

## 新型冠状病毒（2019-nCoV）人 IgG 检测（ELISA）试剂盒说明书

产品名称：

通用名称：新型冠状病毒（2019-nCoV）人 IgG 检测（ELISA）试剂盒

英文名称：Diagnostic kit for human IgG detection of 2019-nCoV（ELISA）

试剂盒简介：

本试剂盒以纯化的新型冠状病毒（2019-nCoV）重组蛋白包被酶标反应板，以 HRP 标记的小鼠抗人 IgG1 单抗为诊断二抗，构建间接法检测体系，通过对病人康复期血清中病毒特异性 IgG 的定性检测，用于现症病人和既往感染的辅助诊断，亦可通过对病人血清进行稀释测定抗体滴度。

试剂盒用途：

1. 新型冠状病毒（2019-nCoV）病人的血清学辅助诊断。
2. 新型冠状病毒（2019-nCoV）流行病学调查。

所需主要仪器：带 450nm 波长酶标检测仪、洗板机。

试剂盒组成：

组 份	规 格	数 量	组 份	规 格	数 量
包被有重组抗原的酶标板	96 孔（12×8）	1 块	显色液 A	7ml	1 瓶
HRP 标记的抗人 IgG1 单抗工作液	11ml	1 瓶	显色液 B	7ml	1 瓶
样品稀释液	11ml	1 瓶	终止液	7ml	1 瓶
20 倍浓缩洗液（用前稀释）	50ml	1 瓶	封板膜		3 张
阳性对照	0.2ml	1 瓶	试剂盒使用说明书		1 份
阴性对照	0.2ml	1 瓶			

操作步骤：

1. 根据样品数量取出一定量的预包被酶标板并平衡至室温，每次实验设阴、阳和空白复孔对照；
2. 首先向板中加入 100 μl/管样品稀释液，然后向其中加入 1 μl 的待测血清，向阴性对照孔加入 1 μl 阴性血清；
3. 空白对照加样品稀释液 100 μl，阳性对照孔加入阳性血清 100 μl；
4. 将酶标板用封板膜封闭，置 37℃ 孵箱中孵育 30 分钟；
5. 将 20X 浓缩洗涤液用纯净水稀释 20 倍（V:V=1:19）为洗涤应用液，注意 4℃ 储存易出现结晶，取出待溶解后再配制成应用液；
6. 取出酶标板置于洗板机上用洗涤应用液洗涤（或者用洗瓶手工洗涤）5 次后，甩干孔内残留液或倒扣酶标反应板在吸水纸上拍去孔内残留液；
7. 于各孔中加入 HRP 标记的抗人 IgG1 单抗工作液 100 μl/孔，置 37℃ 孵箱中孵育 30 分钟；
8. 重复方法 7；
9. 将显色液 A、B 液按 1:1 混合后取混合显色液每孔加 100 μl，轻拍酶标反应板，混匀后置室温 5 分钟（要求计时准确！最好避光）；
10. 于各孔中加入终止液 50 μl/孔，轻拍混匀；
11. 将酶标板置于酶标仪 450nm 波长下，测定各孔光吸收 OD 值。

结果判定：

1. 临界值（Cutoff）计算：阴性对照复孔 OD 平均值应  $\leq 0.1$ 。Cutoff =  $0.748 \times$  阴性对照复孔 OD 平均值 + 0.146，若阴性对照 OD 值平均值为 0，则阴性对照按照 0.05 计算 Cutoff 值。
2. 结果判断：待检标本 OD 值  $>$  Cutoff 为阳性，待检标本 OD 值  $<$  Cutoff 为阴性。  
当标本 OD 值介于阴性灰区下沿（其值可按照该公式计算： $0.893 \times$  阴性对照复孔 OD 平均值 + 0.113）与 Cutoff 之间时，该标本为阴性可疑；反之当标本 OD 值介于 Cutoff 与阳性灰区上沿（其值可按照该公式计算： $0.401 \times$  阴性对照复孔 OD 平均值 + 0.248）之间时，该标本为阳性可疑。

注意事项：

1. 诊断试剂盒 4℃ 冷藏保存，不得长期置于室温环境中。试剂盒打开包装后，应尽快使用，若分多次使用，剩余试剂应置于 2~8℃ 下保存；
2. 注意加样量的准确性，减少操作引起的结果误差；
3. 严格掌握每次实验的时间、温度的一致性；
4. 为防止边缘效应的发生，整板检测时最好把与板框直接接触的反应孔空置；样本数量较少时，反应板条左右两侧分别放置一条废弃的板条；
5. 洗板机设置的高度不得大于孔深度，以免造成假阳性；
6. 临床高度疑似新型冠状病毒（2019-nCoV），而本试剂盒对血清样品的检测结果为阴性，建议 7 天后对患者再次采血检测，若仍然为阴性，即可判为无感染；
7. 检测结果应结合病人临床症状和流行病学史做出综合判断，应注意由于感染 OC43 型和 HKU1 等冠状病毒而造成的假阳性果；
8. 使用前请阅读说明书，严格按照说明书操作，不同批号试剂盒中各组分不得混用。

本品仅供科研。

保存条件：2~8℃ 下保存

有效期：6 个月