**蓝耳病抗体ELISA检测试剂盒使用说明书**

**Service manual of ELISA Kit for PRRS Virus antibody**

**【产品简介】**猪蓝耳病（PRRS）是一种高致病率、高死亡率的病毒病，给国内养猪业造成巨大的损失。在免疫预防工作中，接种了疫苗后，由于多种因素可能导致猪不产生或产生低水平蓝耳病病毒抗体。

本试剂盒采用酶联免疫吸附试验检测猪血清中PRRSV抗体，用于免疫疫苗后抗体动态水平监测，指导免疫预防工作，评估猪场蓝耳病免疫状况，也可用于蓝耳病的流行病学调查。

**【产品内容】**

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂盒主要成分** | **数 量** |
| 抗原包被板（PRRSV） | 96T×1 |
| 阳性对照  | 1ml×1 |
| 阴性对照  | 1ml×1 |
| 酶标结合物 | 20ml×1 |
| 样品稀释液 | 50ml×1 |
| 底物液  | 20ml×1 |
| 终止液 | 15ml×1 |
| 20×浓缩洗涤液 | 50ml×1 |
| 封口胶 | 2份 |
| 使用说明书 | 1份 |

**【成分性状】**

|  |  |
| --- | --- |
| 包被板 | 96孔塑制微孔板，无色透明，干燥，无杂质吸附 |
| 酶标结合物 | 略带黄色澄明液体 |
| 阴、阳性对照 | 略带黄色澄明液体 |
| 样品稀释液 | 略带黄色澄明液体 |
| 浓缩洗涤液 | 无色或略带黄色的澄明液体 |
| 底物液 | 无色或微蓝色澄明液体 |
| 终止液 | 无色澄明液体，低温条件下可能会出现絮状沉淀 |

**【用法与判定】** 按以下步骤进行：

**1、需要自备的器材**

1.1 微量移液器；

1.2 微量移液器配套使用的枪头；

1.3 用来稀释洗涤液的500ml量筒；

1.4 适用于检测96T微孔板的酶标仪；

1.5 用于稀释样品的1.5ml Ep管；

1.6 蒸馏水或去离子水。

**2、样品的制备**

用样品稀释液将待检血清样品进行50倍稀释(建议：4μl血清样品加入196μl样品稀释液中)，样品加入包被板前要充分混匀，稀释不同待检样品注意更换枪头。***注意：①制备血清用的血液样本应无溶血现象发生；②不能稀释阴性、阳性对照。***

**3、操作步骤** （﹡使用前应轻轻旋转或震荡予以混匀，**所有试剂应恢复至室温**）

3.1 在A1和A2孔中分别加入100μl阴性对照；

3.2 在A3和A4孔中分别加入100μl阳性对照；

3.3 取100μl稀释好的待检样品加入相应孔中，并做好记录；

3.4 37℃孵育30min；

3.5 将各孔的液体弃入废液桶，每孔加250μl的洗涤液***（试剂盒内20×浓缩洗涤液需用蒸馏水或去离子水稀释后方可使用。如有结晶，需先溶解后，方可进行稀释）***进行洗板，重复5次，每次30s；

﹡加液时防止各孔间洗涤液串流影响检测结果，尽量将孔内洗涤液抛甩干净；

3.6 每孔加100μl酶标结合物；

3.7 37℃孵育30min；重复步骤3.5；

3.8 每孔加100μl底物液；

3.9 37℃孵育10min***（避光显色）***；

3.10 每孔加50μl的终止液；

3.11 立刻于450nm波长处测定各孔的吸光度值，即OD450值。

**4、试验有效性判断**

4.1阴性对照：正常情况下，阴性对照孔OD450值≤0.3；

4.2阳性对照：正常情况下，阳性对照孔OD450值≥0.6；

4.3临界值(C.O.)计算：临界值=0.18+阴性对照均值；阴性对照OD450值大于0.3时应舍弃，如所有阴性对照OD450值均大于0.3时须重复实验；阴性对照低于0.05时以0.05计算。

4.4结果判定： 检测样品OD450值≥临界值，判定该检测样品为阳性； 检测样品OD450值＜临界值，判定该检测样品为阴性。

**【注意事项】**

（1）待检血清样品数量过多时，应先使用血清稀释板将所有待检血清稀释完毕后，再统一将血清样品加入酶标板中，使反应时间一致。

（2）试剂盒使用的过程中不要吸烟、喝水和吃东西。

（3）底物液和终止液对皮肤有刺激性，注意防护。

（4）底物液不要暴露于强光和任何氧化剂；使用洁净的玻璃和朔料容器处理底物液。

（5）所有试剂应在2～8℃存放；使用前恢复到室温，使用后放回2～8℃。

（6）注意防止试剂盒组分受到污染。

（7）不要使用超过有效期的试剂，不同批次试剂盒的组分不要混用。

（8）操作过程中的移液、时间和洗涤必须精确。

**【规格与包装】**96T×2

**【贮藏与有效期】**2～8℃避光保存，有效期为12个月

**【联系人】** 武经理 【电话】18266598399

仅供兽医诊断使用