



中 华 人 民 共 和 国 医 药 行 业 标 准

YY/T 1529—XXXX

代替 YY/T 1529-2017

酶联免疫分析仪

ELISA Analytical Instruments

（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

国家药品监督管理局 发 布

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。

本文件在YY/T 1529-2017的基础上修订而成，与YY/T 1529-2017相比，除编辑性修改外主要变化如下：

- a) 范围；（见 1，见 2017 版 1）
- b) 规范性引用文件；（见 2，见 2017 版 2）
- c) 波长准确度与半峰宽度（见 5.2.1，见 2017 版 5.2.1）
- d) 增加清洗模块平均残液量要求（见 5.2.8）
- e) 增加加注模块准确度与精密度要求（见 5.2.9）
- f) 增加孵育模块温度准确度和波动度要求（见 5.2.10）
- g) 增加临床项目的重复性要求（见 5.2.11）
- h) 增加样品携带污染（见 5.2.12）
- i) 电气安全增加相关标准要求；（见 5.3，见 2017 版 5.3）
- j) 增加清洗模块平均残液量试验方法（见 6.10）
- k) 增加加注模块准确度与精密度试验方法（见 6.11）
- l) 增加孵育模块温度准确度和波动度试验方法（见 6.12）
- m) 增加临床项目的重复性试验方法（见 6.13）
- n) 增加样品携带污染（见 6.14）
- o) 增加附录 B；（见附录部分）

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。

本文件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。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

酶联免疫分析仪

1 范围

本标准规定了酶联免疫分析仪（以下简称分析仪）的术语和定义，分类，要求，试验方法，标志、标签和使用说明书，包装、贮存及运输。

本标准适用于以酶联免疫吸附试验（ELISA）法和朗伯-比尔（Lambert-Beer）定律为测量原理，对待测物质进行定量或定性分析的酶联免疫分析仪，可包含加注模块、孵育模块、清洗模块等。

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，仅所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 191 包装储运图示标志

GB 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第1部分：通用要求

GB 4793.6 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第6部分：实验室用材料加热设备的特殊要求

GB 4793.9 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第9部分：实验室分析和其它目的自动和半自动设备的特殊要求

GB/T 14710 医用电器环境要求及试验方法

GB/T 18268.1 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第1部分：通用要求

GB/T 18268.26 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第26部分：特殊要求 体外诊断（IVD）医疗设备

GB/T 29791.3 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标示） 第3部分：专业用体外诊断仪器

YY 0648 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第2-101部分：体外诊断（IVD）医用设备的专用要求

JJG 861 酶标分析仪

3 术语和定义

以下术语和定义适用本文件。

3.1

酶联免疫吸附试验（Enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）

ELISA方法是在免疫酶技术（immunoenzymatic techniques）的基础上发展起来的一种免疫测定技术。ELISA过程包括抗原或抗体吸附在固相载体上（称为包被），受检样本（含待测抗体或抗原）和酶标记抗体或抗原，按一定程序与结合在固相载体上的抗原或抗体起反应形成抗原和抗体的复合物，固相载体上被结合的酶标记物的量即与标本中待测物的量成一定比例。加入酶反应底物后，底物被酶催化生

成有色产物。通过底物的颜色反应来判定有无相应的免疫反应，颜色反应的深浅与标本中相应抗体或抗原的量呈比例关系。

3.2

酶联免疫分析仪(ELISA Analytical Instruments)

利用酶联免疫吸附试验(ELISA)法和朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律，对待测物质进行定量或定性分析的仪器称为酶联免疫分析仪，亦称酶标仪。

4 分类

4.1 仪器组成及原理

仪器主要由电源、光源系统、单色器系统、样品室、检测器、微机和操作软件组成,还可包含加注模块、孵育模块、清洗模块等。

光源灯发出的光经平行处理后，透过滤光片/光栅射入样品室，经过待测液后，透射光信号被检测器检测、放大及模拟/数字转换后由微机进行计算、处理，并由显示器、打印机显示并打印出最终测定结果。

