



中华人民共和国国家标准

GB/T 33411—2016

酶联免疫分析试剂盒通则

Guidelines for enzyme immunoassays kit

2016-12-30 发布

2017-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位:江苏省微生物研究所有限责任公司。

本标准主要起草人:宓晓黎、李利东、黄丽俊、袁建兴、杜姝莲。

酶联免疫分析试剂盒通则

1 范围

本标准规定了酶联免疫分析试剂盒的技术要求、检验方法、使用说明书和标签。
本标准适用于小分子化合物检测用的酶联免疫分析试剂盒。

2 技术要求

2.1 试剂盒主要组成及要求

试剂盒由一整套试剂和材料组成,应严格按照其说明书的规定使用,并满足下列要求:

- a) 包被微孔板:在微孔板上包被相应的抗体或抗原;
- b) 抗体:可使用多克隆抗体或单克隆抗体;
- c) 系列标准溶液:定量检测用时,应配制至少 5 种浓度的标准溶液;
- d) 标记物:标记物可以是标记抗原或标记抗体;标记酶为辣根过氧化物酶或其他适宜标记的酶;
- e) 底物显色剂:过氧化氢溶液/四甲基联苯胺溶液或其他底物显色剂;
- f) 洗涤剂:磷酸盐缓冲溶液或其他缓冲溶液;
- g) 终止剂:硫酸溶液或其他溶液。

2.2 外观

试剂盒外观完整,内装试剂齐全;包被抗原或抗体的微孔板透明干燥且用真空包装;液体组分应澄清透明;冻干组分呈疏松体,经复溶后,其溶液应澄清,无异物。

2.3 标准曲线线性

以标准溶液考察线性和范围。标准曲线为 $Y=\ln(X)$ 等数学模型计算时,在试剂盒规定的标准浓度范围内,其线性相关系数的绝对值应 ≥ 0.99 。

2.4 灵敏度

2.4.1 检出限

一般用空白标准溶液($n \geq 10$)测定均值加或减 2 倍标准差的值($\bar{x}_0 \pm 2s$)所对应的浓度表示检出限。

2.4.2 定量限

用空白标准溶液($n \geq 10$)测定均值加或减 3 倍标准差的值($\bar{x}_0 \pm 3s$)所对应的浓度表示定量限。且定量限值应大于或等于标准曲线中最低浓度点值,满足一定的精密度和准确度的要求。

2.5 精密度

2.5.1 批内变异系数

在同一实验室,由同一操作员使用同一批次试剂盒,按相同测试方法,对同一被测试对象进行的

GB/T 33411—2016

10 次以上独立测试,验证测试结果之间的一致程度,其变异系数应不大于 20%。

2.5.2 批间变异系数

在不同实验室,由不同操作员使用不同批次试剂盒,按相同测试方法,对同一被测试对象进行的 10 次以上独立测定,验证测试结果之间的一致程度,其变异系数应不大于 25%。

2.6 正确度

用标准品进行验证。在标准曲线范围内,选取 3 个不同浓度进行回收试验,所添加浓度应涵盖方法测定低限浓度、方法测定最高浓度和关注浓度。对于已制定最高残留限量(MRL)的物质,关注浓度为 MRL;对于未制定 MRL 的物质,关注浓度为常见限量指标;对于禁用物质,关注浓度为两倍方法测定低限。其回收率应在 60%~120% 范围内。

3 检验方法

3.1 外观

目测法。

3.2 标准曲线的线性

标准曲线至少由 5 个浓度组成,每个浓度的至少重复测定 3 次,其均值作为该标准曲线的测定值。按产品使用说明书的程序操作,测定标准溶液的吸光度值或其他测定值。通过标准液浓度的吸光度值绘制标准曲线。绘制 Y-ln(X)标准曲线或其他规定的标准曲线。

