

ICS 25.040

CCS J 28

T/HNBX

海南省标准化协会团体标准

T/HNBX XXXX—XXXX

T/CIET XXXX—XXXX

免疫显色试剂

Immunochromogenic reagent

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

海南省标准化协会
中国国际经济技术合作促进会

发布

目 次

前言	错误! 未定义书签。
1 范围	错误! 未定义书签。
2 规范性引用文件	错误! 未定义书签。
3 术语和定义	错误! 未定义书签。
4 缩略语	错误! 未定义书签。
5 基本要求	2
5.1 人员资质	错误! 未定义书签。
5.2 实验室环境	错误! 未定义书签。
5.3 安全与隐私	错误! 未定义书签。
5.4 其他要求	错误! 未定义书签。
6 AI 辅助诊断系统	错误! 未定义书签。
6.1 识别对象	错误! 未定义书签。
6.2 功能要求	错误! 未定义书签。
6.3 性能要求	错误! 未定义书签。
6.4 患者信息管理	错误! 未定义书签。
7 结果复核及诊断报告	错误! 未定义书签。
7.1 结果复核	错误! 未定义书签。
7.2 诊断报告	错误! 未定义书签。
8 安全要求	错误! 未定义书签。
8.1 设备安全	错误! 未定义书签。
8.2 网络安全	错误! 未定义书签。
8.3 数据存储与安全	错误! 未定义书签。
参考文献	错误! 未定义书签。

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。

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。

本文件由广州安必平医药科技股份有限公司提出。

本文件由海南省标准化协会、中国国际经济技术合作促进会共同归口。

本文件起草单位：广州安必平医药科技股份有限公司、上海交通大学系统生物医学研究院、阿卡姆依（杭州）科技有限公司、厦门通灵生物医药科技股份有限公司、武汉呵尔医疗科技发展有限公司。

本文件主要起草人：朱俊轩、李玉、沈金花、黄健、汪峻伊、郭金灿、毛海湛。

免疫显色试剂

1 范围

本文件规定了免疫显色试剂的技术要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存等内容。

本文件适用于免疫组织化学（IHC）和/或免疫细胞化学（ICC）检测中，以酶或其他标记物介导显色反应的免疫显色试剂（以下简称“试剂”），包括但不限于辣根过氧化物酶（HRP）、碱性磷酸酶（AP）标记体系相关显色试剂，不适用于直接荧光标记类试剂。

