

动物包虫抗体 ELISA 检测试剂盒使用说明书

【用途】

本试剂盒用于检测多种哺乳动物（牛、马、绵羊、山羊、猪等）血清或血浆中的包虫抗体。

【原理】

本试剂盒采用包虫抗原包被微量反应板，利用间接 ELISA 原理进行检测。如果待检动物血清或血浆中含有包虫抗体，则与包被的固相包虫抗原结合，加入酶标记物（金黄色葡萄球菌 G 蛋白酶标记物），形成（抗原-抗体-酶标记物）免疫复合物，再加入底物液作用显色，在酶标仪 450nm 波长测定各孔吸光度值，判定结果。

【试剂盒组成】

名称	数量
1. 包虫抗原包被板	1 块（8×12 孔）
2. 10 倍浓缩洗涤液	1 瓶（50mL）
3. 包虫抗体阳性对照	1 支（1mL）
4. 包虫抗体阴性对照	1 支（1mL）
5. 包虫抗体临界对照	1 支（1.8mL）
6. 样品稀释液	2 瓶×50mL
7. 酶标记物	1 瓶（6.5mL）
8. 底物液 A	1 瓶（6.5mL）
9. 底物液 B	1 瓶（6.5mL）
10. 终止液	1 瓶（6.5mL）
11. 封板膜	4 张
12. 自封袋	1 个
13. 记录纸	1 份
14. 说明书	1 份

【其它需自备的物品】

1. 50uL 和 100uL 的精确微量移液器，200uL 八或十二通道微量移液器；
2. 一次性移液器吸头；
3. 稀释用 96 孔板；
4. 37℃ 避光孵育箱；

5. 1000mL 量筒（配制洗涤液用）；
6. 酶标仪（含 450nm 波长滤光片）；
7. 蒸馏水或去离子水；
8. 自动或手动洗板系统；
9. 吸水纸；
10. 震荡器。

【注意事项】

1. 试剂盒从冷藏环境中取出后，应置室温下平衡 30 分钟后再使用；未用完的包虫抗原包被板加干燥剂放于自封袋中，置 2~8℃ 保存，各组份拆封后应在一个月内用完；
2. 吸取每个血清样品后都要更换吸头；
3. 加液时均应使用加液器并经常校对其准确性，以减少试验误差；
4. 待检血清样品数量较多时，应使用八或十二通道微量移液器，从稀释板转移到反应板中，缩短加样时间；
5. 洗涤时各孔均需加满洗涤液，防止因洗涤不充分造成非特异性显色；
6. 封板膜只限一次使用，以避免交叉污染；
7. 结果判定必须以酶标仪读数为准，且终止反应后应立即读数，在 10 分钟内完成；
8. 所有待检样品、洗涤液和各种废弃物都应视为可能具有传染性灭活处理；
9. 不同批次试剂不能混用；
10. 底物 B 液中含有 TMB 成份，对强光和氧化剂敏感，应尽量避光；
11. 终止液为 2M H₂SO₄，应避免与眼、皮肤接触；
12. 请严格按照实验操作步骤操作。

【样品制备】

按常规方法制备血清或血浆，室温保存样品不要超过 8 小时；若实验在 8 小时以后进行，需将样品保存在 2℃~8℃；如保存超过 1 周则置 -20℃ 以下。

【操作步骤】

使用前所有试剂应恢复至室温（25℃），试剂应轻轻旋转或振荡混匀。

1. 浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水 10 倍稀释。
2. 样品 1:100 稀释：将样品稀释液 1ml 加入一洁净小试管内，加 10μl 待检样品，充分混匀。
3. 将板条固定于板架上，剩余的板条放入密封袋中保存。
4. 每次实验每板须设空白孔、阳性对照、阴性对照各 1 孔，临界对照 3 孔。阳性对照、阴性对照、临界对照直接使用，100μl/孔。其余每孔加入稀释后样品 100μl。置 37℃ 孵育 60 分钟。

5. 甩净孔中液体，将洗液注满每孔（约 300 μ l/孔），停留 1 分钟后甩净拍干，反复 3 次。除空白孔外每孔加酶标记物 50 μ l（1 滴），置 37℃ 孵育 30 分钟。

6. 甩净孔中液体，同上洗板 3 次，拍干后各孔加显色液 A、显色液 B 各 50 μ l（1 滴），置 37℃ 避光 15 分钟，每孔加入终止液 50 μ l（1 滴），轻微震荡微孔板以混合均匀。

7. 以空白孔调零，用酶标仪读取 450nm 处的 A 值。

【结果判定】

1. 试验结果同时符合下列条件，方为有效：

阴性对照 A 值 < 0.15，临界对照 A 值平均值 > 0.2，阳性对照 A 值 > 0.50，证明实验成立；否则试验结果无效，需要重新试验。

2. 按以下方法判定结果：

阳性：样品 A 值 $\geq$ 临界对照 A 值平均值

阴性：样品 A 值 < 临界对照 A 值平均值

【贮藏条件】2~8℃ 避光保存

【保存期】该产品有效期 6 个月