



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

体外诊断试剂原材料 胶乳颗粒 质量评价 方法

Raw materials for IVD reagents - Quality evaluation of antibodies for latex particle

草案

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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这些专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件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。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

体外诊断试剂原材料 胶乳颗粒 质量评价方法

1 范围

本文件描述了体外诊断试剂原材料中胶乳颗粒的质量评价方法。

本文件适用于对体外诊断试剂用原材料中胶乳颗粒的质量评价。

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 611-2021 化学试剂 密度测定通用方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 体外诊断试剂 in vitro diagnostic reagent

IVD试剂 IVD reagent

被制造商预期用作体外诊断医疗器械的化学、生物学或免疫学组分、溶液或制备物。

[来源：GB/T 29791.1—2013，3.28]

3.2 胶乳颗粒 latex particle

微球 microsphere

胶乳中的橡胶粒子和非橡胶粒子的总称。

[来源：GB/T 9881—2008，3.2.2]

3.3 固含量 solids content

在规定试验条件下测定的非挥发性物质的质量分数。

[来源：GB/T 2035—2008，2.939]

3.4 免疫比浊法 immunoturbidimetry

在反应液中，抗体和抗原形成复合物而形成沉淀，使得浊度增加。当光透过反应液时，一些光被样品散射，一些光被样品吸收，其余光投射过样品。测量样品对光吸收的方法为免疫比浊法。透射比浊是基于分光光度原理的测定方法。

散射比浊（nephelometry）测量在一个固定角度被散射的光。
被测物的浓度可通过与已知浓度校准液比较进行测量。

[来源：YY/T 1255—2015]

3.5 电导滴定法 conductometric titration

滴定过程中，根据溶液电导的变化来确定终点的方法。

[来源：GB/T 14666—2003，3.2.4]

3.6 粒度 particle size

在指定测量条件下用特定的测量方法确定的颗粒的线性尺寸。

注1：不同的粒度分析方法基于对不同物理性质的测量。无论实际测量的物理性质为何，结果给出的是颗粒的线性尺寸，例如：等效球形直径。

注2：又称粒径。

[来源：ISO 80004-6：2021，4.1.1]

3.7 粒度分布 particle size distribution

颗粒的分布与粒度之间的函数关系。

注：粒度分布可表示为累积分布或分布密度（在某尺寸区间内材料的分布除以该尺寸区间的宽度）
数量可以是基于计数、质量或体积。

[来源：ISO 80004-6：2021，4.1.2]

3.8 颗粒形状 particle shape

颗粒的外部几何形状。

[来源：ISO 80004-6：2021，4.1.3]

3.9 表面官能团 surface functional group

颗粒表面上负责特定化学反应的取代基或基团。

[来源：ISO 19807-2：2021，3.14、3.15]

3.10 表面官能团类型 surface functional group type

颗粒表面取代基或部分的化学类型，负责特定的化学反应。

[来源：ISO 19807-2：2021，3.15]

3.11 均一度

标准差与算术平均数的比值。

注：通常以百分比的形式表示。

[来源：ISO 21363：2020，3.3.1]

4 总则

常见的胶乳颗粒由聚苯乙烯及相应功能单体通过乳液聚合法制得的一种纳米材料。胶乳颗粒的粒径会影响免疫比浊灵敏度大小、抗体投入量多少、包被颗粒的抗体活性及本身稳定性等，因此应监控胶乳颗粒的粒径分布、分散状态等情况。

白色胶乳颗粒常用于乳胶增敏比浊试剂中。在乳胶增敏比浊试剂中，胶乳颗粒作为载体，在交联剂的作用下待标记蛋白如抗原或抗体的特定基团与微球上的官能团发生化学反应，蛋白被偶联或吸附到微球表面。制备成试剂检测样本时，乳胶微球上的特异性抗体与待检样本中的抗原结合形成网状的免疫复合物，免疫复合物对入射光线起到散射的作用，入射光线的被散射程度与形成的免疫复合物的量正相关。通过检测散射光或透射光的强度，与已知的入射光的强度，根据朗伯比尔定律及校准曲线可计算出待检抗原的浓度。

