



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXX—XXXX

人红细胞不规则抗体检测试剂盒

Human red blood cells for irregular antibody detection kit

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

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/T1.1-2020《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/TC136）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

人红细胞不规则抗体检测试剂盒

1 范围

本文件规定了人红细胞不规则抗体检测试剂盒的要求、标识、标签和使用说明、包装、运输和贮存，描述了相应的试验方法。

本文件适用于采用红细胞凝集反应(包括试管法、柱凝集法)筛查待检血浆、血清中不规则抗体的体外诊断检测试剂盒，不适用于血源筛查试剂盒。

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 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

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

GB/T 29791.1界定的术语和定义适用于本文件。

4 要求

4.1 外观

试剂红细胞充分静置或离心后，外观应无明显溶血；轻摇悬浮后，为鲜红色的红细胞悬液，无肉眼可见凝块及异物。

4.2 装量

应不低于产品标示的装量。

4.3 溶血率

应 $\leq 5.0\%$ 或游离血红蛋白浓度 $\leq 0.5\text{g/L}$ 。

4.4 试剂盒组成

人红细胞不规则抗体检测试剂盒一般由两支或三支单人份的O型试剂红细胞悬液组成，每支试剂红细胞均应来自单个供者，不得将来自不同供者的红细胞混合以达到所需的抗原表达。红细胞抗原格局表应至少涵盖7个血型系统(Rh、MNS、Kell、Duffy、Kidd、P1PK和Lewis系统)的常见抗原。

4.5 特异性

应满足以下要求：

a) 抗原表型：抗原格局表应至少涵盖 D、C、E、c、e、Fy^a、Fy^b、Jk^a、Jk^b、Le^a、Le^b、P1、M、N、S、s、k 抗原；理想状况下，还宜涵盖 Di^a、Mur 抗原。不规则抗体检测试剂盒抗原检测结果应符合抗原格局表中相应抗原表型的要求，抗体与相应抗原阳性红细胞为阳性反应，与相应抗原阴性红细胞为阴性反应。

b) 细胞组成：人红细胞不规则抗体检测试剂盒应至少包含 C、c、E、e、Fy^a、s 抗原纯合子试剂红细胞；理想状况下，还宜包含 M、N、Jk^a、Jk^b 抗原纯合子试剂红细胞。

c) ABO 特异性：使用抗-A、抗-B、抗-AB 抗体试剂与各支红细胞进行反应，不得发生凝集或溶血，结果应均为阴性。

4.6 抗原强度

应满足以下要求：

a) 试剂红细胞与抗 D、抗 C、抗 E、抗 c、抗 e、抗 M 抗体反应，试管法凝集强度均应不低于 2+；与 4.4 a) 中的其他抗原对应抗体反应，试管法凝集强度均应不低于 1+。

b) 使用国家参考品对人红细胞不规则抗体检测试剂盒试管法测得的效价，均应不低于国家参考品的相应效价要求。

4.7 直接抗人球蛋白试验

结果应均为阴性，不得发生凝集或溶血现象。

4.8 稳定性

应根据产品特性选用效期稳定性或热稳定性进行验证，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以下要求。

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的产品，检验其外观、装量、溶血率、特异性、抗原强度、直接抗人球蛋白试验，结果应符合 4.1~4.3、4.5~4.7 的相应要求。

注1：一般情况下，有效期为半年时选择不超过半个月的产品，有效期为3个月时选择不超过7天的产品，以此类推。但如超过规定时间，产品符合要求时也可以接受。

b) 热稳定性：在制造商规定条件下处理试剂盒，检验其外观、装量、溶血率、特异性、抗原强度、直接抗人球蛋白试验，结果应符合 4.1~4.3、4.5~4.7 的相应要求。

