仅供科研使用，不得用于临床检验。

小反刍兽疫病毒抗体(PPRV-Ab)检测试剂盒（ELISA）说明书

【产品名称】

通用名称：小反刍兽疫病毒抗体(PPRV-Ab)检测试剂盒（ELISA）

英文名称：Test Kit for Antibodies to Peste des Petits Ruminants Virus （ELISA）

【包装规格】

48/96 人份/盒

【预期用途】

仅供科研使用，小反刍兽疫是由小反刍兽疫病毒（Peste des Petits Ruminants Virus，PPRV）引起的一种急性接触性传染病，其特征为口腔、舌粘膜糜烂、流泪、流鼻液。本病的易感动物为山羊 ，也可感染绵 、白尾鹿等，但对牛无感染性。

本试剂用于检测血清中小反刍兽疫病毒抗体，可用于小反刍兽疫疫苗免疫效果评价。

【检验原理】

本试剂盒由预包被小反刍兽疫病毒重组抗原的酶标板、酶标记物及其它试剂组成。

应用竞争酶联免疫法（ELISA）原理检测血清、血浆样本中小反刍兽疫病毒抗体。实验时在酶标板中加入待检样本，再加入酶标记物，经温育后洗涤除去未结合的其他成分后，在孔中加入底物液，若样品中含有小反刍病毒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小反刍兽疫病毒抗体。

【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	48T/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	10mL	
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	30mL	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 50μl；样品孔每孔先加入 40μl 样本稀释液，再加入 10μl 血清样本（稀释比例为 1:5）。

4、每孔加酶标记物 50μl，混匀，盖好盖板膜，置 37℃（推荐水浴）避光反应 30 分钟。

5、甩去孔内液体，每孔加 350 ul 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 50μl，混匀，盖好盖板膜，置 37℃避光反应 15 分钟。

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

【参考值】

实验正常的情况下，阴性对照吸光值≥1.0，阳性对照吸光值≤阴性对照吸光值×50%。

【检验结果的解释】

1、PI（阻断率）=（1-样本值/阴性对照孔均值）×100%，PI≥50%为阳性；PI＜50%为阴性。

2、本实验结果为阴性表明 只抗体水平不足，建议补打相应疫苗。

【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性检测 血清中小反刍兽疫病毒抗体，根据 PI 值高低可作抗体水平强、中、弱的粗略评估。

【注意事项】

生物安全

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。