**犬细粒棘球绦虫抗原ELISA试剂盒使用说明书**

**【产品名称】**

通用名称：犬细粒棘球绦虫抗原ELISA检测试剂盒

英文名称：Hydatid（ Hyd） coproantigens Test Kit for Canine.

**【用途】** 本试剂盒采用夹心ELISA方法定性检测犬粪细粒棘球绦虫抗原。

【**规格**】 96T/盒

**【储藏与有效期**】 2～8℃保存，有效期12个月。

**【试剂盒组成】**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 名称 | 数量 | 名称 | 数量 |
| 抗原包被板 | 96T | 终止液 | 15mL |
| 酶标结合物 | 12mL | 阳性对照 | 0.8mL |
| 洗涤液10× | 100 mL | 阴性对照 | 0.8mL |
| 底物液 | 15mL | 封板膜 | 3片 |
| 显色液 | 15mL | 说明书 | 1份 |
| 样品稀释液2X | 100mL |  |  |

**【溶液配制】**

1. 洗涤液配制：用蒸馏水或去离子水将洗涤液 10×按 1:9 稀释，充分混匀即为工作浓度洗涤液。

2. 样品稀释液配制：用蒸馏水或去离子水将样品稀释液 2×按1:1 稀释（如取100mL 浓缩样品稀释液加 100mL 蒸馏水或去离子水），充分混匀即为工作浓度样品稀释液。

**【实验准备】**所有试剂使用前恢复至室温(25℃左右)，以免温度过低影响抗原抗体反应。

**【样品要求】**1. 本试剂适用于检测犬粪样品；
2. 应采集新鲜的犬粪样品进行测试。若不能及时检测，应将粪样低温冻存，防止腐败或反复冻融。如犬粪难以溶解，应适当捣碎处理。

**【操作步骤】**

1. 样品处理：犬粪样品需要预先低温（ -70℃以下） 冷冻 7 天以上，以灭活虫卵。称取 1克犬粪,加入1mL样品稀释液，充分搅拌混匀，静置10分钟，再3000rpm离心10分钟，取上清液待检。
2. 加样反应：样品孔，每孔仅加入100μL待检样品；阴性对照2孔，每孔仅加入100μL阴性对照品；阳性对照 2 孔，每孔仅加入 100μL 阳性对照品。盖好封板膜，37℃避光反应30分钟。

3. 洗板：甩去孔内液体，每孔注满工作浓度洗涤液洗板3 次，每次均需静置1分钟；最后一次甩净，拍干。

4. 加酶反应：每孔加酶结合物100μL，盖好封板膜，37℃避光反应30分钟。甩去孔内液体，如上洗板，拍干。

5. 显色反应：按所需用量，临用前取等体积底物液和显色液充分混匀后每孔加100μL，盖好封板膜，37℃避光反应10分钟。

6. 终止反应：加终止液50μL，用酶标仪于450nm波长（630nm作为参比波长）读取OD值。

**【结果判定】**

1. Cut-off 值（COV）=阴性对照平均OD值×2.1（阴性对照孔OD 值＜0.15 时按0.15计）。
2. 有效性判定：
阴性对照孔 OD 值≤0.30（ 若大于 0.30 则实验无效）；
阳性对照孔 OD 值≥0.50（ 若小于 0.50 则实验无效）。

**【判定标准】**

样品 OD 值≥COV， 判为犬细粒棘球绦虫抗原阳性；
样品 OD 值＜COV， 判为犬细粒棘球绦虫抗原阴性。

**【检验方法的局限性】**本试剂盒仅供筛查，不作为确诊依据。

**【注意事项】**

1. 所有试剂使用前恢复至室温(25℃左右)，以免温度过低影响抗原抗体反应。

2. 实验前应用温度计检查温箱温度，温度过高或过低影响OD值高低。

3. 包被板反应时严禁堆叠放置，应该平铺且板间有空隙，不要离温箱壁太近。

4. 实验所用移液器及设备应定期校准。

5. 底物液和终止液对皮肤有刺激性，请带手套注意个人防护。

**【联系人】** 武经理 **【电话】18266598399**