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 包装储运图形符号标志

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

YY/T 0316—2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用

YY/T 0466.1—2023 医疗器械 用于制造商提供信息的符号 第1部分：通用要求

YY/T 0993—2015 医疗器械生物学评价 纳米材料：体外细胞毒性试验（MTT试验和LDH试验）

YY/T 1180—2021 人类白细胞抗原（HLA）基因分型检测试剂盒

YY/T 1579—2018 体外诊断医疗器械体外诊断试剂稳定性评价

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

免疫显色试剂 immunochromogenic reagent

以抗原与抗体的特异性免疫反应为基础，利用显色剂与反应体系中的标记物（如酶）发生特异性化学反应产生可见颜色变化，用于对样本中目标分析物进行定性或半定量检测的试剂。

3.2

显色剂 chromogenic substrate

在免疫显色反应中，能与反应体系中的特定成分（如酶催化产物）发生化学反应，产生可观察颜色变化的化学物质。

3.3

弱阳性对照 weak-positive control

已知目标抗原低水平表达的标准样本，可为人源或动物源组织/细胞样本，其抗原含量应稳定且处于试剂检测灵敏度临界范围内，用于验证试剂对低丰度目标的检出能力。

3.4

多组织对照 multitude tissue control

在一张切片中同时存有多种正常组织和（或）病变组织（如肿瘤组织、炎症组织）的标准样本，包括容易产生非特异性染色和（或）背景染色的组织。

3.5

阴性抗体对照试剂 negative antibody control

与多组织对照中所有组织/细胞的抗原均无特异性结合能力的抗体试剂(如无关抗体、免疫前血清),用于排除非特异性抗原抗体反应的干扰。

3.6

非特异性染色 non-specific staining

免疫染色过程中,除特异性抗原抗体反应外,由抗体交叉反应、蛋白吸附、标记物非特异性结合等因素导致的染色现象。

3.7

背景染色 background staining

在免疫染色过程中,与目标抗原定位无关的弥漫性、非特异性着色现象,通常表现为组织/细胞背景区域的均匀着色。

3.8

阳性对照 positive control

已知目标抗原稳定且中等水平以上表达的标准样本(人源或动物源组织/细胞),用于验证试剂体系有效性及操作流程的规范性。

3.9

阳性 positive

在显微镜下,目标抗原的特定定位区域(如细胞膜、细胞质、细胞核)出现清晰可辨的特异性呈色反应,无非特异性染色或背景染色干扰判读。

3.10

阴性 negative

在显微镜下,目标抗原的特定定位区域未出现呈色反应,或仅出现可忽略的背景着色,不影响阴性结果判读。

3.11

批内重复性 intra-batch reproducibility

同一批号试剂对相同样本进行多次检测的结果一致性。

3.12

批间重复性 inter-batch reproducibility

不同批号试剂对相同样本进行检测的结果一致性。

4 技术要求

4.1 外观

应符合以下要求:

- 试剂盒外观应整洁,标签信息完整清晰,无模糊、脱落;
- 包装完整、无破损、液体无渗漏,密封件完好;
- 液体试剂应澄清、透明,无肉眼可见沉淀、浑浊、絮状物或异物;粉剂试剂(若有)应均匀、无结块、无变色。

4.2 灵敏度

弱阳性对照经试剂检测后,染色结果为阳性;特异性着色定位准确,背景染色和非特异性染色均不影响目标信号判读(背景染色评分 \leq 1级)。

4.3 特异性

应满足以下要求:

- 多组织对照经阴性抗体对照试剂检测后,染色结果为阴性,无明显背景染色和非特异性染色(背景染色评分 \leq 1级);
- 多组织对照经目标抗体试剂检测后,仅目标抗原阳性组织出现特异性着色,其他组织无特异性着色,无非特异性交叉反应。

4.4 重复性

应满足以下要求：

- a) 批内重复性：取同一组织来源、同一目标抗原的6张组织片（或细胞片），用同一批号试剂进行检测，染色强度差异 \leq 1级，特异性着色定位一致，无明显差异；
- b) 批间重复性：取同一组织来源、同一目标抗原的6张组织片（或细胞片），分别用3个不同批号试剂进行检测，染色强度差异 \leq 1级，特异性着色定位一致，无明显差异。

注：染色强度按本文件附录A的要求执行。

4.5 符合性

应满足以下要求：

- a) 阳性对照经试剂检测后，染色结果为阳性，特异性着色定位准确，无背景染色及非特异性染色（背景染色评分 \leq 1级）；
- b) 阴性对照（多组织对照中目标抗原阴性组织或阴性抗体对照）经试剂检测后，染色结果为阴性；
- c) 空白对照（不加目标抗体试剂）经试剂检测后，染色结果为阴性，无特异性着色。

4.6 稳定性

可选用以下方法进行验证：

- a) 效期稳定性：产品在规定的储存条件下，至有效期截止时，按本文件第5章规定的方法进行检测，外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性应符合本文件的要求；
- b) 加速稳定性：取有效期内的产品，按YY/T 1579—2018规定的加速试验条件（如37℃放置14天，或根据产品特性设定合理条件）处理后，外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性应符合本文件的要求。
- c) 运输稳定性：取有效期内的产品，按本文件7.3规定的运输条件模拟运输（如温度波动、震动测试）后，外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性应符合本文件的要求。

注1：加速稳定性仅用于产品稳定性趋势评估，不能直接推导产品有效期，产品有效期应基于长期稳定性数据确定。

注2：生产企业应根据产品特性，至少选择效期稳定性和加速稳定性进行验证，必要时增加运输稳定性验证，确保产品在全生命周期内性能符合要求。

4.7 安全性（若适用）

试剂应符合以下要求：

- a) 若试剂含酶、生物活性成分，应无外源污染（如细菌、真菌、支原体等微生物污染）；
- b) 若试剂含毒性成分（如某些显色底物），生产企业应在说明书中明确警示信息及安全防护要求；

