



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

总胆汁酸测定试剂盒（酶循环法）

Total bile acids assay kit (Enzyme cycle method)

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准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。

本标准起草单位：***。

本标准主要起草人：**

总胆汁酸测定试剂盒（酶循环法）

（工作组讨论稿）

1 范围

本标准规定了总胆汁酸测定试剂盒（酶循环法）的测定原理、要求、试验方法、标签和使用说明书、包装、运输和贮存。

本标准适用于酶循环法对人体血清或血浆中的总胆汁酸进行定量测定的试剂盒（以下简称试剂盒），包括手工和半自动、全自动生化分析仪上使用的试剂。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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/T191 包装储运图示标志

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 测定原理

胆汁酸被 3α -羟基类固醇脱氢酶（ 3α -HSD）及硫代氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NAD⁺）特异性地氧化，生成 3α -酮类固醇（ 3α -KS）及硫代还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（Thio-NADH）。生成的 3α -KS在 3α -HSD及还原型辅酶I（NADH）存在下，又生成胆汁酸和氧化型辅酶I（NAD⁺）。如此循环往复产生大量Thio-NADH，Thio-NADH在405nm波长附近有吸收峰，在一定的反应时间内，其吸光度变化与总胆汁酸浓度呈正比，根据校准品吸光度的变化率，从而计算总胆汁酸含量。

4 要求

4.1 外观

制造商应根据自己产品的包装特点规定适当的外观要求。

4.2 装量

液体试剂的净含量应不少于标示值。

4.3 试剂空白

4.3.1 试剂空白吸光度

在制造商规定的测试主波长（推荐405nm）、光径1.0cm的条件下，空白吸光度应不大于0.80。

4.3.2 试剂空白吸光度变化率

在制造商规定的测试主波长（推荐405nm）、光径1.0cm的条件下，试剂空白吸光度变化率($\Delta A/min$)应不大于0.04。

4.4 线性区间

试剂盒线性区间应覆盖[3, 150] $\mu\text{mol/L}$ ，在该区间内应符合：

a) 线性相关系数 (r) 应不小于0.9900；

b) [3, 30] $\mu\text{mol/L}$ 区间内，绝对偏差应在 $\pm 3.0\mu\text{mol/L}$ 范围内；在(30, 150] $\mu\text{mol/L}$ 区间内，相对偏差应在 $\pm 15.0\%$ 范围内。

4.5 准确度

可选用以下方法之一进行验证（如适用，优先采用相对偏差的方法）：

4.5.1 相对偏差：检测有证参考物质，相对偏差应在 $\pm 15.0\%$ 内；

4.5.2 回收率：应在90.0%~110.0%内；

4.5.3 比对实验：以制造商指定的具有溯源性的分析系统作比对，在线性区间[3, 150] $\mu\text{mol/L}$ 范围内，相关系数 (r) 应不小于0.9900，斜率应在[0.9, 1.1]内；样本浓度在[3, 15] $\mu\text{mol/L}$ 区间内，偏差应在 $\pm 2.25\mu\text{mol/L}$ 范围内；样本浓度在(15, 150] $\mu\text{mol/L}$ 区间内，相对偏差应在 $\pm 15.0\%$ 范围内，95%检测样本应符合上述要求。

4.6 分析灵敏度

测试浓度为30 $\mu\text{mol/L}$ 样本时，单位浓度吸光度变化率均应符合制造商要求。

4.7 精密度

4.7.1 重复性

重复测定高低2个浓度的样本，变异系数(CV)应不大于5.0%。

4.7.2 批间差

测定高低2个浓度的样本，批间差(R)应不大于10.0%。

4.8 稳定性

可对效期稳定性和热稳定性进行验证：

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内的试剂，检测外观、装量、试剂空白、线性区间、准确度、分析灵敏度和重复性，应符合4.1~4.6、4.7.1的要求。

b) 热稳定性：检测试剂外观、试剂空白、线性区间、准确度、分析灵敏度和重复性，应符合4.1、4.3~4.6、4.7.1的要求。

注1：热稳定性不能用于推导试剂有效期，除非是采用基于大量的稳定性研究数据建立的推导公式。

注2：一般地，效期为1年时选择不超过1个月的试剂，效期为半年时选择不超过半个月的试剂，以此类推。但如果超过规定时间，试剂符合要求时也可以接受。

注3：根据试剂特性可选择4.8a)、4.8b)方法的任意组合，但所选用方法宜能验证试剂的稳定性，以保证在效期内试剂性能符合标准要求。

5 试验方法

5.1 外观

目测检查，结果应符合 4.1 的要求。

5.2 装量

用通用量具测量，结果应符合 4.2 的要求。

5.3 试剂空白

5.3.1 试剂空白吸光度

测定空白样本，在制造商规定的测试主波长（推荐 405 nm）、光径 1.0 cm 以及 37℃ 条件下的条件下，记录测试启动时的吸光度值 (A_1)，扣除反应的非线性段或制造商规定的测试完成后的吸光度值 (A_2)， A_2 的测试结果即为试剂空白吸光度测定值，结果应符合 4.3.1 的要求。

