



# 山东绿都生物科技有限公司

## Shandong Lvdu Bio-Sciences&Technology Co., Ltd.

### 抗生素类 ELISA 检测试剂盒说明书

产品编号: SPLD028

#### 一、原理

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法定量检测组织样品中抗生素类的残留量。定量检测组织样本中抗生素类残留。

#### 二、试剂盒种类

庆大霉素 ELISA 试剂盒; 新霉素 ELISA 试剂盒;  
替米考星 ELISA 试剂盒; 氟喹诺酮 ELISA 试剂盒;  
四环素 ELISA 试剂盒; 呋喃西林 ELISA 试剂盒;  
呋喃妥因 ELISA 试剂盒; 呋喃唑酮 ELISA 试剂盒;  
呋喃它酮 ELISA 试剂盒; 孔雀石绿 ELISA 试剂盒

#### 三、试剂盒特点及技术指标

样本	检测下限	回收率
组织	5ppb	70%-120%

\* 检测时间: 30min

药物	交叉反应率%
抗生素类	100
红霉素	12
环丙沙星	1

试剂盒灵敏度: 0.05ppb (µg/kg)

\* 试剂盒检测纯阴性样本的背景值 < 0.04ppb;

\* 样品处理方法简洁, 符合率大于 95%;

#### 四、所需材料

仪器: 微孔板酶标仪 450 nm/630 nm、均质器、振荡器、离心机、天平 (感量 0.01 g)、离心管 (5 mL, 50 mL)

微量移液器: 单道 1µL~10 µL、10 µL~100µL  
多道 50µL~300µL

试剂: 去离子水、乙腈

#### 五、试剂盒组成

序号	组成部分	96T 装量
1	抗生素类酶标板	12×8 孔
2	抗生素类标准品*6	6×0.5mL
3	抗生素类酶标物	7 mL
4	抗生素类抗体	7 mL
5	底物液 A 液	7 mL
6	底物液 B 液	7 mL
7	终止液	7 mL
9	2×抗生素类样品稀释液	45mL
10	10×抗生素类样品提取液	45 mL

\*注: 6 个标准品 A、B、C、D、E、F 浓度分别为:  
0 ppb, 0.05 ppb, 0.15 ppb, 0.45 ppb, 1.35ppb,  
4.05 ppb, 直接使用。



## 山东绿都生物科技有限公司

# Shandong Lvdu Bio-Sciences & Technology Co., Ltd.

### 六、溶液配制

#### 配液 1: 洗涤工作液

用去离子水将 20×浓缩洗涤液按 1 : 19 体积比进行稀释,用于酶标板的洗涤,洗涤工作液在 4℃ 环境可保存一个月,用前一天取出回温。

#### 配液 2: 1 × 抗生素类样品稀释液

用去离子水将 2×抗生素类样品稀释液按 1:1 体积比进行稀释。配好的 1×抗生素类样品稀释液在 4℃ 环境可保存一个月,用前一天取出回温。

#### 配液 3: 1 × 抗生素类样品提取液

用去离子水将 10×抗生素类样品提取液按 9:1 体积比进行稀释。配好的 1×抗生素类样品提取液在 4℃ 环境可保存一个月,用前一天取出回温。

### 七、样本前处理

样本处理前须知:

- ① 处理完的样品应及时进行下步检测,实验中必须使用一次性吸头,吸取不同试剂时要更换吸头。
- ② 样本数目超过 8 个时推荐使用排枪加样。

#### 组织(稀释倍数: 100)

- ① 称取糊状样品 1.0g ± 0.05g 至 50mL 离心管中,加入 2mL 1×抗生素类样品提取液,震荡提取 1min;
- ② 再加入 2 mL 乙腈,震荡提取 1min;
- ③ 4000rpm 离心 5min.;

- ④ 小心取出上层溶液 50 μL 至另一装有 950 μL 1 × 抗生素类样品稀释液的离心管中,震荡混匀,取 50 μL 用于分析。

### 八、酶标免疫测定程序

- ① 将所有所需试剂从冷藏环境中取出,待其完全回升至室温后方可使用,根据体积大小不同取出回温的时间从 1 小时~2 小时。注意每种液体试剂使用前均须摇匀。
- ② 按标准品和样品双孔平行的数量使用微孔。
- ③ 加标准品/样品、酶、抗体: 加标准品/样品 50μL 到对应的微孔中,加入抗生素类酶标物 50μL/孔,加入抗生素类抗体 50μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 37℃ 避光环境中反应 20min。
- ④ 洗板: 小心揭开盖板膜,将孔内液体甩干,加入洗涤工作液 300 μL/孔,每次静置 20s,甩去孔内液体,重复洗涤 3 次,最后一次用吸水纸拍干(拍干后未被清除的气泡可用未使用过的枪头戳破)。
- ⑤ 显色: 加入底物液 A 液 50 μL/孔,再加底物液 B 液 50 μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 37℃ 避光环境中反应 10min。
- ⑥ 测定: 加入终止液 50μL/孔,用酶标仪立即测定 450/630nm 处的吸光度值。



