

肺炎支原体IgM抗体检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

【产品名称】

通用名称：肺炎支原体 IgM 抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：RIDASCREEN® Mycoplasma pneumoniae IgM

【包装规格】

96 测试/盒

【预期用途】 本产品用于体外半定量检测人血清中的肺炎支原体IgM抗体。用于体外诊断。肺炎支原体检测试剂盒（酶联免疫法）是用酶免疫方法半定量检测人血清中的抗肺炎支原体IgM抗体。当出现可疑感染时，该检测可用于明确肺炎支原体感染或被测者的免疫状态。

【检验原理】

纯化的抗原被包被于微孔板上。病人血清样本中的抗体与包被抗原结合，并在第二次孵育过程中，利用酶标记的抗人抗体（酶标记物）被测定。酶可使无色的底物变为蓝色的终产物。加入硫酸后，酶反应被终止，同时混合物溶液从蓝色变为黄色，最后测定450 nm处的吸光度，参考波长 ≥ 620 nm。

【主要组成成分】

1. 产品中包含的试剂 表一：试剂盒内试剂（试剂盒内试剂足够96次的检测）

微孔板	96孔	微孔板； 12条已包被肺炎支原体抗原的微孔条（可拆分的）。
样本稀释缓冲液	110mL	样本稀释缓冲液，开瓶直接即用；磷酸盐缓冲化的氯化钠溶液；黄色；含有0.01%的硫柳汞和0.05%吐温20。
洗涤缓冲液	100mL	洗涤缓冲液，10倍浓缩；tris-缓冲化的氯化钠溶液；含0.2%的5-溴-5-硝基-1,3-二恶烷和0.5%吐温20。
IgM阳性质控	2.5mL	IgM标准质控，开瓶直接使用；为稀释的人血清；红色；含有0.01%的硫柳汞和0.05%吐温20。红色瓶盖。
IgM阴性质控	1.2mL	IgM阴性质控，开瓶直接使用；为稀释的人血清；含0.01%的硫柳汞和0.05%吐温20。无色瓶盖。
IgM酶标记物	12mL	抗人IgM抗体酶标记物（兔），开瓶直接使用；为含过氧化物酶标记抗体的稳定的蛋白质溶液；含10 ppm proclin,0.01%异噻唑啉酮,0.01%溴基硝基二恶烷。红色瓶盖。

底物	12mL	底物溶液； 过氧化氢/四甲基联苯胺；开瓶直接使用。
终止液	12mL	终止液，0.5M 硫酸；开瓶直接使用。

2. 产品中不包含但试验必需的试剂

蒸馏水或去离子水

【储存条件及有效期】

2~ 8℃ 保存， 有效期 12个月。

本检测试剂盒必须储存在2 ~ 8 °C，在打开包装之后，应该在包装上指示的有效期之内使用。如果储存于2 ~ 8 °C，稀释的洗涤缓冲液可在包装上指示的有效期之内使用。过有效期之后，产品的质量保证不再有效。装有微孔板的铝箔在打开时一定要把夹式封口撕坏。不需要的微条应立即放回铝箔袋中并存放于2 ~ 8 °C。

试剂应避免污染，无色的底物溶液应避免在阳光下直射。

生产日期及失效日期见包装标签。

【样本要求】

此检测是用于检测人血清标本。采血后，血清应尽快与血液固体成分分离，以避免细胞溶血。在检测前，样本应冷藏或冷冻储存。必须避免多次冻融和微生物污染。血液样本的加热灭活、脂化、溶血、黄疸或混浊都会导致错误的检测结果。

表二：样本储存

未稀释血清		稀释血清
2 ~ 8°C	-20°C	2 ~ 8°C
1 周	> 1 周	7 小时

【检验方法】

1.常规信息

所有的试剂和微孔板必须在使用前恢复至室温（20 ~ 25 °C）。在没有达到室温之前，微条不能从铝箔袋中取出。试剂在即将使用前应完全混匀。使用后，试剂盒应立即放回至2 ~ 8 °C存放。