5 试验方法

5.1 试验环境与条件

5.1.1 除另有规定外，试验环境温度应控制在 (20 ± 5) ℃，相对湿度应控制在 $(40\sim 60)\%$ 。

5.1.2 试验所用纯水应符合GB/T 6682—2008中一级水的要求。

5.1.3 试验所用仪器设备（如显微镜、恒温箱、离心机等）应经校准或验证，且在有效期内。

5.1.4 试验所用对照样本（阳性对照、弱阳性对照、多组织对照等）应经过验证，抗原表达稳定、均一，且在有效期内储存使用。

5.1.5 除另有规定外，所有试验操作均应严格按照试剂使用说明书的要求执行。

5.2 外观

在自然光或近似自然光条件下，目测及手感检查以下内容：

- a) 外包装检查：目测观察试剂盒外包装的整洁度、标签信息完整性及图形标志规范性；
- b) 内包装及内容物检查：打开外包装，检查内包装密封性、有无破损漏液；取出试剂，目测观察液体试剂的澄清度、有无沉淀或异物，粉剂试剂（若有）的均匀性、有无结块。

5.3 灵敏度

应按以下步骤进行试验：

- a) 样本准备：取1份合格的弱阳性对照样本（组织片或细胞片），按试剂说明书要求进行脱蜡、抗原修复等前处理。
- b) 检测操作：加入与目标抗原对应的特异性抗体及本试剂，按说明书规定的条件完成孵育、洗涤、显色等步骤。
- c) 结果观察：在200倍或400倍显微镜下观察染色结果，判断是否为阳性、着色定位是否准确，并按本文件附录A的要求评价背景染色和非特异性染色。

5.4 特异性

应按以下步骤进行试验：

- a) 样本准备：取1份合格的多组织对照样本，按试剂说明书要求进行前处理；
- b) 阴性抗体对照试验：将多组织对照样本分为2组，一组加入阴性抗体对照试剂，另一组加入目标特异性抗体，均搭配本试剂进行检测，按说明书规定步骤操作；
- c) 结果观察：显微镜下观察两组样本的染色情况，阴性抗体对照组应无特异性着色，目标抗体组仅目标抗原阳性组织着色。

5.5 重复性

应按以下步骤进行试验：

- a) 批内重复性试验：取同一批号试剂，选取同一组织来源、同一目标抗原的6张组织片（或细胞片），分为6个平行样，按说明书要求同时进行检测，观察并记录每张样本的染色强度和定位，计算染色强度差异；
- b) 批间重复性试验：选取3个不同批号的试剂（均在有效期内），取同一组织来源、同一目标抗原的6张组织片（或细胞片），每个批号试剂检测2张样本，按说明书要求进行检测，观察并记录染色强度和定位，计算不同批号间染色强度差异。

5.6 符合性

应按以下步骤进行试验：

- a) 样本准备：分别取阳性对照、阴性对照（多组织对照中阴性组织或阴性抗体对照）、空白对照样本，按说明书要求进行前处理；
- b) 检测操作：阳性对照、阴性对照样本加入目标特异性抗体及本试剂，空白对照样本仅加入本试剂（不加目标抗体试剂），按说明书规定步骤完成检测；
- c) 结果观察：显微镜下观察各组样本的染色结果，阳性对照应阳性、定位准确，阴性对照和空白对照应阴性。

5.7 稳定性

应按以下步骤进行试验：

- a) 效期稳定性：取3个最小包装单位的效期截止日产品，分别按5.2~5.6的方法检测外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性；
- b) 加速稳定性：取3个最小包装单位的有效期内产品，按YY/T 1579—2018规定的加速条件处理后，立即分别按5.2~5.6的方法检测外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性；
- c) 运输稳定性：取3个最小包装单位的有效期内产品，按模拟运输条件处理后，分别按5.2~5.6的方法检测外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性。

5.8 安全性

若试剂含生物活性成分，按YY/T 1180—2021规定的方法进行细菌、真菌、支原体检测。

6 检验规则

6.1 检验分类

检验分为出厂检验和型式检验。

6.2 出厂检验

- 6.2.1 每批试剂应进行出厂检验，经检验合格并附产品合格证后方可出厂。
- 6.2.2 出厂检验项目包括：外观、灵敏度、特异性、重复性、符合性。
- 6.2.3 抽样方法：每批随机抽取至少3个最小包装单位进行检验。
- 6.2.4 判定规则：所有检验项目均符合要求，判定该批产品出厂检验合格；若有一项或多项不符合要求，应加倍抽样进行复检，复检结果仍有不符合项，判定该批产品出厂检验不合格。

