



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1183—2010

酶联免疫吸附法检测试剂(盒)

Detection reagent (kit) for enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA)

2010-12-27 发布

2012-06-01 实施



国家食品药品监督管理局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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/TC 136)提出。

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/TC 136)归口。

本标准起草单位:北京市医疗器械检验所、北京金伟凯医学生物技术有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司。

本标准主要起草人:张新梅、贺学英、朱望、吴杰、张晋文。

酶联免疫吸附法检测试剂(盒)

1 范围

本标准规定了酶联免疫吸附法检测试剂(盒)的通用技术要求,包括术语与定义、分类、要求、试验方法、标识和使用说明书、包装、运输和贮存。

本标准适用于在医学实验室以酶联免疫吸附法为原理进行检验的定量/定性检测试剂(盒)(以下简称“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 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

酶联免疫吸附法 enzyme-linked immunoabsorbent assay, ELISA

以酶作为标记指示物,以抗原抗体反应为基础,通过色原呈色程度进行结果判断的固相吸附测试方法。呈色程度用吸光度(A)值表示,所测A值与待测抗原或抗体的水平呈相关关系。

注:固相载体包括微孔板、管、磁颗粒、微珠、塑料珠等载体。

3.2

酶联免疫吸附法检测试剂盒 detection kit for ELISA

旨在用于以酶联免疫吸附法为原理完成特定体外诊断检验的一组组分,可包含有包被的固相载体、抗体/抗原、酶结合物、缓冲液、显色系统、稀释液、校准品、质控品等。

3.3

内包装 immediate container, primary container

防止内容物受污染和外部环境其他影响的包装。

示例:密封瓶、安瓶或瓶、锡箔袋、密封塑料袋。

[ISO/FDIS 18113-1,定义3.24]

3.4

外包装(销售包装) outer container (sales packaging)

用于包装试剂(盒)内包装的材料。

注:改写ISO/FDIS 18113-1,定义3.49。

3.5

标识 label

在体外诊断产品或其包装上的印刷、书写或图形信息。

3.6

批 batch (lot)

由一个过程或一系列过程生产的具有一致特性的规定量的材料。

注：可以是起始材料、中间材料及终产品。

[ISO/FDIS 18113-1, 定义 3.5]

3.7

批号 batch code, lot number

能特异性识别一个批次并使其制造、包装、标识、运输过程具有可追溯性的特定数字和(或)字母的组合。

[ISO/FDIS 18113-1, 定义 3.6]

3.8

计量学溯源性 metrological traceability

通过一条具有规定不确定度的不间断的比较链,使测量结果或测量标准的值能够与规定的参考标准,通常是与国家标准或国际标准联系起来的特性。

注1:通过校准传递方案确定的(参考)测量程序实现每一步比较。

注2:溯源性有几种类型。本标准使用术语“计量学溯源性”。

[GB/T 21415—2008, 定义 3.21]

3.9

准确度 accuracy

一个测量值与可接受的参考值之间的一致程度。

注1:此处引用 ISO 3534-1, 在 JJF 1001—1998 中,使用“真值”而不是“可接受的参考值”的概念。

注2:当“准确度”这一术语应用于一批检测结果时,包括了随机误差部分和一个共有的系统误差或偏差部分。

[ISO 3534-1:1993, 定义 3.11]

3.10

回收 recovery

已存在于或加入至被检测物质中的分析物所占的量值比例。

注:一般以所加入分析物量值的百分比报告。

[ISO/FDIS 18113-1, 定义 A.3.49]

3.11

检测限 detection limit, limit of detection

样品中以一定概率可被声明与零有差异的被测量的最低值。

注1:也被描述为“最低检测限”(minimum detectable concentration)(或剂量或值)。

注2:有时被不正确地指作分析灵敏度。

注3:本标准中的最低检测限为区别于零的不低于95%可信区间的最低浓度。

3.12

测量系统的线性 linearity of a measuring system

给出的测量结果与样品中被测量的值直接成比例的能力。

注1:对与体外诊断医疗器械,线性相关于测量结果在一给定测量范围经校正或线性化以后的测量示值。

注2:线性通过测量包含被测量已知配方或其间相对关系(不必绝对知道)的样本来评估。当测量结果相对被测量绝对或相对数值作图时,所划曲线对直线的符合程度即线性度的量度。

[ISO/FDIS 18113-1, 定义 A.3.21]

3.13

重复性 repeatability

在相同测量条件下,对同一被测量进行连续多次测量所得结果之间的一致性。

[JJF 1001—1998, 定义 5.6]

