

新型冠状病毒 IgG 抗体检测试剂盒（均相化学发光免疫分析法）

使用说明书

【产品名称】

新型冠状病毒 IgG 抗体检测试剂盒（均相化学发光免疫分析法）

【包装规格】

96 Tests

【预期用途】

本试剂盒用于新型冠状病毒血清 IgG 抗体滴度检测。

【检测原理】

均相化学发光免疫分析法是一种基于微球的免疫检测方法。检测体系中共有两种不同类型的微球，即供体微球和受体微球。在抗原抗体、生物素-链霉亲和素等生物分子的相互作用下，促使供体微球和受体微球靠近。用 680nm 的激光激发供体微球，导致单线态氧的释放，如果通过免疫反应使供体微球和受体微球间距小于 200nm，则单线态氧会激发受体微球发光，从而在 615nm 处检测到信号值。该信号值与待测物含量呈正相关。本试剂盒操作简便，无需分离和洗涤步骤，高灵敏度，低背景，可实现自动化。

【主要组份】

二抗包被受体微球，链霉亲和素包被供体微球，生物素标记新型冠状病毒 RBD 蛋白，稀释液。

【储存条件及有效期】

试剂盒 2-8℃避光保存，生物素标记 RBD 蛋白-80℃或-20℃保存，避免反复冻融。有效期：6 个月。

生产日期及有效期详见标签。

【需要但未提供的实验仪器与耗材】

- 1) 单道、多道微量移液器和移液器吸头
- 2) 恒温培养箱
- 3) 涡旋振荡器
- 4) 计时器
- 5) iP96-T 发光阅读仪（本公司代理）
- 6) 离心管：1.5mL、5 mL、10 mL

- 7) 55 mL 试剂槽
- 8) 黑色封板膜
- 9) 超纯水或去离子水

【检验方法】

- 1) 使用前将所有试剂恢复至室温（20-25℃）。
- 2) 生物素标记 RBD 蛋白的 1000 倍稀释液配制：将 1ul 生物素标记 RBD 蛋白和 990ul 稀释液加入 1.5 mL 离心管中，涡旋混匀后备用。
- 3) 二抗包被受体微球的 100 倍稀释液配制：将 10ul 受体微球和 990ul 稀释液加入 1.5 mL 离心管中，涡旋混匀后备用。
- 4) 链霉亲和素包被供体微球的 100 倍稀释液配制：将 10ul 供体微球和 990ul 稀释液加入 1.5 mL 离心管中，涡旋混匀后备用。
- 5) 待测样品和空白样品（阴性血清）的梯度稀释：参照下表稀释方式，使用稀释液将待测样品或空白样品从 1:200-1:3276800 进行 4 倍稀释。

稀释倍数	HPV 抗原标准品溶液加入体积(ul)	稀释液加入体积(ul)
A (1:200)	5ul 待测样品或空白样品	995
B (1:800)	200ul 管 A	600
C (1:3200)	200ul 管 B	600
D (1:12800)	200ul 管 C	600
E (1:51200)	200ul 管 D	600
F (1:204800)	200ul 管 E	600
G (1:819200)	200ul 管 F	600
H (1:3276800)	200ul 管 G	600

