

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！

**FineTest®**

## 人类免疫缺陷病毒(第四代)抗体(HIV1+2)及抗原(HIV1p24)ELISA 试剂盒 HIV 4th GeneRation (HIV-1+HIV-2 antibodies plus p24 antigen) ELISA Kit

产品货号：EU2673

版本号：V4.1

包装规格：48T/96T

请勿将不同货号、不同批次号的试剂混用，否则试剂盒将无法正常工作  
使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，可通过以下方式联系我们：

销售部电话 027-86697005

技术部电话 18064071591（ELISA 售后）

技术部电话 18107218793（ELISA 售前）

电子邮箱 sales2@fn-test.com

网 址 <https://www.fn-test.cn/>

复购时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

如有更大包装需求可定制。

**武汉菲恩生物科技有限公司.**

湖北省武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 C22 栋一层、二层(430206)

## 性能介绍

用途	用于体外定性检测血清，血浆，细胞培养上清液，其它生物液体样品中的 HIV p24 antigen and HIV-1/HIV-2 antibodies。		
适用种属	Universal	实验方法	Sandwich ELISA
检测范围	Qualitative	灵敏度	Qualitative
检测时长	90 分钟 (不含平衡和样品准备时间)		
单孔样品最大用量	血清：50ul；血浆：50ul；细胞培养上清：50ul；其它液体样品：50ul		
特异性	特异性和 HIV p24 antigen and HIV-1/HIV-2 antibodies 结合，与其它类似物无明显交叉反应		
储存条件	未启封试剂盒 2-8°C(严禁冻存)，有效期见盒面标签		

## 背景简介

艾滋病病毒（HIV）是一种能攻击人体免疫系统的病毒。它把人体免疫系统中最重要 CD4T 淋巴细胞作为主要攻击目标，大量破坏该细胞，使人体丧失免疫功能。因此，人体易于感染各种疾病，并可发生恶性肿瘤，病死率较高。p24 抗原是由 HIV gag 基因编码的衣壳蛋白，其氨基酸序列在 HIV 各毒株之间高度保守，在病毒的包装和成熟过程中发挥着重要作用。HIV-1 感染机体后，血液中出现最早的可被检测到的病毒标志物为 p24 抗原，其检测可将 HIV 感染检出的窗口期缩短至 12~15 d。因此，p24 抗原的检测在 HIV 感染的早期诊断、预测疾病进展、判断预后及筛选和评价抗 HIV 药物的疗效等方面具有重要意义。HIV 病毒主要分为两型：HIV-1 和 HIV-2，它们在基因结构、传播效率、致病性和地理分布上存在显著差异。HIV-1：全球范围内最主要的流行毒株，约占 95% 以上的感染病例，致病性更强，病毒载量更高，疾病进展更快。HIV-2：主要局限于西非地区，传播效率较低，病毒载量通常较低，疾病进展更缓慢，部分感染者可长期维持健康状态。HIV-1 的高变异性导致疫苗和药物研发面临挑战，而 HIV-2 的流行性和临床影响相对较小，但仍需监测其潜在传播风险。

## 检测原理

该试剂盒基于夹心 ELISA 技术检测 HIV-1 p24 Ag（双抗体夹心 ELISA）和 HIV-1- Ab /HIV-2-Ab（双抗原夹心 ELISA）。在 96 孔板上预先包被抗 HIV（p24）抗体和重组 HIV-1/HIV-2 抗原。加入 HRP 标记的 P24 抗体、HRP 标记的 HIV-1/HIV-2 抗原、质控和样品。如果样本含有 HIV-1 p24 抗原或 HIV-1/HIV-2 抗体，则在反应过程中形成免疫复合物“HIV-p24 抗体-HIV-p24 抗原-HRP 标记的 p24 抗体或 HIV 抗原-HIV-1/HIV-2 抗体-HRP 标记的 HIV 抗原”。孵育后，洗去未结合的成分后，加入 TMB 显色底物，TMB 在辣根过氧化物酶(HRP)的催化下呈现蓝色，加反应终止液后变成黄色。用酶标仪在 450 nm 波长测 OD 值。

