



中华人民共和国国家标准

GB/T 16699—1996

放射免疫分析试剂盒的基本要求

Principal requirements for
radioimmunoassay kits

1996-12-19 发布

1997-12-01 实施

国家技术监督局 发布

前 言

放射免疫分析及其相关技术在我国已广泛用来分析人体体液中各种微量物质,成为临床诊断和生物医学研究的重要工具。目前我国有 20 多个生产厂家生产和销售各种放射免疫分析试剂盒,一些医院的实验室也在组装自己实验室用的某些试剂盒,并非正式地向其他单位推广使用。诚然,制备各种放射免疫分析试剂盒,这是一件好事,问题在于许多放射免疫试剂盒不能得到可靠的、可以比较的结果。早在 80 年代,许多国家和国际组织就在着手制定免疫分析试剂盒的标准,根据我国的实际情况,制定放射免疫分析试剂盒的基本要求和标准,对于规范和提高放射免疫分析试剂盒的质量,同时使我国放射免疫分析试剂盒按国际上有关的规范组织生产就显得十分必要了。

本标准根据我国多年来生产放射免疫分析试剂盒的实际情况以及在这一领域标准化方面的工作。编写时既考虑我国实际,同时又尽可能和国际接轨。

本标准由中国核工业总公司提出。

本标准起草单位:中国原子能科学研究院同位素所。

本标准起草人:贺佑丰。

中华人民共和国国家标准

放射免疫分析试剂盒的基本要求

GB/T 16699—1996

Principal requirements for
radioimmunoassay kits

1 范围

本标准规定了放射免疫分析试剂盒的基本要求。本标准适用于放射免疫分析试剂盒。其基本原则也适用于非放射性同位素标记的免疫分析试剂盒。

2 总则

对放射免疫分析试剂盒及其组分建立一套标准,以使国家质检部门和生产厂家用来统一规范和管理试剂盒及其组分的生产和销售是非常必要的。

测定方法的特异性是唯一确定待测物类型和种类的能力,它取决于待测物特定分子结构和待测样品的性质。对于每种分析物的测定方法,需要有专一特异性的参考品,即合适的国际参考品或国家的参考品。

测定所得到原始数据用不同的数据处理方法,往往得到不同的结果。生产厂家应向用户推荐数据处理方法,最好是世界卫生组织(WHO)已推荐的数据处理程序。

使用放射免疫分析试剂盒时操作人员所受到的辐射损伤是可以忽略的,但仍应严格遵守操作开放性放射性物质的有关规定。

3 放射免疫分析试剂盒主要组分及其要求

放射免疫分析试剂盒系指一整套试剂和材料,用于检测分析物并可达到一定的分析精确度。

试剂盒由一些相应的组分组成,一般包括标记物、抗体(结合蛋白)、标准品和质控血清、分离剂和缓冲液等。使用固相分离技术时,抗体或抗原往往结合在固相支持物上。有些试剂盒还配有其他材料,如滤膜、取血纸片等。

试剂盒应严格按照其说明书的规定使用。试剂盒的性能和技术指标是由试剂盒的内在质量、实验室条件和操作者水平所决定的。试剂盒的每一组分性能是可以进行质控的,但每一组分最终的可适用性只有当它与所有其他组分一起并把试剂盒当作整体来使用时才能得以确定。

3.1 标记物

标记物可以是标记抗原或标记抗体。标记抗原应由免疫活性好的抗原或纯度相应的化学衍生物来制备;标记抗体的原料可以是纯化的免疫球蛋白部分或杂交瘤技术生产的单克隆抗体。

标记物是放射免疫分析试剂盒中十分重要而且容易变化的组分。标记物应有严格的质量控制指标:放射化学纯度一般应大于 90%。

标记物的放射性比活度一般根据试剂盒所采用的方法学、待测分析物的测量范围和方法的灵敏度应有适当的要求。

标记抗原的免疫反应性用过量抗体结合来检定,一般应大于 80%;标记抗体的免疫反应性可以选

用适当的方法检定。

3.2 抗体

抗体是试剂盒的重要组成部分。

为了制备特异性好的多克隆抗体,应尽可能使用纯度高的免疫原,同时选用对相应免疫原有较强免疫应答的动物和合适的免疫程序。

试剂盒中使用的抗体,应该测定其滴度、交叉反应性和亲和性,并符合试剂盒的技术指标。

在杂交瘤技术中,对免疫原的纯度要求不像制备多克隆抗体时那样苛刻,使用纯度不高的免疫原,也可以制备出特异性专一的单克隆抗体。单克隆抗体的优点在于特异性好,但其亲和性往往不及多克隆抗体。