4.2 仪器类型

常用酶联免疫分析仪可以分为以下3种类型：

- a)单波长、单通道/多通道；
- b)单波长/双波长、单通道/多通道；
- c)波长连续可调式、单通道/多通道。

5 要求

5.1 外观

应符合如下要求：

- a)文字和标志应清晰可见，标志粘贴牢固，不得松脱或卷边；
- b)表面应平整、光洁、色泽均匀、无磕碰、划伤及凹凸不平等缺陷；
- c)紧固件连接应牢固可靠，不得有松动；
- d)运动部件应平稳，不应卡住、突跳及显著空回，键组回跳应灵活。

5.2 性能要求

5.2.1 波长准确度与半峰宽度

仪器用滤光片波长准确度应不超过±2 nm。
半峰宽度：不超过 12 nm。

5.2.2 吸光度准确度

在相应波长下仪器的准确度应符合表 1 的要求。

表 1：吸光度准确度要求

吸光度范围	准 确 度
[0.000~1.000]	±0.02
(1.000~2.000]	±0.03

5.2.3 线性

在吸光度值为（0~3.000）范围内，线性相关系数不低于 0.990。

5.2.4 吸光度重复性

仪器重复性测量的变异系数 CV 应不大于 1.0%。

5.2.5 吸光度稳定性

仪器吸光度的稳定性应不超过±0.005。

5.2.6 灵敏度

使用浓度值为 5 mg/L 的酶联免疫分析仪用灵敏度溶液标准物质，仪器测量吸光度值应不小于 0.01。

5.2.7 通道差异

以空气为参比，测量各通道的吸光度差异，要求结果应不大于 0.02。

5.2.8 清洗模块平均残液量

平均每孔应不大于 2 μL。

5.2.9 加注模块准确度与精密度

对仪器标称的样品最小加样量和最大加样量、试剂最小加样量和最大加样量进行检测，应符合表 2 的要求。

表 2：加注模块准确度与精密度要求

标称加样量 (v) / μL	要求	
	偏倚	变异系数 (CV) / %
v ≤ 10	不超过 ±1 μL	≤ 5

10 < v ≤ 50	不超过 ±10%	≤ 3
v > 50	不超过 ±5%	≤ 2

5.2.10 孵育模块温度准确度和波动度

温度准确度不超过 ±0.5 °C，温度波动度不超过 ±0.5 °C。

5.2.11 临床项目的重复性

选取至少 2 个临床项目，用制造商指定的试剂盒进行重复性实验，变异系数不超过 10%。

5.2.12 样品携带污染

样品携带污染率应不大于 1.0%。对于仅能报告定性检验结果的分析仪，检测高浓度阳性样品后再检测阴性样品，阴性样品不能检测为阳性。

5.3 电气安全要求

应符合 GB 4793.1、GB 4793.6、GB 4793.9 及 YY 0648 中适用条款的要求。

5.4 环境试验要求

应符合 GB/T 14710 中适用条款的要求。

5.5 电磁兼容性要求

应符合 GB/T 18268.1、GB/T 18268.26 中适用条款的要求。

5.6 软件功能

酶联免疫分析仪应至少具有下列功能：

- a) 具有数据显示功能；
- b) 可灵活设置测试项目、测试方法和测试日期；
- c) 可连续保存依次测试的项目及结果；
- d) 可显示并打印测试项目、测试数据和测试时间。

6 实验方法

6.1 工作条件

- 6.1.1 电源要求：电压 220±22 V（交流）；频率 50±1 Hz；
- 6.1.2 环境温度：+10 °C～+40 °C；
- 6.1.3 相对湿度：30%～80%；
- 6.1.4 下列项目均在仪器开机稳定 30 min 后进行, 仪器在进行下列实验时，影响量应在正常工作条件下；

6.1.5 光谱中性滤光片有证标准物质或经计量校准合格的光谱中性滤光片：吸光度示值分别约为 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0;

