



中华人民共和国国家标准

GB/T 15477—1995

三碘甲腺原氨酸、甲状腺素放射免疫 分析试剂盒

Triiodothyronine, thyroxine radioimmunoassay kit

1995-01-27 发布

1995-10-01 实施

国家技术监督局 发布

中华人民共和国国家标准

三碘甲腺原氨酸、甲状腺素放射免疫 分析试剂盒

GB/T 15477—1995

Triiodothyronine, thyroxine radioimmunoassay kit

1 主题内容与适用范围

本标准规定了三碘甲腺原氨酸(T_3)、甲状腺素(T_4)放射免疫分析试剂盒的技术条件。

本标准适用于聚乙二醇(PEG)为分离剂的 T_3 、 T_4 放射免疫分析试剂盒。采用其它分离方法的 T_3 、 T_4 放射免疫分析试剂盒也可参照使用。

2 引用标准

GB 11806 放射性物质安全运输规定

EJ/T 804 放射性同位素产品代号

3 术语

3.1 放射免疫分析试剂盒 radioimmunoassay kit

由放射性示踪物、参照物(标准品)、结合试剂及分离剂等有关材料组装在一起,按照其操作说明,利用抗原抗体特异性结合反应,在体外测定某一特定物质量,并能达到一定精确度的试剂组合。

3.2 非特异结合率 nonspecific binding percent(NSB)

放射免疫分析中,不加抗体时,标记抗原与其他试剂的结合的放射性计数率与加入的总放射性计数率的比值,以百分数表示。

3.3 最大结合率 maximum binding percent(B_0)

放射免疫分析中,在不加标准物或被测定物的条件下,即零剂量时,标记抗原与抗体结合的放射性计数率与加入的总放射性计数率的比值,以百分数表示。又称零标准管结合率。

3.4 剂量反应曲线 dose-response curve

标记抗原和非标记抗原与抗体结合数量之间的函数关系图,俗称标准曲线。

3.5 批内变异系数 within assay variation

在一次测定中,经同一样品的多次测定而确定的变异系数。

3.6 批间变异系数 between assay variation

在多次测定中,经同一样品的多次测定而确定的变异系数。

3.7 回收率 recovery

在放射免疫分析中,测得的被测物的量与加入的被测物的已知量之比。

3.8 标准品 standard

指放射免疫分析中,用于度量被测物的参照物。该参照物一般与被测物有相同的化学结构和免疫活性,且性能稳定。

3.9 质量控制血清 quality control serum

国家技术监督局1995-01-27批准

1995-10-01实施

用来评价和检定测定试剂或试剂盒的血清。

4 产品代号及试剂盒的组成

4.1 产品代号

根据 EJ/T 804 的规定编写产品的代号; T_3 放射免疫试剂盒产品代号 RIAI1251011 $\times$, T_4 的放射免疫试剂盒产品代号 RIAI1251021 $\times$ 。

4.2 试剂盒的组成

- a. ^{125}I -标记抗原;
- b. 标准品;
- c. 抗血清;
- d. 分离剂(PEG)。

5 技术要求

5.1 灵敏度

T_3 的浓度不低于 0.3 nmol/L, T_4 的浓度不低于 6.0 nmol/L。

5.2 非特异结合率

不大于 10%; 其它分离方法不大于 5%。

5.3 最大结合率

应在 40%~65%之间。

5.4 精密度

用样品测定值的变异系数表示。批内变异系数不大于 10% ($n \geq 10$), 批间变异系数不大于 15% ($n \geq 10$)。

5.5 准确度

用质量控制血清的测定结果表示。在一次测定中, 低、中、高三个不同剂量的质量控制血清的测定结果, 至少有两个在允许范围 ($\bar{x} \pm 2SD$) 内。