### 各组件及开启后保存条件

未启封的试剂盒，请保存在 2-8°C。开启后，保存条件见如下表格所示：

名称	规格(48T)	规格(96T)	开启后保存条件
Elisa 酶标板(可拆卸) ELISA Microplate(Dismountable)	8 孔×6 条	8 孔×12 条	将未使用的孔放入拉链铝箔袋中，并加入干燥剂，密封保存。可在 2-8°C 保存 1 个月；在 -20°C 保存 12 个月。
HIV-1 抗体阳性质控 HIV-1-Ab Positive Control	1 支 0.5ml	1 支 1ml	2-8°C
HIV-2 抗体阳性质控 HIV-2-Ab Positive Control	1 支 0.5ml	1 支 1ml	
HIV 抗原阳性质控 HIV-Ag Positive Control	1 支 0.5ml	1 支 1ml	
HIV 抗原/抗体阴性质控 HIV-Ag/Ab Negative Control	1 支 0.5ml	1 支 1ml	
浓缩 HRP-偶联抗原/抗体 100X HRP-Conjugates Ag/Ab	1 支 30ul	1 支 60ul	2-8°C (避光)
TMB 显色底物 TMB substrate	1 瓶 5ml	1 瓶 10ml	
抗原/抗体稀释液 Ag/Ab Dilution Buffer	1 瓶 3ml	1 瓶 6ml	2-8°C
反应终止液 Stop Solution	1 瓶 5ml	1 瓶 5ml	
浓缩洗涤液 25X Wash Buffer 25X	1 瓶 15ml	1 瓶 30ml	
覆膜	3 张	5 张	
说明书	1 份	1 份	

注意：试剂瓶内提供的液体试剂体积比标签标明的稍多。请使用微量移液器精确量取。

### 所需器材和试剂

- 1、 酶标仪(波长 450nm 滤光片)
- 2、 37°C 恒温箱(使用恒温水浴箱时，需确保内部空气温度为 35-38°C；使用细胞 CO<sub>2</sub> 培养箱时，需使用密封袋隔离酶标板)
- 3、 自动洗板机或多道移液器/5ml 滴管(手工洗板用)
- 4、 精密的单道(0.5-10μL, 5-50μL, 20-200μL, 200-1000μL)和多通道移液器(移液器使用前需校准)。
- 5、 无菌的 EP 管及一次性吸头
- 6、 吸水纸及加样槽
- 7、 去离子水或蒸馏水

## 样品采集及保存

### 1、血清

全血样本室温放置 2 小时或 2-8°C 过夜。1000×g 离心 20 分钟，取上清。可立即检测，或按一次使用量分装冻存于-20°C 或-80°C。

### 2、血浆

抗凝剂推荐使用 EDTA-Na<sub>2</sub>/K<sub>2</sub>，样品采集后 30 分钟内于 2-8°C，1000×g 离心 15 分钟，取上清。可立即检测，或按一次使用量分装冻存于-20°C 或-80°C。其他抗凝剂的使用及选择请查看样品制备指南。

### 3、细胞培养上清

收集上清液，2-8°C，2500rpm 离心 5min，收集澄清的细胞培养上清。立即用于检测，或按一次使用量分装于-80°C 冻存备用。

### 4、其他生物样本

2-8°C，1000×g 离心样品 20 分钟。收集上清液立即用于检测，或按一次使用量分装于-80°C 冻存备用。

## 样品其它注意事项

- 1、收集血液的试管应为一次性无内毒素试管。避免使用溶血，高血脂样品。
- 2、样品最佳保存条件：2-8°C 保存应小于 5 天，-20°C 不应超过 6 个月，-80°C 不应超过 2 年，超过以上时间应保存在液氮中。冻存的标本融化时，为了减少冰晶(0°C)对样品的破坏，应采用 15-25°C 水浴快速融化，融化后离心除去沉淀物，混匀后用于检测。

## 试剂盒使用注意事项

- 1、使用不同的试剂盒时，需先做好标记，防止组分混用，导致实验失败。
- 2、请使用无菌一次性吸头吸取试剂，使用后，须旋紧试剂瓶盖，以防止微生物污染和蒸发。
- 3、手工洗板时，加洗液的吸头或滴管，切勿接触酶标板孔。不充分的洗涤或污染容易造成假阳性和高背景。
- 4、在未经确认的情况下，请勿将其他批次试剂盒的试剂或其他来源的试剂用于本试剂盒。
- 5、请勿重复使用一次性吸头，以免造成交叉污染。
- 6、加样完成，贴覆膜以防孵育过程样品的蒸发，在推荐温度下完成孵育过程。
- 7、试验中请穿实验服、戴口罩、手套等，做好防护工作。特别是检测血液或者其他体液样品时，请按国家生物实验室安全防护条例执行。

## 检测前试剂准备

提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒，平衡到室温(18-25°C)。如果试剂盒需分多次使用，请将试剂盒平衡至室温后，仅取出本次实验所需的酶标板条及标准品，剩余酶标板条和标准品需按指定条件保存。