应该指出的是,某一抗体适合某一方法学的试剂盒,但它不一定适合其他方法学的试剂盒。

3.3 分离剂

分离剂应使结合部分和游离部分尽可能完全分离,尽可能不受温度、时间、pH 和离子强度等因素的影响,非特异结合低,操作相对简便。

3.4 质控血清

质控血清是用于检定实验室内一系列试验的内质量控制,或分发到不同地区检定实验室之间的外质量控制所用的血清。

质控血清含高、中、低不同浓度内源性待测分析物的样品。

3.5 标准品

试剂盒中的标准品应含有与待测物相同分子的物质或者在该测定体系中,此标准品在其分析物测量浓度范围内,显示出与分析物呈平行响应关系的物质。

每一批试剂盒的标准品,应经严格鉴定并与国际的或国家的参考标准校准,校准时,应使用含待测分析物的生物体液(如血清)来稀释。试剂盒中标准品的标定,应根据若干次单独测定的结果。

试剂盒中的标准品应用加速降解或其他合适的方法来检验其稳定性,以保证在其运输和使用环境中是稳定的。

4 放射免疫分析试剂盒的标签

试剂盒的所有组分容器及外包装都应有标签,其内容符合有关规定。

4.1 容器标签

包括标准的各组分容器上的标签,内容至少应包括下述几个方面:

a) 名称

一般应使用国际非专利商品名,有时也可以使用专利商品名。

b) 生产厂家名称

指已注册或持有许可证的生产厂家中文全名。

c) 产品批号

从产品批号即可判明生产厂家生产该组分的生产日期。

d) 组分的浓度

表示浓度时,应用 SI 单位。

e) 保存条件和失效期

保存条件和失效期一并说明。

f) 抗体的标签应注明是由哪种动物产生的,使用单克隆抗体或基因工程产品也应加以说明。

g) 注意事项

如果某一组分对人有危害必须注明。注明“放射性物质”,并用国际上公认的符号标明。

4.2 外包装上的标签

外包装上的标签除容器标签上的有关内容如生产厂家、名称外,至少还要有下述内容:

- a) 注册商标;
- b) 产品代码;
- c) 批准文号;
- d) 每种试剂盒的规格、组分、组分的数量;
- e) 注明运输和保存条件。

5 试剂盒说明书的要求

每个试剂盒都应附有详细的说明书,说明书上的内容除重复外包装标签上的有关部分外,重点说明试剂盒的使用规程,说明书还要包括下述内容:

5.1 试剂盒的用途

指出试剂盒的用途,并明确指出供体外诊断用。

5.2 方法的原理

简单扼要地描述方法的原理和分离方法并提供参考文献。

5.3 试验的解释和描述

说明待测分析物的生理特征及测定的临床意义,并附有临床应用的参考文献。

5.4 试剂盒中提供的试剂和材料

逐项列出这些试剂和材料的名称、数量、组成和特性。如某一组分可用于不同批号的同种试剂盒或其他试剂盒,必须清楚地加以说明。试剂如需要稀释方可使用时,必须说明稀释方法。

5.5 试剂盒中未提供的试剂、材料和仪器

为了按说明书要求进行试验,需要用户自己准备的试剂、材料和仪器的名称、性能和规格。

5.6 样品收集和保存

- a) 特别注意样品的收集,包括收集样品的特殊要求,如肾素的测定,何时取样以及患者的体位。
- b) 添加剂,指保持样品不变质而加入的防腐剂。
- c) 已知干扰剂,特殊的抗凝剂。
- d) 样品的保存、运输和管理。

5.7 分析程序

试验程序的描述必须准确,而且易于理解。使用者必须按此程序进行试验,如加样、温育、离心、洗涤和测量,每一步都描述得准确无误。离心的条件,仅给出转速是不够的,必须说明离心力(g)的大小。