6.3 型式检验

- 6.3.1 有下列情况之一时，应进行型式检验：
- a) 新产品首次生产或首次按照本文件组织生产时；
 - b) 产品结构、原材料（如显色剂成分、缓冲液配方）、生产工艺发生重大改变，可能影响产品性能时；
 - c) 连续生产满12个月时；
 - d) 停产超过6个月后重新恢复生产时；
 - e) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
 - f) 国家药品监督管理部门或行业主管部门要求进行型式检验时；
 - g) 生产企业认为有必要进行型式检验以验证产品稳定性或一致性时。
- 6.3.2 型式检验项目包括本文件第4章要求的全部项目。
- 6.3.3 抽样方法：从同一批次合格产品中随机抽取至少6个最小包装单位进行检验。
- 6.3.4 判定规则：所有检验项目均符合要求，判定该产品型式检验合格；若有一项或多项不符合要求，应加倍抽样（至少12个最小包装单位）进行复检，复检结果仍有不符合项，判定该产品型式检验不合格。

6.4 不合格品处置

- 6.4.1 出厂检验或型式检验不合格的产品，不应出厂或销售，生产企业应立即暂停该批次产品的流转。
- 6.4.2 生产企业应对不合格品进行原因分析，查明不合格原因（如原材料质量、生产工艺偏差、储存运输不当等），并采取相应的纠正措施和预防措施。
- 6.4.3 经纠正措施处理后的产品，应重新进行检验，检验合格后方可出厂或投入使用；若无法通过纠正措施达到合格要求，应按规定进行销毁处理，并记录相关过程。

7 标志、包装、运输和贮存

7.1 标志

- 7.1.1 标志应符合GB/T 191和YY/T 0466.1—2023的要求。
- 7.1.2 应至少包含以下内容：产品名称、型号规格、批号、有效期至、储存条件、生产企业名称、地址、联系方式、警示标志（如“冷藏储存”“防潮”“轻拿轻放”等）。

7.2 包装

应符合以下要求：

- a) 试剂的包装应能保证免受自然和机械性损坏；
- b) 每个最小包装单位内均应附有完整的使用说明书，说明书应符合YY/T 0466.1—2023的要求；
- c) 与试剂直接接触的包装材料不应影响试剂性能产生不良影响。

7.3 运输

- 7.3.1 产品运输过程中应避免阳光直射、雨淋、高温、严寒和剧烈震动。
- 7.3.2 运输条件应符合产品说明书规定的储存条件，若需特殊运输条件（如冷藏运输），应采取相应的保温或冷藏措施。
- 7.3.3 运输过程中应轻拿轻放，严禁撞击、挤压包装。

7.3.4 运输工具应清洁、干燥、无污染，不应与有毒、有害、腐蚀性物质或其他可能影响产品性能的物品混运。

7.4 贮存

7.4.1 产品应储存在说明书规定的条件下，远离火源、热源、污染源和强电磁场。

7.4.2 贮存场所应干燥、通风、清洁，温度和相对湿度应符合说明书的要求。

7.4.3 产品应按批号、有效期分类存放，遵循“先进先出”的原则，防止过期使用。

7.4.4 产品在贮存过程中应定期检查包装完整性，若发现包装破损、漏液等情况，应立即隔离并处理，不应继续使用。

附 录 A
(规范性)
染色强度及背景染色评分

应按表A.1的规定进行评分。

表 A.1 染色强度及背景染色评分

评分等级	染色强度	背景染色
0级	无特异性着色，与阴性对照一致	无背景着色，视野清晰
1级	微弱特异性着色，可辨认	轻微背景着色，不影响目标信号判读
2级	中度特异性着色，清晰可辨	中度背景着色，对目标信号判读有轻微干扰
3级	强特异性着色，颜色鲜明	重度背景着色，严重干扰目标信号判读