注：空白样本可以是纯水样本、生理盐水、零校准液等。

5.3.2 试剂空白吸光度变化率

根据 5.3.1 中得到的 A_1 和 A_2 ，计算试剂空白吸光度变化率 ($(A_2 - A_1)/t$)，结果应符合 4.3.2 的要求。

5.4 线性区间

用接近线性区间上限的高浓度样本和接近线性区间下限的低浓度样本混合成至少 5 个稀释浓度 (x_i) 的样本后，进行检测，每个稀释浓度样本测定 3 次，分别求出测定结果的均值 (y_i)。以稀释浓度 (x_i) 为自变量，以测定结果均值 (y_i) 为因变量求出线性回归方程，计算线性回归的相关系数 (r)，结果应符合 4.4 a) 的要求；用 x_i 代入线性回归方程，计算 y_i 与相应估计值的相对偏差或绝对偏差，结果应符合 4.4 b) 的要求。

5.5 准确度

5.5.1 相对偏差

测定总胆汁酸有证参考物质，重复检测 3 次，取测定结果记为 (X)，按公式 (1) 计算相对偏差 (B)。如果 3 次结果都符合要求，即判为合格。如果大于等于 2 次的结果不合格，即判为不合格。如果有 1 次结果不符合要求，则应重新连续测定 20 次，并分别按照公式 (1) 计算相对偏差，如果大于等于 19 次测定的结果符合要求，结果应符合 4.5.1 的要求。

$$B = (X - T) / T \dots \dots \dots (1)$$

式中：

B—相对偏差；

X—有证参考物质测定值；

T—有证参考物质标示值。

5.5.2 回收试验

将已知浓度的总胆汁酸样本加入到含低浓度总胆汁酸的人血清样本或基质中，所加入总胆汁酸样本与人血清样本或基质之间的体积比例应不大于 1:19，根据式 (2) 计算，结果应符合 4.5.2 的要求。

$$R = \frac{C \times (V_0 + V) - (C_0 \times V_0)}{(V \times C_s)} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

式中：

R—回收率；

V—总胆汁酸样本的体积；

V₀—人血清或基质的体积；

C—总胆汁酸样本加入至人血清或基质后的测定值；

C₀—人血清或基质的测定值；

C_s—总胆汁酸样本的浓度。

5.5.3 比对试验

参照 EP9-A2 的方法，用不少于 40 个在覆盖区间 [3, 150] μmol/L 内不同浓度的人血清样本，以制造商指定具有溯源性的分析系统进行比对试验。每份样本按照待测试剂盒操作方法及比对方法的要求，分别进行检测，每个样本测定 1 次，用线性回归方法计算两组结果分别的相关系数 (*r*) 和斜率，同时计算各样本的本试剂盒测定值与比对系统测定值之间的绝对偏差或相对偏差，结果应符合 4.5.3 的要求。

5.6 分析灵敏度

测试浓度为 (30±3) μmol/L 样本时，记录在试剂盒参数规定下的吸光度值，换算为 30μmol/L 样本的吸光度变化率，结果应符合 4.6 的要求。

5.7 精密度

5.7.1 重复性

用同一批号试剂盒，对高低2个浓度的样本分别重复测定10次，计算测定结果的平均值 (\bar{x}) 和标准差 (*s*)，根据公式 (3) 得出变异系数 (CV)，结果应符合4.7.1的要求。

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

5.7.2 批间差

分别用3个不同批号试剂盒，对高低2个浓度的样本分别重复测定3次，计算每批测定结果的平均值 \bar{x}_i (*i*=1, 2, 3)，根据下列公式计算相对极差 (R)，结果应符合4.7.2的要求。

$$\bar{x}_T = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3}{3}$$

$$R = \frac{\bar{x}_{\max} - \bar{x}_{\min}}{\bar{x}_T} \times 100\%$$

5.8 稳定性

5.8.1 效期稳定性

取到效期后的样品按照5.1~5.6、5.7.1的方法进行检测，应符合5.8 a) 的要求。

5.8.2 热稳定性

取有效期内试剂，根据制造商声称的热稳定性条件，按照5.1、5.3~5.6、5.7.1方法进行检测，应符合5.8 b) 的要求。

6 标签和使用说明书

应符合 GB/T 29791.2的规定。

7 包装、运输、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，无泄露，无破损。

7.2 运输

试剂盒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

试剂盒应在制造商规定条件下保存。

参 考 文 献

- [1]GB3100国际单位制及其应用
- [2]GB/T19702-2005体外诊断医疗器械生物源性样品中量的测量参考测量程序的说明
- [3]GB/T21415-2008 体外诊断医疗器械—生物样品中量的测量—校准品和控制物质赋值的计量学溯源性
- [4]叶应妩.全国临床检验操作规范.3版.南京:东南大学出版社, 2006
- [5]WS/T124-1999临床化学体外诊断试剂盒质量检验总则
- [6] GB/T29791.1-2013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