

欧洲型猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体 ELISA 检测试剂盒

使用说明书

V20151217

【用途】

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

【原理】

本试剂盒采用原核表达 EU-PRRSV-NSP7 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 EU-PRRSV 抗体，则与包被抗原结合，加入辣根过氧化物酶标记的兔抗猪抗体后，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	数 量
1. EU-PRRSV 抗原包被板	1 块（8×12 孔）
2. 20 倍浓缩洗涤液	1 瓶（30ml）
3. EU-PRRSV 阴性对照	1 支（1.2ml）
4. EU-PRRSV 阳性对照	1 支（1.2ml）
5. EU-PRRSV 样品稀释液	1 瓶（15ml）
6. EU-PRRSV 酶结合物液	1 瓶（12ml）
7. 底物液 A	1 瓶（8ml）
8. 底物液 B	1 瓶（8ml）
9. 终止液	1 瓶（8ml）
10. 一次性封板膜	2 张
11. 自封袋(干燥剂)	1 个
12. 说明书	1 份

【其它需自备的物品】

1. 50ul 和 100ul 的精确微量移液器，200ul 八或十二通道微量移液器；
2. 一次性移液器吸头；
3. 稀释用 96 孔板；
4. 37℃ 避光孵育箱；
5. 1000ml 量筒（配制洗涤液用）；
6. 酶标仪（含 450nm 波长滤光片）；
7. 蒸馏水或去离子水；
8. 自动或手动洗板系统；
9. 吸水纸。

【注意事项】

1. 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；
2. 吸取每个血清样品后都要更换吸头；
3. 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；
4. 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；

5. 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；
6. 封板膜只限一次使用，以避免交叉污染；
7. 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；
8. 所有样品、洗涤液和各种废弃物都应灭活处理；
9. 不同批次试剂不能混用；
10. 底物 B 液中含有 TMB 成份，对强光和氧化剂敏感，应尽量避光；
11. 终止液为 2M H₂SO₄，应避免与眼、皮肤接触；
12. 请严格按照实验操作步骤操作。

【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 1:20 的体积比稀释待检血清（190μl 样品稀释液中加入 10μl 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。

1. 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；
2. 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 100μl。充分混匀后，贴上封板膜，置 37℃ 孵育 30 分钟；
3. 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；
4. 每孔加入酶结合物液 100μl，贴上封板膜，置 37℃ 孵育 30 分钟；
5. 重复步骤 3；
6. 每孔加入底物液 A 50μl，再加入底物液 B 50μl，轻轻振荡混匀，置 37℃ 避光显色 15 分钟；
7. 每孔加入终止液 50μl，轻轻振荡混匀，置酶标仪 450nm 波长处测定各孔 OD₄₅₀ 值。

【结果判定】

1. 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；

2. 按以下计算方法的判定结果：

S/P = 样品 OD₄₅₀ 值 / 阳性对照 OD₄₅₀ 平均值

- ① 阳性：S/P ≥ 0.3，即 EU-PRRSV 抗体阳性。
- ② 可疑：0.3 > S/P > 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 EU-PRRSV 抗体阳性；若两孔均为阴性则视为 EU-PRRSV 抗体阴性。
- ③ 阴性：S/P ≤ 0.25，即 EU-PRRSV 抗体阴性。

【贮藏条件】2~8℃ 避光保存

【保存期】有效期 12 个月

地址：北京市海淀区北清路 68 号院中区 13 号楼东侧

电话：010-82898320/21/22

E-mail: elisa@anheal.com