

Mouse Hantaan Virus(HV) Antibody ELISA Kit

(严禁混用不同批号、不同货号试剂盒内的各组分试剂，否则试剂盒无法正常工作)

货号:EM2187

规格: 96T

适用种属:Mouse

应用: 用于定性检测小鼠血清中的 HV 病毒抗体。

储存条件:2-8℃

保质期: 见试剂盒标签

实验方法: 双抗原夹心法

注: 仅供科研使用

试剂盒组件:

Item	Specifications(96T)	Storage
Micro ELISA Plate(Dismountable)	12 × 8	2-8℃/-20℃
HV-Ab Positive Control	1ml×1	2-8℃
HV-Ab negative Control	1ml×1	2-8℃
sample dilution buffer	12ml×1	2-8℃
HRP-HV-Ag	12ml×1	2-8℃ (Avoid Direct Light)
TMB substMousee A	6ml×1	2-8℃ (Avoid Direct Light)
TMB substMousee B	6ml×1	2-8℃ (Avoid Direct Light)
Stop solution	6ml×1	2-8℃
Wash buffer (20X)	50ml×1	2-8℃
Plate Sealer	3pieces	
Product Description	1 copy	

实验原理

该试剂盒采用双抗原夹心法原理检测小鼠血清样品中 HV 病毒抗体，微孔中预包被 HV 病毒抗原，待检血清中的 HV 病毒抗体与包被抗原反应，再与 HRP 标记 HV 病毒抗原结合，形成抗原-抗体-酶标抗原复合物。加 TMB 显色，在酶标仪上比色后根据 OD 值判定有无 HV 病毒抗体的存在。

注意事项

1. 为了保证实验操作的有效性和样品稀释比例的适当性，建议使用少量样品进行预实验。
2. 打开后和使用前，请保持微孔板干燥。暂不使用的酶标板孔请加干燥剂密封保存，避免受潮。
3. 在使用试剂盒之前，使用离心机旋转试管，将试剂离心至试管底部。
4. TMB 试剂应避光存放。
5. 洗涤过程很重要，不充分的洗涤容易造成假阳性和高背景。
6. 检测过程中，请提前准备好下一步实验所需试剂，洗板后及时将试剂加入板孔，不要让微孔板过分干燥，因为干燥的孔板会使板上的活性成分失活。
7. 请勿重复使用枪头，以免造成交叉污染。
8. 本公司不同试剂盒内的试剂，成分不同，请勿混用。不可混用其他厂家的试剂。
9. 为了确保结果的准确性，加样完成，贴封板膜以防止孵育过程样品的蒸发，然后在推荐温度下完成孵育过程。

试剂盒组件外所需器材和试剂

1. 酶标仪（波长：450nm）
2. 37℃ 恒温箱
3. 自动洗板机
4. 精密的单道和多道移液器以及干净的一次性枪头
5. 干净的 EP 管
6. 去离子水或蒸馏水

洗板方法

手动洗板：将微孔板中的溶液倒出，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中力度拍打。每孔中加入 350ul 洗液，并浸泡 1 至 2 分钟后，将洗液从板中倒出，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中力度拍打。

自动洗板：用自动洗板机洗板，设定洗板次数，浸泡时间及每孔洗液加样量。每孔的洗液加液量不少于 350ul。最后一次洗板后，翻转微孔板，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中力度拍打除去残留洗液。建议将洗板机设置为浸泡 1 分钟。

（注意：设置自动洗板机的针高度，以确保可以完全吸出液体）

样品采集和储存（通用）

- **血清：**将所有的血清样品在室温下放置 2 小时或在 2-8℃ 下放置过夜，并以大约 1000×g 离心 20 分钟，收集上清液并立即进行测定。采血管要求是一次性的，且不含热原和内毒素。

样本要求：

1. 检测样本为小鼠血清。
2. 新鲜采集的样本应先充分离心，然后取澄清的液体进行检测，如果未充分沉淀，悬浮的纤维蛋白可能引起假阳性。
3. 标本储存在 2-8℃，一周内不需要检测的标本应储存在-20℃以下，避免反复冻融。

注意：5 天内使用的样品可以在 2-8℃ 的环境下保存，否则，必须在-20℃或-80℃或液氮的环境下保存，以避免失去生物活性和污染。避免多次冻融循环。溶血严重的样品不适合这个试验。

试剂准备与储存

使用前，将所有试剂和样品置于室温 30 分钟。

洗涤缓冲液：

用去离子水或蒸馏水（推荐电阻率为 18MΩ 的超纯水）将 50ml 浓缩洗涤液稀释至 1000ml 并混匀。

测定步骤

1. **加样：**取所需数量板条，做好标记，留 1 孔空白对照，将板条固定于板架上，剩余的板条放入密封袋中保存。阴性对照 3 孔，阳性对照 2 孔，各 100ul 对照血清。空白对照 1 孔空置。其余每孔加入 100ul 样品稀释液，每孔加入待检的样品 10ul，将反应板轻轻震荡使样品混匀。
2. **温育：**用覆膜封板后，置 37℃ 温箱或水浴中反应 30 分钟。
3. **洗板：**温育后，取下覆膜，并用洗涤缓冲液洗板 5 次，每次浸泡 30-60 秒钟。最后一次洗涤后，通过抽吸或倾倒除去所有的洗涤缓冲液。
4. **加酶标工作液：**每孔中加入 100ul 酶标工作液，空白孔除外。
5. **温育：**用覆膜封板后，置 37℃ 温箱或水浴中反应 30 分钟。
6. **洗板：**温育后，取下覆膜，并用洗涤缓冲液洗板 5 次，每次浸泡 30-60 秒钟。最后一次洗涤后，通过抽吸或倾倒除去所有的洗涤缓冲液。
7. **显色：**每孔加入底物 A、B 液各 50ul，轻轻震荡混匀，用覆膜封板后，37℃ 温箱暗置 15 分钟。
8. **终止：**每孔加入终止液 50ul，轻轻震荡混匀。
9. **OD 值的测量：**用酶标仪单波长 450nm 或双波长 450nm/630nm 测定各孔 OD 值(用单波长测定时，需用空白对照孔调零)，并记录结果。注意：在终止反应 30 分钟内读数。

阳性判断值

1.结果判定:

1.1.每个试验结果独立使用，通过临界值(Cut off) 值判定结果。

Cut off (C.O) =0. 10+阴性对照平均(NC) A 值

(当阴性对照平均 A 值小于 0.05 时，按 0.05 计算;当阴性对照平均 A 值大于或等于 0.05 时按实际值计算)。

2.质量控制:

2.1 空白孔(只加显色剂和终止液)的 A 值应不大于 0.08。

2.2 阳性对照(PC) A 值大于 1.0。

2.3 阴性对照平均 A 值小于 0.1。

如果质控是有效的，试验结果就是有效的。

3.结果判定:

阳性结果:样本 A 值 $\geq$ 临界值(Cut off)者为 HV 抗体阳性。

阴性结果:样本 A 值<临界值(Cut off)者为 HV 抗体阴性。

检验结果的解释

阴性结果代表标本中未检测出抗 HV 病毒抗体，阳性结果代表标本中检测出抗 HV 病毒抗体，抗 HV 病毒抗体阳性是 HV 病毒感染的诊断指标之一。

检验方法的局限性

1.所有高敏感性的免疫实验系统，都潜在非特异性，因此不可接受的阳性结果可能是由于 ELISA 方法的生物学假阳性造成的。

2.任何阳性结果均需要与临床信息联系来判定。