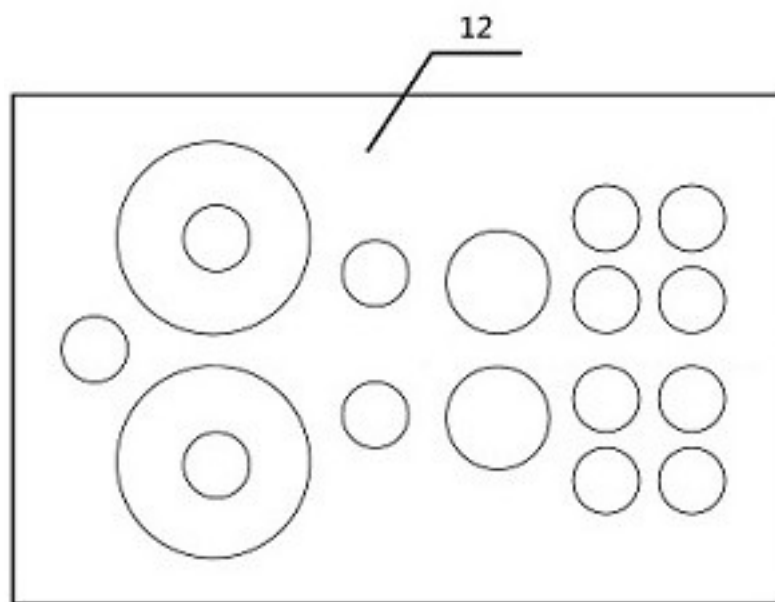


图5

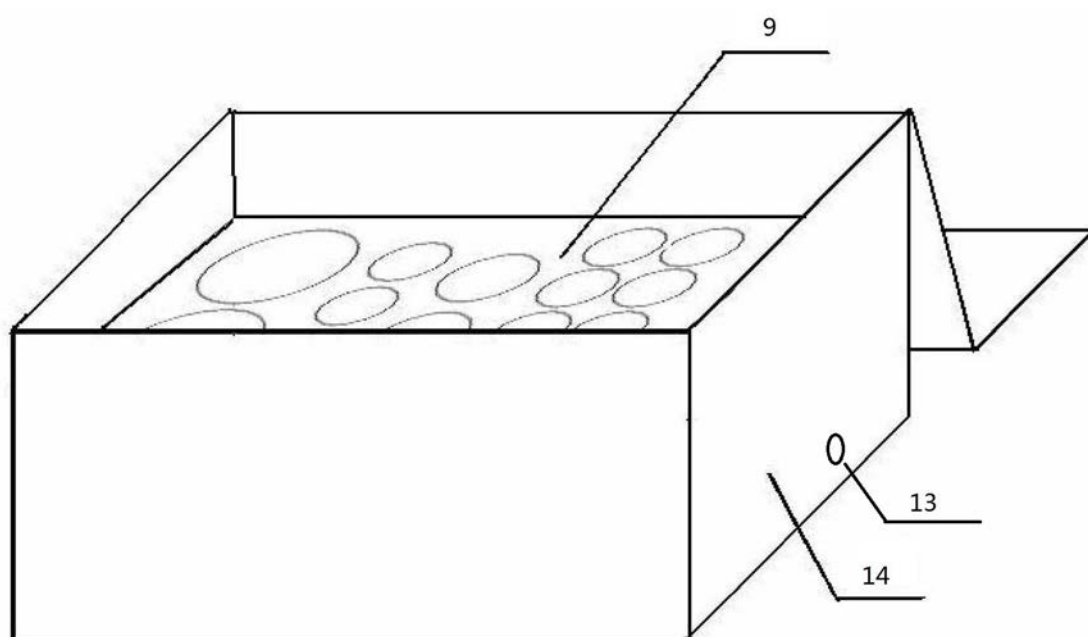


图6

|                |                                                |         |            |
|----------------|------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 一种酶联免疫检测试剂盒                                    |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN210775511U</a>                   | 公开(公告)日 | 2020-06-16 |
| 申请号            | CN201921390314.1                               | 申请日     | 2019-08-29 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司                               |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司                               |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司                               |         |            |
| [标]发明人         | 胡鹏<br>谢体波<br>王兆芹<br>张凯<br>雷雨田<br>陈鑫<br>杨玉洁     |         |            |
| 发明人            | 胡鹏<br>谢体波<br>王兆芹<br>张凯<br>雷雨田<br>陈鑫<br>杨玉洁     |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/535 G01N33/541                          |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

#### 摘要(译)

本实用新型提供一种酶联免疫检测试剂盒，试剂盒内包括瓶体限位器、若干试剂瓶、瓶盖海绵层、酶标板分隔层、酶标板、操作说明书。上述试剂盒的瓶体限位器有温度计开口，可将温度计插入瓶体限位器，使得试剂盒内温度可以使用温度计进行监测。上述试剂盒的酶标板分隔层，在试剂盒内可以收纳酶标板，防止酶标板移动，同时，在进行检测操作时，可以用酶标板分隔层反向盖住酶标板，以达到酶标板反应过程的避光需求。上述瓶盖海绵层，根据试剂瓶瓶盖位置及高度进行开孔，使其能够将瓶盖完整罩住，且内部设有白色吸水纸，一方面可以加强试剂盒内试剂瓶的固定，另一方面，若试剂瓶发生试剂泄漏，可以及时吸收漏液并使操作者及时发现漏液问题。