只吸取检测程序所需的试剂量，不要将剩余试剂倒回试剂瓶中以免污染。微条只可以使用一次，如果铝箔包装损坏或者试剂瓶有泄露，试剂和微条将不能使用。

试剂盒中的一些试剂并不只能应用于该项检测，标有Sero（如SeroPP）的试剂可以和相应的试剂一起用于其他的RIDASCREEN® Sero EIA 血清酶免疫分析检测。质控血清是与批号相关联的。不同批号的质控血清不可以混用。

2. 准备洗涤缓冲液

一份浓缩的洗涤缓冲液与9份蒸馏水混合。为了稀释，可将100 mL的浓缩洗液置于1000 mL的量筒中并加入蒸馏水至1000 mL。如果浓缩液中出现晶体，必须通过37 °C水浴的方法，事先将浓缩液中的晶体溶解。稀释的缓冲液如果存放于2 ~ 8 °C，则可以一直使用至标签所示的有效期。

3. 准备样本

在测试前，用样本稀释缓冲液按照1 : 100的比例稀释待测血清样本。

如：10 µL 血清 + 990 µL 样本稀释缓冲液

检测IgM抗体时，建议在测试前对血清样本进行IgG吸附（例如，用RIDA® RF Absorbent，RF吸附因子，订货号 Z 0202）。之后，加入样本缓冲液将之调整为检测需要的稀释液。

注意：阴性质控和阳性质控已可以直接使用，严禁稀释或加入吸附因子。

4. 第一次孵育

取出足够的微孔插到板架上，空留A1孔（做试剂空白值），吸取100 µL稀释血清和100 µL直接使用的质控液，加样至每个相应的微孔中。阴性质控-检测一次，标准质控双份检测。将微孔板盖好后放在湿房中，在37 °C下孵育30分钟。在这个过程中，微孔底部不可以接触导热材料（如金属或者湿纸）。在孵育过程中，微孔板必须加盖。

必须加入与结果评定相关的质控血清（IgM）进行检测：

A1	空白孔
B1	阴性质控
C1	标准质控
D1	标准质控
E1,F1	病人血清1, 2等

注意：

微孔板不能置于冷的孵育箱中，在孵育过程中才达到37 °C。孵育前应事先将孵育箱的温度调至37 °C。

5. 洗涤

将微孔内废液倒入含有次氯酸盐消毒剂的废液桶中消毒。将微孔板在吸水纸上拍干剩余的水分。之后，

每次每孔用300 μL 洗涤缓冲液洗板4次。每次洗板后，在干燥的吸水纸上将微孔中的水分完全拍出。使用洗板机时，应确定机器的设置符合所用微孔板的型号。洗涤后，在干净的吸水纸上拍干微孔板，去除剩余的水分。

6. 第二次孵育

加入100 μL 酶标记物到相应的微孔中（包括A1孔）。之后盖好微孔板，在37 °C湿房中孵育30分钟（参见9.4）。

7. 洗涤

按照9.5的方法洗板4次。

8. 第三次孵育

在每个孔中加入100 μL 的底物。盖上微孔板，在37 °C湿房中孵育30分钟。之后，在每个微孔中加入100 μL 终止液以终止反应。轻微混合后（轻扣微孔板的边缘）用酶标仪测定在450 nm光波下的吸光度（参考波长 ≥ 620 nm）。以试剂空白值（微孔A1）为基准调零。

注意：在测量前，应擦干微孔板底的液滴

。

9. 质量控制 – 试剂不稳定或质量变化的说明

为保证结果可靠，每次检测都要检测标准质控（双份）和阴性质控。如果标准质控在波长450/620 nm处两次检测的平均吸光度在试剂盒所附的数据报告单所指范围内，则说明检测操作正确。如果标准质控的两个测量值与其平均值相差大于20%，则必须重新检测。阴性质控在波长 450/620 nm处的吸光度应 < 0.3 。如果测量值不符合要求，试剂混浊或者底物在加入微孔前已经变蓝，则说明试剂已经过期。