6.1.6 酶联免疫分析仪用灵敏度溶液标准物质。

注：6.1.2、6.1.3 中的条件与制造商标称的产品规格不一致时，以产品规格标称为准。制造商应在产品标准中进行说明。

6.2 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，应符合 5.1 的要求。

6.3 波长准确度与半峰宽度

a) 波长连续可调式酶联免疫分析仪，测试方法见 JJG 861, 5.2.1 条，或者由生产厂家提供科学、合理的试验方法。

b) 其他

用波长示值误差优于 $\pm 0.5 \text{ nm}$ 的分光光度计对仪器所用滤光片逐片进行波长-透射比光谱特性曲线描述（如图1），并按公式（1）、（2）分别计算中心波长误差，按公式（3）计算半峰宽度，应符合 5.2.1 的要求。

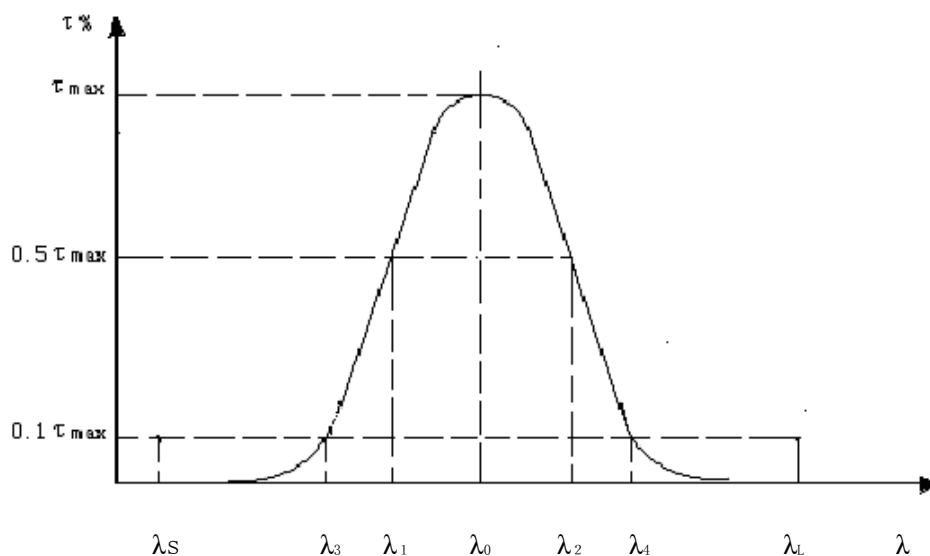


图1 波长-透射比光谱特性曲线

$$\lambda_0 = (\lambda_1 + \lambda_2) / 2 \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$\Delta\lambda = \lambda_0 - \lambda \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$\text{半峰宽} = \lambda_2 - \lambda_1 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

λ_0 ——中心波长实测值；

λ_1 、 λ_2 ——透射比为 $0.5\tau_{\max}$ 时对应的波长。

$\Delta\lambda$ ——中心波长误差；

λ ——滤光片的标准波长；

6.4 吸光度准确度试验

依次选用 405 nm、450 nm、492 nm 和 630 nm 波长或仪器特有的专一波长，将吸光度标称值分别约为 0.2、0.5、1.0、1.5 的四块光谱中性滤光片，或仪器特有的专一波长滤光片，平放在微孔酶标板的空板架上，以空气为参比，连续测量 3 次，记录仪器示值。

吸光度准确度 Δ_A 按式（4）计算：

$$\Delta_A = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 A_i - A_S \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中：

A_i ——该中性滤光片在一个波长下第 i 次测量的吸光度值；

A_S ——该中性滤光片在该波长下的标准值；

Δ_A ——该中性滤光片吸光度准确度。

各中性滤光片在各波长下的吸光度准确度，均应符合 5.2.2 的要求。

6.5 线性

可选择下列方法之一，进行验证：

- a) 选用 450nm 波长或仪器特有的专一波长。
- b) 选择光谱中性滤光片有证标准物质或经计量校准合格的光谱中性滤光片，示值分别约为：0、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0，每张滤光片测定 3 次，实测均值与标定值进行线性拟合，计算线性相关系数，结果应符合 5.2.3 的要求。
- c) 使用选择光谱中性滤光片有证标准物质或经计量校准合格的光谱中性滤光片，示值分别约为 0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 滤光片，单独使用或叠加使用，分别采用（0.2+0.5），（0.5+1.5），（1.0+2.0）叠加法，实测值与理论值进行线性拟合，计算线性相关系数，结果应符合 5.2.3 的要求。