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。

5 试验方法

5.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查外观，判定结果是否符合 4.1 的要求。

5.2 装量

使用经校验的通用器具量取，判断结果是否符合 4.2 的要求。

5.3 溶血率

使用验证过的方法（举例见附录 A）进行检测，判定结果是否符合 4.3 的要求。

5.4 试剂盒组成

查看制造商提供的试剂盒说明书和红细胞抗原格局表，判定是否符合 4.4 的要求。

5.5 特异性

使用对应抗原的抗体进行检测，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合 4.5 的要求。

5.6 抗原强度

使用对应抗原的抗体（制造商宜优先选择有证抗体试剂、规定所选抗体的效价或使用稀释度）和抗 D（IgM）、抗 C（IgM）血型定型试剂效价测定用国家参考品进行检测，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合 4.6 的要求。

5.7 直接抗人球蛋白试验

使用抗 IgG+抗 C3d 抗体试剂进行直接抗人球蛋白试验，按其说明书要求进行检测，判定结果是否符合 4.7 的要求。

5.8 稳定性

可选用以下一种或两种方法进行验证：

5.8.1 效期稳定性：取到有效期后一定时间内的产品，按照 5.1~5.3、5.5~5.7 方法进行检测，判定结果是否符合 4.8 a) 的要求。

5.8.2 热稳定性：取有效期内试剂盒，根据制造商声称的热稳定性条件（制造商应规定热稳定性的放置时间是否与剩余效期有关），按照 5.1~5.3、5.5~5.7 方法进行检测，判定结果是否符合 4.8 b) 的要求。

6 标识、标签和使用说明

标识、标签和使用说明应符合 GB/T 29791.2 的规定。

7 包装、运输和贮存

7.1 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，无泄漏，无破损。

7.2 运输

试剂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。

7.3 贮存

试剂应在制造商规定条件下保存。

附录 A

(资料性)

溶血率的检测方法举例

A.1 概述

本附录提供了第 4 章溶血率指标中适用的检测方法,可选择溶血率或游离血红蛋白浓度进行检测;亦可使用经验证的其他方法进行检测。示例如下。

A.2 游离血红蛋白浓度检测方法

A.2.1 使用血浆游离血红蛋白测定试剂盒(比色法)进行游离血红蛋白浓度检测。

A.2.1.1 吸光度检测

将所有试剂平衡至室温。取待测红细胞悬液 250 μL , 以 3000rpm/min 的速度离心 5min, 吸取上清液, 将获得的上清液再次离心, 吸取不含有红细胞的上清液待用。采样及分离过程不得发生溶血。

用微量移液器参照下表比例进行操作:

	测试管	标准管	质控管	空白管
上清液 (μL)	100	-	-	
Hb 校准品 (μ	-	100	-	
Hb 质控品 (μ	-	-	100	-
生理盐水 (μ	-	-	-	100
R1 (μL)	1000	1000	1000	1000
R2 (μL)	1000	1000	1000	1000
R3 (μL)	100	100	100	100

加样完毕, 取 4 瓶试管帽, 将 4 瓶试管(或直接使用 EP 管)盖上, 手持试管两端, 来回颠倒 3~5 次, 混匀, 放于试管架上; 打开 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱, 将试管连同试管架一起放入水浴箱中, 孵育 20 分钟。水浴箱内水位应高于试管内液面高度, 但不得超过试管管口。

从水浴箱中取出试管及试管架。将“空白管”、“标准管”、“质控管”、“测试管”中的反应液倒入预先准备好的比色皿中, 倒入量以稍超过比色皿体积的 2/3 为宜。在 505nm 波长处进行比色。打

开样品槽，放入“空白管”比色皿调零。然后依次将“标准管”、“质控管”、“测试管”放入紫外分光光度计进行比色，读取各管吸光度。

如果游离血红蛋白浓度大于 0.400g/L，另取一测定管加入待测上清液 0.05mL 及生理盐水 0.05mL，其他按表操作，测定结果乘以 2。如结果仍超过 0.400g/L 可按比例稀释后进行测定。

