

伪狂犬病毒 gB 蛋白间接 ELISA 抗体检测试剂盒说明书

兽用

【兽药名称】

通用名称：伪狂犬病毒 gB 蛋白间接 ELISA 抗体检测试剂盒

商品名称：无

英文名称：Indirect ELISA Kit for Detecting Antibody of gB Protein of Pseudorabies virus

汉语拼音：Weikuangquanbingdu gB danbai Jianjie ELISA Kangti Jiance Shijihe

【主要成分与含量】

编号	试剂盒组分	数量			用法
		1P	2P	5P	
PRVgB I-I	PRVgB I 抗原包被板	96 孔板×1 块	96 孔板×2 块	96 孔板×5 块	直接使用
PRVgB I-II	样品稀释液	10ml×1 瓶	20ml×1 瓶	50ml×1 瓶	直接使用
PRVgB I-III	PRVgB 阴性血清	500μl×1 管	1 ml×1 管	2 ml×1 管	直接使用
PRVgB I-IV	PRVgB 阳性血清	500μl×1 管	1 ml×1 管	2 ml×1 管	直接使用
WB-V	洗涤液 20×	30ml×1 瓶	30ml×2 瓶	100ml×1 瓶	20 倍稀释后使用
PRVgB I-VI	酶标抗体	10ml×1 瓶	20ml×1 瓶	50ml×1 瓶	直接使用
CA-VII	底物溶液 A	6ml×1 瓶	12ml×1 瓶	30ml×1 瓶	直接使用
CB-VIII	底物溶液 B	6ml×1 瓶	12ml×1 瓶	30ml×1 瓶	直接使用
SS-IX	终止液	6ml×1 瓶	12ml×1 瓶	30ml×1 瓶	直接使用

【作用与用途】 用于检测猪、野猪血清或血浆中伪狂犬病毒 (PRV) gB 蛋白抗体。

【用法与判定】

1、实验准备

1) 为保证不同样品的孵育时间一致，可先取待检样品不低于 5μl 和 PRVgB 阴性血清 (III)、PRVgB 阳性血清 (IV) 不低于 100μl 分别加入 96 孔板 (单独准备) 中并做好记录，然后用多道移液器移至 PRVgB I 抗原包被板 (I) 相应孔中。也可在 PRVgB I 抗原包被板 (I) 直接加样。

2) 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。

2、操作步骤

PRVgB I 抗原包被板 (I) 上 PRVgB 阴性血清 (III)、PRVgB 阳性血清 (IV) 和样品的分布如图 N、P 和 S 所示

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

- 1) 每孔加入 100 μ l 样品稀释液 (II), A1、B1、C1、D1 孔不加样品稀释液 (II);
- 2) 在 A1 和 B1 孔加入 PRVgB 阴性血清 (III) 各 100 μ l;
- 3) 在 C1 和 D1 孔加入 PRVgB 阳性血清 (IV) 各 100 μ l;
- 4) 剩余孔加入 10 μ l 样品用于检测;
- 5) 轻轻振荡孔中样品 (勿溢出), 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟;
- 6) 将洗涤液 20 \times (V) 用纯水或去离子水做 20 倍稀释, 即为工作浓度的洗涤液 1 \times ;
- 7) 甩干 PRVgB I 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300 μ l 洗涤液 1 \times , 洗涤 5 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干;
- 8) 每孔加入 100 μ l 的酶标抗体 (VI);
- 9) 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟;
- 10) 甩干 PRVgB I 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300 μ l 洗涤液 1 \times , 洗涤 5 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干;
- 11) 每孔加入 50 μ l 底物溶液 A (VII);
- 12) 每孔再加入 50 μ l 底物溶液 B (VIII);
- 13) 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 10-15 分钟;
- 14) 每孔加入 50 μ l 的终止液 (IX) 终止显色反应;
- 15) 使用酶标仪测定 450nm 波长处的 OD 值。

3、结果判定

- 1) PRVgB 阴性血清 (III) 的平均 OD 值即 OD_{NC} 应小于等于 0.3, PRVgB 阳性血清 (IV) 的平均 OD 值即 OD_{PC} 应大于等于 0.5, 试验结果有效; 否则重新进行试验;
- 2) 阈值计算 (Cut Off 值): $Cut\ Off\ 值 = OD_{NC} \times 2.1$ (若 $OD_{NC} \geq 0.05$ 则按实际值计算; 若 $OD_{NC} < 0.05$ 则按 0.05 计算);
- 3) 样品的 OD 值即 OD_S;
- 4) $OD_S < Cut\ Off\ 值$, 结果判为阴性; $OD_S \geq Cut\ Off\ 值$, 结果判为阳性。

【注意事项】

- 1) 需自备的试验用器材: 96 孔板、100 μ l、200 μ l 的单道或多道微量移液器, 吸头, 酶标仪, 纯水或去离子水。
- 2) 底物溶液 A (VII) 和底物溶液 B (VIII) 避免接触氧化物, 出现颜色变化, 应弃之不用, 底物溶液 B (VIII) 应避光保存。
- 3) 终止液 (IX) 为稀硫酸溶液, 避免接触氧化物, 若接触到皮肤或眼睛, 请及时用大量清水洗涤并就医。
- 4) 需稀释的组分洗涤液 20 \times (V) 在稀释时应准确量取, 如果发现结晶应加热使其溶解后使用。
- 5) 在操作过程中, 尽量避免将气泡加入检测孔中。

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

【贮藏与有效期】 2~8 $^{\circ}$ C 保存, 有效期 12 个月。

仅供兽医诊断使用