5.8 结果计算

生产厂家推荐数据处理的方法,并给出计算实例,包括剂量-响应曲线。

5.9 试剂盒的操作特性和技术指标

生产厂家提供试剂盒的性能和技术指标:如非特异结合、灵敏度及其计算方法、特异性、测量范围、精密度和准确性,以及正常值和病理值的参考值。

5.10 试剂盒的局限性

5.11 生产厂家名称、详细地址及电话和传真

5.12 批准的生产文号

5.13 注意事项

说明书上注明使用该试剂盒时的注意事项,如遵守放射性物质的操作规定、防止微生物污染、化学毒性以及操作中其他的注意事项。

5.14 参考文献

6 评价放射免疫分析试剂盒性能的准则

6.1 试剂盒随机误差评估

a) 批内精密度和灵敏度

在给定的剂量范围内,试验结果在重复测量中的再现性(精密度)将决定该试剂盒的可靠工作范围。试剂盒的设计应保证对处在临床意义最为重要的待测分析物浓度范围内有最大的精密度。

进行一系列测定后,应该定出这些试样用一种测定方法多次重复测定的剂量-响应曲线,对于与临床密切相关的待测分析物浓度范围内的精密度,其批内变异系数应小于10%($n>10$)。

灵敏度是与零剂量相区别的可测最小分析物量,一般用零管结合率减去2倍标准差($n>10$)所对应的剂量表示。

b) 批间精密度

批间精密度可能受多种因素的影响。诸如操作人员的变动、组分变化或者使用不同批号的组分等。试验不受这些因素影响的能力称为抗干扰性。作为原则之一,批间分析的误差应在分析物浓度范围内至少三个剂量水平上评价,分析物浓度应涵盖临床使用可能的范围,批间变异系数应不小于15%($n\geq 10$)。

6.2 测定方法有效性评估

免疫试剂盒性能的有效性评价,涉及到某些原则和实际问题。对一些化学结构已知的分析物,可采用“参考法”。对类固醇或其他小分子量化合物,可用同位素稀释的质谱碎片法测定。但对测定生物体液中分析物浓度的“参考法”,应慎重使用,因为目前这些方法尚缺少有关其精确度、再现性和偏倚的数据。

用来评价测定方法有效性的其他方法还有许多,都应当征得国家质检部门的同意,以下是一些有价值的评价标准,但仅用其中某一项尚不足以证明评价测定方法的有效性。

——分析物和校正物均溶于试剂盒所测生物体液中,两者的测定值应是一致的。

——加入该生物体液中数量已知的校正物的回收率。

——进一步用色层法纯化样品后,和其他方法比较而进行测量。

——对已知生理和病理情况下得到的试样,与使用其他方法所得结果相一致。

6.3 特异性

抗体的特异性表征并不足以保证整个试剂盒的特异性。生产厂家应收集有关已知药物可能有干扰作用的证据特别是那些与待测物化学结构上相似,包括待测分析物的代谢产物所引起的干扰。

6.4 试剂盒在临床诊断上的有效性

开发一个新诊断试剂盒,那么该试剂盒的临床诊断有效性应加以评价。有效性是基于大量的测定结果,至少要有不同地区五个市级以上医院,每个医院提供30例以上临床检验结果。

试剂盒测量结果用“阴性”或“阳性”表示(如对怀孕和对肝炎抗原的测定),此类试剂盒的有效性,可以用较为简单的临床试验和假阳性、假阴性之比来评价。

有明确临床用途的试剂盒,应提供在指定人群中分析物的浓度范围。不同人群中分析物浓度范围也不尽相同(由于年龄、性别、职业和其他因素),使用者有责任在试验欲进行的指定人群中确定并建立本实验室的正常值范围。

试剂盒的临床有效性也可能取决于其他因素,生产厂家应当估计和提供这些因素对分析影响的有关资料。包括:

——血浆和血清测定之间的差别,抗凝剂的影响。

——收集试样时的条件(如禁食、时间、姿势等)。分离(快冷)和贮存(冰冻在 -20°C 以下)等。

——干扰药物和其他物质对测定方法本身和分析物代谢产物的影响(如孕期中的一类固醇结合蛋白)。

6.5 试剂盒组分和试剂盒性能的稳定性

采用加速降解实验,评估试剂在干燥状态或溶解后在溶液状态在所推荐的保存条件下的稳定性。

a) 试剂盒中每一个组分在溶解前后,即处于干燥状态和溶液状态时的稳定性。

b) 按生产厂家的规定使用时,整个试剂盒的性能特点。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
放射免疫分析试剂盒的基本要求
GB/T 16699—1996

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电 话:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 10 千字
1997 年 9 月第一版 1997 年 9 月第一次印刷
印数 1—350

*

书号: 155066·1-14013 定价 8.00 元

*

标 目 315—25



GB/T 16699—1996