

## 禽白血病 p27 抗原检测试剂盒（酶联免疫法）

### YA-EIA-002

#### 【产品名称】

通用名称：禽白血病 p27 抗原检测试剂盒（酶联免疫法）

#### 【产品用途】

本试剂盒适用于鸡血清、泄殖腔拭子和蛋清样品中的禽白血病病毒（ALV）p27 抗原的定性检测。

#### 【检测原理】

本试剂盒用于检测样品中的 p27 抗原。试剂盒提供含有 p27 抗体的包被板，当加入待检样品后，若样品中含有 p27 抗原，则与包被板上的 p27 抗体形成免疫复合物，经过洗涤后，未结合的物质被洗掉，而免疫复合物则被固定在包被板上，再加入辣根过氧化物酶标记的 p27 抗体，后者与结合在包被板上的 p27 抗原结合，随后再次洗掉未结合的物质，加入 TMB 显色液显色后，颜色的深浅反映样品中 p27 抗原的含量。本试剂盒适用于稀蛋清、泄殖腔拭子及血清样品的检测，由于内源性病毒序列的干扰，不推荐采用血清样品进行外源性病毒的检测。

#### 【组成】 96孔/板，5板/盒

名称	规格与数量
p27 抗体包被板 8 孔×12	96孔×5
阳性对照	2ml×1
阴性对照	2ml×1
样品稀释液	100ml×2
酶标记物-p27 单抗	60ml×1
20 倍浓缩洗液	50ml×2
TMB 显色液	60ml×1
终止液	60ml×1
封板膜	10片
使用说明书	1份

不同批号的试剂组份不可混用，但对于 20 倍浓缩洗液、底物缓冲液、底物液、终止液，如果在

使用有效期内，可以通用于任何本单位产品的测试。

### 【仪器】

任何具有650nm波长或630nm/620nm波长的酶标读数仪均可使用。

### 【样品准备】

(1) 蛋清：收集稀蛋清，无需稀释直接作为待检样品加到ELISA反应板中。

(2) 泄殖腔拭子：将泄殖腔拭子加到1mL培养液或样品稀释液中后冷冻保存。检测前，将样品恢复至室温，静置后吸取100 $\mu$ L上清作为待测样品。

(3) 血清：无需稀释，直接取100 $\mu$ L澄清血清样品加入到反应板中。但由于内源性病毒序列的干扰，不推荐采用血清样品进行外源性病毒的检测。

(4) 胎粪样品：将胎粪样品加到1ml的培养基或样品稀释液中后冷冻保存。检测前，将样品恢复至室温，静置后吸取100 $\mu$ L上清作为待测样品。

### 【实验前准备】

(1) 使用前将试剂盒组分恢复至室温；

(2) 准备好样品稀释板或微量试管；

(3) 1X洗液配置：取50mL 20倍浓缩洗液，加入950mL去离子水混匀，备用；

(4) 阴性对照和阳性对照不要稀释。

### 【操作方法】

(1) 加样：将所需数量的板条固定于板架，每次实验设阳性对照2孔、阴性对照2孔，分别在适当的孔中加入阳、阴性对照各100 $\mu$ L，其余孔分别加入待测样品100 $\mu$ L。样品无需稀释用于检测。

(2) 温育：贴好封板膜，置室温（25 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C）温育60分钟。

(3) 洗涤：弃去孔内液体，将稀释后的洗液注满各孔（约350 $\mu$ L/孔）进行洗涤，弃去孔内洗液。重复洗4次后拍干。

(4) 加酶：每孔加入酶标记物100 $\mu$ L。

(5) 温育：贴好封板膜，置室温（25 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C）温育60分钟。

(6) 洗涤：弃去孔内液体，将稀释后的洗液注满各孔（约350 $\mu$ L/孔）进行洗涤，弃去孔内洗液。重复洗4次后拍干。

(7) 显色：每孔加入100 $\mu$ L TMB显色液，置室温（25 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C）温育15分钟。

(8) 终止：每孔加入终止液100 $\mu$ L，轻拍混匀。

(9) 读值：用酶标仪读值，在单波长650nm下读取各孔吸光值A（650）。请在终止后10min内完成读值。

### 【结果判定】

$$(1) \text{ NC} = \frac{\text{NC1A} (650) + \text{NC2A} (650)}{2} \quad \text{PC} = \frac{\text{PC1A} (650) + \text{PC2A} (650)}{2}$$

(2) 阴性对照标准：  $\text{NC} \leq 0.15$

(3) 阳性对照标准：  $\text{PC} - \text{NC} \geq 0.2$

若实验结果不能满足（2）和（3），则认为实验无效，必须重做。

(4) 判定标准：

$$\text{计算样本S/P值 } \text{S/P} = \frac{\text{样品平均}A (650) - \text{NC}}{\text{PC} - \text{NC}}$$

样本S/P < (0.2) 时，样本为ALV-p27抗原阴性，

样本S/P  $\geq$  (0.2) 时，样本为ALV-p27抗原阳性。

被检样品中是否含有p27抗原与其S/P值有关。阳性对照代表大约15ng/mL的p27抗原水平，因此，被检样品中的p27相对含量可以通过S/P值来确定。

### 可能对实验结果产生影响的因素：

- (1) 不充分的洗涤，如洗液量不足。
- (2) 洗板机针孔堵塞或位置调节不当，孔底洗液残留量过多。
- (3) 加样量不准。
- (4) 在试验过程中应避免交叉污染及酶结合物和其它试剂的污染。

- (5) 没有使用正确的波长读数。
- (6) 测试过程中应避免反应孔的干燥。
- (7) 用高溶血标本、没完全凝集的血、含纤维的血清或微生物污染的血清会带来不良结果。

#### **【检验方法的局限性】**

- (1) 必须遵照测试步骤和结果解释各要点。
- (2) 此分析适用于单一而不是混合的样品的测试。
- (3) 非重复反应性的结果可能会在酶标法中发生。

#### **【注意事项】**

- (1) 从冷藏环境中取出的试剂盒应平衡至室温后方可打开使用。
- (2) 未使用完的预包被板条应置于有干燥剂的封口袋中密封保存。
- (3) 若20倍浓缩洗液出现结晶，请置于37℃至溶解后再使用。
- (4) 不同批号的试剂组份不可混用。
- (5) 避免在测试和保存过程中试剂直接面对阳光和次氯酸气体。
- (6) 本试剂盒及各种废弃物应按传染性物品处理。

#### **【储存及有效期】**

2~8℃避光保存，有效期：12个月；

未使用完的预包被板条应置于有干燥剂的封口袋中密封保存。