

猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体检测试剂盒使用说明书

CAT: PAE0001

名称和用途

PRRS X3 抗体检测试剂盒是用于检测猪血清和血浆中的猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)抗体 (Antibody, Ab) 的酶联免疫检测试剂盒 (I型和II型)。

概述

猪繁殖与呼吸综合征病毒 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, PRRSV) 是一种单股正链 RNA 动脉炎病毒, 分为欧洲型 (I型或 A 型) 和美洲型 (II型或 B 型), 两种毒株具有不同的抗原性。该病毒引起繁殖问题 (流产、产弱仔、死胎、母猪死亡)、 呼吸系统疾病 (肺炎、呼吸困难、行动迟缓、死亡) 和轻度神经症状。造成严重的经济损失, 被认为是影响养猪业最重要的疫病之一。通过本试剂盒可以便捷的检测血清或血浆中的抗体水平, 评估猪只是否感染 PRRSV (自然感染或人工免疫疫苗感染)。

此试剂盒仅供体外检测使用。

原理

PRRS X3 抗体检测试剂盒是用于检测猪血清或血浆中 PRRSV 抗体的酶联免疫吸附试验。将重组的 PRRSV 抗原包被在酶标板上, 被检测样品在包被孔中孵育时, 样品中针对 PRRSV 的特异性抗体与包被的抗原形成抗原抗体复合物, 洗去包被孔中没有结合的组分后, 加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗猪抗体, 它与孔中复合物猪抗体结合。然后洗去没有结合的酶标抗体, 再加入显色底物 TMB。颜色反应的深浅与样品中存在的抗 PRRSV 特异性抗体的量呈正相关。

试剂盒组分

组分	规格	数量
PRRS 抗原包被板 (CP)	96 Test/板	5
PRRS Ab 阴性对照 (PC)	4 mL/瓶	1
PRRS Ab 阴性对照 (NC)	4 mL/瓶	1
HRP 标记抗猪抗体 (HRP)	60 mL/瓶	1
样品稀释液 (SD)	120 mL/瓶	1
TMB 底物 (TMB)	60 mL/瓶	1
终止液 (NaF) (SS)	60 mL/瓶	1
10x浓缩洗涤液 (WB)	125 mL/瓶	1
封板膜 (SF)	6 pieces/bag	3

AREX Biosciences Ltd.

储存

所有试剂在 2~8°C 保存, 如保存得当, 试剂直至有效期截止前都处于稳定状态。

自备器材

- 精确的单道移液器和多道移液器, 适用于吸移 5~1000 μ L 体积的液体
- 一次性移液器吸头
- 500 mL 量筒, 配制洗涤液用
- 酶标仪 (可检测 96 孔微孔板、650 nm 吸光值)
- 蒸馏水或去离子水
- 滴加和吸取洗涤液的设备
- 一次性移液器吸头
- 可以盛装液体和消毒液的容器
- 用于稀释样品的管子或稀释板

注意事项

- 正确处理所有的生物材料, 可能为潜在的传染源。
- TMB 底物对皮肤和眼可能有刺激性, 避免与皮肤和眼睛接触。
- TMB 不要暴露于强光或任何氧化剂下。取用 TMB 底物要用洁净的玻璃或塑料容器。
- 所有的试剂应在 2~8°C 储存。使用前拿到室温 (18~25°C), 使用后放回 2~8°C 储存。
- 所有的废弃液应在丢弃前合理处理, 以免污染。
- 注意防止试剂盒内的试剂污染。
- 不要使用过期的试剂, 不同批次的试剂盒成分不要混用。
- 严格遵守操作说明可以获得最理想的结果。操作过程中移液、定时和洗涤等全部过程必须精确。
- 每次检测时都要设立阴阳性对照。
- 在检测过程中, 仅使用去离子水或蒸馏水稀释和准备试剂。
- 未用完的微孔板/条应用铝箔袋密封并储存于 2~8°C。
- 仅供兽医诊断使用。

