

口蹄疫病毒非结构蛋白抗体单抗阻断 ELISA试剂盒 (说明书)



用途

猪、牛、羊及其它动物口蹄疫病毒(FMDV)感染的检测与检疫, 口蹄疫病毒灭活疫苗免疫与自然感染的鉴别诊断等。

原理

口蹄疫病毒(FMDV)非结构蛋白(NS)是病毒在复制过程中产生的蛋白。在自然感染的情况下, 动物会产生抗非结构蛋白的抗体。通过检测血清中口蹄疫病毒非结构蛋白抗体, 可以区分自然感染动物与灭活疫苗免疫的动物, 从而确定动物群体中口蹄疫病毒的感染情况。

本试剂盒采用阻断ELISA方法检测血清中的口蹄疫病毒非结构蛋白抗体(IgG和IgM)。在聚苯乙烯微孔酶标板上, 包被基因工程表达的口蹄疫病毒非结构蛋白。待检血清中FMDV-NS抗体与包被抗原结合, 从而阻断HRP标记的FMDV-NS单克隆抗体与包被抗原的反应, 再加TMB底物作用显色, 在酶标仪450nm处测定各孔OD值, 计算各样品的阻断率, 判定结果。

试剂盒组成

名 称	数 量
FMDV抗原反应板	1块 (8×12孔)
20倍浓缩洗涤液	1瓶 (30ml)
FMDV阴性对照	1支 (1.6ml)
FMDV阳性对照	1支 (1.2ml)
FMDV样品稀释液	1瓶 (15ml)
FMDV酶结合物液	1瓶 (12ml)
底物液A	1瓶 (8ml)
底物液B	1瓶 (8ml)
终止液	1瓶 (8ml)
一次性封板膜	2张
自封袋 (干燥剂)	1个
说明书	1张

其它需自备的物品

- 量程为100μl的精确微量移液器, 200μl八或十二通道微量移液器;
- 一次性移液器吸头;
- 稀释用96孔板;
- 37℃避光孵育箱;
- 1000ml量筒 (配制洗涤液);
- 振荡器;
- 酶标仪 (含450nm波长滤光片);
- 蒸馏水或去离子水;
- 自动或手动洗板系统;
- 吸水纸。

注意事项

- 试剂盒从冷藏环境中取出后, 应恢复至室温后再使用 (约30分钟); 未用完的抗原包被板加干燥剂放于自封袋中密封, 置2~8℃保存;
- 吸取每个血清样品后都要更换吸头;
- 加液时均应使用加液器并经常校对其准确性, 以减少试验误差;
- 待检血清样品数量较多时, 应使用八或十二通道微量移液器, 从稀释板转移到反应板中, 以便缩短加样时间;
- 洗涤时各孔均需加满洗涤液, 防止因洗涤不充分造成非特异性显色;
- 封板膜只限一次使用, 以避免交叉污染;
- 结果判定必须以酶标仪读数为准, 且终止反应后应在10分钟内测定其OD₄₅₀值;
- 所有样品、洗涤液和各种废弃物都应灭活处理;
- 不同批次试剂不能混用;
- 底物B液中含有TMB成份, 对强光和氧化剂敏感, 应尽量避光;
- 终止液为2M H₂SO₄, 应避免与眼、皮肤接触;
- 请严格按照实验操作步骤操作; 严格控制反应温度和时间; 可对样品设置重复取平均值, 以减小操作误差的影响。

样品制备

取动物全血, 按常规方法制备血清, 要求血清清亮, 无溶血。

洗涤液配制

使用前, 浓缩洗涤液应恢复至室温, 并摇动使沉淀的盐溶解, 然后用蒸馏水或去离子水作20倍稀释 (例如: 每瓶用30ml浓缩液加上570ml水)。

样品稀释

在稀释板上按1:1的体积比稀释待检血清 (100μl样品稀释液+100μl待检血清)。

注意: 阴性和阳性对照无须稀释。

操作步骤

使用前所有试剂应恢复至室温 (20℃~30℃), 试剂应轻轻旋转或振荡混匀。

- 取出FMDV抗原反应板, 在记录表上记录阳性对照、阴性对照和样品的位置;
- 分别在相应孔中加入阳性对照 (2孔) 和阴性对照 (3孔) 原液 (不用稀释), 稀释好的待检血清各100μl。充分混匀后, 贴上封板膜, 置37℃孵育60分钟;
- 小心揭掉封板膜, 弃去各孔中液体, 拍净。每孔加满洗涤液, 静置约30秒, 重复洗涤5次, 最后在吸水纸上拍净;
- 每孔加入酶结合物液100μl, 贴上封板膜, 置37℃孵育30分钟;
- 重复步骤3;
- 每孔加入底物液A50μl, 再加入底物液B50μl, 轻振混匀, 置37℃避光显色10分钟;
- 每孔加入终止液50μl, 轻振混匀, 置酶标仪450nm波长处测定各孔OD₄₅₀值。

结果判定

- 试验结果同时符合下列条件, 方为有效:

- ① 阴性对照OD₄₅₀平均值-阳性对照OD₄₅₀平均值应≥0.6;
- ② 阳性对照阻断率均≥55%;

- 阻断率 (Inh%) 的计算:

$$\text{Inh}\% = \frac{(\text{阴性对照孔OD}_{450}\text{均值} - \text{样品孔OD}_{450}\text{值})}{\text{阴性对照孔OD}_{450}\text{均值}} \times 100\%$$

- 结果判定:

(1) 猪血清样品

- ① 被检样品Inh% ≥ 30%, 判为FMDV-NS抗体阳性;
- ② 被检样品20% ≤ Inh% < 30%, 判为FMDV-NS抗体可疑;
- ③ 被检样品Inh% < 20%, 判为FMDV-NS抗体阴性。

(2) 牛、羊以及其它动物血清样品

- ① 被检样品Inh% ≥ 40%, 判为FMDV-NS抗体阳性;
- ② 被检样品25% ≤ Inh% < 40%, 判为FMDV-NS抗体可疑;
- ③ 被检样品Inh% < 25%, 判为FMDV-NS抗体阴性。

- 结果解释

FMDV-NS抗体阳性, 说明该动物曾感染口蹄疫病毒;

FMDV-NS抗体可疑, 说明该动物可能感染口蹄疫病毒;

FMDV-NS抗体阴性, 说明该动物未感染口蹄疫病毒 (急性发病期除外)。

贮藏条件: 保存试剂盒于2~8℃。

保存期: 该产品有效期为12个月。

哈尔滨元亨生物药业有限公司

Harbin Anheal Biological Pharmaceutical Co., Ltd.

地址: 哈尔滨利民开发区珠海路1号 邮编: 150025

电话: 0451-58627195

售后服务电话: 010-82898320

网址: www.anheal.com