

羊小反刍兽疫病毒抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

使用说明书

【产品名称】

通用名：羊小反刍兽疫病毒抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名：Test Kit for Antibodies to Goat Peste des Petits Ruminants Virus（ELISA）

【包装规格】 96T×1/盒、96T×2/盒

【预期用途】 小反刍兽疫是由小反刍兽疫病毒（Peste des Petits Ruminants Virus, PPRV）引起的一种急性接触性传染病，其特征为口腔、舌粘膜糜烂、流泪、流鼻涕。本病的易感动物为山羊，也可感染绵羊、白尾鹿等，但对牛无感染性。

本试剂用于检测羊血清中小反刍兽疫病毒抗体，可用于小反刍兽疫疫苗免疫效果评价。

【原理】

本试剂盒系由预包被小反刍兽疫病毒重组抗原的酶标板、酶标记物及其他配套试剂组成，应用酶联免疫法（ELISA）原理检测羊血清、血浆样本中小反刍兽疫病毒抗体。实验时在酶标板中加入对照血清和待检样本，经温育后若样品中含有小反刍兽疫病毒抗体，则将与酶标板上抗原结合，经洗涤除去未结合的其他成分后；再加入酶标记物，与酶标板上抗原抗体复合物发生特异性结合；再经洗涤除去未结合的酶标记物，在孔中加TMB底物液，与酶反应形成蓝色产物，显色深浅与样品中的特异性抗体含量成正相关；加入终止液终止反应后，产物变为黄色；用酶标仪在450nm波长测定各反应孔中的吸光值，即可知样品是否含有小反刍兽疫病毒抗体。

【试剂盒组成】

| 序号 | 名称 | 规格（96T×1） | 规格（96T×2） |
|-----|-----------|-----------|-----------|
| 1. | 酶标板 | 96T×1 | 96T×2 |
| 2. | 酶标记物（红盖） | 11ml×1 | 11ml×2 |
| 3. | 样品稀释液（黄盖） | 50ml×1 | 50ml×1 |
| 4. | 20X浓缩洗涤液 | 40ml×1 | 40ml×1 |
| 5. | 底物液A（白盖） | 6ml×1 | 11ml×1 |
| 6. | 底物液B（黑盖） | 6ml×1 | 11ml×1 |
| 7. | 终止液（黄盖） | 6ml×1 | 11ml×1 |
| 8. | 阳性对照（红盖） | 1.0 ml×1 | 1.5 ml×1 |
| 9. | 阴性对照（绿盖） | 1.0 ml×1 | 1.5 ml×1 |
| 10. | 盖板膜 | 1张 | 2张 |
| 11. | 自封袋 | 1个 | 1个 |
| 12. | 说明书 | 1份 | 1份 |

【储存及有效期】 储存于阴凉干燥处（2-8℃），有效期12个月。

包被板开封后请于2~8℃避光保存，避免受潮。使用期限为2个月。

【适用仪器】 含450nm、630nm波长的酶标仪，37℃恒温设备，可调微量移液器。

【样品准备】

1. 取动物全血按常规方法制备血清，要求血清清亮，无溶血、无污染。样品1周内可于2~8℃保存，长期需置-20℃保存。
2. 用样品稀释液将待检血清按40倍稀释（如5μl血清加入195μl样品稀释液中，混匀）。阴、阳性对照不用稀释。
3. 浓缩洗涤液使用前应恢复至室温使沉淀溶解，然后用蒸馏水或去离子水作20倍稀释。

【检验方法】

1. 使用前将试剂盒置室温30分钟，恢复至室温。
2. 取所需用量酶标板条，设空白对照1孔、阴性/阳性对照各2孔，未用的板条尽快密封，2~8℃保存。
3. 空白对照孔加样品稀释液100μl；阴、阳性对照孔分别加入阴、阳性对照100μl；样品孔每孔加入稀释后的样品100μl。
4. 混匀，置37℃（推荐水浴）反应30分钟。
5. 扣去孔内液体，每孔加满洗涤液，静置30秒后弃去，重复洗涤5次，拍干。
6. 每孔加酶标记物100μl（空白孔除外）。置37℃反应30分钟。
7. 洗涤，同步骤5。
8. 每孔依次加底物液A、底物液B各50μl，混匀，37℃避光反应10分钟。
9. 每孔加终止液50μl，混匀，于450nm（可用630nm作参比波长）测定各孔吸光值（A值），无参比波长用空白孔调零（即所有孔吸光值减去空白孔吸光值）。

【参考值】 实验正常的情况下，阴性对照 ≤ 0.10 ，阳性对照 ≥ 0.6 。

【检验结果的解释】

1. 样品 A 值 ≥ 0.38 为阳性；样品 A 值在 0.2 到 0.38 之间为可疑；样品 A 值 < 0.2 为阴性。
2. 本实验结果为阴性或可疑时表明羊只抗体水平不足，建议补打相应疫苗。

【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性检测羊血清、血浆中小反刍兽疫病毒抗体，根据 A 值高低可作抗体水平强、中、弱的粗略评估。

【注意事项】

1. 实验操作时需戴手套、穿工作衣，严格健全和执行消毒隔离制度，各种实验废弃物都应按传染物处理。
2. 终止液具有腐蚀性，应避免接触皮肤和衣物，如不慎接触请立即用大量自来水冲洗。
3. 酶标板从冷藏环境中取出时应恢复至室温方可开袋，未用完的酶标板需放入有干燥剂的密封袋中保存。
4. 浓缩洗涤液在低温时容易结晶，使用时需恢复至室温以完全溶解。
5. 洗涤时各孔均需加满液体，防止孔口有游离酶不能洗净。
6. 用于检测的样品应保持新鲜。
7. 试验结果的判定必须以酶标仪读数为准。
8. 不同批号试剂组分不得混用。