### 1、洗液:

用去离子水或蒸馏水(推荐电阻率为 18MΩ 的超纯水)将 30ml 浓缩洗涤液(48T 为 15ml)稀释至 750ml(48T 为 375ml)并混匀。或依实验所需，取适量浓缩洗涤液稀释至 25 倍体积并混匀，将未使用的溶液放回 2-8°C。

如果浓缩的洗涤液中形成了晶体，可以在 40°C 水浴中加热(加热温度不应超过 50°C)，直至晶体完全溶解，混匀后使用。

配制好的洗液，最好当天使用完，用不完的，可以保存在 2-8°C，不超过 48 小时。

## 2、HRP-偶联抗原/抗体工作液:

实验前 30 分钟内准备好，现用现配，不适合长期存放。

3.1、计算所需工作液的总体积：100ul/孔×孔数。(最好准备比总体积多 100ul-200ul 的量)

3.2、1000×g 低速离心 1 分钟，将浓缩 HRP-偶联抗原/抗体收集至管底。

3.3、用抗原/抗体稀释液按 1/100 的比例稀释浓缩 HRP-偶联抗原/抗体，充分混匀。(如将 10ul 浓缩 HRP-偶联抗原/抗体加入 990ul 抗原/抗体稀释液中)

### 详细操作步骤:

**步骤 1: 取出所需板条，把板条固定在酶标板上并编号。**设置 3 个阴性对照，设置抗原、HIV-1 抗体和 HIV-2 抗体阳性对照各 1 个，设置 1 个空白对照（不添加样品和酶标物）。

**步骤 2: HRP-偶联抗原/抗体和质控/样品上样:** 每孔加入 50ul HRP-偶联抗原/抗体工作液。然后在相应孔中分别加入 50ul 阴性对照品和阳性对照品及样品。贴上覆膜，轻轻振板 10s 混匀，37°C 静置孵育 60 分钟。(贴上覆膜，轻轻振板 10s 混匀，37°C 静置孵育 60 分钟)

**步骤 3: 洗板 5 次:** 取下覆膜，吸去或甩掉酶标板内的液体，在洁净的吸水纸上拍 2-3 次。每孔加入洗涤缓冲液 300-350ul，浸泡 30-60 秒，弃掉孔内液体，在吸水纸上拍 2-3 次。重复洗板步骤 5 次。(为防止孔内干燥导致检测物失活，请立即加入下一步骤试剂)

**步骤 4: 加 TMB 显色底物:** 向每孔加入 90ul TMB 显色底物，贴上覆膜，在 37°C 避光静置孵育 10-20 分钟。打开酶标仪预热 15min。

**步骤 5: 加反应终止液:** 显色后，孔内液体不可弃掉，向每孔加入 50ul 反应终止液。颜色将由蓝色立即变为黄色。添加终止液的顺序与添加 TMB 底物的顺序相同。

**步骤 6: OD 值的测量:** 立即用酶标仪在 450nm 处读取 OD450 数值。(如果您的酶标仪有可以选择的校正波长，则设置为 570nm 或 630nm。校正读数值为 OD450 的值减去 OD570 或 OD630 的值。这种方式可以校正并去除非显色物质的 OD 值，从而获得更准确的检测结果。如果酶标仪没有 570nm 或 630nm 波长，则可使用原始 OD450 值。)

### 数据分析:

1. 阴性对照: 正常情况下，阴性对照孔 OD 值小于 0.1。(例如，一个阴性对照孔的 OD 值大于 0.10 应丢弃。如果 2 孔或以上的 OD 值高于 0.10，则应重复测定。)

2. 阳性对照: 正常情况下，阳性对照孔 OD 值大于 0.8。

3. Cutoff 值的计算 (C.O):  $Cutoff\ 值 = NCx + 0.1$  (NCx 小于 0.05 计算为 0.05)。

4. 结果计算:

样品 S/C.O  $\geq 1$ : HIV 抗体或 HIV-1 p24 抗原反应阳性。

样品 S/C.O  $< 1$ : HIV 抗体与 HIV-1 p24 抗原反应阴性。

### 分析的局限性:

1. 任何检测都不能绝对保证样本中不包含低浓度的抗体或抗原。因此，阴性结果不能排除 HIV 暴露和感染的可能性。

2. 本试剂盒仅适用于检测个体血清或血浆样本。其他体液和样本的检测结果可能不准确。

3. 检测结果不能区分不同亚型的 HIV 感染。