



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1183—XXXX
代替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)

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文代替YY/T 1183-2010《酶联免疫吸附法检测试剂（盒）》，与YY/T 1183-2010相比，除编辑性改动外，主要技术变化如下：

——增加了规范性引用文件GB/T 191、GB/T 21415、GB/T 29791.2；删除了GB/T 21415-2008（见第2章，2010年版的第2章）；

——增加了术语盒定义中的分析特异性；删除内包装、外包装（销售包装）、标识、批、批号、计量学溯源性、准确度、回收、检测限、测量系统的线性、重复性、失效期、稳定性、临界值的术语盒定义（见第3章，2010年版的第3章）；

——修改了分类（见第4章，2010年版的第4章）；

——修改了定量检测的准确度的要求及相应的检测方法（见5.1.3和6.1.3，2010年版的5.1.3和6.1.3）；

——修改了定量检测的检测限的要求及相应的检测方法（见5.1.4和6.1.4，2010年版的5.1.4和6.1.4）；

——修改了定量检测的线性的要求及相应的检测方法（见5.1.5和6.1.5，2010年版的5.1.5和6.1.5）；

——增加了定量检测的分析特异性的要求及相应的检测方法（见5.1.6和6.1.6）；

——修改了定量检测的重复性的要求及相应的检测方法（见5.1.7和6.1.7，2010年版的5.1.6和6.1.6）；

——修改了定量检测的批间差的要求及相应的检测方法（见5.1.8和6.1.8，2010年版的5.1.7和6.1.7）；

——修改了定量检测的稳定性的要求及相应的检测方法（见5.1.9和6.1.9，2010年版的5.1.8和6.1.8）；

——修改了定性检测的阴性参考品符合率的要求及相应的检测方法（见5.2.2和6.2.2，2010年版的5.2.2和6.2.2）；

——修改了定性检测的阳性参考品符合率的要求及相应的检测方法（见5.2.3和6.2.3，2010年版的5.2.3和6.2.3）；

——增加了定性检测的分析特异性的要求及相应的检测方法（见5.2.4和6.2.4）；

——修改了定性检测的检出限的要求及相应的检测方法（见5.2.5和6.2.5，2010年版的5.2.4和6.2.4）；

——修改了定性检测的重复性的要求及相应的检测方法（见5.2.6和6.2.6，2010年版的5.2.5和6.2.5）；

——修改了定性检测的批间差的要求及相应的检测方法（见5.2.7和6.2.7，2010年版的5.2.6和6.2.6）；

——修改了定性检测的稳定性的要求及相应的检测方法（见5.2.8和6.2.8，2010年版的5.2.7和6.2.7）；

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

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/TC136）归口。

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

酶联免疫吸附法检测试剂盒

1 范围

本文件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。

本文件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

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 191 包装储运图示标志

GB/T 21415 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

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

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、生物素结合物、酶结合物、缓冲液、显色系统、稀释液、校准品、质控品等。

3.3

分析特异性 analytical specificity

检测程序在样品中有其他量存在时只检测或测量被测量存在的能力。

[GB/T29791.1—2013,定义 A.2.6]

4 分类

可按如下方式分类：

- 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。
- 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。
- 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。定量是用校准品制备标准曲线，最终以浓度值或含量值进行报告。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、S/CO 比值或与参考范围比较等方式，最终以阴性或阳性结果进行报告。

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

制造商应根据GB/T 21415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，如适用，优先采用相对偏差的方法：

- a) 使用可用于评价常规方法的有证参考物质(CRM)或其他公认的参考物质作为样品进行测定，其测量结果的相对偏差应在在 $\pm 15\%$ 范围内；
- b) 回收：回收率应在 85.0%~115.0%范围内；
- c) 比对：用已上市试剂盒或参考方法进行比对试验，在制造商声称的样品浓度覆盖区间内，相关系数(r)应大于等于 0.975。偏差要求符合制造商声称。

5.1.4 检出限

检出限应符合制造商声称。

5.1.5 线性

在制造商规定的线性范围内，试剂盒的相关系数(r)应不小于0.9900。

5.1.6 分析特异性(适用时)