5.6 回收率

T_3 应在 95%~105%之间, T_4 应在 97%~102%之间。

5.7 相关系数 r 和有效剂量值

剂量反应曲线的相关系数 r 的绝对值应不小于 0.99。有效剂量 ED_{25} , ED_{50} 和 ED_{75} 值的变化应在相应的允许范围内。

5.8 测定范围

T_3 的浓度应在 0~13 nmol/L, T_4 的浓度应在 0~309 nmol/L。

5.9 有效期

在 2~8℃ 条件下贮存, 从出厂日期计算有效期不少于 35 d。

6 试验方法

6.1 灵敏度的测定

按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)的实验程序操作。以 B/T 值为纵坐标, 以 T_3 、 T_4 的浓度为横坐标, 在直角坐标纸上作剂量反应曲线。求出零标准管结合率 (B_0) 的标准差 SD ($n \geq 10$)。以零标准管结合率的均值减去 $2SD$ 所得结合率的相应剂量值, 即为试剂盒的灵敏度。

6.2 非特异结合率(NSB)的测定

取两支放免试管, 分别加入与测定样品相同体积的 T_3 、 T_4 零标准血清和对应的 ^{125}I -标记抗原及与抗血清相同体积的温育液, 然后按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作。非特异结合率 NSB

按公式(1)计算。

$$NSB = \frac{C_n - C_b}{C_t - C_b} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: C_n ——非特异管计数率;
 C_b ——仪器本底计数率;
 C_t ——总放射性管计数率。

6.3 最大结合率(B_0)的测定

按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作,最大结合率 B_0 按公式(2)计算。

$$B_0 = \frac{C_0 - C_n}{C_t - C_b} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中: C_0 ——零标准管计数率。

6.4 精密度的测定

精密度用质量控制血清或样品测定值的变异系数表示。按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作,变异系数 CV 按公式(3)计算。

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

式中: SD —— n 次测定 T_3 、 T_4 的浓度值的标准偏差, nmol/L;

$\bar{x}$ —— n 次测定 T_3 、 T_4 的浓度的均值($n \geq 10$), nmol/L。

6.5 准确度的测定

按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作,计算质量控制血清测定值的 SD 。

6.6 回收率的测定

在已知 T_3 、 T_4 浓度的血样中加入一定量的 T_3 、 T_4 , 然后测定血样中总 T_3 、 T_4 浓度。按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作,回收率 R 按公式(4)计算。

$$R = \frac{D_s - D_k}{D_a} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中: D_s ——血样中测定的总 T_3 、 T_4 的浓度值, nmol/L;

D_k ——血样中已知 T_3 、 T_4 的浓度值, nmol/L;

D_a ——血样中加入的 T_3 、 T_4 的浓度值, nmol/L。

6.7 剂量反应曲线

6.7.1 曲线的绘制

按附录 A(补充件)和附录 B(补充件)实验程序操作。各标准剂量点的放射性结合率 B/B_0 按公式(5)计算。

$$B/B_0 = \frac{C_s - C_n}{C_0 - C_n} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中: C_s ——各标准剂量点计数率。

以各标准剂量点的放射性结合率为纵坐标,以各相应标准剂量点的浓度为横坐标,在半对数坐标纸上绘制剂量反应曲线。

6.7.2 r 、 ED 值计算

由 $\text{Logit}(B/B_0)$ 对剂量的对数值作图,通过直线回归处理求出 r 、 ED_{25} 、 ED_{50} 、 ED_{75} 。以 ED_{25} 、 ED_{50} 、 ED_{75} 的值(即结合率 B/B_0 分别为 25%、50%和 75%时的对应值)来判断剂量反应曲线的漂移及偏倚。

7 检验规则

7.1 型式检验

产品投产前及投产后工艺流程的改变和原料变更,均须按本标准技术要求中规定的内容检验。

7.2 出厂检验

7.2.1 全检项目

对每批生产的每一个试剂盒都要实行检查,检查内容包括试剂盒组份、包装及标志应符合本标准的规定。

7.2.2 抽检项目

试剂盒出厂前由生产单位的质量检验部门进行抽检。抽检项目包括 NSB 、 B_0 、剂量反应曲线及质量控制血清测定值应符合本标准的规定。

7.2.3 抽检方式

抽检采取随机取样方式。批量 100 盒以下抽取 1 盒,101~300 盒抽取 2 盒,301~500 盒抽取 3 盒,501 盒以上抽取 4 盒。如果检验结果有一项不符合本标准的要求,应重新以两倍的数量随机取样进行核验。重新核验的结果,即使只有一项指标不符合本标准所规定的要求,则整批试剂盒判为不合格。

