



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂盒质量 评价要求

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准根据GB/T1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会SAC/TC136提出并归口。

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂盒质量评价要求

1. 范围

本标准规定了引起新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的严重急性呼吸综合征冠状病毒2（SARS-CoV-2）IgM抗体检测试剂盒的生产和质量评价要求。

本标准适用于检测血清、血浆、全血样本中SARS-CoV-2 IgM抗体的检测试剂盒。

2. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 29791.1 体外诊断医疗器械制造商提供的信息（标示）第1部分：术语、定义和通用要求

WS 233 微生物和生物医学实验室生物安全通用准则

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

GB 19489 实验室生物安全通用要求

GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息 标示 第2部分：专业用体外诊断试剂

GB/T 191 包装储运图示标志

3. 术语和定义

3.1

新型冠状病毒肺炎（COVID-19）

世界卫生组织将2019年发现的新型冠状病毒导致的肺炎命名为COVID-19（Coronavirus Disease 2019, COVID-19），其中CO指冠状（corona），VI代表病毒（virus），D代表疾病（disease），19代表第一批发现的年份。

3.2

严重急性呼吸综合征冠状病毒2

国际病毒分类委员会将引起新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的病原体命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2），即新型冠状病毒。

3.3

新型冠状病毒IgM抗体检测试剂（盒）利用免疫层析法、酶联免疫吸附法、磁微粒或板式化学发光法等基于抗原抗体反应原理，以特定病原体的特异性IgM抗体为检测目标，对人血清、血浆或全血样本中病原体特异性IgM抗体进行体外定性检测的试剂。

4. 实验室和生物安全要求

实验室应建立安全工作制度或安全标准操作程序，并符合《实验室生物安全通用要求（GB19489-2008）》和 WS 233。进行 SARS-CoV-2 检测试剂的质量评价实验，实验室必须符合《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南》的要求。

5. 主要原材料要求

5.1 抗原

包括抗原来源信息及质量标准（蛋白浓度、纯度、分子量、活性等）。

5.1.1 蛋白浓度

可使用蛋白定量方法（如 Lowry 法、Bradford 法、紫外-可见分光光度计法等）检测蛋白浓度，应不低于预定值。

5.1.2 蛋白纯度和分子量

经 SDS-PAGE 电泳鉴定（约定上样量时），在目的位置出现条带，使用图像分析软件分析后计算得纯度，纯度不低于预定值（纯度一般为 90%）。

5.1.3 活性（功能性试验）

使用抗原制备包被膜（免疫层析法）、磁微粒或 96 孔板等固相载体，或标记吖啶酯、辣根过氧化物酶等化学发光或酶促发光标记物，其他产品的组份不变，检测企业参考品，结果应符合质量标准。