注：不建议对 2 个以上滤光片进行叠加。

6.6 吸光度重复性试验

选择 450 nm 波长或仪器特有的专一波长，将吸光度标称值约为 0.5 或 1.0 的光谱中性滤光片平放在微孔酶标板的空板架上，以空气为参比，于固定的某一孔位重复测量至少 10 次，记录仪器示值，再按公式（5）、（6）计算吸光度的重复性 CV 值，应符合 5.2.4 的要求。

$$CV = \frac{Sd}{\bar{x}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (5)$$

$$Sd = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$\bar{x}$ ——n 次测量的算术平均值；

x_i ——第 i 次实测吸光度值；

n——测量的次数。

6.7 吸光度稳定性试验

选用 450 nm 波长或仪器特有的专一波长，将吸光度标称值 1.0 的光谱中性滤光片，平放在微孔酶标板的空板架上，以空气为参比，测量并记录仪器的初始示值，5 分钟后记录仪器示值一次，10 分钟后再记录仪器示值，带入公式（7），计算后两次吸光度示值与初始值的最大偏倚值（r），结果应符合 5.2.5 的要求。

$$r = |A_{\text{最大}} - A_{\text{初始}}| \quad \dots\dots\dots (7)$$

式中：

$A_{\text{最大}}$ 和 $A_{\text{初始}}$ ——仪器最大吸光值和初始吸光值。

6.8 灵敏度试验

选用 450 nm 或仪器特有的专一波长，使用量程适合并经校准合格的加样器，在未包被抗原或抗体的微孔酶标板的某一孔中加入 350 μL 浓度值为 5 mg/L 的酶联免疫分析仪用灵敏度溶液标准物质[配制方法见附录 A（资料性附录）]，测量吸光度值符合 5.2.6 要求。

6.9 通道差异试验

选用 450 nm 波长或仪器特有的专一波长，将吸光度标称值为 1.0 的光谱中性滤光片平放在微孔酶标板的空板架上，先后置于 8 个通道的相应位置（例如：对于 8 通道仪器可从 A1~H1 或 A2~H2 作为起始位置），以空气为参比，每一通道至少重复测量 5 次（中性滤光片的相同位置），记录 5 个吸光度值，8 个通道的差异结果报告用全部测量数据（共 40 个结果）的极差值表示，按公式（8）计算通道差异 δ_A ，应符合 5.2.7 的要求。或者改为直接读取空气空白，更能反映通道差异。

$$\delta_A = A_{\text{max}} - A_{\text{min}} \quad \dots\dots\dots (8)$$

式中：

A_{max} ——八个通道中测量结果的吸光度最大值；

A_{min} ——八个通道中测量结果的吸光度最小值；

δ_A ——通道差异。

6.10 清洗液平均残液量

用分度值为 0.01mg 的电子天平称量完整酶标板的初始质量，使用纯水作为清洗液，将酶标板放入洗板模块进行清洗，清洗液的加注体积设为仪器允许的最大值，清洗完毕后，再次称量酶标板的质量，按公式（9）计算酶标板上每孔的平均残液量，结果应符合 5.2.8 的要求。

$$V_{residuali} = (m_1 - m_0) / n \times \rho \quad \dots\dots\dots (9)$$

式中：

$V_{residuali}$ ——清洗液平均残液量；

m_1 ——洗板后的酶标板质量；

m_0 ——酶标板的初始质量；

n ——酶标板上的酶标孔个数；

ρ ——不同温度下纯水的密度见附录 B

6.11 加注模块准确度与精密度

分为比色法和称量法两种类型的测定方法，制造商可任意选择两种方法之一。

6.11.1 称量法

称量法按下列方法进行测定：

- 将纯水置于恒温、恒湿的实验室内平衡 2 小时后开始试验。准备适当的容器（可以防止容器内的水分挥发），在分度值为 0.01 mg 的电子天平上调零；
- 将容器放到合适位置，控制试剂针或样品针往该容器中加入规定量除气纯水，再在电子天平上称量其质量。
- 每种规定加入量重复称量 20 次，每次的实际加入量等于加入纯水的质量除以当时温度下纯水的密度，不同温度下纯水的密度见附录 B。按公式（5）计算变异系数，按公式(10)计算加样误差，结果应符合第 5.2.9 的要求。