7.2.4 检验证书

检验合格应填写产品合格证书,见附录 C(补充件)。

8 标志、包装、贮存和运输

8.1 标志

8.1.1 试剂盒封面标志

试剂盒封面标志应包括:

- a. 生产厂家;
- b. 产品名称;
- c. 注册商标;
- d. 产品代号;
- e. 产品批号;
- f. 批准文号;
- g. 注意事项;
- h. 有效期。

8.1.2 试剂标志

试剂瓶标志应包括:

- a. 名称;
- b. 批号;
- c. 浓度;
- d. 贮存条件;
- e. 失效期。

8.1.3 放射性试剂瓶标志

放射性试剂瓶标志应包括:

- a. 名称;
- b. 批号;
- c. 放射性浓度;
- d. 测量日期;
- e. 放射性标志。

8.2 包装和运输

8.2.1 包装

包装盒内必须附有产品使用说明书。说明书内容应包括：

- a. 生产厂家；
- b. 产品名称；
- c. 产品代号；
- d. 批准文号；
- e. 产品批号；
- f. 适用范围；
- g. 方法原理；
- h. 试剂配制；
- i. 操作程序；
- j. 结果计算；
- k. 技术指标；
- l. 注意事项；
- m. 有效期；
- n. 参考文献。

包装必须保证运输及防护安全。防震、防泄漏、不怕倒置、不易破碎。

8.2.2 运输

运输应符合 GB 11806 的规定。

8.3 贮存

包装好的试剂盒应贮于 2~8℃ 的环境中。

附 录 A
T₃ 放射免疫分析方法(PEG 法)
(补充件)

A1 原理

人血液中大部分 T₃ 与结合蛋白结合,游离部分甚少。本方法采用 ANS 为阻断剂,使结合在结合蛋白上的 T₃ 解离出来。解离出来的 T₃ 和原有游离 T₃ 与加入的¹²⁵I-T₃ 同有限量的 T₃ 抗体在适宜条件下进行竞争性结合反应。一部分¹²⁵I-T₃ 与抗体结合,而另一部分则呈游离状态。其游离的量与血样或标准中 T₃ 的浓度有关。T₃ 浓度大,则游离的¹²⁵I-T₃ 量就多;反之,T₃ 浓度小,游离的¹²⁵I-T₃ 量少。用聚乙二醇(PEG)作分离剂将抗原-抗体复合物沉淀下来,测定其放射性计数率。用含 T₃ 不同浓度的血清作为标准品,就可以得到有函数关系的剂量反应曲线。从剂量反应曲线上查出被测样品中 T₃ 的浓度。

A2 仪器及设备

一般生物化学实验室仪器设备及 γ 计数器、放免试管、微量加样器、负压泵、离心机和恒温水浴锅等。

A3 实验程序

- a. 打开试剂盒,按说明书要求配制有关试剂。待试剂平衡到室温后再使用。
- b. 取放免试管进行编号。1,2 为 T 管;3,4 为 NSB 管;5—16 为标准管;17 管后为待测样品管。按表 A1 操作顺序实验。

表 A1 T₃ 浓度测定操作顺序表

试管组	T ₃ 标准	待测血样	¹²⁵ I-T ₃	抗 T ₃ 血清	温育液	PEG
T 1—2	—	—	200	—	—	—
NSB 3—4	50	—	200	—	200	500
标准 5—16	50	—	200	200	—	500
样品 17—	—	50	200	200	—	500

