

猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgG) 抗体检测试剂盒 (间接法)

使用说明书(VTK0004)

Ve2023©version1.0



名称和用途

Vetect 猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgG) 抗体检测试剂盒 (间接法), 用于检测母猪血清中猪流行性腹泻病毒特异性 IgG 抗体的水平, 评估猪流行性腹泻疫苗的免疫效果。

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, 其中和抗体表位主要集中在病毒的 S1 蛋白。因此以 S1 蛋白作为包被原, 检测的抗体水平, 与猪流行性腹泻疫苗的免疫保护效果有相关性。

原理

Vetect 猪流行性腹泻病毒 ELISA (IgG) 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 (G2b 亚型), 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, 随后结合加入的 HRP 标记 IgG 二抗, HRP 催化底物液发生显色反应, 样本 OD 值与血清中 S1 抗原特异性 IgG 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-S2 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 1:100 的体积比 (例如: 149 μ L 样品稀释液 + 1.5 μ L 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°C 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°C），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°C 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°C 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°C 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°C 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_{450nm} 均值 < 0.2；

阳性对照（PC）OD_{450nm} 均值 > 0.3。

计算方法：

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

阴阳性判断：

当 S/P ≥ 0.3 则判断为阳性；

当 S/P < 0.3 则判断为阴性。

【贮存条件及有效期】

2~8°C 储存，如储存条件适宜，可保存 12 个月。

● 简要操作流程