如果规定值没有达到，那么在重复测试前应做以下的检查。

-试剂的有效期

-所用仪器的功能性（例如：校准）

-操作步骤的正确性

-肉眼检查是否出现试剂污染或泄漏，底物溶液若变蓝则不可以使用 如果

重复试验后，仍不能达到要求，请联系当地R-Biopharm AG的分销商。

10. 计算与解释

此检测可被三种不同的方法进行评价：

1. 利用试剂盒中提供的标准曲线
2. 利用表格数值查询（试剂盒中提供的资料表格）
3. 数学统计，利用4 - 参数方法和 α 方法 在计算前，应该从每个测量值中减去试剂空白值。

10.1 利用试剂盒中提供的标准曲线评价结果

为了用标准曲线实现检测的评价，考虑每天试验的波动性，首先应对标准质控的平均值进行校正。校正系数F 是通过当前对标准质控的检测平均值和目标值计算而获得的。目标值依批次而定，被记录在试剂盒中的数据表内。

$F = \text{标准质控的目标值} / \text{标准质控的检测平均值}$ 所有样本的吸光度值应该乘以系数F，这样相应的浓度U/mL值可以利用校正后的吸光度值从标准曲线中读出。

10.2 利用查表计算结果

	浓度值 (U/mL)	标准质控的吸光度范围		
			0.84 ~ 0.88	
阴性	<23.0		< 0.30	
可疑	23.0 ~ 31.0		0.30 ~ 0.38	
阳性	31.1 ~ 70.0		0.39 ~ 0.69	
	70.1 ~ 120.0		0.70 ~ 0.98	
	120.1 ~ 200.0		0.99 ~ 1.32	
	200.1 ~ 400.0		1.33 ~ 1.86	
	400.1 ~ 1000.0		1.87 ~ 2.69	
	> 1000.0		> 2.69	

图一：以抗体IgG检测举例（摘自某批次的数据表）用当次检测的标准质控吸光度值在表格中找到其所在的标准质控值范围，该范围所在的纵列则可以用来评价当前检测的各样本吸光度值。在该列中，寻找样本的吸光度所处的值域范围，该值域在表格左数第二列中所对应的滴度（U/mL）范围，则为样本结果。

例如，某次检测时标准质控的吸光度是 0.86。这样，以值域范围 0.84—0.88 所对的纵列用来确定检测的结果。如病人样本的吸光度是 0.65，则得到相应的浓度范围 31.1~70.0 U/mL。（引用值仅作为举例，可能不同于实际数据表中提供的数值）。

检测结果的评定则可以从表格中的第一列读出（阳性（+），阴性（-）或可疑（?））。

10.3 数学计算

按照4 参数方法或者 α 法计算结果所需要的数值已记录在试剂盒所附的数据表中。

【检验结果的解释】

表三：检测值的判定

	IgM
阴性	< 50 U/mL
可疑	50 ~ 71U/mL
阳性	> 71 U/mL

【检验方法的局限性】

肺炎支原体检测试剂盒（酶联免疫法）是用于检测抗肺炎支原体IgM抗体。检测所得的吸光度值不能用于判定疾病症状的严重程度。所得的结果应结合临床分析。

阴性结果不代表一定没有肺炎支原体的感染。在感染早期，抗体数量可能仍然很低以至于得到阴性的检测结果。在这种情况下，如果临床上怀疑感染的存在，应在2 ~ 4周后重新收集血清样本再次进行检测。

对一个病人通常连续采集两个血清样本，进行血清学的测试以提高诊断质量。滴度的变化过程对于结果的解释是非常重要的。

【产品性能指标】

表四：方法间差异（n=5）

方法间 变异度	IgM	
	OD	CV
血清 1	0.642	6.2%
血清 2	1.039	4.8%
血清 3	1.499	4.6%

表五：方法内差异 (n=24)

