

犬狂犬病毒IgG 抗体检测试剂盒（定量）使用说明书

【产品名称】犬狂犬病毒IgG 抗体检测试剂盒（定量）

【规格】96 头份/盒

【原理与用途】

本品系由预包被纯化狂犬病毒抗原的微孔板和抗犬 IgG 酶标记物及其它组分配套组成，应用间接酶联免疫法（ELISA）原理定量检测犬血清或血浆中抗狂犬病毒IgG 抗体，适用于犬狂犬病毒的免疫效果监测和抗体水平调查。

【试剂盒组成】

1. 预包被狂犬病毒抗原的微孔板 96 孔
2. 狂犬病毒IgG 酶标记物 1 瓶
3. 狂犬病毒IgG 标准品（直接使用）5 支含量分别为50、100、200、400、800mIU/ml 各1 支
4. 狂犬病毒IgG 阴性对照（直接使用）1 支
5. 显色液A 1 瓶
6. 显色液B 1 瓶
7. 终止液 1 瓶
8. 浓缩洗涤液（10 倍）1 瓶
9. 样品稀释液 2 瓶
10. 封板膜 2 片
11. 密封袋 1 个
12. 使用说明书 1 份
13. 定量坐标纸 1 份
14. 记录纸 1 份

【所需仪器】

1. 具有 450nm 波长的酶标仪
2. 10~100 μ l 移液器
3. 37℃恒温箱或水浴箱

【样本要求】

分离样品：将采集到的待检犬血液样品离心，分离出待检犬血清或血浆。

本试验使用无菌犬血清或血浆进行检测，应尽量避免使用染菌、溶血和高血脂的样品；室温保存样品不要超过8 小时，若实验在8 小时以后进行，需将样品保存在2~10℃，如保存超过1 周则应保存在-20℃并避免反复冻融。

【操作步骤】

1. 试剂盒放置室温平衡 20~30 分钟。取出浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水作10 倍稀释备用。
2. 稀释样品：将已分离好的犬血清或血浆用样品稀释液做适当倍数的稀释，使稀释后样品A 值处于标准品最低和最高A 值范围中间。推荐稀释倍数为20 倍，即取50 μ l 血清或血浆加入到950 μ l样品稀释液中，并充分混匀。当样品A 值小于最小浓度标准品时，建议复测时做10 倍或更低倍数稀释；当样品A 值超过最大浓度标准品时，建议复测时做50~500 倍稀释。
3. 加样：取所需量的预包被微孔板条固定于板架上，依次加入稀释好的样品，100 μ l/孔，然后将每一浓度的标准品和阴性对照各加2 孔，100 μ l/孔，另留一孔不加样品作为空白对照孔，在记录纸上记录各样品和参考品的次序或位置。将剩余的板条放入密封袋中保存。
4. 孵育：加样完成后，置37℃恒温箱或水浴箱（用封板膜覆盖板条，以避免水珠滴入微孔）中孵育30 分钟。

5. 洗板：甩净孔中液体，拍干，用稀释好的洗涤液加满每孔，停留1 分钟后甩净、拍干，反复洗板3 次。
6. 加酶：除空白对照外，其余各孔垂直滴加酶标记物50 μ l（1 滴），置37℃孵育30 分钟。
7. 显色：重复步骤5 洗板3 次，拍干后每孔（含空白孔）垂直滴加显色液A、B 各50 μ l（1 滴），置37℃避光显色10 分钟。
8. 终止：每孔（含空白孔）立即加入终止液50 μ l（1 滴），混匀后以空白孔调零，用酶标仪450nm波长测定A 值。

【结果判定】

以标准品浓度为横坐标，以测得该标准品平均A 值为纵坐标，在双对数坐标纸上作标准曲线，根据样品孔A 值在标准曲线上找出对应的样品浓度（mIU/ml），然后乘以稀释倍数即可。如样品浓度超出标准品最高或最低值范围则应适当调整稀释倍数。最终样品原液浓度（IU/ml）按以下公式计算：样品原液浓度（IU/ml）= 稀释后样品的测得浓度（mIU/ml） $\times$ 稀释倍数 / 1000（公式中的 1000 为1IU/ml=1000mIU/ml 单位换算）

例如：20 倍稀释时，测得样品A 值为A₀ 值，查绘制的标准曲线上该A₀ 值所对应的横坐标的值C₀，代入公式进行计算：C（IU/ml）= C₀（mIU/ml） $\times$ 20/1000，C 即为该样品原液的浓度。

【注意事项】

1. 本品仅用于体外诊断用，供一次性使用。
2. 本试剂盒和样品应视为具有潜在的生物危害，因此应按良好的实验室规范，并按疾病预防控制中心（CDC）的有关要求进行预防。
3. 任何样品都应作具有传染性样品对待，用后应按环保部门或其他相关规定的要求处置废弃物。
4. 使用前应详细阅读使用说明书，在有效期内使用。
5. 不同批号的试剂不得混用。
6. 染菌、严重溶血或高血脂的待检样品可能引起错误结果，应重新采样。

【贮藏】2~8℃

【有效期】12个月