

### 01.检测目的：

本试剂盒用于测定微生物样本中内毒素(ET)含量。

### 02.实验原理：

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中内毒素(ET)水平。用纯化的内毒素(ET)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入内毒素(ET)，再与HRP标记的内毒素(ET)抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物TMB显色。TMB在HRP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内毒素(ET)呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度(OD值)，通过标准曲线计算样品中内毒素(ET)浓度。

### 03.试剂盒组成：



### 04.样本处理及要求：

1. 血清：室温血液自然凝固10-20分钟，离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。
2. 血浆：应根据标本的要求选择EDTA或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合10-20分钟后，离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应该再次离心。
3. 尿液：用无菌管收集，离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。胸腹水、脑脊液参照实行。
4. 细胞培养上清：检测分泌性的成份时，用无菌管收集。离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清。检测细胞内的成份时，用PBS（PH7.2-7.4）稀释细胞悬液，细胞浓度达到100万/ml左右。通过反复冻融，以使细胞破坏并放出细胞内成份。离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清。保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。
5. 组织标本：切割标本后，称取重量。加入一定量的PBS，PH7.4。用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持2-8℃的温度。加入一定量的PBS（PH7.4），用手工或匀浆器将标本匀浆充分。离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清。分装后一份待检测，其余冷冻

备用。

6. 标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行，提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融。

7. 不能检测含NaN<sub>3</sub>的样品，因NaN<sub>3</sub>抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

※注意：血清血浆样本避免使用溶血、高血脂样本，以免影响检测结果；如果样本中的靶标物检测浓度高于标准品的最高值，请将样品做适当倍数稀释后检测，建议正式实验前做预实验以确定稀释倍数。

#### 05.自备实验器材（不提供，可代购）：

1.酶标仪（主波长 450nm，参考波长 630nm）

2.高精度移液器及一次性吸头：0.5-10,2-20,20-200,200-1000μl

3.洗板机或洗瓶

4.37℃孵育箱

5.双蒸水，去离子水，量筒等

6.稀释用聚丙烯试管

#### 06.操作步骤：

#### 07.注意事项:

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡15-30分钟后方可使用, 酶标包被板开封后如未用完, 板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出, 稀释时可在水浴中加温助溶, 洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器, 并经常校对其准确性, 以避免试验误差。一次加样时间最好控制在5分钟内, 如标本数量多, 推荐使用排枪加样。
4. 请每次测定的同时做标准曲线, 最好做复孔。如标本中待测物质含量过高(样本OD值大于标准品孔第一孔的OD值), 请先用样品稀释液稀释一定倍数(n倍)后再测定, 计算时请最后乘以总稀释倍数( $\times n \times 5$ )。
5. 封板膜只限一次性使用, 以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 严格按照说明书的操作进行, 试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
8. 所有样品, 洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。

#### 08.计算数据:

以标准物的浓度为横坐标, OD值为纵坐标, 在坐标纸上绘出标准曲线, 根据样品的OD值由标准曲线查出相应的浓度; 再乘以稀释倍数; 或用标准物的浓度与OD值计算出标准曲线的直线回归方程式, 将样品的OD值代入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

#### 09.检测范围:

1 ng/L -40 ng/L

#### 10.保存条件及有效期:

1.试剂盒保存： 2-8°C。

2.有效期： 6个月

---

[www.affandi-e.com](http://www.affandi-e.com)