

# 非洲猪瘟病毒抗体检测试剂盒（夹心法）使用说明书

## 名称：

非洲猪瘟病毒抗体检测试剂盒

## 预期用途：

本试剂盒用于检测猪血清中非洲猪瘟病毒(ASFV)抗体。

## 实验原理：

本试剂盒应用双抗原夹心法测定样本中是否含有非洲猪瘟病毒(ASFV)抗体。用重组的 ASFV 抗原包被微孔板，制成固定相，往包被抗原的微孔中加入样本，再与 HRP 标记的 ASFV 抗原结合，形成抗原-抗体-酶标抗原复合物，经过洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样品中的非洲猪瘟病毒(ASFV)抗体含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），通过 OD 值计算判断样本中是否含有非洲猪瘟病毒(ASFV)抗体。

## 试剂盒组成：

主要组成成分	规格/数量	规格/数量
包被板	96T/1 块	480T/5 块
阳性对照	0.5mL/1 瓶	2.5mL/1 瓶
阴性对照	0.5mL/1 瓶	2.5mL/1 瓶
20×样品稀释液	5mL/1 瓶	25mL/1 瓶
酶标抗原	6mL/1 瓶	30mL/1 瓶
20×浓缩洗涤液	10mL/1 瓶	50mL/1 瓶
底物 A 液	6mL/1 瓶	30mL/1 瓶
底物 B 液	6mL/1 瓶	30mL/1 瓶
终止液	12mL/1 瓶	60mL/1 瓶
封板膜	1 片	5 片

## 试剂准备：

- 1×洗涤液配制：取混匀后 20×浓缩洗涤液至去离子水中 20 倍稀释。
- 1×样品稀释液配制：取混匀后 20×样品稀释液至去离子水中 20 倍稀释。
- 样本准备：使用前用 1×样品稀释液将样本稀释 10 倍（建议 20 微升血清，180 微升样本稀释液）。
- 底物液的配制（现配现用）：使用前将显色液 A、显色液 B 按体积比 1：1 混合，避光。

## 实验流程：

使用前将试剂盒的所有组分和待检样本平衡至室温。

1. 按前述试剂准备项准备好各种试剂、阴阳性参考品和待测样本；
2. 计算检测样本所需酶标条，将酶标条从铝箔袋取出，剩余的酶标条放回铝箔袋中并封

好袋口，低温保存；

3. 样本孵育：分别加入阴性对照、阳性对照和待测样本，并做好记录，100 μL/孔，混匀；再将酶标抗原分别加入微孔板中，50μL/孔，混匀后贴膜，37°C孵育30分钟；
4. 洗板：弃去孔中液体，加入1×洗涤液(300 μL/孔)洗板五次，拍干；
5. 显色：将预先配制的底物液加入微孔板中，100 μL/孔，混匀，37°C避光孵育10分钟；
6. 终止：加入100 μL/孔终止液至微孔板中，轻轻震动微孔板至显色均匀；
7. 读值：20分钟内读取450nm的光吸收值。

#### 结果判定：

1. ASFV阴性参考品的OD值记为ODN；ASFV阳性参考品的OD值记为ODP；样品的OD值记为ODS；
2. Cut Off值（阈值）的计算： $\text{Cut Off值} = \text{ODN} + 0.15$ ；
3. 试验成立条件：ODN值 $\leq 0.15$ 且ODP值 $\geq 0.5$ ，试验结果有效，否则重新进行试验；
4. 结果判定：样本的OD值 $\leq \text{Cut Off值}$ ，结果判为阴性；样本的OD值 $> \text{Cut Off值}$ ，结果判为阳性。

#### 注意事项：

1. 请严格按照说明书操作。
2. 本试剂盒应该由经过充分培训的人员使用。
3. 不同批号的试剂盒不能混用。
4. 本试剂盒各组分只能一次性使用，不能重复使用。
5. 整个实验过程应尽量在干净无尘的环境下进行。
6. 本试剂盒与待检样本使用前必须平衡至室温。
7. 浓缩洗涤液使用前需 20 倍稀释，若洗液出现结晶，可置 37°C 使之溶解。
8. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样本应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜。
9. 洗板机在每天使用时应进行校正注液量和残留量，注意管道是否通畅。洗涤时，确认每孔中洗涤液都注满微孔。每次洗涤后都需在无尘吸水纸上拍干微孔中的液滴。在洗板结束后应立即进行下一步，不可使酶标板干燥。避免较长时间中断实验步骤，以确保每孔实验条件均一。
10. 如质控品测值不在预期范围内，则该次实验无效，应重复实验。
11. 本试剂盒中所有试剂应置于 2-8°C 保存，有效期为 12 个月。板条若未能一次用完，剩余板条用塑料袋封口后密封保存。
12. 此试剂盒仅用于体外诊断。

#### 生产企业：

企业名称：肇庆大华农生物药品有限公司

地 址：广东省肇庆高新技术产业开发区创业路 5 号

邮政编码：526238 电 话：0758-3626976