

牛口蹄疫 A 型抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

使用说明书

【产品名称】

通用名：牛口蹄疫 A 型抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名：Test Kit for Antibodies to Foot and Mouth Disease Virus A (ELISA)

【包装规格】 96T×1/盒(注：酶标板不可拆)、96T×2/盒(注：酶标板一块可拆、一块不可拆)

【预期用途】 口蹄疫是由口蹄疫病毒 (Foot and Mouth Disease Virus, FMDV) 引起的偶蹄动物的一种急性、热性、高度接触性传染病，其特征为口腔黏膜、蹄部、乳房皮肤发生水泡和烂斑。

本试剂盒用于检测牛血清中口蹄疫 A 型抗体，可用于口蹄疫 A 型疫苗免疫效果评价。

【原理】

本试剂盒系由预包被口蹄疫 A 型抗体的酶标板、抗体工作液、抗原液酶标记物及其他配套试剂组成，应用阻断酶联免疫法 (ELISA) 原理检测牛血清样本中口蹄疫 A 型抗体。实验时将稀释的样本与抗原液同时加入酶标板中孵育，样本中的抗体与酶标板上的抗体竞争抗原，阻断抗原与板的结合；经洗涤后，再加抗体工作液孵育；经洗涤后加入酶标记物孵育；再经洗涤除去未结合的酶标记物，在孔中加底物液，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负相关；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口蹄疫 A 型抗体。

【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)	5.5ml×1	11ml×1
3.	抗体工作液 (紫盖)	5.5ml×1	11ml×1
4.	抗原液 (蓝盖)	5.5ml×1	11ml×1
5.	20X 浓缩洗涤液	40ml×1	40ml×2
6.	底物液 A (白盖)	6ml×1	11ml×1
7.	底物液 B (黑盖)	6ml×1	11ml×1
8.	终止液 (黄盖)	6ml×1	11ml×1
9.	阳性对照 (红盖)	1.0 ml×1	1.5 ml×1
10.	阴性对照 (绿盖)	1.0 ml×1	1.5 ml×1
11.	盖板膜	1 张	2 张
12.	自封袋	1 个	1 个
13.	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. 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。
3. 用已稀释的洗涤液将待检血清按 64 倍稀释（如 5 μl 血清加入 315 μl 洗涤液中，混匀）。阴、阳性对照不用稀释。

【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. 阴、阳性对照孔分别加入阴、阳性对照 50 μl，样品孔每孔加入稀释后的样品 50 μl；每孔再加入抗原液 50 μl（空白孔除外）。

注：加入抗原后样本稀释比例相当于 1:128。

4. 震荡混匀 10 秒，置 37℃ 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. 每孔加抗体工作液 50 μl（空白孔除外），置 37℃ 反应 30 分钟。
7. 洗涤，同步骤 5。
8. 每孔加酶标记物 50 μl（空白孔除外），置 37℃ 反应 30 分钟。

9. 洗涤，同步骤 5。

10. 每孔依次加底物液 A、底物液 B 各 50 μ l，混匀，37 $^{\circ}$ C 避光反应 15 分钟。

11. 每孔加终止液 50 μ 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 A 值 ≥ 1.0 ，阳性对照 A 值 $\leq 50\%$ \times 阴性对照 A 值。

【检验结果的解释】

1. PI (阻断率) = $(1 - \text{样本 A 值} / \text{阴性对照孔平均 A 值}) \times 100\%$ ， $PI \geq 50\%$ 为阳性； $PI < 50\%$ 为阴性。

2. 本实验检测结果为阳性时表明待检样本中含有口蹄疫 A 型抗体，且效价高于 1:128，达到保护水平。

3. 本实验检测结果为阴性时表明待检样本中不含有口蹄疫 A 型抗体，或效价低于 1:128，未达到充足保护水平。

4. 如需了解样本抗体的最终效价，可将样本进行梯度稀释，使 $PI \geq 50\%$ 的最高稀释比例即为该样本抗体的最终效价。

【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性牛血清中口蹄疫 A 型抗体，根据 PI 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。

订购热线：4008-898-798 021-61725725 QQ：2881505690 监督电话：13818158258