检测含有一定浓度/水平的交叉反应物/降解产物/杂质的阴性样品3次，测试结果应符合其声称值。

5.1.7 重复性

分别用高低浓度/水平的参考品/样品各重复检测10次，测定结果的变异系数(CV)应不高于10%。

5.1.8 批间差

用3个批号试剂盒检测同一份参考品/样品10次，批间变异系数(CV)应不高于15%。

5.1.9 稳定性

可选用以下方法进行验证：

- a) 效期稳定性：制造商应规定产品的有效期。取到效期后一定时间内的样品，检测准确度、检出限、线性区间、重复性，结果应符合 5.1.3~5.1.7 的要求。
- b) 热稳定性：试剂盒在制造商规定的热稳定性条件下放置一定时间，检测准确度、检出限、线性区间、重复性，结果应符合 5.1.3~5.1.7 的要求。

注1：一般情况下，效期为1年时选择不超过1个月的产品，效期为半年时选择不超过半个月的产品，以此类推，进行效期稳定性检测。但如超过规定时间，产品符合要求时也可以采纳。

注2：热稳定性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3：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

分别检测用于评价试剂阴性符合率的不同参考品/样品各1次，检测结果应均为阴性。

其阴性参考品的设置应遵循以下原则（以病原微生物为例）：

- 阴性参考品/样品应包括相对于待检测对象而言为阴性的正常人群的多份样本，以及与该病原体感染途径相似或相同的其他病原体感染者样本；
- 阴性参考品/样品应当是被确定过的，和（或）公认方法检测的，和（或）经临床确认的阴性样本。建议使用国家参考品，如果是制造商自行配制的，应明确基质、配制方法及赋值方法。

5.2.3 阳性参考品符合率

分别检测用于评价试剂阳性符合率的不同参考品/样品各1次，检测结果应均为阳性。

阳性参考品的设置应遵循以下原则（以病原微生物为例）：

- 阳性参考品应为对被检测对象而言确诊为该病原体感染的多份样品，阳性参考品选择时应能代表我国主要流行的病原微生物型别，包括不同基因型/血清型的病原体或抗体；
- 阳性参考品/样品应当是被确定过的，和（或）公认方法检测的，和（或）经临床确认的阳性样本。建议使用国家参考品，如果是制造商自行配制的，应明确基质、配制方法及赋值方法。

5.2.4 分析特异性(适用时)

检测含有一定浓度/水平的交叉反应物/降解产物/杂质的阴性参考品/样品3次，检测结果应不出现阳性。

有明确的交叉反应物的被测物试剂盒应适用，其设置应遵循以下原则：

- 交叉反应物及其浓度的选择应当科学合理，并且其应当有可能存在于待测样本中。交叉反应可接受的程度，主要取决于被测物和交叉反应物在人体内的相对含量；
- 阴性参考品/样品应当是被确定过的，和（或）公认方法检测的，和（或）经临床确认的阴性样品。如果是制造商自行配制的，应明确基质、配制方法及赋值方法。

注：如在“阴性/阳性参考品符合率”对交叉反应物已有相关要求，此项可不适用（如病原微生物检测试剂盒）。

5.2.5 检出限

制造商应规定试剂盒的检出限水平。分别检测不同浓度/水平梯度的参考品/样品，结果应满足制造商声称。

参考品/样品的浓度/水平设置及配制应遵循以下原则：

- 参考品/样品应涵盖临界值两侧的 C_5 、 C_{95} 附近浓度/水平；
- 临界值及灰区的设置应考虑是否符合临床实际诊断意义，同一被测物对于筛查试剂和确认试剂等不同临床应用情形可以依据灵敏度/特异度需求分别设置不同的临界值；
- 灰区内参考品/样品的检测结果可阴可阳，高于 C_{95} 检测结果应为阳，低于 C_5 检测结果应为阴；
- 如果使用的参考品/样品是制造商自行配制的，应明确基质、配制方法及赋值方法。

注：如被测物确实不宜用常规浓度、活度单位进行赋值，可采用自定义的浓度/活度赋值方式（如“滴度”、“效价”等）并提供其赋值的合理性。

5.2.6 重复性

检测已明示浓度/水平的阴性及弱阳性参考品/样品至少10次，阴阳性结果符合率均应不小于100%。

重复性浓度/水平设置及结果判定应遵循以下原则：

- 阴性及弱阳性参考品/样品建议选择 C_5 、 C_{95} 附近浓度/水平；
- 关于“95%”举例：如测20次，应至少19次符合；如测10次，应10次均符合。