- 6) 加样：参照下图排布方式，每孔加入 25ul 空白样品和待测样品，建议待检样品进行复孔加样。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	空白 1:200	空白 1:200	样1 1:200	样1 1:200	样2 1:200	样2 1:200	样3 1:200	样3 1:200	样4 1:200	样4 1:200	样5 1:200	样5 1:200
B	空白 1:800	空白 1:800	样1 1:800	样1 1:800	样2 1:800	样2 1:800	样3 1:800	样3 1:800	样4 1:800	样4 1:800	样5 1:800	样5 1:800
C	空白 1:3200	空白 1:3200	样1 1:3200	样1 1:3200	样2 1:3200	样2 1:3200	样3 1:3200	样3 1:3200	样4 1:3200	样4 1:3200	样5 1:3200	样5 1:3200
D	空白 1:12800	空白 1:12800	样1 1:12800	样1 1:12800	样2 1:12800	样2 1:12800	样3 1:12800	样3 1:12800	样4 1:12800	样4 1:12800	样5 1:12800	样5 1:12800
E	空白 1:51200	空白 1:51200	样1 1:51200	样1 1:51200	样2 1:51200	样2 1:51200	样3 1:51200	样3 1:51200	样4 1:51200	样4 1:51200	样5 1:51200	样5 1:51200
F	空白 1:204800	空白 1:204800	样1 1:204800	样1 1:204800	样2 1:204800	样2 1:204800	样3 1:204800	样3 1:204800	样4 1:204800	样4 1:204800	样5 1:204800	样5 1:204800
G	空白 1:819200	空白 1:819200	样1 1:819200	样1 1:819200	样2 1:819200	样2 1:819200	样3 1:819200	样3 1:819200	样4 1:819200	样4 1:819200	样5 1:819200	样5 1:819200
H	空白 1:3276800	空白 1:3276800	样1 1:3276800	样1 1:3276800	样2 1:3276800	样2 1:3276800	样3 1:3276800	样3 1:3276800	样4 1:3276800	样4 1:3276800	样5 1:3276800	样5 1:3276800

- 7) 孵育：向孔板中分别加入 25ul 生物素标记 RDB 蛋白稀释液和 25ul 二抗包被受体微球稀释液，轻拍板子混合后贴上黑色封板膜，放入恒温培养箱中 23°C 孵育 60min。取出板子，揭开封板膜，再向每孔加入 25ul 链霉亲和素包被供体微球稀释液，轻拍板子混合后贴上黑色封板膜，放入恒温培养箱中 23°C 避光孵育 100min。
- 8) 读数：孵育结束后，将 96 孔板放于 iP96-T 发光阅读仪中检测信号值，每个检测复孔取平均值。

【结果分析】

- 1) 阳性和阴性：待测样品信号值均值与空白样品信号值均值的比值不小于 2 判断为阳性，反之为阴性。
- 2) 样品滴度计算：样品孔均值与相应稀释倍数的空白样品孔均值对比计算 P/N，使用 Reed-Muench 方法计算待测血清为阳性时的血清最大稀释倍数（P/N=2 时的稀释度），即为该血清的 IgG 抗体滴度。

IgG 抗体滴度计算方法如下：

- a) 计算距离比例 = (系列大于 P/N ≥ 2 的最小比值 - 2) / (系列大于 P/N ≥ 2 的最小比值 - 系列小于 P/N < 2 的最大比值)
- b) IgG 抗体滴度的对数 = 系列大于 P/N ≥ 2 的最小比值对应稀释倍数的对数 + 距离比例 × 稀释系数的对数

3) 实验若出现以下条件中任意一项，需要进行复测：

- a) 阳性、阴性对照均值不满足实验成立条件（整版复测）；
- b) 样品随稀释倍数递增出现信号倒置（下平台位置数据除外， $P/N < 2$ 为下平台）；
- c) 样品多个稀释倍数中，最大稀释倍数点血清仍为阳性，需以此最大稀释倍数为参考提高起始稀释倍数；
- d) 样品最小稀释倍数（ >200 ）点血清仍为阴性，需以此稀释倍数为参考降低起始稀释倍数；
- e) 人为因素（包括样品配置、加样等操作失误）、机器故障（酶标仪、温箱故障等）需要重新检测。

【注意事项】

1. 本产品仅供均相化学发光免疫检测实验使用。
2. 血清样品可以在 2-8°C 暂时存放，除试验当天放置在室温，其余时间应放置在要求的温度条件下（-80°C）。
3. 减少反复冻融。
4. 流水或 4°C 融化使用。
5. 本产品不能重复使用。
6. 本说明书推荐的稀释倍数和样品添加量仅供参考，用户可根据需要调整使用。

【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：电 话：010-57047851 传 真：010-57047999

售后服务单位名称：北京云菱生物技术有限公司

联系方式：电 话：15313162012 传 真：010-57047999

生产地址：北京经济技术开发区建安街甲 2 号