

猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体ELISA检测试剂盒 (使用说明书)

Anheal
Laboratories
世 纪 元 亨

用途

本试剂盒适用于体外检测猪血清中猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 抗体。

原理

本试剂盒采用PRRSV纯化抗原包被微量反应板, 利用间接ELISA原理进行检测。若待检血清中存在PRRSV抗体, 则与包被抗原结合, 加入辣根过氧化物酶标记的免抗猪抗体后, 形成抗原-抗体-酶标抗体复合物, 再加入TMB底物液作用显色, 在酶标仪450nm处测定各孔OD值, 判定结果。

试剂盒组成

名 称	96 头 份	192 头 份
1. PRRSV抗原包被板	1 块 (8×12孔)	2 块 (8×12孔)
2. 20倍浓缩洗涤液	1 瓶 (30ml)	1 瓶 (60ml)
3. PRRSV阴性对照	1 支 (1.2ml)	1 支 (2ml)
4. PRRSV阳性对照	1 支 (1.2ml)	1 支 (2ml)
5. PRRSV样品稀释液	1 瓶 (15ml)	1 瓶 (30ml)
6. PRRSV酶结合物液	1 瓶 (12ml)	1 瓶 (24ml)
7. 底物液A	1 瓶 (8ml)	1 瓶 (15ml)
8. 底物液B	1 瓶 (8ml)	1 瓶 (15ml)
9. 终止液	1 瓶 (8ml)	1 瓶 (15ml)
10. 一次性封板膜	2 张	4 张
11. 自封袋(干燥剂)	1 个	1 个
12. 说明书	1 份	1 份

其它需自备的物品

- 50μl和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 (配制洗涤液用);
- 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 (至少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;
- 加液时均应使用移液器, 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, 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, 且终止反应后应立即读数, 在10分钟内完成;
- 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驟操作。

样品制备

取猪全血, 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 (25℃左右), 并摇动使析出的盐溶解, 然后用蒸馏水或去离子水作20倍稀释 (例如: 每板用30 ml浓缩液加上570ml水)。

样品稀释

在稀释板中按1: 10的体积比稀释待检血清 (180 μl样品稀释液中加入20 μl待检血清)。

注意: 阴性和阳性对照无需稀释。

操作步骤

使用前所有试剂应恢复至室温 (25℃), 试剂应轻轻旋转或振荡混匀。

- 取出抗原反应板 (根据样品多少, 可拆开分次使用), 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 (2孔) 原液 (不用稀释)、稀释好的待检猪血清各100 μl。充分混匀后, 贴上封板膜, 置37℃孵育1小时;
- 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100 μl, 贴上封板膜, 置37℃孵育30分钟;
- 重复步骤3;
- 每孔加入底物液A 50 μl, 再加入底物液B 50 μl, 轻轻振荡混匀, 置37℃避光显色10分钟;
- 每孔加入终止液50 μl, 轻轻振荡混匀, 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 两孔阴性对照OD₄₅₀平均值应≤0.20;
 - ② 每孔阳性对照OD₄₅₀平均值均≥0.80;
- 按以下计算方法的判定结果:
 - ① 阳性: **样品OD₄₅₀值** > 阳性对照OD₄₅₀平均值 × 0.3, 即PRRSV抗体阳性。
 - ② 可疑: 阳性对照OD₄₅₀平均值 × 0.3 ≥ **样品OD₄₅₀值** > 阳性对照OD₄₅₀平均值 × 0.25, 应再进行双孔复试, 若任意一孔或两孔均为阳性, 则视为PRRSV抗体阳性; 若两孔均为阴性则视为PRRSV抗体阴性。
 - ③ 阴性: **样品OD₄₅₀值** < 阳性对照OD₄₅₀平均值 × 0.25, 即PRRSV抗体阴性。

贮藏条件: 2~8℃避光保存

保存期: 该产品有效期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