检测剩余样本进行后续实验，如时间不允许，将样本连同试管架一起暂放入 2~8℃ 冰箱保存。

A.2.1.2 游离血红蛋白含量计算

利用所测得的数据计算每种人红细胞试剂游离血红蛋白含量，计算公式如下：

$$HBZ (g/L) = ODZ / ODB \times 0.100$$

$$HB (g/L) = ODC / ODB \times 0.100$$

式中：

ODZ——质控管吸光度；

ODB——标准管吸光度；

ODC——测定管管吸光度；

HBZ——质控管游离血红蛋白含量；

HB——游离血红蛋白含量。

（质控管的游离血红蛋白含量的检测范围应满足质控品的要求，进行质控管的检测是为了验证此次试验的数据可靠性）

A.3 溶血率检测方法

A.3.1 使用全自动血细胞分析仪进行溶血率检测。

A.3.1.1 人红细胞比容（HCT）、总血红蛋白浓度（HGB）的检测

将待测红细胞悬液平衡至室温，摇匀后取不少于 300ul 的红细胞悬液放入玻璃试管中，用移液枪吹打充分混匀后用全自动血细胞分析仪进行样本检测。

样品管进行一次测定，记录红细胞比容和总血红蛋白数据。

A.3.1.2 溶血率的计算

根据 A.2.1.2、A.2.2.1 的数据结果计算每种人红细胞试剂溶血率，计算公式如下：

$$RXL = (1 - HCT) \times HB / HGB \times 100\%$$

式中：

HCT——人红细胞比容；

HGB——总血红蛋白浓度；

HB——上清液游离血红蛋白浓度；

RXL——溶血率。

A.3.2 比对法确定溶血率不高于 3.0%。

A.3.2.1.取 1.5mL 离心管，加入 1000 μ L 纯化水，再吸取压积红细胞(按 80%浓度计算)40 μ L 于离心管中，使红细胞完全溶血，即作为完全溶血的 3%红细胞。

A.3.2.2.取 5mL 离心管，加入不规则抗体检测细胞保存液 2910 μ L，再加入 90 μ L 完全溶血的 3%红细胞，完全混匀，即作为 3.0%溶血的不规则抗体检测细胞上清液。

A.3.2.3.用可见分光光度计分别检测不规则抗体检测细胞上清液和 3.0%溶血的不规则抗体检测细胞上清液，测定 540nm 波长处 OD 值。

A.3.2.4.结果判定：不规则抗体检测细胞上清液 OD 值 \leq 3.0%溶血的不规则抗体检测细胞上清液 OD 值，即符合溶血率 \leq 3.0%的规定。

A.4 其他

利用所测得的数据计算每支人红细胞试剂游离血红蛋白含量或溶血率，检测结果应符合第 4 章溶血率指标的要求。

附录 B

(资料性)

抗 D(IgM)、抗 C(IgM)血型定型试剂效价测定用国家参考品

B.1 概述

本附录提供了第 4 章抗原强度指标中适用的国家参考品信息,该国家参考品为“抗 D(IgM)血型定型试剂效价测定用国家参考品(编号:360017)”、“抗 C(IgM)血型定型试剂效价测定用国家参考品(编号:360021)”。

B.2 用途

“抗 D(IgM)血型定型试剂效价测定用国家参考品”适用于评价人红细胞不规则抗体检测试剂盒中 D 抗原阳性红细胞的抗原强度。

“抗 C(IgM)血型定型试剂效价测定用国家参考品”适用于评价人红细胞不规则抗体检测试剂盒中 C 抗原阳性红细胞的抗原强度。

B.3 其他

现行国家参考品说明书可在该国家参考品的分发单位网站进行查询下载,说明书的内容可能会根据参考品的批次变更有所调整。

参 考 文 献

- [1] GB/T 42061-2022 医疗器械 质量管理体系用于法规的要求
- [2] GB/T 42062-2022 医疗器械 风险管理对医疗器械的应用