## 山东绿都生物科技有限公司

# Shandong Lvdu Bio-Sciences & Technology Co., Ltd.

### 九、结果判定

以标准品百分吸光率为纵坐标，以抗生素类标准品浓度（ppb）的半对数为横坐标，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抗生素类实际浓度。（详见试剂盒专业分析软件，以便进行大量样本的分析计算。）

### 十、注意事项

- ① 根据体积大小不同取出回温的时间从 1 小时~3 小时，体积 15 毫升以上的先从冷藏环境取出回温，
- ② 洗板拍干后应立即进行下一步操作。
- ③ 反应终止液为 2M 硫酸，避免接触皮肤。
- ④ 不使用过了有效期的试剂盒，不交换使用不同批号的试剂。
- ⑤ 0 标准的吸光度（450/630nm）值小于 0.5  
（ $A_{450nm} < 0.5$ ）时，表示试剂可能变质。
- ⑥ 在加入底物液 A 液和底物液 B 液后，一般显色时间为 15min 即可。若颜色较浅，可延长反应时间到 20min，反之则减短反应时间。
- ⑦ 底物液 B 液长期使用变为浅蓝色时，请放心使用，不影响检测结果。

### 十一、贮藏条件及保存期

贮藏条件： 2~8℃

保质期： 12 个月

### 十二、问题与对策

（见下页）



山东绿都生物科技有限公司

Shandong Lvdu Bio-Sciences & Technology Co., Ltd.

序号	现象	可能原因	解决方法
1	板条不显色或者无相应数值	试剂使用顺序混乱,或操作步骤出错	严格遵循实验说明重复实验
		使用了不同批次的试剂	确保试剂来自同一试剂盒
		板条受潮严重	板条要封好,干燥剂失效要及时更换
2	低吸光度	试剂过期,或者不同的批次混用	查证过期试剂和批次
		洗液配制错误、洗涤浸泡时间过长	按照说明书要求洗涤,并正确配制洗液
		孵育时间过短	按照说明书要求,严格计算好时间
		试剂污染	确保吸取不同液体更换新的枪头和盛放器皿
		试剂温度过低	根据试剂体积大小回温时间相应延长,确保试剂完全回温
	OD值	使用错误波长读数,或者酶标仪失灵	确保450nm波长读数,检查酶标仪是否故障
		试剂盒处于极端的条件	使用完毕的部分请立即放回冰箱,勿置于过热环境时间太长
3	过高的背景值或吸光度值	使用了质量差的水配制试剂	使用双蒸水或去离子水配制试剂
		洗涤不当或者洗板机洗板效果不好	增加1-2次洗涤,每孔至少加入250 μL洗液
		酶标仪失灵,如OD值读数很高而颜色很浅	使用校正微孔板检查酶标仪,检查光源
		实验室温度过高,反应时间过长	测定操作温度是否合适,时间是否计算正确
		试剂混淆,被污染或者配制不当	确保使用正确的试剂,准确配制,避免污染
4	板内差异性大	加入标准品和样品等的时间不一致	使用多道枪加样,同种试剂加样途中不能中断
		多道枪使用不当	校准多道枪,检查吸嘴是否套紧,确保吸液量一致
		洗涤系统出现故障	检查洗涤系统,保持良好运行
5	板间差异性大	板与板之间孵育时间相差太大	独立计时,确保一致的孵育时间
		板与板之间不一致的洗涤过程	确保相同的洗涤次数,保证洗涤系统正常运作
		使用移液枪不当	检查移液枪,确保吸取相同液量
		试剂和样品处于不同温度	确保盒内试剂和样品液等充分回温,如果试剂体积较大则需要回温较长时间。不能用温水浴回温样品
		不同批次的试剂混用,或试剂盒过期	试剂不要混用,通常0标准品的OD值小于0.5显示试剂质量下降
6	一个或多个标准品数据点超出曲线范围	标准品添加顺序混乱,或者放置于错误位置	按照说明要求重复实验,保证标准品添加正确。
		标准品被污染或与其他标准品混淆	改用新的标准品,按照由低浓度到高浓度的顺序添加标准品
		洗涤不一致或者洗涤系统失灵	遵循一如既往的洗涤方式,检查洗涤系统
		加入标准品和试剂的时间不一致	由低到高浓度依次添加标准品,使用多道枪移液
		多道枪使用不当	校准多道枪,检查吸嘴是否套紧,确保吸液量一致