3.14

失效期 expiry date

在规定的条件下贮存可以保证试剂(盒)的性能特征的时间区间上限。

注：改写 ISO/FDIS 18113-1, 定义 3.17。

3.15

稳定性 stability

试剂(盒)在生产企业规定界限内保持其特性的能力。

注1：稳定性适用于：当体外诊断试剂、校准物或质控物储存、运输和在生产企业规定的条件下使用时；复溶后冻干材料和(或)制备的工作液；打开密封容器的材料；校准后的仪器或测量系统。

注2：体外诊断试剂或测量系统的稳定性通常用时间量化。稳定性可以计量学性能特征发生一定量的变化的时间或一定的时间内特征的变化量来量化。

注3：改写 ISO/FDIS 18113-1, 定义 3.68。

3.16

临界值 cutoff value

在定性检测中，作为阳性和阴性分界点的测量值，也称阴性/阳性判断值。

4 分类

可按如下方式分类：

- a) 根据方法原理和步骤不同可分为夹心法，间接法，竞争法，捕获法和生物素-亲和素 ELISA 法等。
- b) 依据操作方式的不同可分为手工操作法和仪器自动操作法。
- c) 根据对试验结果的判定方式不同可分为定量检测试剂盒和定性检测试剂盒。定量是用抗原或抗体的校准品制备标准曲线，最终以浓度值进行报告。定性是参比阴性对照、阳性对照(或称阴性、阳性质控品)等的吸光度，以 P/N 或 S/CO 比值等结果进行报告。

5 要求

5.1 对酶联免疫吸附法定量检测试剂(盒)的要求

5.1.1 外观

外观应符合如下要求：

- a) 试剂(盒)各组份应齐全、完整，液体无渗漏；
- b) 标识应清晰，易识别。

5.1.2 溯源性

生产企业应根据 GB/T 21415—2008 及有关规定提供所用校准品的来源、赋值过程以及不确定度等内容。

5.1.3 准确度

准确度应符合如下要求之一：

- a) 用参考物质作为样本进行检测，其测量结果的相对偏差应在规定范围内；
- b) 回收：将已知浓度的待测物加入到血液基质或其他体液成分中，其回收率应在规定范围内；
- c) 比对：用已上市试剂盒或参考方法进行比对试验，结果应满足相应的要求。

5.1.4 检测限

应符合相应规定的要求。

5.1.5 测量系统的线性

在生产企业规定的线性范围内,试剂盒的相关系数 r 应不小于 0.990 0。

5.1.6 重复性

用至少 2 个浓度水平的样本各重复检测 10 次,手工操作法或仪器自动操作法的变异系数(CV)应符合相应规定的要求。

5.1.7 批间差

用 3 个批号试剂盒检测同一份样本,则 3 个批号试剂盒之间的批间变异系数(CV)应符合相应规定的要求。

5.1.8 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- a) 效期稳定性:生产企业应规定试剂(盒)的失效期。取失效期的试剂盒检测准确度、最低检测限、测量系统的线性和重复性,应符合 5.1.3~5.1.6 的要求;
- b) 热稳定性试验:在规定的加热条件(如 37℃)下放置规定时间,检测准确度、最低检测限、测量系统的线性和重复性,应符合 5.1.3~5.1.6 的要求。

注 1:热稳定性试验不能用于推导产品有效期,除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 2:根据产品特性可选择 a)、b)方法的任意组合,但所选用方法宜能验证产品的稳定性,以保证在有效期内产品性能符合标准要求。

5.2 对酶联免疫吸附法定性检测试剂(盒)的要求

5.2.1 外观

外观应符合如下要求:

- a) 试剂(盒)各组份应齐全、完整,液体无渗漏;
- b) 标签应清晰,易识别。

5.2.2 阴性参考品符合率

对阴性国家参考品或生产企业提供的阴性参考品进行检测,其阴性参考品符合率应符合相应规定的要求。

5.2.3 阳性参考品符合率

对阳性国家参考品或生产企业提供的阳性参考品进行检测,其阳性参考品符合率应符合相应规定的要求。

5.2.4 检测限

对检测限国家参考品或生产企业提供的检测限参考品进行检测,结果应符合相应规定的要求。

5.2.5 重复性

用重复性参考品重复检测 10 次,其变异系数(CV)应符合相应规定的要求。

5.2.6 批间差

用 3 个批号试剂盒检测同一份样本,则 3 个批号试剂盒之间的批间变异系数(CV)应符合相应规定的要求。

5.2.7 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- 效期稳定性:生产企业应规定试剂(盒)的失效期。取失效期的试剂盒检测阴性参考品符合率、阳性参考品符合率、检测限和重复性,应符合 5.2.2~5.2.5 的要求;
- 热稳定性试验:在规定的加热条件(如 37℃)下放置规定时间,检测阴性参考品符合率、阳性参考品符合率、检测限和重复性,应符合 5.2.2~5.2.5 的要求。

