

非洲猪瘟病毒抗体检测试剂盒（双抗原夹心法）

YA-EIA-001

【名称】

非洲猪瘟病毒抗体检测试剂盒（双抗原夹心法）

【适用范围】

本试剂盒适用于定性检测猪血清中非洲猪瘟病毒抗体。

【实验原理】

本产品运用双抗原夹心酶联免疫法原理，在酶标板上预先包被非洲猪瘟病毒基因工程特异性抗原，加入待测样品后，若存在非洲猪瘟病毒抗体，可与包被抗原特异性结合，当再加入非洲猪瘟酶标抗原后，可形成抗原-抗体-酶标抗原复合物，加入显色剂，通过酶标仪检测吸光度（A 值）从而判断检测样品中非洲猪瘟病毒抗体是否存在。

【组份】

试剂盒组份	5 块板	1 块板
酶标板	96T×5	96T×1
样品稀释液	36mL×1	7mL×1
酶标二抗	60mL×1	12mL×1
阳性对照	2.5mL×1	1.0mL×1
阴性对照	2.5mL×1	1.0mL×1
20 倍浓缩洗液	100mL×1	30mL×1
显色剂 A	36mL×1	7mL×1
显色剂 B	36mL×1	7mL×1
终止液	36mL×1	7mL×1
封板膜	10 片	2 片
说明书	1 份	1 份

【仪器】

酶标仪波长：450nm 和 620nm。

【样本】

猪血清，不得有溶血。

注意：阴阳性对照无需稀释。

【检测步骤】

- (1) 配液：将浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水 20 倍稀释备用。
- (2) 加样：将所需数量的板条固定于板架，按顺序编号，其中在 A1、B1 孔中各加 100 μ L 阴性对照；C1、D1 孔中各加入 100 μ L 阳性对照；其余各孔中分别加入 50 μ L 样品稀释液和 50 μ L 样品，充分振荡混匀，用封板膜盖好。
- (3) 置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min；弃去孔内液体，将稀释后的洗液注满各孔，放置 40 秒，弃去孔内洗液。重复洗 5 次后拍干。
- (4) 加入 100 μ L 酶标记物到微孔板中，用封板膜盖好；置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min；弃去孔内液体，将稀释后的洗液注满各孔，放置 40 秒，弃去孔内洗液。重复洗 5 次后拍干。
- (5) 每孔加入显色剂 A 50 μ L，加入显色剂 B 50 μ L，混匀，置 37 $^{\circ}$ C 温育 15 min。
- (6) 每孔加入终止液 50 μ L，轻拍混匀。
- (7) 酶标仪读数：以双波长(450nm/620nm)读取各孔吸光度 A 值(即 A450nmOD 值-A620nmOD 值为样本的 OD 值)。

【结果判定】

- (1) 结果的有效性

符合下列条件试验方能有效：阳性对照的平均值（OD 值）必须 ≥ 0.4 ，阴性对照的平均值（OD 值）必须 < 0.15 ，如果试验结果达不到上述标准，请按照操作说明书重做一次。

- (2) 结果判定

非洲猪瘟病毒抗体的阳性和阴性的判定通过计算样品与阳性对照的比值进行判定，具体计算方法见样品结果计算部分。

计算：cut-off 值=0.17+阴性对照平均值。（当阴性对照均值小于 0.05 时，阴性对照平均值按 0.05 计算）

判定：阴性判定： OD $<$ cut-off

阳性判定： OD \geq cut-off

【注意事项】

- (1) 反应温度为 37℃，避免反应温度过低或过高。
- (2) 反应时间要严格按照说明书进行，避免反应时间超时或者缩短。
- (3) 洗涤要充分，不可减少浸泡时间和洗液量。
- (4) 测试过程中应避免反应孔的干燥。
- (5) 试剂盒 2-8℃ 保存，切勿冷冻。
- (6) 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。
- (7) 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。
- (8) 若 20 倍浓缩洗液出现结晶，请置于 37℃ 至溶解后再使用。
- (9) 试剂盒在有效期内使用，不同批号的试剂组份不可混用。
- (10) 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。

【储存及有效期】

- (1) 2-8℃ 避光保存，有效期：12 个月；
- (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。

仅供兽医科研使用!