$$B_i = (X_i - T) / T \times 100\% \quad \dots\dots\dots (10)$$

式中：

B_i ——加样偏差；

X_i ——实际加入量均值；

T —规定加入量。

6.11.2 比色法

比色法按下列步骤进行测定：

- 橙黄 G (Orange G) 血清液（色素原液）的配制，用分度值为 0.1mg 以下的电子天平称取橙黄 G (Orange G) 粉末 0.35 g，轻轻放入 10 mL 质控血清中，用混匀器慢慢混匀溶解。
- 色素原液比重的测定，使用同一比重瓶测定空比重瓶质量 m_1 ，色素原液质量 m_2 ，纯水质量 m_3 ；按公式 (11) 计算色素原液密度：

$$\rho_{\text{色}t} = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} \rho_{\text{水}t} \quad \dots\dots\dots(11)$$

式中：

$\rho_{\text{色}t}$ — t 时色素原液密度。

$\rho_{\text{水}t}$ — t 时纯水密度（参见附录 B）。

- 参考稀释液的配制、测量并计算稀释倍数，测定稀释液吸光度，称量一个空样本杯质量 m_4 ，在此空样本杯中加入约 1 mL 色素原液并称取质量 m_5 ，将样品杯中的色素原液用纯水稀释到 2000 mL 容量瓶中定容；在分光光度计上 (478nm±1nm) 测定稀释后的参考色素稀释液吸光度 A_{ref} 。

按式 (12) 计算参考稀释液稀释倍数：

$$D_{\text{ref}} = \frac{\rho_{\text{色}t}}{m_5 - m_4} \times 2000 \quad \dots\dots\dots(12)$$

- 样品加注、回收、定容及吸光度检测，将色素原液加入样品杯，放置于分析仪上，按仪器样本量设定范围分别设定规定加样量；执行自动加样，将色素原液加注到比色杯中，重复取样 5 次到不同的反应杯中。加样结束后在加试剂前停止仪器运转。

手工将比色杯内的色素原液用去离子水回收到容量为 M_{sam} (M_{sam} 按照表 3 选取) 的容量瓶中

定容；

表 3 样品量与容量瓶体积的选取

样品量 V (μL)	M_{sam} (mL)
$V \leq 10$	10
$10 < V \leq 20$	25
$20 < V \leq 50$	50

在分光光度计上 (478nm±1nm) 测定定容后的被检色素吸光度 A_{sam} ；

按式 (13) 计算实际样本加注量：

$$V = \frac{M_{\text{sam}} \times A_{\text{sam}}}{D_{\text{ref}} \times A_{\text{ref}}} \quad \dots\dots\dots(13)$$

e) 按公式（5）和（10）计算加样变异系数和加样准确度，结果应符合第 5.2.9 的要求。

6.12 孵育模块温度准确度和波动度

将精度不低于 0.1 °C 的温度检测仪的探头，或分析仪制造商提供的相同精度、且经过校准的专用测温工装，放置于制造商指定的位置，在温度显示稳定后，每隔一个分析仪的读数间隔或 30 秒测定一次温度值，测定时间 10 分钟。

计算所有次温度值的平均值和最大与最小值之差。平均值与设定温度值之差为温度准确度，最大值与最小值之差的一半为温度波动，应符合 5.2.10 的要求。

6.13 临床项目的重复性

用制造商指定的临床测试项目的试剂盒，按试剂盒的说明书进行操作检测样品，重复测定 10 次，计算 10 次测定结果的平均值和标准差，根据公式（5）计算变异系数，结果应符合 5.2.11 的要求。

6.14 样品携带污染

按如下方法进行：

1) 生产企业或制造商指定临床测试项目；

2) 准备该临床测试项目的高浓度样品（ $I_{原}$ ），高浓度样品的浓度应不低于该临床测试项目的线性区间上限；

3) 使用生产企业或制造商指定的临床测试项目的试剂，以高浓度样品和零浓度样品作为样品，按照高浓度样品、高浓度样品、高浓度样品、零浓度样品、零浓度样品、零浓度样品的顺序为一组，在分析仪上进行测试，共进行 5 组测定；

