本试剂盒只能用于科学研究，不得用于医学诊断

伏马毒素 B1（FB1）ELISA 检测试剂盒

使用说明书

检测原理

试剂盒采用竞争法酶联免疫吸附试验（ELISA）。往预先包被伏马毒素B1抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的竞争抗原，经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色，TMB在过氧化物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。颜色的深浅和样品中的伏马毒素B1（FB1）呈负相关。用酶标仪在450nm 波长下测定吸光度（OD 值），计算样品浓度。

样品收集、处理及保存方法

1. 血清：使用不含热原和内毒素的试管，操作过程中避免任何细胞刺激，收集血液后，3000 转离心 10 分钟将血清和红细胞迅速小心地分离。

2. 血浆：EDTA、柠檬酸盐或肝素抗凝。3000 转离心 30 分钟取上清。

3. 细胞上清液：3000 转离心 10 分钟去除颗粒和聚合物。

4. 组织匀浆：将组织加入适量生理盐水捣碎。3000 转离心 10 分钟取上清。

5. 保存：如果样本收集后不及时检测，请按一次用量分装，冻存于-20℃，避免反复冻融，在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

自备物品

1.酶标仪（450nm）

2.高精度加样器及枪头：0.5-10uL、2-20uL、20-200uL、200-1000uL

3.37℃恒温箱

操作注意事项

1. 试剂盒保存在 2-8℃，使用前室温平衡 20 分钟。从冰箱取出的浓缩洗涤液会有结晶，这属于正常现象，水浴加热使结晶完全溶解后再使用。

2. 实验中不用的板条应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。

3. 按照说明书操作时样本已经稀释 5 倍，最终结果乘以 5 才是样本实际浓度。

4. 严格按照说明书中标明的时间、加液量及顺序进行温育操作。

5. 所有液体组分使用前充分摇匀。

试剂盒组成

名称	96 孔配置	48 孔配置	备注
微孔酶标板	12 孔×8 条	12 孔×4 条	无
标准品	0.3mL*6 管	0.3mL*6 管	无
样本稀释液	6mL	3mL	无
竞争抗原-HRP	6mL	3mL	无
20×洗涤缓冲液	25mL	15mL	按说明书进行稀释
底物 A	6mL	3mL	无
底物 B	6mL	3mL	无
终止液	6mL	3mL	无
封板膜	2 张	2 张	无
说明书	1 份	1 份	无
自封袋	1 个	1 个	无

注：标准品（S0-S5）浓度依次为：0、2.5、5、10、20、40 ng/ml

试剂的准备

20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释，即 1 份的 20×洗涤缓冲液加 19 份的蒸馏水。

洗板方法

1. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加满洗涤液，静置 1min 后甩尽孔内液体，在吸水纸上拍干，如此洗板 5 次。

2. 自动洗板机：每孔注入洗液 350μL，浸泡 1min，洗板 5 次。

操作步骤

1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回 4℃。

2. 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 50μL；

3. 样本孔先加待测样本 10μL，再加样本稀释液 40μL；空白孔不加。

4. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的竞争抗原 50μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。

5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液，静置 1min，甩去

洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。

6. 每孔加入底物 A、B 各 50μL，37℃避光孵育 15min。

7. 每孔加入终止液 50μL，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

结果判断

1. 15分钟内在波长450nm的酶标仪上读取各孔的OD值；

2. 百分结合率计算：设SO管计数为BO，各标准管或样品管计数为B，非特异管计数为NSB，则百分结合率计算公式如下：B/BO=(B－NSB)/(BO－NSB)×100%

3. logit计算：各标准点或样品管的logit值计算公式如下:logit=ln(B/BO)/(1－B/BO)

4. 将标准品的OD均值与标准品0点的OD均相除，为标准点的百分结合率，在log-logit坐标纸上绘图。

5. Log-logit双对数标准曲线：坐标纸上横轴从左至右第一个1-9表示为第一个10进位，第二个1-9表示为第二个10进位。第三个1-9表示为第三个10进位。坐标纸纵轴为百分比（1-99），即各标准吸光值的百分结合率。取一条通过各点的直线。要求尽可能多的点在线上，同时剩余的点均匀分布在直线的两边。样品也同样由吸光值计算百分结合率，再从纵轴上的相应结合率找到直线上的点，此点对应的横坐标浓度即为样品的浓度，无须换算。

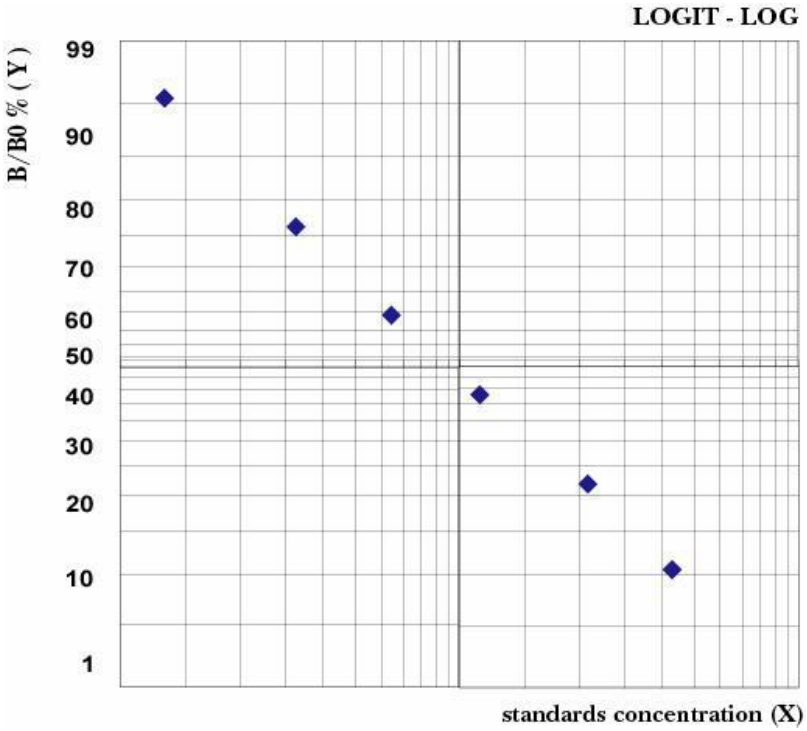
6. 人工处理：以标准浓度取log值为横坐标，对应的logit值为纵坐标在普通坐标纸上或以标准浓度为横坐标，对应的B/BO为纵坐标在logit-log坐标纸上画出标准曲线（理想化时是一条直线）。根据待测样

品的B/BO可以从坐标纸上查出样品的浓度值。如果使用普通坐标纸，查出的数值应取反对数才是最后的浓度值。

7. 自动处理：使用logit-log或四参数数据处理模式，由电脑自动计算得出结果。

8. 敏感度：1.0 ng/ml

9. 图例



试剂盒性能

1. 准确性：标准品线性回归与预期浓度相关系数 R 值，大于等于 0.9900。

2. 灵敏度：最低检测浓度小于 0.1 ng/ml。

3. 特异性：不与其它可溶性结构类似物交叉反应。

4. 重复性：板内、板间变异系数均小于 15%。

5. 贮藏：2-8℃，避光防潮保存。

6. 有效期：6 个月

免责声明

1. 试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。

2. 严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。