

猪伪狂犬病毒 gB 抗体 ELISA 检测试剂盒（阻断法）

使用说明书

【名称】

猪伪狂犬病毒 gB 抗体 ELISA 检测试剂盒（阻断法）

【适用范围】

本试剂盒适用于定性测定猪血清中猪伪狂犬病毒 gB 抗体。

【实验原理】

本产品运用免疫学阻断法的原理，在酶标板上预先包被猪伪狂犬病毒抗原，加入待测样品后，若存在猪伪狂犬病毒抗体，可与包被抗原特异性结合，形成免疫复合物。当再加入 HRP-抗 PRV gB 抗体，则 HRP-抗 PRV gB 抗体与包被板上抗原反应被样品中的抗体阻断；若样品中没有猪伪狂犬病毒抗体，则 HRP-抗 PRV gB 抗体与包被板上抗原自由反应。最后加入显色剂进行显色反应，颜色的深浅与样品中抗体的含量成反比。

【组份】

试剂盒组份	数量
酶标板	96T×5
样品稀释液	100mL×1
酶标二抗	60mL×1
阳性对照	3mL×1
阴性对照	3mL×1
20 倍浓缩洗液	100mL×1
显色剂 A	40mL×1
显色剂 B	40mL×1
终止液	40mL×1
封板膜	10 片
说明书	1 份

【仪器】

酶标仪波长：450nm 和 620nm（630nm）。

【样本】 猪血清样品（血清应清澈、无溶血），

用样品稀释液将待测血清 2 倍稀释（例如 50 μ L 样品稀释液加 50 μ L 待检血清）。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 100 μ L 稀释好的样品，充分振荡混匀，用封板膜盖好。
- （3）置 37 $^{\circ}$ C 温育 60 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 4 次后拍干。
- （4）加入 100 μ L 酶标二抗到微孔板中，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 4 次后拍干。
- （5）将显色剂 A 和显色剂 B 以 1：1 混合后，每孔加入 100 μ L 混合液，置 37 $^{\circ}$ C 温育 10 min。
- （6）每孔加入终止液 50 μ L，轻拍混匀，10 分钟内检测结果。
- （7）酶标仪读数：以双波长 450nm/620nm（630nm）读取各孔吸光度 A 值（即 A450nmOD 值-A620nmOD 值为样本的 A 值）。

【结果判定】

（1）结果的有效性判断

符合下列条件试验方能有效：阳性对照的平均值（A 值） ≤ 0.4 ，且阴性对照的平均值必须（A 值）与阳性对照平均值（A 值）之差 ≥ 0.5 ，否则无效。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

猪伪狂犬病毒 gB 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。

①计算阴阳性对照及各样品的 A 值：A 值=OD450 值—OD620（OD630）值。

②样品 S/N 值：S/N 值=样品 A 值/阴性对照 A 值的平均值。

③判定：

S/N≤0.6 为阳性；

S/N>0.7 为阴性；

0.6<S/N≤0.7 为可疑。

备注：样品结果可代入配套的计算软件进行结果判定。

可能对实验结果产生影响的因素：

- (1) 反应温度为 37°C，避免反应温度过高或过低。
- (2) 反应时间严格按照说明书进行，避免反应时间超时或者缩短。
- (3) 不充分的洗涤，如减少浸泡时间或洗液量不足。
- (4) 洗板机针孔堵塞或者位置调节不当，孔底洗液残留量过多。
- (5) 测试过程中避免反应孔的干燥。

【注意事项】

- (1) 试剂盒 2-8°C 保存，切勿冷冻。
- (2) 使用双波长读数，以 OD450 值—OD620（OD630）值为样品的 A 值。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) 若 20 倍浓缩洗液出现结晶，请置于 37°C 至溶解后再使用。
- (6) 试剂盒在有效期内使用，不同批号的试剂组份不可混用。
- (7) 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°C 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。