若以标准品百分吸光度比值为纵坐标,标准品浓度的半对数为横坐标绘制标准曲线。

按式(1)计算百分吸光度比值,按式(2)建立方程,并计算相关系数。

$$Y = B/B_0 \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

$$Y = a + b \cdot \ln X \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- Y ——百分吸光度比值;
- B₀——零浓度标准溶液的吸光度值;
- B ——标准溶液吸光度值;
- X ——标准品浓度,单位为纳克每毫升 (ng/mL);
- a ——截距;
- b ——斜率。

相关系数的计算:利用数据统计处理软件计算相关系数。

3.3 灵敏度

取已包被好的微孔板,按产品使用说明书的程序操作,测定标准溶液的吸光度值。同时测定 10 份零浓度标准溶液的吸光度值,绘制标准曲线。

求出 10 份零浓度的吸光度值的平均数($\bar{x}_0$)和标准差(s),计算 $\bar{x}_0 - 2s$ (竞争抑制法试剂盒)或 $\bar{x}_0 + 2s$ (夹心法试剂盒),以此数值在标准曲线上计算或查出相对应的浓度,即为检出限。计算 $\bar{x}_0 - 3s$ 或 $\bar{x}_0 + 3s$,以此数值在标准曲线上计算或查出相对应的浓度,即为定量限。

3.4 精密度

在同一次检测中,取已包被好的微孔板,加入系列浓度的标准溶液,重复 10 次,按产品使用说明书

的程序操作,测定吸光度值。统计 10 组数据,计算批内变异系数。

在不同的检测中,取已包被好的微孔板,加入系列浓度的标准溶液,按产品使用说明书的程序操作,测定吸光度值。统计 10 组数据,计算批间变异系数。

按式(3)计算变异系数:

$$CV = s/\bar{x} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

CV —— 变异系数;

s —— 标准偏差;

$\bar{x}$ —— 平均吸光度值。

3.5 正确度

取已包被好的微孔板,每孔分别加入系列标准溶液、阴性样本和添加高、中、低浓度标准溶液的阳性样本,按产品使用说明书的程序操作,测定吸光度值。

绘制标准曲线。通过标准曲线计算出相对应的阴性样品和阳性样品的测定浓度值,并计算回收率。

4 使用说明书

试剂盒应附产品使用说明书,或等价的指导性文件。文件内容应至少包括以下部分:

- a) 品种名称(中英文);
- b) 测定原理;
- c) 适用范围,提及检测的目标物和适用的基质范围;
- d) 使用单位需自备的设备和试剂;
- e) 提供的材料和试剂;
- f) 溶液配制方法;
- g) 样品前处理的方法;
- h) 详细的检测步骤或操作指南;
- i) 结果判定;
- j) 分析质量参数:标准曲线、检出限和定量限、正确度和精密度、交叉反应;
- k) 保存条件和有效期。

5 标签

试剂盒外包装应标示如下内容:产品名称、生产批号或生产日期、规格和数量、运输和保存温度、有效期、生产企业名称和地址。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
酶联免疫分析试剂盒通则
GB/T 33411—2016

*

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(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

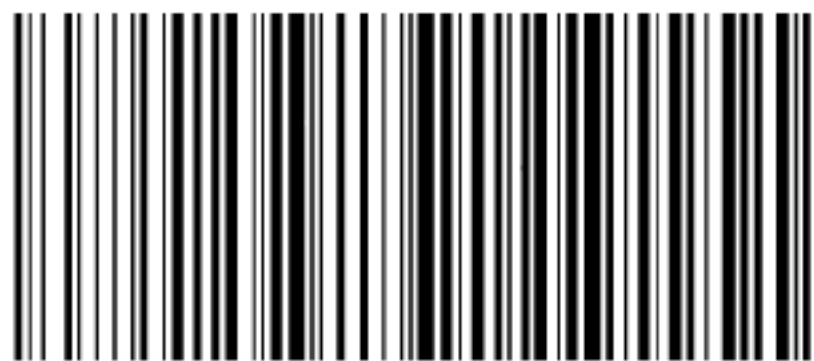
服务热线: 400-168-0010

2017年1月第一版

*

书号: 155066 · 1-55861

版权专有 侵权必究



GB/T 33411—2016