5.2 抗体

包括抗体来源及质量标准（蛋白浓度、纯度、分子量、功能性试验等）。

5.2.1 蛋白浓度

可使用蛋白定量方法（如 Lowry 法、Bradford 法、紫外-可见分光光度计法等）检测蛋白浓度，应不低于预定值。

5.2.2 蛋白纯度和分子量

经 SDS-PAGE 电泳鉴定（约定上样量时），在目的位置出现条带，使用图像分析软件分析后计算得纯度，纯度不低于预定值（纯度一般为 90%）。

5.2.3 活性（功能性试验）

a) 替换试验（适用于免疫层析法）：使用抗体制备结合垫或包被膜，其他产品的组份不变，检测企业参考品，结果应符合质量标准。

b) 其他适宜的方法：如酶联免疫法测定吸光值、琼脂糖免疫双扩散试验测定抗体效价等。

5.3 校准品（阴阳性质控品）原料（若有）

5.3.1. 活性

对校准品原料进梯度稀释，用试剂进行检测，活性（反应性）应符合质量标准。

5.4 其他主要原辅料

明确供应商（若为外购）和质量标准。

5.4.1 胶体金（免疫层析法）

应设定纯度的质量标准。

5.4.2 硝酸纤维素膜（免疫层析法）

应设定外观和流速的的质量标准。

5.4.3 吸管（免疫层析法）

应设定外观和移取体积的质量标准。

5.4.4 磁微粒（磁微粒化学发光法）

应设定外观、磁吸附时间、固体含量的质量标准。

5.4.5 微孔板（板式化学发光法）

应设定外观、本底发光值标准，且按照既定项目进行包被，性能符合要求。

5.4.6 吖啶酯（化学发光法）

应设定纯度的质量标准。

6. 制备

6.1 胶体金免疫层析法试剂

6.1.1 包被膜（包被有抗原的硝酸纤维素膜）的制备

一般包括包被工作液配制、检测线和质控线的喷膜/划线、干燥等。制备完成后用自封袋和铝箔袋包装后，放入干燥剂，然后置于阴凉干燥条件（一般温度为 18℃~25℃，湿度<60%）保存。

6.1.2 结合垫的制备

一般包括金标（胶体金标记）结合物溶液配制、胶体金的烧制和验胶，以及结合垫的制备。制备完成后用自封袋和铝箔袋包装后，放入干燥剂，然后置于阴凉干燥条件（一般温度为 18℃~25℃，湿度<60%）保存。

6.1.3 样品垫的制备

一般包括样品垫处理液的配制、样本垫包被、干燥等。制备完成后用自封袋和铝箔袋包装后，放入干燥剂，然后置于阴凉干燥条件（一般温度为 18℃~25℃，湿度<60%）保存。

