



中华人民共和国国家标准

GB/T 40369—2021

免疫层析试纸条检测通则

General rules for determination of immunochromatographic test strip

2021-08-20 发布

2022-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 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。

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。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本文件起草单位：北京工商大学、中国计量大学、华南农业大学、深圳市易瑞生物技术股份有限公司、中国测试技术研究院生物研究所。

本文件主要起草人：马爱进、张雅芬、叶子弘、夏文强、雷洪涛、周李华、冯德建、崔海峰、朱海、吴微、王炳志。

免疫层析试纸条检测通则

1 范围

本文件描述了免疫层析试纸条的检测一般要求、检测过程和结果报告。
本文件适用于免疫层析试纸条的检测。

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 19489 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

检出限 limit of detection

在给定的置信水平上，阳性样品和阴性样品能被可靠区分的目标分析物的最低浓度或含量。

3.2

灵敏度 sensitivity

方法在试验条件下的检出限水平时，检出阳性结果的阳性样品数占总阳性样品数的百分比。

3.3

特异性 specificity

方法在试验条件下的检出限水平时，检出阴性结果的阴性样品数占总阴性样品数的百分比。

3.4

假阴性率 false negative rate

方法在试验条件下的检出限水平时，阳性样品中检出阴性结果的百分比。

3.5

假阳性率 false positive rate

方法在试验条件下的检出限水平时，阴性样品中检出阳性结果的百分比。

4 一般要求

4.1 产品

试纸条产品应附产品说明书或等等的指导性文件。

4.2 实验室

实验室的生物安全管理应符合 GB 19489 中的相应要求。

4.3 检测指标

膜条宽度及液体移行速度、灵敏度、特异性、假阴性率、假阳性率、与参比方法一致性。

5 检测过程

5.1 检测样品的选择及制备

5.1.1 阴性样品与待分析样品应来源于同一物种,并具有相似的结构特性,包括不含有或方法学未能检出目标分析物的样品,以及含有或添加其他与目标分析物结构类似物质(易产生交叉反应)的样品,如需要进行前处理,则按试纸条产品说明书的步骤进行。

5.1.2 阳性样品为通过在阴性样品中添加目标分析物所制备的样品,若需要进行前处理,则按试纸条产品说明书的步骤进行。

5.1.3 阴性样品和阳性样品应具有基质符合性,以及与实际样品所含除目标分析物外其他成分的相似性,重点考虑典型样品基质或相似基质,综合考虑蛋白、脂肪、水分、糖分、高聚物或者多聚体物质、色泽、酸碱性等影响检测的组分进行区分选择。

5.1.4 对于多种目标分析物的检测,尽可能对全部目标分析物进行检测,若因客观条件限制不能检测全部目标分析物,宜对所有目标分析物进行分类(如结构类似程度、危害程度等),每一类至少选择一种目标分析物进行检测。

5.1.5 阳性样品或阴性样品宜采用国家有证标准物质、参考物质或者质量控制品等,选择适宜的实验室标准分析方法或经典方法对样品中的目标分析物进行仪器测定,确认所有阴性样品不能检出目标分析物,确认所有阳性样品中目标分析物的浓度。测定完成后的各类样品应进行随机编号处理,形成盲样,可自行制备。

5.2 膜条宽度及液体移行速度

5.2.1 膜条宽度

随机选择 3 条试纸条,用游标卡尺等符合测量精度要求的仪器测量,重复测量 3 次后计算其平均值和标准偏差。

5.2.2 液体移行速度

随机选择 3 条及以上试纸条检测任一样品,按说明书进行操作,从试纸条接触样品液开始用秒表计时,至液体达到检测区边界线时停止计时,记录所用的时间 t ,并用游标卡尺等符合测量精度要求的仪器测量液体移行区域的长度,记为 L ,计算 L/t ,以其平均值和标准差来表征液体移行速度。

注:试纸条数量根据不同试纸条产品的应用进行确定。

5.3 操作步骤和结果计算

5.3.1 操作步骤

同一种试纸条产品对不同基质中的目标分析物的检测能力不同,需要分别进行检测分析。选择 20 个及以上的阴性样品和 20 个及以上的阳性样品进行检测。每个样品检测 3 次。阳性样品中目标分析物添加浓度应在试纸条提供的临界控制值或检出限波动范围内。所有检测均按试纸条操作说明书进行,测得的结果如表 1 所示。

表 1 实际阴性样品和阳性样品及试纸条检测结果统计表

测试样品实际状态 ^a	试纸条检测结果		合并
	阳性	阴性	
阳性(个)	A	B	A+B ^b
阴性(个)	C	D	C+D ^c
合计	A+C	B+D	A+B+C+D
注 1: A 表示阳性样品经试纸条检测结果为阳性的个数。 注 2: B 表示阳性样品经试纸条检测结果为阴性的个数。 注 3: C 表示阴性样品经试纸条检测结果为阳性的个数。 注 4: D 表示阴性样品经试纸条检测结果为阴性的个数。 注 5: 阴性样品和阳性样品数量根据不同试纸条产品的应用进行确认。			
^a 经 5.1.5 确认后的结果。 ^b A 和 B 合计大于或等于 60。 ^c C 和 D 合计大于或等于 60。			

5.3.2 灵敏度

灵敏度以 $100A/(A+B)\%$ 表示。

5.3.3 特异性

特异性以 $100D/(C+D)\%$ 表示。

5.3.4 假阴性率

假阴性率以 $100B/(A+B)\%$ 表示。

5.3.5 假阳性率

假阳性率以 $100C/(C+D)\%$ 表示。

5.3.6 与参考方法一致性

分别采用免疫层析试纸条及目标分析物分析参考方法(如国际标准、国家标准、行业标准或其他经过验证的方法)进行检测分析,评价两者所得到的阳性结果比率是否存在统计学差异。可采用卡方(χ^2)检验,按式(1)进行计算。

$$\chi^2 = \frac{(|C-B|-1)^2}{C+B}$$

.....(1)

式中:

C ——样品被免疫层析试纸条检测为阳性而参考方法检验为阴性的数目;

B ——样品被免疫层析试纸条检测为阴性而参考方法检验为阳性的数目。

卡方(χ^2)检验结果按以下方法进行分析:

—— χ^2 小于 3.84 表示与参考方法的阳性确证比率在 95%的置信区间内没有显著性差异;

—— χ^2 大于 3.84 表示与参考方法的阳性确认比率在 95%的置信区间内有显著性差异。



如果能够证实待免疫层析试纸条检测方法灵敏度优于参考方法,则两种方法阳性比例的显著性差异可以接受。

6 结果报告

结果报告应包含试纸条产品的检测项目及具体检测样品信息,试纸条产品抽样信息及具体检测结果,检测结果中应包含膜条宽度及液体移行速度、灵敏度、特异性、假阴性率和假阳性率,以及与参考方法一致性等检测指标。

