

**仅供科研使用，不得用于临床检验。**

## 鸡传染性支气管炎病毒抗体 (IBV Ab) 检测试剂盒 (ELISA) 说明书

### 【产品名称】

通用名称：鸡传染性支气管炎病毒抗体 (IBV Ab) 检测试剂盒 (ELISA)

英文名称：Test Kit for Antibodies to Infectious Bronchitis Virus (ELISA)

### 【包装规格】

48 T/盒    96 T/盒

### 【预期用途】

仅供科研使用，鸡传染性支气管炎是由传染性支气管炎病毒 (Infectious Bronchitis Virus, IBV) 引起鸡的一种急性、高度接触传染性呼吸道传染病，本病呈世界性分布，是严重危害养禽业的最主要疫病之一。疫苗免疫是预防和控制鸡传染性支气管炎发生的最有效途径，而免疫后抗体水平的高低反映实际的疫苗免疫效果，直接关系到免疫鸡群对禽流感病毒的抵抗力。

本试剂盒适用于：鸡血清抗体的检测，以确定被检鸡是否感染过鸡传染性支气管炎病毒或免疫鸡体内抗体水平；评估鸡群感染 IBV 的风险程度；了解雏鸡母源抗体水平，为 IBV 免疫程序的制定提供参考。

### 【检验原理】

本试剂盒由预包被鸡传染性支气管炎病毒重组 N 蛋白的酶标板、酶标记物及其他配套试剂组成，应用酶联免疫法 (ELISA) 原理检测鸡血清或血浆中鸡传染性支气管炎病毒抗体。实验时，在酶标板中加入对照血清和稀释的待检血清，经温育后，若样品中含有鸡传染性支气管炎病毒的抗体，则将与酶标板上抗原结合，经洗涤除去未结合的抗体和其他成分后；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结合物，

在孔中加 TMB 底物液，与酶标结合物反应形成蓝色产物，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传染性支气管炎病毒抗体。

### 【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	预包被固相抗体
HRP 标记物	10mL	HRP 标记的检测抗体
样品稀释液	50mL	
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. 用样品稀释液将待检血清先按 10 倍稀释（如在稀释板中加入 90 μl 样品稀释液再加 10 μl 血清，混匀）。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 100 μl；阴、阳性对照孔分别加入阴、阳性对照 100 μl；样品孔每孔加入样品稀释液 90 μl，再加入稀释后的血清 10 μl。

注：样本稀释比例相当于 1:100。

4. 混匀，盖好盖板膜，置 37℃避光反应 30 分钟。

5. 甩去孔内液体，每孔加 350 μl 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. 每孔加酶标记物 100 μl（空白孔除外）。盖好盖板膜，置 37℃避光反应 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 50 μl，混匀，盖好盖板膜，置 37℃避光反应 10 分钟。

9. 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（A 值），无参比波长用空白孔调零（即所有孔吸光值减去空白孔吸光值）。

#### 【参考值】

实验正常的情况下，阴性对照≤0.10，阳性对照≥0.6。  
仅供科研使用，不得用于临床诊断。

### 【检验结果的解释】

1. C.0（临界值）=0.13+阴性对照孔均值（阴性对照孔均值低于0.07时以0.07计算）。
2. 未曾免疫鸡群：样品A值 $\geq$ C.0为阳性；样品A值 $<$ C.0为阴性。
3. 免疫鸡群：监测并记录样本当时的抗体水平，根据结果分析抗体水平的分布及鸡群免疫状态的动向。

### 【试验方法的局限性】

该试验仅作为定性检测鸡血清或血浆中鸡传染性支气管炎病毒 IgG 抗体，根据 A 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。  
仅供科研使用，不得用于临床诊断。