



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3951—2014

---

## HIV 抗体质控血清的制备和使用规程

Codes of making and using for quality control serum of HIV antibody

2014-04-09 发布

2014-11-01 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国广东出入境检验检疫局、中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：吕洁毅、戴俊、王树祥、丁国允、陈素英、卢林、何振毅、朱红。

# HIV 抗体质控血清的制备和使用规程

## 1 范围

本标准规定了 HIV 抗体质控血清的制备、使用和保存方法。

本标准适用于出入境检验检疫机构对 HIV 抗体质控血清的制备和使用。

## 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 19489 实验室 生物安全通用要求

JJG 1006 一级标准物质

消毒技术规范(原中华人民共和国卫生部)

全国艾滋病检测技术规范(中国疾病预防控制中心)

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**质控血清** quality control serum

用于质量控制目的的标本。

### 3.2

**均匀性** homogeneity

与物质的一种或多种特性相关的具有相同结构或组成的状态。通过测量取自不同包装单元(如:瓶、包等)或取自同一包装单元的、特定大小的样品,测量结果落在规定不确定度范围内,则可认为标准物质对指定的特性量是均匀的。

### 3.3

**瓶间均匀性** between-bottle homogeneity

标准物质的特性在瓶与瓶之间的变异。

注:术语“瓶间均匀性”适用于其他类型的包装(例如小瓶)和其他物理形状及试片。

### 3.4

**稳定性** stability

在特定的时间范围和贮存条件下,标准物质的特性量值保持在规定范围内的能力。

### 3.5

**开瓶稳定性** bottle-unsealed stability

包装单元(如:瓶、包等)开封后在特定贮存条件下标准物质特性的稳定性。

### 3.6

**长期稳定性** long-term stability

在标准物质生产者规定贮存条件下标准物质特性的稳定性。

### 3.7

#### S/CO 值 S/CO value

ELISA 试验测定得到的样本的 HIV 抗体光密度值与试剂检测的临界值(cut off value)之比,是抗体反应强度的指标,在一定范围内 S/CO 值越大,说明反应强度越高。

## 4 要求

### 4.1 原料选择

原料选择应符合下列要求:

- 应满足适用性、代表性以及容易复制的原则;
- 原料的基体应和使用的要求相一致或尽可能接近,即收集的原料(血清)应清亮,无肉眼可见的溶血、黄疸、乳糜颗粒或其他杂质;
- 应具有高度稳定性及适合检测和试验要求的特异性,不应含有干扰使用目的的杂质;
- 应有足够的数量,以满足在有效期间使用的需要。

### 4.2 质控血清的外观、装量和质量

质控血清的外观、装量和质量要求如下:

- 质控血清应清亮、均匀,无溶血、黄疸、乳糜颗粒和凝块;
- 质控血清可根据实验室使用量配置,每瓶装量应不少于每次试验的用量;
- 质控血清的质量要求应符合《全国艾滋病检测技术规范》第二章中 9.1.2.1 的规定。

## 5 准备

### 5.1 器材

移液器、移液吸头、移液管、带盖玻璃瓶、1.5 mL 带盖样品管、除菌过滤器或针筒式滤膜过滤器(滤膜材质为聚醚砜膜-PES、孔径为 0.22  $\mu\text{m}$ )、灭菌注射器、镊子、吸球。

### 5.2 仪器

酶标仪、洗板机、离心机、37  $^{\circ}\text{C}$  水浴箱、-20  $^{\circ}\text{C}$  以下低温冰箱、高压蒸汽灭菌器。

## 6 制备程序

### 6.1 原料的采集和处理

#### 6.1.1 原料采集

根据实验室使用量收集足量的原料,主要包括:

- 正常人血清:从日常检测样品中收集感染性疾病血清学标志物包括 HIV-1/2 抗体、HIV-1p24 抗原、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎(HCV)抗体和梅毒螺旋体抗体均阴性的血清;
- HIV 阳性血清或制品:收集日常检测样品中确证 HIV 抗体阳性、其他感染性疾病血清学标志物(HBsAg、HCV 抗体、梅毒螺旋体抗体)均阴性的血清(仅艾滋病检测确证实验室可收集),或购买权威机构认证的阳性质控品。

### 6.1.2 原料预处理

将正常人血清和 HIV 阳性血清或制品分别进行 56 ℃、30 min 灭活,3 000 r/min 离心 15 min,加入终浓度为 0.01% 的硫柳汞作防腐剂。

## 6.2 制备方法

### 6.2.1 灭菌

将试验用的移液吸头、移液管、带盖玻璃瓶、样品管、过滤器等进行 121 ℃、15 min~20 min 灭菌,待干燥后备用。

### 6.2.2 稀释

对 HIV 阳性血清或制品进行 ELISA 法检测,根据其光密度值以正常人血清进行系列的倍比稀释并检测结果,根据实验室内部质量控制要求确定质控血清最终稀释度。以正常人血清为稀释液,将 HIV 阳性血清或制品按最终稀释度进行稀释。可以配制成强阳性或弱阳性质控血清,弱阳性质控通常选择所用试剂盒临界值(cut off value)的 2 倍~3 倍。

