

布鲁氏菌 cELISA 抗体检测试剂盒说明书

批准文号：兽药生字 154028118

兽用

【兽药名称】

通用名 布鲁氏菌 cELISA 抗体检测试剂盒
商品名 无
英文名 cELISA Kit for Detection of Brucella Antibody
汉语拼音 Bulushijun cELISA Kangti Jianceshijihe

【主要成分与含量】

试剂盒组分	数量		
	1P	2P	5P
BRUC 抗原包被板	96 孔板×1 块	96 孔板×2 块	96 孔板×5 块
BRUC 阴性对照血清	0.3ml/管×1 管	0.3ml/管×1 管	0.3ml/管×1 管
BRUC 阳性对照血清	0.3ml/管×1 管	0.3ml/管×1 管	0.3ml/管×1 管
BRUC 竞争抗体	10ml/瓶×1 瓶	15ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶
BRUC 酶标抗体	15ml/瓶×1 瓶	25ml/瓶×1 瓶	60ml/瓶×1 瓶
20×洗涤液	30ml/瓶×1 瓶	60ml/瓶×1 瓶	100ml/瓶×1 瓶
底物溶液 A	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶
底物溶液 B	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶
终止液	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶

【作用与用途】 用于检测光滑型牛、羊布鲁氏菌血清抗体。

【用法与判定】 1 用法

- 1.1 样品准备 采集全血，按常规方法制备血清，血清应清亮，无溶血。
- 1.2 实验准备 试剂盒各个组分在使用前均须恢复至室温（20℃~25℃），加液前充分摇匀。BRUC 抗原包被板上 BRUC 阴性对照血清、BRUC 阳性对照血清和待检血清的分布如表 1 所示（N-表示加阴性对照血清，P-表示加阳性对照血清，S1、S2、S3、S4、S5、S6 和其余孔表示加待检血清）。

表 1 酶标板上对照和样品添加模式图

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	S5										
B	N	S6										
C	P											
D	P											
E	S1											
F	S2											
G	S3											
H	S4											

注：为保证不同样品的孵育时间一致，可先取不低于 10μl 的待检血清和不低于 10μl 的 BRUC 阴性对照血清、BRUC 阳性对照血清分别加入 96 孔板（单独准备）中并做好记录，然后用多道移液器移至 BRUC 抗原包被板相应孔中。也可在 BRUC 抗原包被板直接加样。

1.3 洗涤液配制 使用前，将 20×洗涤液从试剂盒中取出，平衡至室温，并摇动，使沉淀溶解；或在 37°C 水浴中加热 5 分钟~10 分钟，并摇动，使沉淀溶解。待完全溶解后，将 20×洗涤液用纯水或去离子水做 20 倍稀释，充分混匀，即为工作浓度的洗涤液。

1.4 操作步骤

1.4.1 每孔加入 40μl 工作浓度的洗涤液；

1.4.2 在 A1 和 B1 孔加入 BRU C 阴性对照血清各 10μl；在 C1 和 D1 孔加入 BRU C 阳性对照血清各 10μl；剩余孔中加入待检血清 10μl；

1.4.3 每孔加入 50μl 的 BRU C 竞争抗体；

1.4.4 轻轻振荡孔中样品（勿溢出），37°C 孵育 60 分钟；

1.4.5 甩干 BRU C 抗原包被板孔中的液体，每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液，洗涤 3 次，在洗涤和加入下一个试剂前，避免孔壁变干，最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干；

1.4.6 每孔加入 100μl 的 BRU C 酶标抗体；37°C 孵育 30 分钟；

1.4.7 甩干 BRU C 抗原包被板孔中的液体，每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液，洗涤 3 次，在洗涤和加入下一个试剂前，避免孔壁变干，最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干；

1.4.8 每孔先后加入 50μl 底物溶液 A 和 50μl 底物溶液 B；混匀后 37°C 避光孵育 10 分钟；

1.4.9 每孔加入 50μl 的终止液终止显色反应；使用酶标仪测定 450nm 波长处的 OD 值。

2 结果判定

2.1 BRU C 阴性对照血清的平均 OD 值即 OD_{NC} ；BRU C 阳性对照血清的平均 OD 值即 OD_{PC} ；待检血清的 OD 值即为 OD_S ；

2.2 阈值计算 阳性对照血清抑制率即 $PI_{PC}=(OD_{NC}-OD_{PC})/OD_{NC}\times 100\%$

待检血清抑制率即 $PI_S=(OD_{NC}-OD_S)/OD_{NC}\times 100\%$

2.3 试验成立条件： $OD_{NC}>0.5$ 且 $PI_{PC}>60\%$ ，试验结果有效；否则，重新进行试验。

2.4 判定：在试验成立的前提下，待检血清抑制率即 $PI_S>50\%$ ，结果判为阳性； $PI_S\leq 50\%$ ，结果判为阴性。

【注意事项】（1）试剂盒使用前各试剂应平衡至室温，使用后放回 2°C~8°C 保存。

（2）不同批号的试剂盒组份不得混用，不同试剂使用时应防止交叉污染。

（3）底物溶液和终止液不能暴露于强光或接触氧化剂，若出现颜色变化，应弃之不用，底物溶液 B 应避光保存。

（4）稀释 20×洗涤液时应准确量取，如果发现有结晶应加热使其溶解后使用。

（5）待检血清数量较多时，应尽量缩短加样时间。

（6）吸取液体时，应尽量准确，并防止产生气泡。

（7）应严格按照各操作步骤规定的时间和温度进行操作。

（8）终止液为稀硫酸溶液，若接触到皮肤或眼睛，请及时用大量清水洗涤并就医。

【规格】（1）96 孔/盒（2）192 孔/盒（3）480 孔/盒

【贮藏与有效期】 2°C~8°C 保存，有效期 15 个月。

仅供兽医诊断使用