

产品说明书

产品编号：NBE-236854

版本号：RN6.2



产品名称	NebuEasy™两性霉素BELISA试剂盒
产品规格	96T
检测范围	0.1~8.1ppb
储存条件	4℃保存，有效期见标签
产品应用	NebuEasy™两性霉素BELISA试剂盒（产品编号：NBE-236854）可用于测定液体样本中两性霉素B的含量。
检测原理	本试剂盒采用竞争ELISA方法，在微孔板包被有两性霉素B偶联抗原，加入两性霉素B标准品或样品，游离两性霉素B与微孔条上预包被的两性霉素B偶联抗原互相竞争抗两性霉素B抗体酶标记物，用TMB底物显色，加入终止液后颜色由蓝色变为黄色，用酶标仪在450nm波长下进行检测，吸光值与样品中两性霉素B含量成反比，通过标准曲线计算样品中两性霉素B的含量。

1 试剂盒组成

- 1.1 预包被的两性霉素 B 偶联抗原的可拆酶标板：1 块（12 孔×8 条）。
- 1.2 两性霉素 B 标准品：6 瓶（1ml/瓶）；
含量分别是：0 ppb, 0.1 ppb, 0.3 ppb, 0.9 ppb, 2.7 ppb, 8.1ppb。
- 1.3 抗两性霉素 B 抗体酶结合物：1 瓶（6ml）。
- 1.4 显色液 A：1 瓶（6ml）。
- 1.5 显色液 B：1 瓶（6ml）。
- 1.6 终止液：1 瓶（6ml），2M 硫酸。
- 1.7 样本稀释液：1 瓶（10×, 6ml），用于样品稀释用。
- 1.8 浓缩洗涤液：1 瓶（20×, 20ml），用于洗板。
- 1.9 说明书一份。

产品说明书

产品编号: NBE-236854

版本号: RN6.2



2 需要而未提供的材料

2.1 设备

2.1.1 波长450nm酶标仪。

2.1.2 粉碎机。

2.1.3 量筒。

2.1.4 振荡器。

2.1.5 漏斗。

2.1.6 Whatman No 1或相当的滤纸。

2.1.7 微量移液器。

2.2 试剂

2.2.1 去离子水或蒸馏水。

2.2.2 甲醇。

3 贮存

3.1 试剂盒贮存于2~8℃, 切勿冷冻

3.2 未用完的微孔板应该密封干燥保存

4 注意事项

4.1 使用试剂盒前请仔细阅读说明书。

4.2 不要使用过期试剂盒。

4.3 试剂盒使用前, 将试剂恢复至室温 (25±2℃), 建议至少回温2小时。

4.4 标准品中含有两性霉素B, 使用时应特别注意, 操作时应带手套。

4.5 终止液中含有硫酸, 使用时防止灼伤皮肤及腐蚀衣物。

4.6 不同标准品、样品所用吸头不能混用, 否则会影响试验结果。

4.7 不同批号试剂盒中的试剂不得混用; 不同标准品、样品所用吸头不得混用, 否则会影响实验结果。

4.8 稀释样本时必须用本试剂盒中的样本稀释液, 否则会影响实验结果

4.9 混合试剂时应避免起泡。

5 工作液准备

5.1 两性霉素B标准品溶液: 0ppb, 0.1ppb, 0.3 ppb, 0.9ppb, 2.7 ppb, 8.1ppb

5.2 浓缩洗涤液: 用蒸馏水按1:20(1+19)稀释备用

5.3 样本稀释液: 用蒸馏水按1:10(1+9)稀释备用

5.4 显色剂: 已备用, 避免光线直照

5.5 反应终止液: 已备用

产品说明书

产品编号: NBE-236854

版本号: RN6.2



6 酶免分析步骤

6.1 实验须知

6.1.1 实验开始前请将所有试剂于盒外充分恢复至室温 ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$)，时间约2小时。回温至室温 ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) 后再取出微孔条，多余的微孔条重新密封立即于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 干燥保存

