

## 猪胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

### 使用说明书

#### 【产品名称】

通用名：猪胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名：Test Kit for Antibodies to Porcine Actinobacillus Pleuropneumoniae ApxIVA (ELISA)

【包装规格】 96T×1/盒、96T×2/盒

【预期用途】 猪传染性胸膜肺炎是由胸膜肺炎放线杆菌（Actinobacillus Pleuropneumoniae, APP）引起的一种高度传染性呼吸道疾病，以急性出血性纤维素性胸膜肺炎和慢性纤维素性坏死性胸膜肺炎为特征。APP 最主要的毒力因子为 Apx 毒素，其中 ApxIVA 毒素在所有血清型中都存在。

本试剂盒检测猪血清、血浆样品中 ApxIV 抗体，可用于胸膜肺炎放线杆菌感染的诊断。

#### 【原理】

本试剂盒系由预包被胸膜肺炎放线杆菌（APP）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）原理检测猪血清、血浆样品中胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体。实验时在酶标板孔中加入待检样品，经温育后若样品中含有胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体，则与酶标板上抗原结合；经洗涤除去未结合的其他成分后加入酶标记物，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，加入底物液 A、B，与酶反应形成蓝色产物，显色深浅与样品中的特异性抗体含量成正比；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胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体。

#### 【试剂盒组成】

序号	名称	规格（96T×1）	规格（96T×2）
1.	酶标板	96T×1	96T×2
2.	酶标记物（红盖）	11ml×1	11ml×2
3.	样品稀释液（黄盖）	50ml×1	50ml×1
4.	20X 浓缩洗涤液	40ml×1	40ml×1
5.	底物液 A（白盖）	6ml×1	11ml×1
6.	底物液 B（黑盖）	6ml×1	11ml×1
7.	终止液（黄盖）	6ml×1	11ml×1
8.	阳性对照（红盖）	1.0 ml×1	1.5 ml×1
9.	阴性对照（绿盖）	1.0 ml×1	1.5 ml×1
10.	盖板膜	1 张	2 张
11.	自封袋	1 个	1 个
12.	说明书	1 份	1 份

【储存及有效期】 于 2~8℃避光保存，有效期为 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 450nm、630nm 波长的酶标仪，37℃恒温设备，可调微量移液器。

#### 【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. 用样品稀释液将待检血清按 40 倍稀释（如 5μl 血清加入 195μl 样品稀释液中，混匀）。阳性对照按 10 倍稀释，阴性对照不用稀释。

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。

## 【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，设空白对照 1 孔、阴性/阳性对照各 2 孔，未用的板条尽快密封，2~8℃保存。
- 3.空白对照孔加样品稀释液 100μl；阴性对照孔加入阴性对照 100μl；阳性对照孔加入稀释好的阳性对照 100μl；样品孔每孔加入稀释后的样品 100μl。
- 4.混匀，置 37℃反应 30 分钟。
- 5.扣去孔内液体，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，重复洗涤 5 次，拍干。
- 6.每孔加酶标记物 100μl（空白孔除外）。置 37℃反应 30 分钟。
- 7.洗涤，同步骤 5。
- 8.每孔依次加底物液 A、底物液 B 各 50μl，混匀，37℃避光反应 10 分钟。
- 9.每孔加终止液 50μl，混匀，用空白孔调零，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≤0.15，阳性对照≥0.4。

## 【检验结果的解释】

猪血清样品中胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体的有(阳性)无(阴性)通过计算样品与阳性对照吸光度的比值(S/P 值)来判定。

- 1.S/P=样品 A 值/阳性对照比值。
- 2.S/P≥1 为 ApxIVA 抗体阳性；S/P<1 为 ApxIVA 抗体阴性。

## 【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性检测猪胸膜肺炎放线杆菌 ApxIVA 抗体。

## 【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.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。
- 4.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。
- 5.洗涤时各孔均需加满液体，防止孔口有游离酶不能洗净。
- 6.用于检测的样品应保持新鲜。
- 7.试验结果的判定必须以酶标仪读数为准。
- 8.不同批号试剂组分不得混用。