5.2.7 批间差

抽取3个批次的试剂盒，各批分别检测已明示浓度/水平的弱阳性参考品/样品至少10次，阳性结果符合率均应不小于100%。

5.2.8 稳定性

稳定性应满足如下要求：

a) 效期稳定性

试剂盒在规定的贮存条件下保存至有效期末，超过有效期一定时期内进行检测，产品的性能应至少符合 5.2.2~5.2.7 要求。

b) 热稳定性

取有效期内试剂盒在制造商规定的温度放置规定时间，产品的性能应至少符合 5.2.2~5.2.6 要求。

注1：效期稳定性试验，一般情况下，效期为1年时选择不超过1个月的产品进行试验，效期为半年时选择不超过半个月的产品进行试验，以此类推。但如超过规定时间，产品符合要求时也可以接受。

注2：热稳定性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3：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。

6.1.2 溯源性

由制造商提供溯源性资料。

6.1.3 准确度

准确度可选择如下试验方法之一，如适用，优先采用相对偏差的方法：

- a) 将可用于评价常规方法的有证参考物质（CRM）或其他公认的参考物质配制成试剂盒线性范围内高、低浓度的准确度样品进行检测，每个样品测试 3 次，根据式（1）计算相对偏差。如果 3 次结果都符合规定，即判为合格；如果大于或等于 2 次的结果不符合，即判为不合格；如果有 1 次结果不符合规定，则应重新连续测试 20 次，分别计算相对偏差，如果大于或等于 19 次测试的结果符合规定，即判为合格。

$$B = \frac{X_i - T}{T} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

B —相对偏差；

X_i —样品的实测浓度；

T —标定浓度。

- b) 回收：将浓度已知的准确定值的高水平待测物（A）加入到低浓度的血清（或其他体液成分）B 中，所加待测物与低值样品 B 之间的体积比例为不大于 1：9，重复测 3 次取均值，根据公式（2）计算。

$$R = \frac{C \times (V_0 + V) - C_0 \times V_0}{V \times C_S} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

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的血清。

- c) 比对：与已上市的试剂盒或参考方法进行比对。

6.1.4 检出限

制造商应提供测定试剂盒的空白限、检出限及参考区间等相关信息，根据制造商提供信息，对5份浓度近似检出限的低值样品进行检测，每份样品检测5次，对检测结果按照大小进行排序，符合如下条件，即可认为制造商提供的空白限和检出限的设置基本合理。

- 低于制造商提供的空白限数值的检测结果的数量应小于或等于3个。
- 如适用，无高于制造商声称的参考区间下限。

6.1.5 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3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 ）。特殊情况下，如稀释会引起其结合改变的结合态和游离态测定项目，不宜采用稀释线性检测。

6.1.6 分析特异性(适用时)

检测含已明示浓度/水平的交叉反应物/降解产物/杂质的阴性样品3次。

6.1.7 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 ），根据式（3）得出变异系数（ CV ）。

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

6.1.8 批间差

用3个批号试剂盒分别检测同一份样品，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 ），根据式（3）得出变异系数（ CV ）。

6.1.9 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 6.1.3~6.1.7 方法进行检测；
- b) 试剂盒按照规定的条件保存后，按照 6.1.3~6.1.7 方法进行检测。

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。

6.2.2 阴性参考品符合率

分别检测用于评价试剂特异性的不同样品各1次。

6.2.3 阳性参考品符合率

分别检测用于评价试剂灵敏性的不同样品各1次。

6.2.4 分析特异性

检测含已明示浓度/水平的交叉反应物/降解产物/杂质的阴性样品3次。

6.2.5 检出限

分别检测已明示浓度/水平的不同梯度的参考品/样品各1次。

6.2.6 重复性

检测已明示浓度/水平的阴性及弱阳性样品至少10次。

6.2.7 批间差

抽取3个批次的试剂盒，各批分别检测已明示浓度/水平的弱阳性样品至少10次。

6.2.8 稳定性

- a) 效期稳定性
试剂盒在规定的贮存条件下保存至有效期末，按照 6.2.2~6.2.6 进行检测。
- b) 热稳定性
取有效期内试剂盒在制造商规定的温度放置规定时间，按照 6.2.2~6.2.6 进行检测。

7 标识、标签和使用说明书

标签和使用说明书应符合 GB/T 29791.2 的规定。

8 包装、运输和贮存

8.1 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。

8.2 运输

试剂盒应按制造商的要求运输。在运输过程中，应防潮，应防止重物堆压，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。

8.3 贮存

试剂盒应在制造商规定条件下贮存。

参 考 文 献

- [1] YY/T 0466.2-2015 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第2部分：符号的制订、选择和确认
- [2] YY/T 0466.1-2016 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] YY/T 1713-2020 胶体金免疫层析法检测试剂盒