6.1.4 裁切

一般包括结合垫的裁切、样品垫的裁切，即用裁纸机将结合垫、样品垫切成工作规格。裁切后的半成品置于阴凉干燥条件（一般温度为18℃~25℃，湿度<60%）保存。

6.1.5 贴板

把包被膜、裁切好的样品垫和结合垫以及吸水纸等其它组份粘贴组成大板。

6.1.6 检板

将大板排好顺序，对每块板的边缘进行修整后，切1~2条用部分阴性参考品进行检验。随机抽样，进行半成品检定。

6.1.7 切条

用切条机将大板切成单条，宽度根据预设数值确定。

6.1.8 组装

将切条后的包被膜、样品垫和结合垫组合到底板上。组装后的半成品放入干燥剂后用铝箔袋包装，贴签后置于阴凉干燥条件（一般温度为18℃~30℃，湿度<60%）保存。

6.1.9 样本稀释液的制备和分装

样本稀释液配制完成后置于2℃~30℃保存。在装盒前进行分装、贴签并检查半成品装量。

6.1.10 装盒

将试剂盒各组分装入外包装中，贴外包装标签。

6.2 酶联免疫吸附法试剂

6.2.1 预包被板的制备

一般包括包被工作液配制、包被、温育、封闭、弃液、干燥、装袋等。制备完成后置于2℃~8℃保存。

6.2.2 酶标记物的制备

一般包括酶标稀释液配制、工作液配制、分装、贴签等。制备完成后置于2℃~8℃保存。

6.2.3 阴阳性对照的制备

一般包括稀释液配制、工作液配制、分装、贴签等。制备完成后置于2℃~8℃保存。

6.2.4 组装

将试剂盒各组分装入包装盒中，贴外包装标签，2~8℃保存，成品检验合格后放行。

6.3 化学发光法试剂

6.3.1 固相载体的制备

6.3.1.1 磁微粒的制备（磁微粒化学发光法）

一般包括磁微粒的包被、检定和稀释，制备的磁微粒一般置于2-8℃条件下保存。

6.3.1.2 微孔板的制备（板式化学发光法）

一般包括包被工作液配制、包被、封闭和干燥等。制备完成后用自封袋和铝箔袋包装后，放入干燥剂，然后置于阴凉干燥条件（一般温度为 18℃~25℃，湿度<60%）保存。

6.3.2 发光标记物的制备

一般包括标记、检定和稀释，制备的发光标记物一般置于 2~8℃条件下避光保存。

6.3.3 样本稀释液或反应稀释液的制备

样本稀释液配制完成后置于 2℃~8℃保存。

6.3.4 校准品（阴阳性质控品）制备

一般包括校准品稀释液配制和校准品配制，备的校准品或阴阳性质控品一般置于 2~8℃条件下保存。

6.3.5 分装与组装

将试剂各组分进行分装、组装、贴签和装盒，经检验合格后，储存于 2~8℃。

7. 产品质量评价要求和试验方法

7.1 性能评估

7.1.1 分析特异性

7.1.1.1 交叉反应验证

- a) 地方性人类冠状病毒（HKU1, OC43, NL63 和 229E）、H1N1（新型甲型 H1N1 流感病毒（2009）、季节性 H1N1 流感病毒）、H3N2、H5N1、H7N9，乙型流感 Yamagata、Victoria，呼吸道合胞病毒，鼻病毒 A、B、C 组，腺病毒 1、2、3、4、5、7、55 型，肠病毒 A、B、C、D 组，EB 病毒、麻疹病毒、人巨细胞病毒、轮状病毒、诺如病毒、腮腺炎病毒、水痘-带状疱疹病毒、肺炎支原体抗体阳性样本；
- b) 验证不少于 20 份正常人样本，应包括正常人新鲜全血（被测样本类型适用时）和冻存后的陈旧血浆/血清。
- c) 高浓度新型冠状病毒特异性 IgG 抗体与特异性 IgM 抗体的交叉反应验证。

7.1.1.2 内源/外源物质干扰

不同样本类型其潜在干扰物质可能不同，应根据具体采集的样本类型，选择适用的干扰物质进行研究。建议在每种干扰物质的潜在最大浓度（“最差条件”）条件下进行评价，在病毒抗原、抗体临界阳性水平进行干扰试验验证。推荐用于干扰试验的物质详见表 1。

表 1. 推荐用于干扰试验的物质

物质	活性成分
血液中	胆红素、血脂（甘油三酯）、血红蛋白、类风湿因子、抗核抗体、抗线粒体抗体、HAMA、总 IgG、总 IgM、红细胞压积（全血样本类型适用）等

7.1.1.2 IgM 破坏实验

对至少 5 份含有病原体特异性 IgM 抗体的样本进行 IgM 破坏实验研究。方法为采用特定的化学制剂（如 2-巯基乙醇或二硫苏糖醇）处理样本后，重新进行检测，IgM 检测结果应为阴性。

7.1.2 最低检测限

建议选取特定滴度的特异性抗体阳性样本梯度稀释进行最低检测限确定，每个梯度的稀释液重复 3~5 份，每份稀释液重复检测不少于 20 次，将具有 90%~95%阳性检出率的抗体水平作为最低检测限，抗体滴度应采用适宜的方法进行确认。

或选择已上市同类产品，平行测试系列稀释样本，每个梯度的稀释液重复 3~5 份，每份稀释液重复检测不少于 20 次，将具有 90%~95%阳性检出率的抗体水平作为最低检测限，最低检测限抗体水平应不低于同类产品。

7.1.3 重复性/精密度

应对检测时间、分析仪、操作者、地点、检测轮次等要素进行相关的验证。精密度评价中应同时包含若干临床样本。精密度评价的临床样本应至少包含 3 个水平：阴性样本、临界阳性样本、（中或强）阳性样本，并根据产品特性设定适当的精密度要求。

7.1.4 包容性

提供具有时间和区域特征性的不同来源的患者真实临床样本进行验证，至少 10 个不同患者样本，验证内容应至少包括最低检出限、重复性。

7.1.5 钩状（HOOK）效应研究

7.1.6 稳定性

7.2 半成品及成品检定

7.2.1 物理检查（成品）

7.2.1.1 外观

试剂盒各组分应齐全、完整，液体无渗漏；包装标签应清晰，无磨损。

7.2.2.2 膜条宽度

应不低于规定宽度（mm）。

7.2.2.3 液体移行速度

应不低于规定速度（mm/min）。

7.2.2 阴性参考品符合率

采用国家阴性参考品或经标化的企业阴性参考品进行检定，应符合要求。

注：企业阴性参考品应包括正常临床样本、含类风湿因子等干扰因素的样本及其他病原体特异性抗体

阳性样本。病原体特异性抗体阳性样本应包括冠状病毒（OC43、NL63、229E）、流感病毒、肠道病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒抗体阳性样本。