### 6.2.3 除菌

用除菌过滤器或针筒式滤膜过滤器将稀释后的血清进行抽滤除菌,盛于玻璃瓶内。

### 6.2.4 分装

按实验室 1 周用量等量分装到 1.5 mL 样品管中,冻存于 -20 ℃ 以下低温冰箱备用。

### 6.2.5 检验

质控血清分装后应进行均匀性检验(见附录 A);在规定的贮存条件下,可根据需要设定时间间隔进行稳定性检验(参见附录 B)。

## 7 生物安全及防护措施

制备质控血清的实验室生物安全及防护措施按《全国艾滋病检测技术规范》中第八章的规定。

## 8 质控血清的使用

### 8.1 使用方法

使用方法如下:

- 从冰箱取出质控血清后待完全融化且平衡至室温;
- 轻轻颠倒使其充分混匀;
- 加样时按待测样本对待,依试剂盒说明书进行操作;
- 质控血清的应用按《全国艾滋病检测技术规范》第二章中 9.1 的规定;
- 使用完毕,及时盖上瓶盖,放置 2 ℃~8 ℃ 贮存,1 周后应弃去,避免反复冻融。

### 8.2 注意事项

注意事项包括:

## SN/T 3951—2014

- 本标准中质控血清仅用于实验室内部体外诊断试剂检测时的质量控制,不得用作校准品;
- 每一次试验应使用质控血清;
- 质控血清都经过灭活处理,但仍应按有潜在生物传染性样本对待;
- 使用后应按 GB 19489 和《消毒技术规范》相关规定对废弃物进行处理。

## 9 质控血清的保存

9.1 质控血清未开封在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下密闭贮存稳定1年。

9.2 质控血清开瓶后在 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存稳定1周。

附 录 A  
(规范性附录)  
质控血清均匀性检验

### A.1 方法

A.1.1 确定抽取样品量,按 JJG 1006 中 4.1 和 4.2 的规定。

A.1.2 确定取样方式,按 JJG 1006 中 5.1 和 5.2 的规定。

A.1.3 按抽取数量抽取当天分装好的质控血清,按随机次序进行 ELISA 检测,每瓶检测 1 次,按式(A.1)、式(A.2)计算测定的 S/CO 值的平均值( $\bar{X}_1$ )、标准差( $S_1$ );另用上述血清中的 1 瓶在重复性条件下连续检测相同次数,按式(A.1)、式(A.2)计算测定的 S/CO 值的平均值( $\bar{X}_2$ )、标准差( $S_2$ )。

A.1.4 按式(A.3)、式(A.4)计算瓶间均匀性 CV,应满足  $CV < 20\%$  的要求。

### A.2 统计指标计算

统计指标计算见式(A.1)~式(A.4)。

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \dots\dots\dots (A.1)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}} \dots\dots\dots (A.2)$$

$$S_{\text{瓶间}} = \sqrt{S_1^2 - S_2^2} \dots\dots\dots (A.3)$$

$$CV_{\text{瓶间}} = S_{\text{瓶间}} / \bar{X}_1 \times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

当  $S_1 < S_2$  时,令  $CV_{\text{瓶间}} = 0$

式中:

$\bar{X}$ ——平均值;

$n$ ——测量次数;

$x_i$ ——指定参数第  $i$  次测量值;

$S$ ——标准差;

CV——变异系数,%。

SN/T 3951—2014

**附 录 B**  
(资料性附录)  
**质控血清稳定性检验**

**B.1 方法**

**B.1.1** 稳定性检验应在相同的条件下进行(统一的检测方法、检测环境、检测人员、仪器),并严格遵照质控血清的使用和保存方法。

**B.1.2** 确定抽取样品量,按 JJG 1006 中 4.1 和 4.2 的规定。

**B.1.3** 确定取样方式,按 JJG 1006 中 5.1 和 5.2 的规定。

**B.1.4** 按抽取数量抽取当天分装好的质控血清,进行 ELISA 检测,计算测定的反应 OD 值(样本 OD 值—阴性 OD 值)的平均值( $\bar{X}$ )作为稳定性检验中质控血清的参考值。

**B.1.5** 稳定性检验应包括开瓶(1 周)稳定性和长期(1 年)稳定性检验:

——开瓶稳定性:按抽取数量从 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中抽取制备保存的质控血清,在 1 周开瓶有效期内每天进行 ELISA 检测直至到期后 1 天(开瓶后放置 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存),计算每天测定的反应 OD 值的平均值( $\bar{X}$ )和标准差( $S$ )。

——长期稳定性:采用倒计时方式,将检测日期定为第 0 天,假如预定在某一温度下保存时间为  $N$  天,则在 0 天前的第  $N$  天从 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中按抽取数量抽取制备保存的质控血清,置于特定温度下保存,至 0 天统一进行 ELISA 检测,测定反应 OD 值,计算每个保存时间反应 OD 值的平均值( $\bar{X}$ )和标准差( $S$ )。具体设定条件:保存温度为 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,保存时间分别为 3、6、9、12、18 个月。

**B.1.6** 采用  $t$  检验法分析各时间点样本平均值与参考值之间是否存在显著性差异作为质控血清稳定的依据。

**B.2 统计指标计算**

平均值( $\bar{X}$ )计算见式(A.1)、标准差( $S$ )计算见式(A.2)、 $t$  检验法按 CNAS-GL03 中 5.2 的规定。



### 参 考 文 献

- [1] WS/T 124—1999 临床化学体外诊断试剂盒质量检验总则
  - [2] CNAS-GL03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南
  - [3] CNAS-GL29 标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法(ISO GUIDE 35:2006)
-