

狂犬病病毒抗原检测试剂盒(酶联免疫法)说明书

【产品名称】

通用名：狂犬病病毒抗原检测试剂盒(酶联免疫法)

【包装规格】

96 人份/盒。

【预期用途】

本试剂盒用于测定狂犬病疫苗中 G 蛋白的相对含量。

【检验原理】

本试剂盒使用双抗体夹心法酶联免疫吸附试验原理。微孔条上包被的狂犬病病毒抗体，可捕获样品中的狂犬病病毒 G 蛋白，加入 HRP 标记的狂犬病病毒抗体后，将形成“包被抗体-抗原-酶标抗体”复合物。加入显色剂，复合物上连接的 HRP 使显色剂生成蓝色产物，终止后变为黄色，通过酶标仪检测吸光度（A 值），用标准品浓度值与 A 值拟合双对数曲线，计算样品中狂犬病病毒 G 蛋白的相对含量。

【主要组成成分】

组成成分	96T	组成成分	96T
1.酶标板	8×12 或12×8 孔	5.显色剂B液	6ml×1瓶
2.酶标试剂	12ml×1 瓶	6.终止液	6ml×1瓶
3.浓缩洗涤液（20×）	50ml×1 瓶	7.自封袋	1 个
4.显色剂A液	6ml×1瓶	8.封板膜	2张

各组份主要组成：酶标板：包被有狂犬病病毒抗体；酶标试剂：含辣根过氧化物酶标记的狂犬病病毒抗体；浓缩洗涤液：含不低于 2.5%的表面活性剂；显色剂 A 液：含过氧化物不低于 0.3g/L；显色剂 B 液：含 TMB 不低于 0.2g/L；终止液：含不高于 2mol/L 的硫酸。标准品需用户自备。

注：封板膜不能重复使用，不同批次酶标板、酶标试剂不可混用，不能与其它厂家试剂混用。标准品可采用 WHO 标准品或 NIFDC 标准品，如采用用户单位生产的狂犬病疫苗作为标准品，需经过至少三次 NIH 检测确定含量结果。

【储存条件及有效期】

试剂盒于 2~8℃保存，有效期为 12 个月。

使用前请将试剂盒平衡至室温（约 30 分钟）。未用完的微孔板条须与干燥剂一起用自封袋密封 2~8℃保存。实验前将液体试剂轻轻振荡混匀，使用后立即密闭放回 2~8℃保存。

生产日期、失效日期见标签。

【适用仪器】

加样器、温箱、洗板机、含波长 450nm 的酶标仪。

【样本要求】

- 1、本试剂可使用狂犬病疫苗成品，及其制备过程中的中间品，其他样品不可用于本实验。
- 2、样品中应无微生物，可使用 0.02M PH7.4 PB 对样品进行稀释，起始稀释比例建议 1:5，根据样品浓度选择合适的稀释梯度，稀释后样品不可留存应尽快使用。
- 3、使用前请将样品室温平衡 30 分钟以上，冷冻样品实验前需混匀。

【检验方法】

1. 平衡：将试剂盒平衡至室温（约 30 分钟）。
2. 配液：将浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水 20 倍稀释。
3. 稀释：按需求对标准品及待测样品进行稀释。如采用 WHO 标准品作为标准曲线，建议起始浓度为 0.05IU/mL，梯度稀释至少共 4 个浓度。
4. 加样：分别在相应孔中加入待测样品、标准品等各 100 μl。每板应设 1 孔空白对照(用双波长检测，可不设空白对照孔)。
5. 温育：用封板膜封板后，置 37℃温育 30 分钟。
6. 洗板：小心揭掉封板膜，用洗板机洗涤 5 遍，最后一次尽量扣干。
7. 加酶：每孔加入酶标试剂 100 μl，空白孔除外。
8. 温育：操作同 5。

9. 洗板：操作同 6。

10. 显色：每孔加入显色剂 A、B 液各 50 μ l，轻轻振荡混匀，37℃避光显色 15 分钟。

11. 测定：每孔加终止液 50 μ l，轻轻振荡混匀，10 分钟内测定结果。设定酶标仪波长于 450 nm 处(建议用双波长 450 nm/600~650 nm 检测)，用空白孔调零点后测定各孔 A 值。

【检验结果的解释】

1. 以标准品的抗原含量及其对应的吸光度 A 值做双对数曲线，求出线性回归方程，将待测样品吸光度的对数值代入回归方程，求得相应样品中抗原含量。
2. 各值取自然对数为例：以校准品抗原含量自然对数值（LN 值）为自变量（X），以其对应的吸光度自然对数值（LN 值）为因变量（Y），求出线性回归方程，将待测样品的吸光值计算其 LN 值，代入方程计算出抗原含量。
3. 待测样品 A 值建议控制在 0.1-2.0 范围内，如不在此范围内建议调整稀释比例。待检样品的检测值需在标准曲线范围内，超出此范围时，无法准确定量。
4. 若实验结果出现以下任何情况均视为无效，需要重复实验：
① $r < 0.99$ ② WHO 标准品 0.05 IU/ml A 值 < 1.0 ③空白孔 A 值 > 0.1 。

【注意事项】

1. 本品仅供研究使用，操作应按说明书严格进行。使用者需经过专业培训，实验操作前必须戴手套，穿工作衣。
2. 封板膜不能重复使用，不同批号酶标板、酶标试剂不可混用，不能与其它厂家试剂混用。
3. 避免在有挥发性物质及次氯酸类消毒剂（如 84 消毒液）的环境下操作。
4. 使用前请将试剂平衡至室温（平衡 30 分钟），实验前将试剂轻轻振荡混匀，使用后立即放回 2-8℃。未用完的微孔板条与干燥剂一起用自封袋密封 2~8℃保存。过期试剂请勿使用，同时应避免微生物污染。
5. 加液时必须用加样器，并经常校对加样器的准确性。加入不同样品或不同试剂组份时，应更换加样器吸头和加样槽，以防出现交叉污染。
6. 洗涤时各孔均需加满洗液，防止孔内有游离酶不能洗净。使用洗板机应设定 30~60 秒浸泡时间。在洗板结束后，必须立即进行下一步，不可使酶标板干燥。避免长时间的中断实验步骤，以确保每孔实验条件的均一。
7. 结果判定必须以酶标仪读数为准。读取结果时，应擦干酶标板底部，且孔内不能有气泡。不要触碰孔底部的外壁，指印或划痕都可能影响板孔的读值。
8. 实验所用的关键仪器设备应定期校准与维护。

【基本信息】

生产企业名称：北京云菱生物技术有限公司

住所：北京经济技术开发区建安街甲 2 号

联系方式：010-57047851

售后服务单位名称：北京云菱生物技术有限公司

联系方式：010-57047702

本试剂仅供科研使用