7.2.2 阳性参考品符合率

采用国家阳性参考品或经标化的企业阳性参考品进行检定，应符合要求。

注：企业阳性参考品应包括不同来源至少 5 份的新型冠状病毒 IgM 抗体阳性样本，并表现出不同滴度水平。

7.2.3 最低检测限

采用国家最低检测限参考品或经标化的企业最低检测限参考品进行检定，应符合要求。

注：企业最低检测限参考品可以是系列稀释样本，并覆盖检测限水平。

7.2.4 重复性/精密度

采用国家重复性/精密度参考品或经标化的企业重复性/精密度参考品进行检定，应符合要求。

7.2.5 稳定性

可采用加速破坏试验（加速破坏条件一般为 37℃）和效期稳定性进行评价。

8. 标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的规定。

9. 包装、运输和贮存

9.1 包装

包装储运图示标志应符合GB/T 191的规定。包装容器应保证密封性良好，完整，无泄露，无破损。

9.2 运输

试剂盒应按生产企业的要求运输。在运输过程中，应防潮，防止重物堆压，避免阳光直射和雨雪浸淋，防止与酸碱物质接触，防止内外包装破损。

9.3 贮存

试剂盒应在生产企业规定条件下保存。

附录 A

(资料性附录)

A.1 总则

附录 A 给出了本标准“7.2 半成品及成品检定”项中适用的国家参考品信息，该国家参考品为“新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂国家参考品”和“新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂（酶免法/化学发光法）国家参考品”。

A.2 类别

体外诊断试剂国家参考品。

A.3 批号

370096-202001 和 370093-202001

A.4 性状

淡黄色液体。

A.5 用途

“新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂国家参考品”和“新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂（酶免法/化学发光法）国家参考品”分别适用于免疫层析法、酶联免疫法和化学发光法的新型冠状病毒 IgM 抗体检测试剂的质量评价。

A.6 规格和组成

类型	编号	组成成分	规格 (μL /支)	数量 (支)
阴性参考品	N1	甲型流感病毒 IgM 阳性血浆	50	25
	N2	甲、乙型流感病毒 IgM 阳性血浆		
	N3	甲型流感病毒 IgM 阳性血浆		
	N4、N5	嗜肺军团菌 IgM 阳性血浆		
	N6、N7	肺炎衣原体 IgM 阳性血浆		
	N8	含类风湿因子血清		
	N9~N11	肺炎支原体 IgM 阳性血浆		
	N12	腺病毒 IgM 阳性血浆		
	N13~N14	呼吸道合胞病毒 IgM 阳性血浆		
	N15	副流感病毒 IgM 阳性血浆		

	N16、N17	肺炎衣原体 IgG 阳性血浆		
	N18	麻疹病毒 IgG 阳性血浆		
	N19	腮腺炎病毒 IgG 阳性血浆		
	N20~N25	正常人血浆		
阳性参考品	P1~P10	COVID-19 确诊患者灭活血清/血浆	50	10
最低检测限 参考品	S		100	1
精密度参考品	R		500	1
基质血浆	S0		正常人血浆	500

A. 7 使用方法

A7.1 最低检测限参考品 S 需使用基质血浆 S0 进行 2 倍稀释（1 份样本+1 份 S0），依次共完成 9 个稀释系列，将原倍的最低检测限参考品和 9 个稀释梯度的样品依次标记为 L1~L10 并作为待测样本进行检测。

A7.2 检测前需确认参考品完全融化并混合均匀，如有必要可离心去除沉淀及杂质。