仅供科研使用，不得用于临床检验。

猪牛羊口蹄疫病毒O型抗体检测试剂盒（ELISA）说明书

【产品名称】

通用名称：猪牛羊口蹄疫病毒O型抗体检测试剂盒（ELISA）

英文名称：Test Kit forAntibodies to Porcine，Bovine and sheep Footand MouthDisease Virus O （ELISA）

【包装规格】 96 人份

【预期用途】

仅供科研使用，口蹄疫是由口蹄疫病毒（Foot and Mouth Disease Virus，FMDV）引起的偶蹄动物的一种急性、热性、高度接触性传染病，其特征为口腔黏膜、蹄部、乳房皮肤发生水泡和烂斑。

本试剂用于检测猪牛羊血清中口蹄疫病毒O型抗体，可用于口蹄疫病毒O型疫苗免疫效果评价。

【检验原理】

本试剂盒由预包被口蹄疫病毒O型抗原的酶标板、酶标记物及其他配套试剂组成，应用酶联免疫法（ELISA）原理检测猪牛羊血清样本中口蹄疫病毒O型抗体。实验时在酶标板中加入待检样本，再加入酶标记物，与酶标板上抗原抗体复合物发生特异性结合；再经洗涤除去未结合的酶标记物，在孔中加TMB底物液，若样品中含有口蹄疫病毒O型抗体则将阻断抗体工作液与酶标板上抗原结合，从而使后续反应不出现显色；反之则出现显色；显色深浅与样品中的特异性抗体含量成负相关；加入终止液终止反应后，产物变为黄色；用酶标仪在450nm波长测定各反应孔中的吸光值， 即可知样品是否含有口蹄疫病毒O型抗体。

仅供科研使用，不得用于临床检验

【主要组成成分】主要成分

组分	数量	主要成分
阴性对照	1.0 mL×1	
阳性对照	1.0 mL×1	
包被微孔板	96T	预包被固相抗原
HRP 标记物	10mL	HRP 标记的检测抗体
样本稀释液	6ml	
底物液 A	6mL	过氧化脲工作液
底物液 B	6mL	TMB 工作液
终止液	6mL	--
20×浓缩洗涤液	40mL	含 0.15%Tween20 的 PBS
说明书	1 份	--
自封袋	1 个	--
不干胶	2 片	--

需要但未提供的材料及耗材

1、酶标仪

2、精密移液器及一次性吸头

3、蒸馏水

4、洗瓶或者自动洗板机 5、37℃水浴锅或恒温箱

6、500ml 量筒

7、无粉一次性乳胶手套

【储存条件及有效期】

1、2-8℃保存，切勿冷冻，有效期 6 个月。

2、 开封使用后，包被微孔板放入带有干燥剂的自封袋中，密闭自封袋，并将全部试剂放回

2-8℃冰箱。

3、 开封后，按照建议的条件保存，校准品、包被微孔板和 HRP 标记抗体，有效期为 14 天，其他成分在标签标明的有效期内是稳定的。

【适用仪器】

半自动的酶标仪，如 Thermo MK3，或者国产酶标仪。

【样品准备】

1.取动物全血按常规方法制备血清，要求血清清亮，无溶血、无污染。样品 1 周内可于 2~8℃保存，长期需置-20℃保存。

2.待检血清样本恢复室温、混匀待用。阴、阳性对照不用稀释。

3.浓缩洗涤液使用前应恢复至室温使沉淀溶解，然后用蒸馏水或去离子水作 20 倍稀释成工作洗涤液(如 19 份蒸馏水或去离子水+1份浓缩洗涤液)。

【检验方法】

1.使用前将试剂盒置室温 30 分钟，恢复至室温。

2.取所需用量酶标板条，设阴性/阳性对照各 2 孔，未用的板条尽快密封，2～8℃保存。

3.阴、阳性对照孔分别加入阴、阳性对照 50 μl；样品孔每孔先加入 30ul 样本稀释液，再加入 20 μl 血清样本。

4.每孔加酶标记物 50 μl，盖好盖板膜，置 37℃避光反应 30 分钟。

5. 甩去孔内液体，每孔加 350ul 工作洗涤液，静置 30 秒后弃去，重复洗涤 5 次，最后一次拍干。

6.每孔依次加底物液 A、底物液 B 各 50 μl，混匀，盖好盖板膜，置 37℃避光反应 15 分钟

7.每孔加终止液 50 μl，混匀，于 450nm (可用 630nm 作参比波长）测定各孔吸光值。

【参考值】

实验正常的情况下，阴性对照平均 OD 值≥0.6，阳性对照平均 OD 值＜0.4。

【检验结果的解释】

S/N 值=样本 OD 值/阴性对照平均 OD 值，S/N 小于 0.5 为阳性；S/N≥0.5 为阴性。

【注意事项】<u>生物安全</u>

1、 检测必须符合实验室管理规范的规定，严格防止交叉污染，所有样品、洗弃液和各种废弃物都应按照传染物进行处置。

2、 试剂盒的液体组分中，含有 proclin-300 防腐剂，可能引起皮肤过敏反应，避免吸入烟雾与皮肤接触。

3、 底物液对皮肤、眼睛和上呼吸道有刺激作用，避免吸入烟雾。戴上防护手套，实验完成后彻底洗手。

技术提示

1、 混合蛋白溶液时，避免起泡。

2、 加校准品与样本时，每个校准品浓度和样本都要更换移液枪头，公共组分应该悬臂加样，避免交叉污染。

3、 合适的温育时间，和充分的洗涤步骤，是保证实验结果准确性的必要条件。

4、 底物溶液为无色液体，保存过程中变为蓝色，代表底物溶液已经失效，不得使用。

5、 终止液加样顺序与底物溶液加样顺序一致，加入终止液后，蓝色底物产物，会瞬间变为黄色。

6、 实验中，用剩的板条，应立即放回自封袋中，密封（低温干燥）保存。

7、 所有液体组分，使用前充分摇匀，严格按照说明书标明的时间、加样量及加样顺序进行温育操作。废物处理

所有使用或未使用的试剂，所有污染性的一次性材料，应当遵循传染性或潜在传染性产品的处理程序，每个实验室都有责任根据其实验的类型和危险性级别，进行废物和污物的处理，同时要严格依照有关规定对待所有的废物和污物。