

小鼠莱姆病 (Lyme-D) ELISA试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

检测范围: 96T
1.6IU/L -70IU/L

使用目的:

本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中莱姆病 (Lyme-D) 表达。

实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠莱姆病 (Lyme-D) 表达。用纯化的小鼠莱姆病 (Lyme-D) 抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 可与样品中莱姆病 (Lyme-D) 相结合, 经洗涤除去未结合的抗原和其他成分后再与 HRP 标记的莱姆病 (Lyme-D) 抗体结合, 形成抗体-抗原-酶标抗体复合物, 经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值), 与 CUTOFF 值相比较, 从而判定标本中小鼠莱姆病 (Lyme-D) 的存在与否。

试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	7	终止液	6ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶	8	阳性对照	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条	9	阴性对照	0.5ml×1 瓶
4	样品稀释液	6ml×1 瓶	10	说明书	1 份
5	显色剂 A 液	6ml×1 瓶	11	封板膜	2 张
6	显色剂 B 液	6ml×1/瓶	12	密封袋	1 个

标本要求

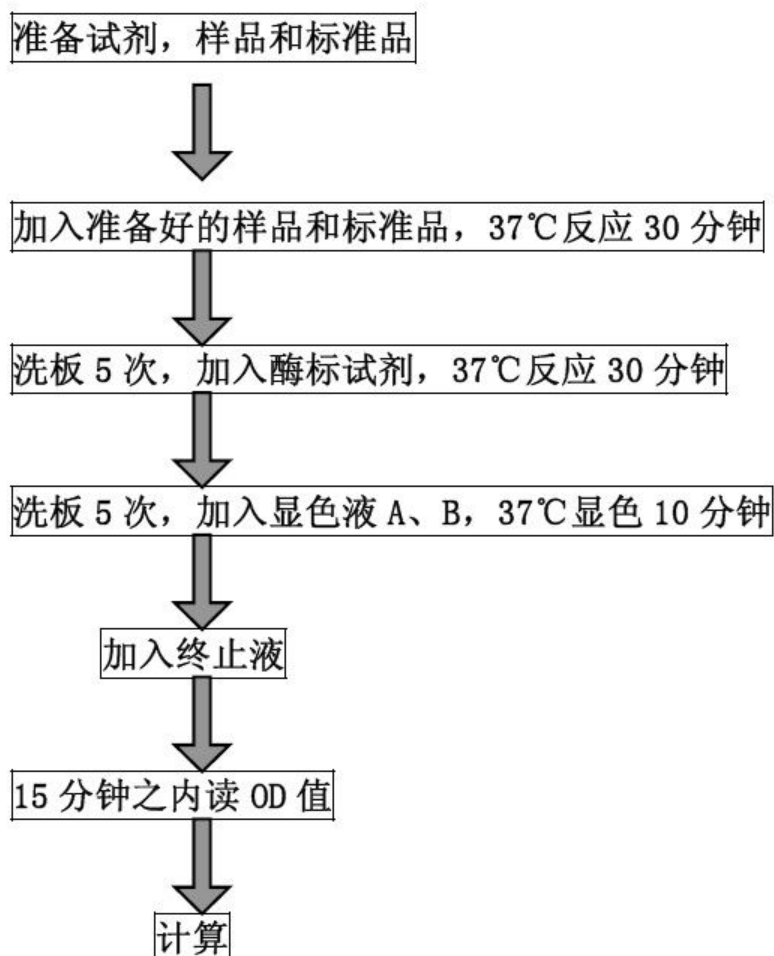
1. 标本采集后尽早进行提取, 提取按相关文献进行, 提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验, 可将标本放于-20℃保存, 但应避免反复冻融
2. 不能检测含 NaN₃ 的样品, 因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的 (HRP) 活性。

操作步骤

1. 编号: 将样品对应微孔按序编号, 每板应设阴性对照 2 孔、阳性对照 2 孔、空白对照 1 孔 (空白对照孔不加样品及酶标试剂, 其余各步操作相同)
2. 加样: 分别在阴、阳性对照孔中加入阴性对照、阳性对照 50μl。然后在待测样品孔先加样品稀释液 40μl, 然后再加待测样品 10μl。加样将样品加于酶标板孔底部, 尽量不触及孔壁, 轻轻晃动混匀,
3. 温育: 用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。
4. 配液: 将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用
5. 洗涤: 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液, 静置 30 秒后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。
6. 加酶: 每孔加入酶标试剂 50μl, 空白孔除外。

7. 温育：操作同 3。
8. 洗涤：操作同 5。
9. 显色：每孔先加入显色剂 A50 μ l，再加入显色剂 B50 μ l，轻轻震荡混匀，37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。
10. 终止：每孔加终止液 50 μ l，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
11. 测定：以空白空调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

操作程序总结：



计算和结果判定：

试验有效性：阳性对照孔平均值 \geq 1.00；阴性对照平均值 \leq 0.10

临界值（CUT OFF）计算：临界值=阴性对照孔平均值+0.15

阴性判定：样品 OD 值 < 临界值（CUT OFF）者为莱姆病（Lyme-D）阴性

阳性判定：样品 OD 值 \geq 临界值（CUT OFF）者为莱姆病（Lyme-D）阳性

注意事项

1. 操作严格按照说明书进行，本试剂不同批号组分不得混用。
2. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未

用完，板条应装入密封袋中保存。

3. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
4. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
5. 底物请避光保存。
6. 试验结果判定必须以酶标仪读数为准，使用双波长检测时，参考波长为 630nm
7. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。终止液为 2M 的硫酸，使用时必须注意安全。

保存条件及有效期

1. 试剂盒保存：2-8℃。
2. 有效期：6 个月