

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2036—2007

牛副结核病酶联免疫吸附试验 操作规程

Protocol of enzyme-linked immunosorbent assay
for bovine paratuberculosis

2007-12-24 发布

2008-07-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：霍蕾、王玉玲、董志珍、侯艳梅。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

牛副结核病酶联免疫吸附试验操作规程

1 范围

本标准规定了牛副结核病酶联免疫吸附试验检测方法。

本标准适用于牛副结核病抗体的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696)

3 试验材料

3.1 试剂

- 副结核分支杆菌抗原包被板;
- 阳性对照血清;
- 阴性对照血清;
- 辣根过氧化物酶(HRPO)标记的二抗抗体;
- 样品稀释液;
- 洗板液;
- TMB底物溶液;
- 终止液。

试剂盒应于2℃~7℃保存。使用前需将其恢复至室温(20℃~25℃),并混合均匀。

3.2 待检血清

按常规方法采血并分离血清,置4℃冰箱中备用,如需长期保存,应置于-20℃冰箱中。

4 设备和材料

- 4.1 适用于96孔微量反应板的酶标仪。
- 4.2 振荡器。
- 4.3 100 mL、500 mL、1 000 mL量筒。
- 4.4 8道或12道洗板机。
- 4.5 8道或12道移液器(50 μ L~300 μ L)。
- 4.6 单道移液器(0.5 μ L~10 μ L; 40 μ L~200 μ L; 200 μ L~1 000 μ L)。
- 4.7 用于稀释样本的96孔微量反应板。
- 4.8 冰箱。

5 操作程序

5.1 待检血清的稀释

被检血清按所选试剂盒要求稀释,在振荡器上充分混匀后,备用。

5.2 对照的设置

将阳性对照血清和阴性对照血清按所选试剂盒要求稀释后,分别加至包被板的相应孔中,并作好记录。

5.3 加样

在包被板的其他相应孔中按所选试剂盒要求加入工作浓度的被检样品,并作好记录。

5.4 感作

将包被板在振荡器上充分混匀后,按所选试剂盒要求的温度和时间进行感作。

5.5 洗板

5.5.1 洗液的稀释

用蒸馏水将浓缩洗板液稀释成工作浓度,混匀备用。稀释用蒸馏水应符合 GB/T 6682 的要求。

5.5.2 洗板

弃掉包被板各孔的液体,每孔加入约 300 μL 工作浓度的洗板液,按所选试剂盒要求的次数清洗微孔。最后一次清洗后,将包被板在吸水纸上轻拍,以去掉孔内剩余的液体。

5.6 加酶标结合物

按所选试剂盒要求,每孔加入工作浓度的辣根过氧化物酶(HRPO)标记的抗体。

5.7 感作

将包被板在振荡器上混合均匀后,按所选试剂盒要求温度和时间进行感作。

5.8 洗板

重复 5.5.2 的操作。

5.9 加底物

按所选试剂盒要求,每孔加入 TMB 底物溶液。

加入底物后,应观察所有孔内的颜色变化是否正常。不正常的颜色变化包括:孔内出现点状或片状的沉淀物。如果出现这种情况,这个孔的样品检测为无效。

5.10 感作

从加完第一孔开始计时,将包被板置于符合温度要求的黑暗处,按所选试剂盒要求的时间进行感作。

5.11 加终止液

按照加入底物的顺序,每孔按所选试剂盒要求加入终止液,终止颜色反应。

5.12 测定 OD 值

酶标仪以空气作为空白对照,按所选试剂盒要求的波长,测量和记录样品和对照的吸光度值(OD 值)。吸光度值的测定应在加完终止液后的 2 min~20 min 内进行。

6 试验有效性检测

按所选试剂盒要求,进行试验有效性的检测。如果测定结果无效,应该检查操作后重新检测。

7 结果计算和判定

按所选试剂盒要求,进行结果的计算和判定。

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
牛副结核病酶联免疫吸附试验
操作规程

SN/T 2036—2007

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

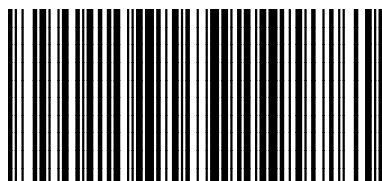
开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 5 千字

2008年3月第一版 2008年3月第一次印刷

印数 1—2 000

*

书号: 155066·2-18510 定价 6.00 元



SN/T 2036-2007