

# 猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgA) 抗体检测试剂盒 (间接法)

## 使用说明书(VTK0002)

Ve2023©version1.0



### 名称和用途

Vetect 猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgA) 抗体检测试剂盒 (间接法), 用于检测母猪血清或初乳中猪流行性腹泻病毒特异性 IgA 抗体的水平, 评估猪流行性腹泻疫苗免疫母猪后对仔猪的可能保护效果。

### 概述

猪流行性腹泻是由冠状病毒科猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 所引起的一种急性、烈性、高度接触性的肠道传染病, 是引起仔猪腹泻最重要的疫病之一。PEDV 主要经粪口传播, 黏膜免疫系统中的抗体对于到达肠道的病毒具有中和、阻断感染的作用。IgA 抗体为黏膜免疫系统中的重要组分, 对仔猪的肠道具有保护作用。母猪初乳中含有高浓度 IgA 的情况下, 哺乳期间及断奶后较长时间内仔猪发病的可能性较小, 而母猪在产仔泌乳前, 血清中的 IgA 抗体水平与产后初乳中的 IgA 抗体水平具有相关性。因此, PED 疫苗免疫后母猪血清或初乳中的 IgA 抗体水平是评价疫苗免疫保护的一项重要指标。

### 原理

Vetect 猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgA) 抗体检测试剂盒采用间接法, 在酶标板条微孔上预包被 PEDV-S1 抗原, 加入稀释待检血清后, 若样品中含有针对 S1 抗原的抗体, 则都与包被板上的抗原结合, 随后加入 HRP 标记 IgA 二抗, 只与包被抗原结合抗体中的 IgA 结合, HRP 催化底物液发生显色反应, 样本 OD 值与血清或乳汁中 S1 抗原特异性 IgA 抗体水平呈正相关。

### 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

### 组份

序号	组份	规格 X 数量	
		96T/盒	192T/盒
1	PEDV-S1 包被板	1 块	2 块
2	样本稀释板	1 块	2 块
3	酶标记物	10mL/瓶×1	10mL/瓶×2
4	10X 浓缩洗涤液	100mL/瓶×1	100mL/瓶×1
5	底物液	10mL/瓶×1	20mL/瓶×1
6	样本稀释液	60mL/瓶×1	60mL/瓶×1
7	终止液	15mL/瓶×1	15mL/瓶×1
8	阴性对照	2mL/瓶×1	2mL/瓶×1
9	阳性对照	1.5mL/瓶×1	1.5mL/瓶×1
10	封板膜	2 张	4 张
11	说明书	1 份	1 份

### 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

使用新鲜的、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)。

在血清稀释板中按 1:50 的体积比 (例如: 147μL 样品稀释液 + 3μL 待检血清) 用样本稀释液稀释待检血清, 并充分混匀。注意: 阴性和阳性对照不用稀释; 每个样本换用新的一次性吸头。

## ● 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。

- 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) 分别吸取稀释好的待检血清各 100μL 依次加入检测板孔内（每个样本换用新的一次性吸头）。
- 5) 盖上封板膜（可按实际需要裁剪），置 37℃孵育 30 分钟。
- 6) 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。
- 7) 每孔加入酶标记物 100μL，盖上封板膜后 37℃孵育 30 分钟。
- 8) 重复步骤 6。
- 9) 每孔加入底物液 100μL，盖上封板膜后 37℃避光显色 10 分钟。
- 10) 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<sub>450nm</sub> 均值 < 0.2；

阳性对照（PC）OD<sub>450nm</sub> 均值 > 0.3。

计算方法：

$$S/P \text{ 值} = \frac{\text{样品 OD}_{450\text{nm}} - \text{NC OD}_{450\text{nm}} \text{ 均值}}{\text{PC OD}_{450\text{nm}} \text{ 均值} - \text{NC OD}_{450\text{nm}} \text{ 均值}}$$

阴阳性判断：

当 S/P ≥ 0.5 则判断为阳性；

当 S/P < 0.5 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