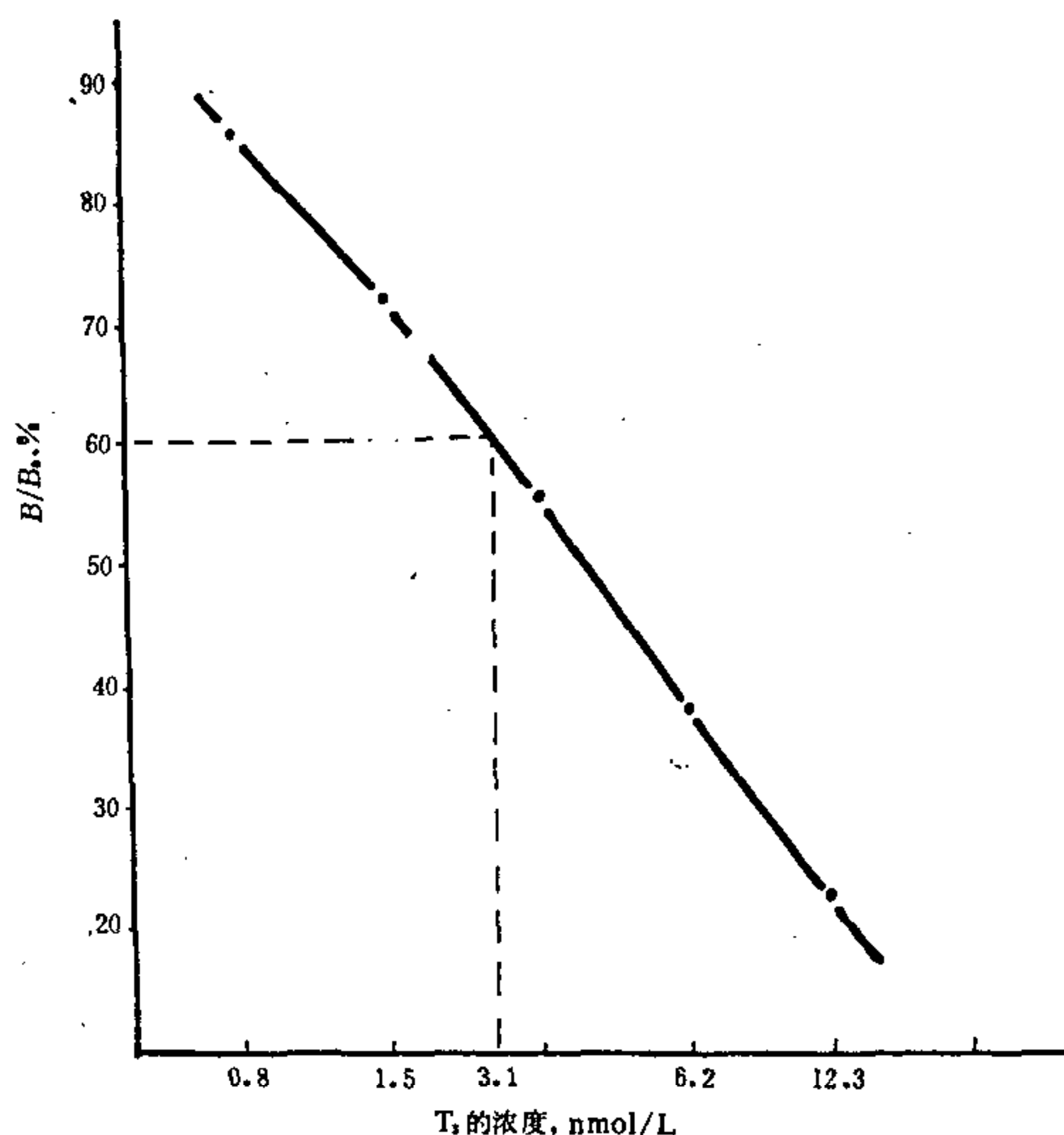
加入 PEG 后,混匀,离心 15~20 min(1 500×g),弃去上清液(T 管除外)。测定 T 管和各管放射性计数率。

- c. 各管的计数率减去非特异管的计数率,计算出标准管和样品管的 B/B_0 ,见式 A1。以各标准管的 B/B_0 为纵坐标,T₃ 的浓度为横坐标,在半对数坐标纸上绘制剂量反应曲线。根据待测样品的 B/B_0 在剂量反应曲线上查得样品 T₃ 的浓度,见图 A1。

$$B/B_0 = \frac{C_s(C_p) - C_n}{C_0 - C_n} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A1)$$