方法内 变异度	IgM	
	OD	CV
血清 1	0.587	5.0%
血清 2	0.931	6.7%
血清 3	1.415	4.6%

表六：与其他两个已上市的ELISA产品灵敏度和特异性的比较

	IgM
灵敏度	100.0%
特异性	97.9%

表七：德国某血液中心 212 个献血者的血清样本检测结果

212个献血者检测	IgM
阴性	99.0%
可疑	0.5%
阳性	0.5%

【注意事项】 仅用于体外诊断。实验必须由经过专业培训的人员操作。检测时必须严格按照医学实验室的规章制度及说明书操作。样本和试剂不可以用嘴吸取，避免接触受伤的皮肤或者粘膜。处理样本时应该戴一次性手套，完成试

验后应洗手。禁止在样本和试剂的实验区域内吸烟，吃东西，喝水。

试剂盒中的质控血清（标准质控和阴性质控），经HIV-Ab， HIV-Ab及HbsAg检测，结果为阴性。尽管如此，质控血清仍必须看作有潜在传染性的可能，如同病人样本及与样本接触过的材料一样对待，并且应

该遵循国家相关安全法规来处理。

标准质控和阴性质控以及样本稀释缓冲液含有0.01%硫柳汞作为防腐剂。这种物质不能接触皮肤和粘膜。

洗涤缓冲液含有0.2%溴基硝基二恶烷作为防腐剂。这种物质不能接触皮肤和粘膜。

过氧化氢（底物）可以引起烧伤，应小心使用。

终止液含有0.5 M硫酸。应避免接触皮肤和衣服。一旦皮肤接触到终止液，应立即用清水冲洗。

所有试剂和材料如与有潜在感染性的样本接触，应立即用适当的消毒剂或者高压高温121°C 1小时处理。

注意：为避免有毒气体形成，任何含有终止液的废液在加入次氯酸溶液之前必须中和。

【参考文献】

1. Ansorg, R.: Isolierung und Identifizierung von Mycoplasmen und Chlamydien [Isolation and identification of mycoplasmae and chlamydia]. Zbl. Bakt. Hyg. A 270, 470 - 486 (1989)
2. Blenk, H., Zotz, R. B.: Mycoplasmeninfektionen. In: Gsell, O., Krech, U., Mohr, W., eds. Klinische Virologie [Clinical virology]. Stuttgart: Urban und Schwarzenberg, 337 - 353 (1986)
3. Rudd, P. T., Brown, M. B., Cassell, G. H.: A prospective study of mycoplasma infection in the preterm infant. Isr. J. Med. Sci. 20, 899 - 901 (1984)

【基本信息】

注册人/生产企业名称：R-Biopharm AG

住所：An der neuen Bergstrasse 17

64297 Darmstadt, Germany

生产地址：An der neuen Bergstrasse 17

64297 Darmstadt, Germany

联系方式：电话：+ 49 (0) 61 51 / 81 02-0

传真：+ 49 (0) 61 51 / 81 02-40

网址：www.r-biopharm.com

售后服务单位 企业名称：拜发分析系统销售（北京）有限公司

联系方式：地址：北京市朝阳区望京园602号楼4层526

邮编：100102

电话：+ 86 (0) 10 / 84 58 32 18

传真: + 86 (0) 10 / 84 58 06 91

网址: www.r-biopharm.com 代理人的名称: 拜发

分析系统销售(北京)有限公司住所: 北京市朝阳区望京园
602号楼4层526

联系方式: 电话: + 86 (0) 10 / 84 58 32 18

传真: + 86 (0) 10 / 84 58 06 91

网址: www.r-biopharm.com

【医疗器械注册证书编号/产品技术要求编号】

国械注进**20163400274**

【说明书核准及修改日期】

2018年2月1日