4) 记录 5 组测定结果，在每一组的测定结果当中，第 4 个样品的测试值为 I_4 ，第 6 个样品的测试值为 I_6 ；

5) 按照式（14）计算每组的携带污染率 K ；

6) 5 组的携带污染率都应符合 5.2.12 的规定。对于仅能进行定性检测的分析仪，无需计算 K ，但 I_4 、 I_5 、 I_6 应符合 5.2.12 的规定。

$$K = (I_4 - I_6) / (I_{原} - I_6) \times 100\% \quad \dots\dots\dots (14)$$

式中：

I_4 —— 每组中第 4 个样本的测定值；

I_6 —— 每组中第 6 个样本的测定值；

I_原——高浓度样品的测定值。

7.1 安全性能试验

按照 GB 4793.1、GB 4793.6、GB 4793.9 及 YY 0648 中适用的条款进行试验，应符合 5.3 的要求。

7.2 环境试验

按照GB/T 14710中试验条件进行，结果应符合5.4的要求。

7.3 电磁兼容性试验

按照GB/T 18268.1、GB/T 18268.26中规定的方法进行试验，应符合5.5的要求。

7.4 软件功能试验

通过软件操作予以验证，结果应符合 5.6 的要求。

8 标志、标签及使用说明书

应符合GB/T 29791.3的相关规定。

9 包装、贮存、运输

9.1 包装

外包所使用的图示标志应符合GB/T 191-2008的规定；
包装应能保证产品免受自然和机械性损坏；
包装箱内应附有使用说明书。

9.2 贮存

按照制造商规定的要求进行贮存。

9.3 运输

按照制造商规定的要求进行运输。

附录 A (资料性附录)

酶联免疫分析仪灵敏度溶液标准物质制备方法

酶联免疫分析仪灵敏度溶液标准物质采用重铬酸钾纯物质，以0.05 mol/L硫酸为基体配制成浓度为5 mg/L的溶液标准物质。

A.1 0.05mol/L硫酸溶液的配制

在500 mL烧杯中加入400 mL纯水，用移液管吸取2.7 mL 98%的浓硫酸加入烧杯中，搅拌均匀后放入1000 mL容量瓶中，用纯水稀释至刻度线，摇匀备用。

A.2 含铬量5mg/L重铬酸钾溶液标准物质的配制

A.2.1 步骤一

在分析天平上准确称取0.2829 g重铬酸钾置于100 mL烧杯中，用0.05 mol/L硫酸溶液溶解后，移入500 mL容量瓶中，用少量0.05 mol/L硫酸溶液洗烧杯若干次，洗液放入容量瓶中，用0.05 mol/L硫酸溶液稀释至刻度线，摇匀备用，此溶液浓度为200 mg/L。

A.2.2 步骤二

用移液管吸取浓度为200 mg/L的重铬酸钾溶液2.5 mL放入100 mL容量瓶中，用0.05 mol/L硫酸溶液稀释至刻度线，摇匀，此溶液浓度为5 mg/L。

附 录 B
(资料性附录)

标准大气压下不同温度时纯水的密度

温度 (°C)	密度 (kg/m ³)	温度 (°C)	密度 (kg/m ³)
4	999.972	18	998.595
5	999.964	19	998.404
7	999.940	20	998.203
8	999.901	21	997.991
9	999.848	22	997.769
10	999.781	23	997.537
11	999.699	24	997.295
12	999.605	25	997.043
13	999.497	26	996.782
14	999.377	27	996.511
15	999.244	28	996.231
16	999.099	29	995.943
17	998.943	30	995.645
注：以上数据引自 1990 年国际温标纯水密度表(kg/m ³)			

参 考 文 献

- [1] GB/T 42062-2022 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用
 - [2] GB/T 9969-2008工业产品使用说明书 总则
 - [3] GB/T 29791.1-2013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
 - [4] YY 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
-