式中: C_s ——各标准剂量点计数率;

C_p ——待测样品计数率。

图 A1 T₄ 放射免疫剂量反应曲线

附录 B

T₄ 放射免疫分析方法(PEG 法)

(补充件)

B1 原理

甲状腺分泌的激素 90% 以上是 T₄, 分子量为 777, 人血清中大部分 T₄ 与结合蛋白结合, 游离部分甚少。本方法采用 ANS 为阻断剂, 使结合在结合蛋白上的 T₄ 解离出来。解离出来的 T₄ 和原有游离 T₄ 与加入的 ¹²⁵I-T₄ 同有限量的 T₄ 抗体在适宜条件下进行竞争性结合反应。一部分 ¹²⁵I-T₄ 与抗体结合, 而另一部分则呈游离状态。其游离的量与血样或标准中 T₄ 的浓度有关。T₄ 浓度大, 则游离的 ¹²⁵I-T₄ 量就多; 反之, T₄ 浓度小, 游离的 ¹²⁵I-T₄ 量少。用聚乙二醇(PEG)作分离剂将抗原-抗体复合物沉淀下来, 测定其放射性计数率。由上述计数率与不同浓度的 T₄ 标准品得到有函数关系的剂量反应曲线。从剂量反应曲线上查出被测样品中 T₄ 的浓度。

B2 仪器及设备

一般生物化学实验室仪器设备及 γ 计数器、放免试管、微量加样器、负压泵、离心机和恒温水浴锅等。

B3 实验程序

- a. 打开试剂盒, 按说明书要求配制有关试剂。待试剂平衡到室温后再使用。

b. 取放免试管进行编号。1,2 为 T 管;3,4 为 NSB 管;5—16 为标准管;17 管后为待测样品管。按表 B1 操作顺序实验。

表 B1 T₄ 浓度测定操作顺序表 μl

试管组	T ₄ 标准	待测血样	¹²⁵ I-T ₄	抗 T ₄ 血清	温育液	37℃温育 45 min	PEG
T 1—2	—	—	200	—	—		—
NSB 3—4	50	—	200	—	200		500
标准 5—16	50	—	200	200	—		500
样品 17—	—	50	200	200	—		500

加入 PEG 后,混匀,离心 15~20 min(1 500×g),弃去上清液(T 管除外)。测定 T 管和各管放射性计数率。

c. 各管的计数率减去非特异管的计数率,计算出标准管和样品管的 B/B₀,见式 B1。以各标准管的 B/B₀ 为纵坐标,T₄ 的浓度为横坐标,在半对数坐标纸上绘制剂量反应曲线。根据待测样品的 B/B₀ 在剂量反应曲线上查得样品 T₄ 的浓度,见图 B1。

$$B/B_0 = \frac{C_s(C_p) - C_n}{C_0 - C_n} \times 100\%$$

.....(B1)