注：一定保证回温充分，否则影响检测的精确度和准确度。

6.1.2 使用后请立即将试剂放回 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存

6.1.3 请不要改变分析程序

6.1.4 请使用精确的微量移液器

6.1.5 操作一旦开始，请不要中断任何程序

6.1.6 ELISA结果的可重复性极大程度的取决于操作程序，请严格按照要求操作

6.1.7 为避免交叉污染，每个标准品和样品均应使用不同的吸头加样

6.1.8 加样时请勿让吸头接触微孔中的溶液或内表面

6.2 分析步骤

6.2.1 预先进行编号，标记B0、标准品和样品的位置，推荐进行双孔检测

6.2.2 取所需数量的微孔（微孔条可拆），将多余板条重新密封并立即放回 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存

6.2.3 样品稀释液（ $10\times$ ）、浓缩洗涤液（ $20\times$ ）稀释成工作液(蒸馏水或去离子水稀释)

6.2.4 在B0孔中加入 $50\mu\text{l}$ 0.0 ppb标准品溶液

6.2.5 在各标准孔中加入 $50\mu\text{l}$ 的标准品溶液

6.2.6 在各样品孔中加入 $50\mu\text{l}$ 样品溶液

6.2.7 在所有孔中加入 $50\mu\text{l}$ 的抗两性霉素B抗体酶结合物

6.2.8 轻轻晃动反应板几秒钟。

6.3 37°C 温浴30min（温浴过程中不时轻拍反应板，可以减少双孔误差）

6.3.1 甩掉孔中液体，用洗液洗涤微孔板5次，最后一次应在吸水纸上拍打以完全除去孔中液体。

6.4 反应

6.4.1 洗涤程序完成后，立即用微量移液器在每个微孔中先加入 $50\mu\text{l}$ 显色液A，再加 $50\mu\text{l}$ 显色液B；轻微晃动反应板使之彻底混匀

6.4.2 37°C 温浴10min

6.4.3 每孔中加入 $50\mu\text{l}$ 终止液，混匀

6.4.4 在450nm下检测吸光度，结果在5min内读取。

产品说明书

产品编号: NBE-236854

版本号: RN6.2



7 结果计算

7.1 定量分析

7.1.1 所获得的每个浓度标准溶液和样本吸光度值的平均值 (B) 除以第一个标准 (0标准) 的吸光度值 (B0) 再乘以100%, 即百分吸光度值。

B—标准溶液或样本溶液的平均吸光度值

B0—0ppb标准溶液的平均吸光度值

7.1.2 以两性霉素B浓度的对数值为X轴, 百分吸光度值为Y轴, 绘制标准曲线图。根据样品百分吸光度值, 可从曲线上得到对应点的横坐标, 即为两性霉素B浓度的对数值, 求得反对数即为测定液中两性霉素B浓度C (ppb)

7.1.3 由于样品经过了预先稀释, 因此根据标准曲线所得出的样品浓度一定要再乘以其稀释倍数。

7.2 半定量测定

7.2.1 目测半定量测定: 首先选择一个适当的标准液与样品同运行, 根据样品与标准品颜色深浅比较, 判断样品浓度值是小于还是大于标准值。

7.2.2 仪器半定量测定: 首先选择一个适当的标准液与样品同运行, 根据样品与标准品吸光度值的高低比较, 判断样品浓度值是小于还是大于标准值。

8 特异性

物质 交叉反应

两性霉素B 100%

9 试剂盒参数

本试剂盒检测下限为0.05ppb

B0吸光度最佳值应大于1.0

试剂盒吸光度板内误差小于8%, 板间误差小于15%。

用本说明书提供的组织样本提取方法回收率大于80%。

试剂盒提供的标准曲线范围为0.1ppb~8.1ppb。

10 分析限制

本试剂盒检测为阳性的样品应该用另一种方法如HPLC或GC/MS加以确证。