注 1:热稳定性试验不能用于推导产品有效期,除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注 2:根据产品特性可选择 a)、b)方法的任意组合,但所选用方法宜能验证产品的稳定性,以保证在有效期内产品性能符合标准要求。

6 试验方法

6.1 对酶联免疫吸附法定量检测试剂(盒)的试验方法

6.1.1 外观

在自然光下以矫正视力目视检查,应符合 5.1.1 的要求。

6.1.2 溯源性

生产企业提供的溯源性资料应符合 5.1.2 的要求。

6.1.3 准确度

准确度可选择如下试验方法之一:

- 将参考物质作为样本按照说明书的步骤进行检测,重复测量 3 次后,其平均值结果记为 M ,根据公式:测量偏差 = $(M - \text{理论值}) / \text{理论值} \times 100\%$,结果应符合 5.1.3a) 的要求。
- 回收:将浓度已知的高水平待测物(A)加入到低浓度的血清(或其他体液成分)B 中,所加待测物与血清(或其他体液成分)B 之间的体积比例为不大于 1:9,根据公式(1)计算结果应符合 5.1.3b) 的要求。

$$R = \frac{c \times (V_0 + V) - c_0 \times V_0}{V \times c_s} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

R ——回收率;

V ——样品 A 液的体积;

V_0 ——样品 B 液的体积;

c ——样品 B 液加入 A 液后的检测浓度;

c_0 ——样品 B 液的浓度;

c_s ——样品 A 液的浓度。

注:低浓度的血清可以为正常人血清。

- 比对:与已上市的试剂盒或参考方法进行比对,结果应满足 5.1.3c) 的要求。

6.1.4 检测限

用零浓度校准品或样本稀释液作为样本进行检测,重复测定 20 次,得出 20 次测量结果的吸光度值(A 值),计算其平均值(M)和标准差(SD),得出 M+2SD(如果原理为竞争法,则为 M-2SD)所对应的 A 值,根据试剂盒所用校准品的定标曲线方程或者根据零浓度校准品和相邻校准品之间的浓度-A 值结果进行两点回归拟合得出一次方程,将 M+2SD 所对应的 A 值代入上述方程中,求出对应的浓度值,即为检测限,其结果应符合 5.1.4 要求。

注:方程的拟合方法也可按照生产企业的相应规定执行。

6.1.5 测量系统的线性

将接近线性范围上限的高值样本按一定比例稀释为至少 5 种浓度,其中低值浓度样本须接近线性范围的下限。按试剂(盒)说明书进行操作,将每一浓度样本重复检测 2 次,计算其浓度的平均值,将结果平均值和稀释比例用最小二乘法进行直线拟合,并计算线性相关系数 r,结果应符合 5.1.5 的要求。

6.1.6 重复性

用至少 2 个浓度水平的样本各重复检测 10 次,计算 10 次测量浓度结果的平均值 M 和标准差 SD,根据公式(2)得出变异系数 CV,结果应符合 5.1.6 的要求。

$$CV = SD/M \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中:

CV——变异系数;

SD——10 次测量结果的标准差;

M——10 次测量结果的平均值。

注:至少有一浓度水平的样本直接接近产品的医学决定水平。

6.1.7 批间差

用 3 个批号的试剂(盒)分别检测同一份样本,各重复 10 次,计算 30 次测量浓度值结果的平均值 M 和标准差 SD,根据公式(3)得出变异系数 CV,结果应符合 5.1.7 的要求。

$$CV = SD/M \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

式中:

CV——变异系数;

SD——30 次测量结果的标准差;

M——30 次测量结果的平均值。

注:样本直接接近产品的医学决定水平。

6.1.8 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- a) 效期稳定性:取失效期的试剂盒按照 6.1.3~6.1.6 方法进行检测,应符合 5.1.8a)的要求;
- b) 热稳定性试验:取有效期内试剂盒根据生产企业所声称的热稳定性条件,按照 6.1.3~6.1.6 方法进行检测,应符合 5.8b)的要求。

6.2 对酶联免疫吸附法定性检测试剂(盒)的试验方法

6.2.1 外观

在自然光下以矫正视力目视检查,应符合 5.2.1 的要求。

6.2.2 阴性参考品符合率

对阴性国家参考品或生产企业提供的阴性参考品进行检测,按试剂盒的说明书进行操作,根据说明书中的临界值进行判定,根据公式(4)进行计算,结果应符合 5.2.2 的要求。

$$\text{阴性参考品符合率} = \frac{\text{结果为阴性的参考品数量}}{\text{总参考品数量}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