式中: C_s——各标准剂量点计数率;
C_p——待测样品计数率。

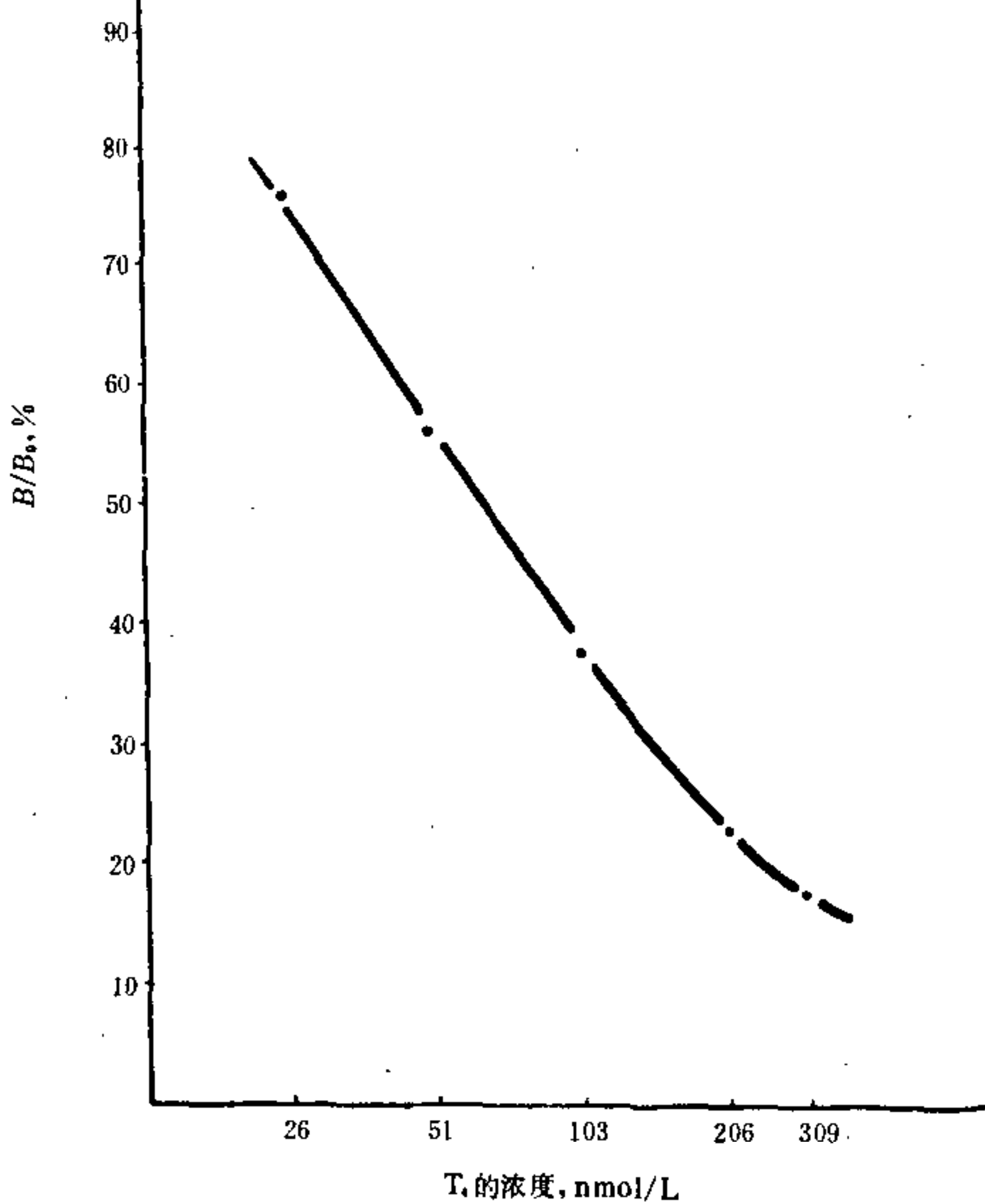


图 B1 T₄ 放射免疫剂量反应曲线

附 录 C
放射免疫分析试剂盒检验合格证书
(补充件)

产品检验合格后,应填写检验合格证书。
合格证书见表 C1

表 C1 放射免疫分析试剂盒检验合格证书

产品名称	批号		生产人员							
标记物	放化纯度 %		放射性比度 kBq/μg			每瓶放射性浓度 kBq				
标准品	批号									
抗血清	批号									
检验指标	NSB	B ₀	r	ED25	ED50	ED75	质量控制血清			
							批号			
							剂量	低	中	高
							范围			
							实测			
结论										

检验 复核 检验单位印章 年 月 日

附加说明：
本标准由中国核工业总公司提出。
本标准由中国原子能科学研究院同位素所负责起草。
本标准主要起草人王衍真、李庆恕。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
三碘甲腺原氨酸、甲状腺素放射免疫
分析试剂盒

GB/T 15477—1995

*

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:8522112

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 3/4 字数 17 千字
1996年4月第一版 1996年4月第一次印刷
印数 1—1 000

*

书号: 155066·1-12283

*

标 目 286—19