

ICS 11.220

B 41

# 团 体 标 准

T/CVMA X22—2019

## 猪圆环病毒 2 型抗体荧光免疫层析检 测法

The Detection Method of Antibody for Porcine Circovirus 2 by  
Hypersensitive Fluorescence Immunoassay

(征求意见稿)

2019—XX—XX 发布

2109—XX—XX 实施

中 国 兽 医 协 会 发 布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009 规则要求编写。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由四川省兽医协会提出。

本标准由中国兽医协会归口。

本标准起草单位：四川省动物疫病预防控制中心，成都微瑞生物科技有限公司。

本标准主要起草人：王泽洲、陈斌、章建、周明忠、贺冬梅、阳爱国、张毅、陈弟诗、邓飞、邵靓、李丽、邱明双、丁梦蝶、吴宣。

## 猪圆环病毒 2 型抗体荧光免疫层析检测法

### 1 范围

本标准规定了猪圆环病毒 2 型抗体荧光免疫层析检测法的原理、仪器设备、操作步骤、结果分析。

本标准适用于猪圆环病毒 2 型抗体水平的检测。

### 2 规范性引用文件

文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19489	实验室 生物安全通用要求
GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法
NY/T 541	兽医诊断样品采集、保存与运输及规范

### 3 缩略语

HFIA 高敏荧光免疫快速检测法  
(The Hypersensitive Fluorescence Immunoassay HFIA)

### 4 原理

采用免疫夹心法和高敏荧光免疫层析法相结合技术，检测动物血清样本中的猪圆环病毒 2 型抗体。当血清样本抗体与高敏荧光纳米微球标记的猪圆环病毒 2 型特异性抗原接触反应后形成复合物，继续与硝酸纤维素膜上检测线包被的猪圆环病毒 2 型特异性抗原形成复合物反应，其余物质继续向前层析在 C 线捕获住“荧光标记鸡 IgY+山羊抗鸡 IgY”免疫结合物，最后用荧光检测仪读取检测卡上的荧光信号。

### 5 仪器、材料与试剂

#### 5.1 仪器

5.1.1 高敏荧光分析仪：能在激发波长为(400±20)nm，检测波长为(615±10)nm 条件下检测。

5.1.2 单道可调移液器（20~200μL）和（0.5~10μL）。

5.1.3 分析天平：0.0001g。

5.1.4 离心机。

5.1.5 冰箱。

## 5.2 材料

5.2.1 猪圆环病毒 2 型抗体阳性血清。

5.2.2 猪圆环病毒 2 型抗体高敏荧光免疫分析法检测试剂卡（图 1）：硝酸纤维素膜上包被有猪圆环病毒 2 型特异性抗原，用于样品中猪圆环病毒 2 型抗体与高敏荧光纳米微球标记猪圆环病毒 2 型特异性抗原反应后，再与硝酸纤维素膜上包被的猪圆环病毒 2 型特异性抗原反应。

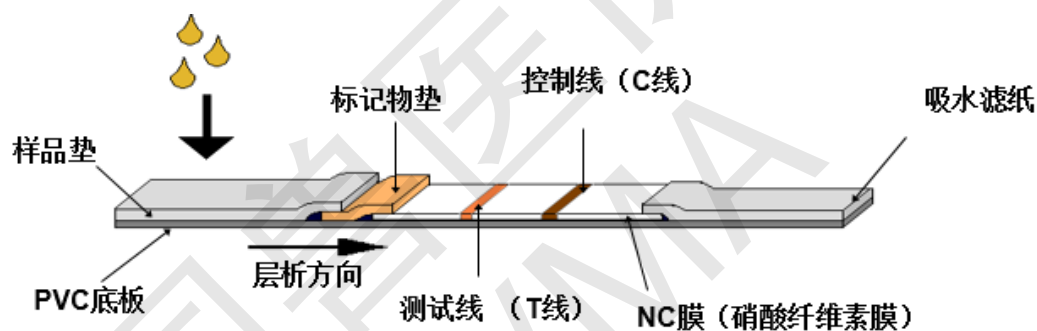


图1 猪圆环病毒 2 型抗体高敏荧光免疫分析法检测试剂卡示意图

## 5.3 试剂

5.3.1 水：按照 GB/T 6682 中的要求，二级。

5.3.2 样品稀释液(见附录 A)。

5.3.3 高敏荧光纳米微球：荧光寿命 $\geq 400\mu\text{s}$

## 6 样品采集与处理

### 6.1 样品的采集

应按照 NY/T 541-2002 《动物疫病实验室检测采样方法》中的规定进行，并做好安全防护。按常规方法用干燥、洁净的离心管或适当容器采集 3~5mL 血液。

### 6.2 样品的处理

血液样本用离心机3000r/m离心3min，血清量不少于500 $\mu$ L。

### 6.3 样品的贮存

血清样本在2-8 $^{\circ}$ C冷藏可保存24小时，如需长期保存应置-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

## 7 检测方法

### 7.1 样品稀释

待检血清样本和猪圆环病毒 2 型抗体高敏荧光免疫分析法检测试剂卡从 2-8 $^{\circ}$ C取出，平衡到室温(25 $^{\circ}$ C左右)。

用样品稀释液将待测血清样本按 1:50 稀释。

### 7.2 加样

从原包装铝箔袋中取出猪圆环病毒 II 型抗体高敏荧光免疫分析法检测试剂卡，置于干净平坦的台面上，用移液器吸取离心管中事先准备好的已稀释好的检测样本垂直滴加 80 $\mu$ L 于加样孔内。

### 7.3 检测

避光层析 15min 后用高敏荧光分析仪检测。

## 8 结果计算

$B$ —高敏荧光分析仪读取标准溶液或样本溶液的检测卡上的荧光信号T/C值

$B_0$ —高敏荧光分析仪读取稀释液检测卡上的荧光信号的T/C值

以标准品 $B-B_0$ 值的对数为纵坐标，以猪圆环病毒2型抗体阳性血清效价对数为横坐标，绘制标准曲线图。将样本的荧光信号值代入标准曲线中，从标准曲线上读出样本所对应的样本中猪圆环病毒2型抗体效价。

注：软件自带计算功能，能准确算出当前样本 T/C 值所对应的猪圆环病毒 2 型抗体效价。

## 9 判定标准

猪圆环病毒 2 型抗体效价：检测结果 $\leq 16$  抗体水平为阴性， $\geq 24$  时抗体水平为阳性， $16 \sim 24$  之间为可疑区。

定量检测猪圆环病毒抗体的含量与样本效价成正比。

中国兽医协会  
CVMA

## 附件 A

(规范性附录)

### 样品稀释液的配制

- |     |  |       |
|-----|--|-------|
| A.1 | $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | 2.68g |
| A.2 | $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  | 1g    |
| A.3 | $\text{NaN}_3$                                       | 1g    |
| A.4 | 硫酸葡聚糖 (MW:40000)                                     | 5g    |
- A.5 800ml 双蒸水放入 1L 烧杯。
- A.6 B.1、B.2、B.3、B.4 同时放入 B.5 烧杯中搅拌溶化。
- A.7 用双蒸水将 B.6 烧杯溶液定容至 1L。
- A.8 混匀后分装，置4°C备用。
-