

口蹄疫 3ABC 抗体竞争 ELISA 检测试剂盒说明书

批准文号：兽药生字 154028088

兽用

【兽药名称】

通用名称：口蹄疫 3ABC 抗体竞争 ELISA 检测试剂盒

商品名称：无

英文名称：Competitive ELISA Kit for Detecting 3ABC Antibody of FMDV

汉语拼音：Koutiyi 3ABC Kangti Jingzheng ELISA Jianceshijihe

【主要成分与含量】

试剂盒组分	数量		
	1P	2P	5P
FMDV 3ABC C 抗原包被板	96 孔板×1 块	96 孔板×2 块	96 孔板×5 块
FMDV 3ABC C 阴性对照血清	0.5ml/瓶×1 瓶	1ml/瓶×1 瓶	2ml/瓶×1 瓶
FMDV 3ABC C 阳性对照血清	0.5ml/瓶×1 瓶	1ml/瓶×1 瓶	2ml/瓶×1 瓶
FMDV 3ABC C 样品稀释液	20ml/瓶×1 瓶	40ml/瓶×1 瓶	100ml/瓶×1 瓶
FMDV 3ABC C 酶标抗体	15ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶	70ml/瓶×1 瓶
10×洗涤液	70ml/瓶×1 瓶	125ml/瓶×1 瓶	240ml/瓶×1 瓶
底物溶液	15ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶	70ml/瓶×1 瓶
终止液	10ml/瓶×1 瓶	20ml/瓶×1 瓶	40ml/瓶×1 瓶

【作用与用途】 用于鉴别口蹄疫野毒感染血清和疫苗免疫血清。

【用法与判定】 1 用法

1.1 样品准备 采集猪全血，按常规方法制备血清，血清应清亮，无溶血。

1.2 实验准备 试剂盒各个组分在使用前均须恢复至室温（20℃~25℃），加液前充分摇匀。FMDV 3ABC C 抗原包被板上 FMDV 3ABC C 阴性对照血清、FMDV 3ABC C 阳性对照血清和待检样品的分布如表 1 所示（N-表示加阴性对照血清，P-表示加阳性对照血清，S1、S2、S3、S4、S5、S6 和其余孔表示加待检样品）。

表 1 酶标板上对照和样品添加模式图

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	S5										
B	N	S6										
C	P											
D	P											
E	S1											
F	S2											
G	S3											
H	S4											

注：FMDV 3ABC C 阴性对照血清、FMDV 3ABC C 阳性对照血清和待检样品采用 5 倍稀释；在稀释板中每孔加入 120μl FMDV 3ABC C 样品稀释液，再将 30μl FMDV 3ABC C 阴性对照血清、FMDV 3ABC C 阳性对照血清和待检样品分别加入相应孔，充分混匀。为保证不同样品的孵育时间一致，用多道移液器移至 FMDV 3ABC C 抗原包被板相应孔中。

1.3 洗涤液配制 使用前, 将 10×洗涤液从试剂盒中取出, 平衡至室温, 并摇动, 使沉淀溶解; 或在 37°C 水浴中加热 5 分钟~10 分钟, 并摇动, 使沉淀溶解。待完全溶解后, 将 10×洗涤液用纯水或去离子水做 10 倍稀释, 充分混匀, 即为工作浓度的洗涤液。

1.4 操作步骤

1.4.1 在 A1 和 B1 孔加入稀释后的 FMDV 3ABC C 阴性对照血清各 100μl; 在 C1 和 D1 孔加入稀释后的 FMDV 3ABC C 阳性对照血清各 100μl; 剩余孔中加入稀释后的待检样品 100μl;

1.4.2 轻轻振荡孔中样品 (勿溢出), 室温孵育 60 分钟 (±2 分钟);

1.4.3 甩干 FMDV 3ABC C 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液, 洗涤 3 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干, 最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干;

1.4.4 每孔加入 100μl 的 FMDV 3ABC C 酶标抗体; 室温孵育 60 分钟 (±2 分钟);

1.4.5 甩干 FMDV 3ABC C 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液, 洗涤 3 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干, 最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干;

1.4.6 每孔加入 100μl FMDV 3ABC C 底物溶液; 室温避光孵育 15 分钟 (±1 分钟);

1.4.7 每孔加入 50μl 的终止液终止显色反应; 使用酶标仪测定 450nm 波长处的 OD 值。

2 结果判定

2.1 FMDV 3ABC C 阴性对照血清的平均 OD 值即 OD_{NC} ; FMDV 3ABC C 阳性对照血清的平均 OD 值即 OD_{PC} ; 待检样品的 OD 值即为 OD_S ;

2.2 阈值计算:

$$\text{阳性对照 S/N 值} = OD_{PC} / OD_{NC}$$

$$\text{待检样品 S/N 值} = OD_S / OD_{NC}$$

2.3 试验成立条件: OD_{NC} 值 > 0.7 且阳性对照 S/N 值 < 0.3, 试验结果有效; 否则重新进行试验;

2.4 判定: 在试验成立的前提下, S/N 值 ≤ 0.5 判为阳性; S/N 值 > 0.6 判为阴性; 0.5 < S/N ≤ 0.6 判为可疑; 检测结果可疑的样品, 建议再次检测, 仍为可疑则判为阳性。

【注意事项】 (1) 试剂盒使用前各试剂应平衡至室温, 使用后放回 2°C~8°C 保存。

(2) 不同批号的试剂盒份不得混用, 不同试剂使用时应防止交叉污染。

(3) 底物溶液和终止液不能暴露于强光或接触氧化剂, 若出现颜色变化, 应弃之不用。

(4) 稀释 10×洗涤液时应准确量取, 如果发现结晶应加热使其溶解后使用。

(5) 待检样品数量较多时, 应尽量缩短加样时间。

(6) 吸取液体时, 应尽量准确, 并防止产生气泡。

(7) 应严格按照各操作步骤规定的时间和温度进行操作。

(8) 终止液为稀硫酸溶液, 若接触到皮肤或眼睛, 请及时用大量清水洗涤并就医。

【规格】 (1) 96 孔/盒 (2) 192 孔/盒 (3) 480 孔/盒

【贮藏与有效期】 2°C~8°C 保存, 有效期 15 个月。

仅供兽医诊断使用