禽白血病病毒 P27 抗原检测试剂盒（酶联免疫法）

使用说明书

【产品名称】

通用名：禽白血病病毒 P27 抗原检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名：Avian Leukosis Virus P27 Antigen Test Kit(ELISA)

【包装规格】 96T×1/盒、96T×2/盒、96T×5/盒

【预期用途】 禽白血病(Avian Ieukemia，AL)作为一种鸡独有的病症，广泛存在于我国养禽业，是危害我国养鸡业的一种重要疾病。p27 蛋白是禽白血病病毒的重要组成蛋白之一，不仅构成 ALV 病毒粒子的衣壳，还是 ALV 主要的结构蛋白，占禽白血病病毒总蛋白含量的 30%，且 p27 蛋白氨基酸序列高度保守，含有反转录病毒的群体特异性抗原，易于被检测到。所以在企业实际生产实践中，通常选择 ELISA 试剂盒这种设备简单、操作方便的方法来对禽白血病进行快速筛查。

本试剂盒用于检测鸡的卵清、胎粪、组织样品及细胞培养物中禽白血病病毒 p27 抗原。

【试剂盒组成】

序号	名称	规格/96T×1	规格/96T×2	规格/96T×5
1	酶标记物	11ml×1(红盖)	11ml×2(红盖)	26ml×2(红盖)
2	20X 浓缩洗涤液	40ml×1(白盖)	40ml×1(白盖)	200ml×1(透明)
3	底物显色液	10ml×1(黑盖)	10ml×2(棕盖)	25ml×2(黑盖)
4	终止液	5ml×1(黄盖)	10ml×1(黄盖)	25ml×1(黄盖)
5	阳性对照	1.0 ml×1(红盖)	1.5 ml×1(红盖)	2.0 ml×1(红盖)
6	阴性对照	1.0 ml×1(绿盖)	1.5 ml×1(绿盖)	2.0 ml×1(绿盖)
7	酶标板	96T×1	96T×2	96T×5
8	盖板膜	1	2	5
9	自封袋	1	1	2
10	说明书	1	1	1

【储存及有效期】2～8℃保存，有效期 12 个月。

包被板开封后请于 2～8℃避光保存，避免受潮。使用期限为 2 个月。

【适用仪器】 含 630nm 波长的酶标仪，25℃恒温设备，可调微量移液器。

【样品准备】

1.样品处理

1.1 卵清：取全蛋，破碎后取稀卵清，直接进行检测。冻融可以降低卵清的粘稠度。

1.2 胎粪：将胎粪放入含有 0.5ml **工作洗涤液**的离心管中，反复冻融 2 次。恢复室温后，5000r/min 离心 2 分钟，取上清进行检测。

1.3 组织样品:取 0.5g 组织病料于研磨器剧中,加入 0.5ml **工作洗涤液**匀浆,将组织悬液转移至离心管中反复冻融 2 次,5000r/min 离心 2 分钟，取上清进行检测。

1.4 细胞培养物：将细胞培养物反复冻融 2 次。恢复室温后，5000r/min 离心 2 分钟（若为细胞培养板，则需静置 30 分钟），取上清进行检测。

2.洗涤液的配制

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)，如果发现有结晶加热使其溶解后再使用。

【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 100μl；样品孔每孔加 100μl。

4.混匀，盖好盖板膜，置室温（20～25℃）（推荐水浴）避光反应 1 小时。

5.甩去孔内液体，每孔加 300μl **工作洗涤液**，无需静置，甩掉板孔中的洗涤液，重复洗涤 5 次，最后一次拍干。

6.每孔加酶标记物 100μl，盖好盖板膜，置室温（20～25℃）避光反应 1 小时。

7.洗涤，同步骤 5。

8.每孔加入底物显色液 100μl，置室温(20～25℃)避光反应 15 分钟。

9.每孔加入终止液 50μl，混匀，10 分钟内于 630nm 测定各孔吸光值。

【参考值】 实验正常的情况下，阴性对照的平均 OD 值即 OD_{NC} 应＜0.2，阳性对照的平均 OD 值即 OD_{PC} 应大于≥0.5

S 为样品孔 OD_{630nm} 值，P 为阳性对照 OD_{630nm} 平均值。

如果 S/P＞0.2，判为阳性；

如果 S/P≤0.2，判为阴性。

【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性检测禽白血病病毒 P27 抗原，根据 S/P 值高低可作抗体水平强、中、弱的粗略评估。

【注意事项】

1.实验操作时需戴手套、穿工作衣，严格健全和执行消毒隔离制度，各种实验废弃物都应按传染物处理。

2.终止液具有腐蚀性，应避免接触皮肤和衣物，如不慎接触请立即用大量自来水冲洗。

3.若试剂盒阴阳性对照、酶标记物出现少量悬浮物，属于正常现象。

4.酶标板从冷藏环境中取出时应恢复至室温方可开袋，未用完的酶标板需放入有干燥剂的密封袋中保存。

5.浓缩洗涤液在低温时容易结晶，使用时需恢复至室温以完全溶解。

6.洗涤时各孔均需加满液体，防止孔口有游离酶不能洗净。

7.用于检测的样品应保持新鲜。

8.试验结果的判定必须以酶标仪读数为准。

9.不同批号试剂组分不得混用。