试剂的准备

样品的准备

用样品稀释液 40 倍稀释被测样品 (例如: 5 μ L 样品加 195 μ L 样品稀释液)。

注意: 不要稀释阳性和阴性对照。

吸取每个样品后都要更换吸头, 准确记录每个样品在包被板上的位置。每个样品在添加到包被板前应混匀。

洗涤液的准备

浓缩洗涤液使用前应恢复至室温 (18~25°C)。使用前浓缩洗涤液应用蒸馏水或去离子水 10 倍稀释 (例如: 每块反应板用 25 mL 浓缩洗涤液加入 225 mL 蒸馏水或去离子水中)。

操作步骤

使用前所有试剂应恢复至室温 (18~25°C), 建议至少回复室温 30 分钟。试剂应轻轻旋转或振荡混匀。

每个样品使用一个独立的吸头。每种试剂使用独立的加样槽。

1. 取出抗原包被板, 在记录表上记录样本的位置。
2. 在包被孔内加入 100 μ L 没有稀释的阴性对照, 每次检测加两孔。
3. 在包被孔内加入 100 μ L 没有稀释的阳性对照, 每次检测加两孔。
4. 在相应的孔中加入 100 μ L 已稀释好的样品。
5. 封好封板膜, 18~25°C 孵育 30 分钟 (\pm 2 分钟)。
6. 吸取各孔的液体弃入废液容器。
7. 用 250 μ L 洗涤液洗涤板孔, 共洗涤 4 次。每次洗涤后应吸去孔内的液体。注意: 应避免包被孔干燥。在最后一次洗涤液吸去后, 将每块板中残留的洗涤液扣拍到吸水材料上。
8. 每孔加入 100 μ L 辣根过氧化物酶标记的抗猪抗体。
9. 封好封板膜, 18~25°C 孵育 30 分钟 (\pm 2 分钟)。
10. 重复步骤 6 和 7。
11. 每孔加入 100 μ L TMB 底物液。
12. 12.18~25°C 孵育 15 分钟 (\pm 1 分钟)。
13. 每孔加入 100 μ L 终止液, 终止反应。
14. 测量并且记录样本和对照的吸光值 A(650)。
15. 计算结果。

实验有效性判定

同时符合条件①②, 实验方能有效:

①阴性对照的平均值 (NC \bar{X}) 必须小于或等于 0.150;

②阳性对照的平均值 (PC \bar{X}) 减去阴性对照的平均值 (NC \bar{X}) 必须大于或等于 0.150。

如果实验无效, 实验中的操作值得怀疑, 应按照操作说明书重做一次实验。

S/P 值计算方法

阴性对照平均值 (NC \bar{X}) 的计算:

$$NC\bar{X} = \frac{NC1 A_{650} + NC2 A_{650}}{2}$$

例如: :

$$NC\bar{X} = \frac{0.086 + 0.090}{2} = 0.088$$

阳性对照平均值 (PC \bar{X}) 的计算:

$$PC\bar{X} = \frac{PC1 A_{650} + PC2 A_{650}}{2}$$

例如: :

$$PC\bar{X} = \frac{0.838 + 0.898}{2} = 0.868$$

样本 (S/P) 值的计算

$$S/P = \frac{\text{Sample } A_{650} - NC\bar{X}}{PC\bar{X} - NC\bar{X}}$$

例如: 样本 A (650) = 1.398

$$S/P = \frac{1.398 - 0.088}{0.868 - 0.088} = 1.68$$

结果判定

PRRSV 抗体的阳性或阴性通过计算样品与阳性对照的比值 S/P (Sample/Positive) 进行判定。具体计算方法见样品结果计算部分。

1. 如果 S/P 值低于 0.40, 样品应判定为 PRRSV 抗体阴性。
2. 如果 S/P 值大于或等于 0.40, 样品应判定为 PRRSV 抗体阳性。

Contact

400-886-0853
info@arex.bio.com

Address

Room 315, West Zone, Building A, No. 525 Xixi Road,
Xihu District, Hangzhou, China 310063

Website

www.arex.bio.cn
www.arex.bio.cn