

## 猪弓形虫抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

### 使用说明书

#### 【产品名称】

通用名：猪弓形虫抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名：Test Kit for Antibodies to Porcine Toxoplasma Gondii（ELISA）

【包装规格】 96T×1/盒、96T×2/盒

【预期用途】 弓形虫病是由刚第弓形虫（*Toxoplasma gondii*, TOX）引起的一种人畜共患寄生虫病，以发热、呼吸急促、嗜睡、后肢麻痹为主要特征。

本试剂盒用于检测猪血清或血浆中弓形虫抗体，可用于评估猪场弓形虫感染状况。

#### 【原理】

本试剂盒系由预包被弓形虫 Sag1 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）原理检测猪血清、血浆样本中弓形虫抗体。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弓形虫抗体，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弓形虫抗体。

#### 【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】 于 2~8℃避光保存，有效期为 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 100 倍稀释（如 2μl 血清加入 198μl 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°C保存。

3.空白对照孔加样品稀释液 100 $\mu$ l；阴、阳性对照孔分别加入阴、阳性对照 100 $\mu$ l；样品孔每孔加入稀释后的样品 100 $\mu$ l。

4.混匀，置 37°C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 100 $\mu$ l（空白孔除外）。置 37°C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 50 $\mu$ l，混匀，37°C避光反应 10 分钟。

9.每孔加终止液 50 $\mu$ l，混匀，用空白孔调零，于 450nm(可用 630nm 作参比波长)测定各孔吸光值(A 值)。

**【参考值】** 实验正常的情况下，阴性对照 $\leq$ 0.20，阳性对照 $\geq$ 0.5。

### **【检验结果的解释】**

1.C.O（临界值）=2.1 $\times$ 阴性对照均值（阴性对照均值小于 0.1 时按 0.1 计算）；

3.样品值 $>$ C.O 为阳性，样品值 $\leq$ C.O 为阴性。

### **【试验方法的局限性】**

该试验仅作为定性检测猪血清或血浆中弓形虫 IgG 抗体。

### **【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。