注 1: 如没有国家参考品,可选用生产企业提供的参考品。

注 2: 生产企业提供的参考品的选用宜不少于 10 份。

6.2.3 阳性参考品符合率

对阳性国家参考品或生产企业提供的阳性参考品进行检测,按试剂盒的说明书进行操作,根据说明书中的临界值进行判定,根据公式(5)进行计算,结果应符合 5.2.3 的要求。

$$\text{阳性参考品符合率} = \frac{\text{结果为阳性的参考品数量}}{\text{总参考品数量}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(5)$$

注 1: 如没有国家参考品,可选用生产企业提供的参考品。

注 2: 生产企业提供的参考品的选用宜不少于 10 份。

6.2.4 检测限

对检测限国家参考品或生产企业提供的检测限参考品进行检测,结果应符合 5.2.4 的要求。

注: 如没有国家参考品,可选用生产企业提供的参考品。

6.2.5 重复性

用重复性国家参考品或生产企业提供的重复性参考品重复检测 10 次,计算 10 次测量吸光度(A)结果的平均值 M 和标准差 SD ,根据公式(6)得出变异系数 CV ,结果应符合 5.2.5 的要求。

$$CV = SD/M \times 100\% \quad \dots\dots\dots(6)$$

式中:

CV —— 变异系数;

SD —— 10 次测量结果的标准差;

M —— 10 次测量结果的平均值。

注 1: 其所用样本浓度宜接近产品的临界值或医学决定水平。

注 2: 如没有国家参考品,可选用生产企业提供的参考品。

6.2.6 批间差

用 3 个批号的试剂(盒)分别检测同一份样本,各重复 10 次,计算 30 次测量 P/N 或 S/CO 比值等结果的平均值 M 和标准差 SD ,根据公式(7)得出变异系数 CV ,结果应符合 5.2.6 的要求。

$$CV = \frac{SD}{M} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(7)$$

式中:

CV —— 变异系数;

SD —— 30 次测量结果的标准差;

M —— 30 次测量结果的平均值。

6.2.7 稳定性

可选用以下方法进行验证:

- a) 效期稳定性:取失效期的试剂盒按照 6.2.2~6.2.5 方法进行检测,应符合 5.2.7a)的要求;
- b) 热稳定性试验:取有效期内试剂盒根据生产企业声称的热稳定性条件,按照 6.2.2~6.2.5 方法进行检验,应符合 5.2.7b)的要求。

7 标识、标签和使用说明书

7.1 试剂(盒)外包装标识、标签

至少应包含如下内容:

- a) 产品名称及包装规格;
- b) 生产企业或售后服务单位的名称、地址、联系方式;
- c) 医疗器械注册证书编号;
- d) 产品标准编号;
- e) 产品批号;
- f) 失效期;
- g) 贮存条件。

7.2 试剂(盒)单组分的标识、标签

至少应包含如下内容:

- a) 产品名称及包装规格;
- b) 生产企业名称或标志;
- c) 产品批号;
- d) 失效期;
- e) 贮存条件。

7.3 试剂(盒)使用说明书

至少应包含如下内容:

- a) 产品名称;
- b) 包装规格;
- c) 预期用途;
- d) 检验原理;
- e) 主要组成成分;
- f) 贮存条件及失效期;
- g) 样本要求;
- h) 检验方法;
- i) 参考值(参考范围);
- j) 检验结果的解释;
- k) 检验方法的局限性;
- l) 产品性能指标;
- m) 注意事项;
- n) 参考文献;
- o) 生产企业或售后服务单位的名称,地址,联系方式;
- p) 医疗器械生产企业许可证编号(仅限于国产企业);
- q) 医疗器械注册证书编号;

- r) 产品标准编号；
- s) 说明书批准及修改日期。

8 包装、运输和贮存

8.1 包装

试剂(盒)应按生产企业的要求包装。

8.2 运输

试剂(盒)应按生产企业的要求运输。

8.3 贮存

试剂(盒)应在生产企业规定条件下保存。

参 考 文 献

[1] YY/T 0316—2008 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用

[2] YY/T 0466.1—2009 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第1部分：
通用要求

[3] GB/T 191—2008 包装储运图示标志

[4] GB/T 9969—2008 工业产品使用说明书 总则

[5] JJF 1001—1998 通用计量术语及定义

[6] ISO/FDIS 18113-1 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic medical systems—Information supplied by the manufacturer (labelling)—Part 1: Terms, definitions and general requirements

[7] ISO 3534-1:1993 Statistics Vocabulary and symbols—Part 1: General statistical terms and terms used in probability—Second Edition

中华人民共和国医药
行业标准
酶联免疫吸附法检测试剂(盒)
YY/T 1183—2010

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 21 千字
2012年1月第一版 2012年1月第一次印刷

*

书号: 155066·2-22846 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 1183-2010