

## 非洲猪瘟病毒阻断 ELISA 抗体检测试剂盒说明书

兽用

### 【兽药名称】

通用名 非洲猪瘟病毒阻断 ELISA 抗体检测试剂盒

英文名 African Swine Fever Virus Block ELISA Antibody Test Kit

### 【主要成分与含量】

试剂盒组分	数量		
	1P	2P	5P
ASFV B 抗原包被板	96 孔板×1 块	96 孔板×2 块	96 孔板×5 块
ASFV B 阴性对照血清	1ml/管×1 管	1ml/管×1 管	1ml/管×1 管
ASFV B 阳性对照血清	1ml/管×1 管	1ml/管×1 管	1ml/管×1 管
ASFV B 样品稀释液	10ml/瓶×1 瓶	20ml/瓶×1 瓶	50ml/瓶×1 瓶
ASFV B 酶标抗体	5ml/瓶×1 瓶	10ml/瓶×1 瓶	25ml/瓶×1 瓶
20×洗涤液	30ml/瓶×1 瓶	60ml/瓶×1 瓶	100ml/瓶×1 瓶
底物溶液 A	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶
底物溶液 B	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶
终止液	6ml/瓶×1 瓶	12ml/瓶×1 瓶	30ml/瓶×1 瓶

**【作用与用途】** 用于检测猪血清中的非洲猪瘟病毒 P30 抗体。

### 【用法与判定】 1 用法

1.1 样品准备 采集猪全血，按常规方法制备血清，血清应清亮，无溶血。

1.2 实验准备 试剂盒各个组分在使用前均须恢复至室温（20℃~25℃），加液前充分摇匀。ASFV B 抗原包被板上 ASFV B 阴性对照血清、ASFV B 阳性对照血清、样品稀释液和待检样品的分布如表 1 所示（N-表示加阴性对照血清，P-表示加阳性对照血清，Cm-表示加样品稀释液，S1、S2、S3、S4 和其余孔表示加待检样品）。

表 1 酶标板上对照和样品添加模式图

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	S3										
B	N	S4										
C	P											
D	P											
E	Cm											
F	Cm											
G	S1											
H	S2											

注：为保证不同样品的孵育时间一致，可先取不低于 50μl 的待检样品和不低于 50μl 的 ASFV B 阴性对照血清、ASFV B 阳性对照血清、样品稀释液分别加入 96 孔板中并做好记录，然后用多道移液器移至 ASFV B 抗原包被板相应孔中，也可在 ASFV B 抗原包被板直接加样。

1.3 洗涤液配制 使用前, 将 20×洗涤液从试剂盒中取出, 平衡至室温, 并摇动, 使沉淀溶解; 或在 37℃水浴中加热 5 分钟~10 分钟, 并摇动, 使沉淀溶解。待完全溶解后, 将 20×洗涤液用纯水或去离子水做 20 倍稀释 (如配制 100ml 工作浓度洗涤液, 需 5ml 20×洗涤液加 95ml 纯水或去离子水), 充分混匀, 即为工作浓度的洗涤液。

#### 1.4 操作步骤

1.4.1 每孔加入 50μl 样品稀释液, 在 A1 和 B1 孔加入 ASFV B 阴性对照血清各 50μl; 在 C1 和 D1 孔加入 ASFV B 阳性对照血清各 50μl; 在 E1 和 F1 孔加入样品稀释液各 50μl; 剩余孔中加入待检样品 50μl;

1.4.2 轻轻振荡孔中样品 (勿溢出), 37℃孵育 60 分钟;

1.4.3 甩干 ASFV B 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液, 洗涤 4 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干, 最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干;

1.4.4 每孔加入 50μl 的 ASFV B 酶标抗体; 37℃孵育 30 分钟;

1.4.5 甩干 ASFV B 抗原包被板孔中的液体, 每孔加入 300μl 工作浓度的洗涤液, 洗涤 4 次, 在洗涤和加入下一个试剂前, 避免孔壁变干, 最后一次洗涤后将抗原包被板在吸水纸上拍干;

1.4.6 每孔先后加入 50μl 底物溶液 A 和 50μl 底物溶液 B; 混匀后 37℃避光孵育 10 分钟;

1.4.7 每孔加入 50μl 的终止液终止显色反应; 使用酶标仪测定 450nm 波长处的 OD 值。

#### 2 结果判定

2.1 ASFV B 阴性对照血清的平均 OD 值即  $OD_{NC}$ ; ASFV B 阳性对照血清的平均 OD 值即  $OD_{PC}$ ; 酶标抗体 (空白) 的平均 OD 值即  $OD_{Cm}$ ; 待检样品的 OD 值即为  $OD_S$ ;

2.2 阈值计算 阳性对照血清阻断率即  $PB_{PC}=100-OD_{PC}/OD_{Cm}\times 100$ ;

阴性对照血清阻断率即  $PB_{NC}=100-OD_{NC}/OD_{Cm}\times 100$ ;

样品阻断率即  $PB_S=100-OD_S/OD_{Cm}\times 100$ 。

2.3 试验成立条件:  $PB_{NC}<30$  且  $PB_{PC}>70$ , 试验结果有效; 否则, 重新进行试验。

2.4 判定: 在试验成立的前提下, 样品阻断率即  $PB_S>50$ , 结果判为阳性;  $PB_S\leq 50$ , 结果判为阴性。

**【注意事项】** (1) 试剂盒使用前各试剂应平衡至室温, 使用后放回 2℃~8℃保存。

(2) 不同批号的试剂盒组份不得混用, 不同试剂使用时应防止交叉污染。

(3) 底物溶液和终止液不能暴露于强光或接触氧化剂, 若出现颜色变化, 应弃之不用, 底物溶液 B 应避光保存。

(4) 稀释 20×洗涤液时应准确量取, 如果发现有结晶应加热使其溶解后使用。

(5) 待检样品数量较多时, 应尽量缩短加样时间。

(6) 吸取液体时, 应尽量准确, 并防止产生气泡。

(7) 应严格按照各操作步骤规定的时间和温度进行操作。

(8) 终止液为稀硫酸溶液, 若接触到皮肤或眼睛, 请及时用大量清水洗涤并就医。

**【规格】** (1) 96 孔/盒 (2) 192 孔/盒 (3) 480 孔/盒

**【贮藏与有效期】** 2℃~8℃保存, 有效期 15 个月。

**仅供兽医诊断使用**