

猪瘟病毒 ELISA 抗体检测试剂盒（阻断法）

使用说明书（VTK0001）

Ve2023©version1.0



名称和用途

Vetect 猪瘟病毒 ELISA 抗体检测试剂盒（阻断法）用于检测猪血清中的 CSFV-E2 特异性抗体，评估猪瘟疫苗的免疫效果。

概述

猪瘟病毒（CSFV）、牛病毒性腹泻病毒（BVDV）以及边界病病毒（BDV）同属于黄病毒属的三个成员。由于 CSFV 的高致病力和高致死率，一旦爆发会给生猪养殖带来严重的经济损失。猪感染高致病力 CSFV 毒株后在潜伏期就可以造成传染，经历急性或亚急性临床症状的猪在出现症状前大量排毒；耐过康复的猪体内有较高 CSFV 抗体，且不再排毒。感染温和型 CSFV 毒株的猪呈慢性感染，在病死前会长期或间歇性排毒。怀孕母猪可以通过胎盘感染胎儿导致流产、木乃伊胎或弱仔猪。猪也有可能感染 BVDV 或 BDV，通常是温和、自限性的，但有效的将其同 CSFV 区分对于防控 CSF 很重要。

原理

本试剂盒采用阻断法检测病毒特异性抗体，首先在酶标板条微孔上预包被 CSFV-E2 抗原，加入稀释待检血清后，若样品中含有猪瘟病毒特异性抗体，则与包被板上的抗原结合，将阻断随后加入的 HRP 酶标记 E2 单抗，从而减少显色反应，样本 OD 值与血清中 E2 抗体水平呈负相关。

组份

序号	组份	规格 × 数量	
		96T/盒	192T/盒
1	CSFV-E2 包被板	1 块	2 块
2	酶标记物	10mL/瓶×1	10mL/瓶×2
3	10X 浓缩洗涤液	100mL/瓶×1	100mL/瓶×1
4	底物液	10mL/瓶×1	20mL/瓶×1
5	样本稀释液	100mL/瓶×1	100mL/瓶×1
6	终止液	15mL/瓶×1	15mL/瓶×1
7	阴性对照	2mL/瓶×1	2mL/瓶×1
8	阳性对照	1mL/瓶×1	1mL/瓶×1
9	封板膜	2 张	4 张
10	说明书	1 份	1 份

自备器材

1. 精确的单通道和多通道微量移液器；
2. 一次性移液器吸头；
3. 配制洗涤液用的量筒；
4. 96 孔板酶标仪；
5. 用于稀释试剂的双蒸水或去离子水。
6. 用于洗板的洗瓶或洗板机。

注意事项

- 1) 试剂盒使用前各试剂应平衡至室温，各组份放置室温至少 1 小时；试剂使用前摇匀，使用后尽快放回 2~8°C 保存。
- 2) 不同产品或同一产品不同批号试剂盒的试剂组分不得混用。
- 3) 终止液对皮肤和眼可能有刺激性，使用时应该注意防护。
- 4) 底物液切勿暴露于强光或与氧化剂接触。
- 5) 检测板拆封后应避免受潮或沾水（未用完的抗原包被板加干燥剂放于自封袋中，并尽快放回 2~8°C）。
- 6) 防止试剂组分污染，按需取用，勿将未用完的试剂倒回试剂瓶中；防止样品交叉污染，每个样品和对照使用单独的一次性吸头。
- 7) 严格按照说明书操作步骤进行操作，以获得最佳结果。
- 8) 所有废弃物在丢弃之前应合理处理以免污染环境。

样品准备

新鲜的、冷藏（2~8°C 保存不超过 8 天）、冷冻过的血清，要求清亮（无溶血或仅少量溶血）。

● 洗涤液的准备

浓缩洗涤液使用前应恢复至室温，如有盐结晶，摇动使结晶的盐溶解，然后用双蒸水或去离子水作 10 倍稀释（例如：30mL 浓缩洗涤液需用 270mL 水）。稀释好的工作浓度洗涤液可在 2~8℃存放一周左右。

● 操作步骤

使用前，试剂盒组分必须恢复至室温（18~26℃），并轻轻摇混合均匀，吸取不同样品要更换一次性吸头。

使用前，试剂盒组分必须恢复至室温（18~26℃），并轻轻摇混合均匀，吸取不同样品要更换一次性吸头。

- 1) 取出包被板，在记录表上记录样本位置，如果只需使用部分板条，则将剩余板条放回含干燥剂的铝箔自封袋中，封好口后于 2~8℃保存。
- 2) 分别吸取 100μL 阴性对照加到相应对照孔，加两孔。
- 3) 分别吸取 100μL 阳性对照加到相应对照孔，加两孔。
- 4) 分别吸取 50μL 样品稀释液加入每个检测孔内。
- 5) 分别吸取待检血清 50μL 加入检测孔内，并吹打混匀（每个样本换用新的一次性吸头）。
- 6) 盖上封板膜（可按实际需要裁剪），置 37℃孵育 120 分钟。
- 7) 小心揭开封板膜，甩去板孔中的溶液，用工作浓度洗涤液每孔加 300μL 左右洗涤板孔 4 次，每次洗涤后，甩去每个板孔中的液体，在最后一次甩去液体后，在吸水纸上拍干。
- 8) 每孔加入酶标记物 100μL，盖上封板膜后 37℃孵育 30 分钟。
- 9) 重复步骤 7。
- 10) 每孔加入底物液 100μL，盖上封板膜后 37℃避光显色 15 分钟。
- 11) 每孔加终止液 50μL 终止反应，10 分钟内用酶标仪于 450nm 测定每孔的吸光度 OD 值（可同时将 630nm 作参比波长）。

● 结果判定

试验成立的条件：

阴性对照（NC）OD_{450nm} 均值 > 0.5；

阳性对照均值的阻断率（PI）> 50%。

计算方法：

$$PI (\text{阻断率}) = 100\% \times \frac{NC \text{ OD}_{450nm} \text{ 均值} - \text{样品 OD}_{450nm}}{NC \text{ OD}_{450nm} \text{ 均值}}$$

阴阳性判断：

当 PI（阻断率）> 40% 则判断为阳性；

当 30% < PI（阻断率）≤ 40% 则判断为可疑；

当 PI（阻断率）≤ 30% 则判断为阴性。

【贮存条件及有效期】

2~8℃储存，如储存条件适宜，可保存 12 个月。

● 简要操作流程