彩色胶乳颗粒通过独特的表面修饰工艺，由白色胶乳颗粒经染色而得，可用于定性和半定量检测，适用于凝集试验、侧向层析等技术平台；荧光乳胶颗粒通过将荧光染料包埋在乳胶颗粒内部，荧光染料填充饱满牢固适用于侧向层析试剂的研发和规模化生产，同时也适用于聚焦显微技术、细胞学研究等技术平台。

5 质量评价指标

5.1 外观

- a) 包装无破损、标签清晰；
- b) 白色胶乳微球肉眼观察为乳白色混悬液；彩色微球和荧光微球肉眼观察应为声称颜色混悬液；
- c) 使用扫描电镜观察乳胶颗粒形态应为规则球形，无椭圆形或其他异常形状（参见附录A）。

5.2 荧光强度

采用荧光分光光度计进行检测（参见附录B）。

注：仅适用于荧光微球

5.3 彩色微球色度

采用溶液颜色检查方法进行检测（参见附录C）。

注：仅适用于彩色微球

5.4 pH 值

根据制造商提供的说明信息，使用酸度计进行检测（参见附录D）。

5.5 固含量

使用干燥失重法进行检测（参见附录E）。

5.6 官能团

5.6.1 含量

根据制造商声称的官能团的种类选择合适的官能团含量测定方法（参见附录F）。

5.6.2 占比

按照下列公式，根据粒径和官能团密度计算得出单个官能团的占位面积。

$$x = \frac{1}{1.004 \times D_c \times \rho_s \times d} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

x: 占比，Å²/带电基团

D_c: 表面官能团含量 (μmol/g)

ρ_s: 固体密度 (g/cm³)

d: 平均粒径 (μm)

5.7 密度

参照GB/T 611-2021的规定测定。在20℃时，分别测定充满同一密度瓶的水及样品的质量，由水的质量可确定密度瓶的容积即样品的体积，根据样品的质量及体积即可计算其密度。

5.8 粒径及均一度

根据制造商提供的粒径大小信息，使用透射电子显微镜（TEM）、粒度仪等方法进行检测（参见附录A、附录G）。

5.9 功能性实验

指体外诊断原材料用于试剂盒试剂生产中的情况，一般考察使用该原材料的试剂的性能，功能性实验结果应满足应达到企业设定的标准。

注：功能性实验结果可以直接反映该原材料用于实际生产的效果，主要使用胶乳颗粒制备相应试剂进行一系列试剂性能的考察，一般包括灵敏度、特异性、重复性、线性、批间差等性能指标。

5.10 质量分析证书

通常应包括样品信息、检验信息、签发信息三个部分。相关要素可根据质量分析需求进行调整和补充。

- a) 制造商名称；
- b) 产品名称；
- c) 材质；
- d) 外观；
- e) 荧光强度（仅用于荧光微球）；
- f) 色度（仅用于彩色微球）；
- g) pH值；
- h) 固含量；
- i) 官能团；
- j) 粒径及分布；
- k) 均一度；
- l) 保存液；

- m) 包装规格;
- n) 储存条件;
- o) 批号;
- p) 有效期。

附录A
(资料性)
扫描电镜检测方法

A.1 原理

通过电子枪发射的电子束，电子束通过境内的电磁透镜层层汇聚作用，最后汇聚成极小的束斑入射在样品表面，激发出次级电子，进而被探测器接收。

A.2 试剂及仪器设备

A.2.1 扫描电镜 (SEM)

A.2.2 载玻片

A.3 检测步骤

A.3.1 外观

A.3.1.1 样品准备

确保样品清洁无污染。将待测样品滴在载玻片上，待溶剂挥干后，镀膜。

A.3.1.2 固定与装样

将样品固定在SEM专用的样品台上。

A.3.1.3

对焦与成像

调整样品台高度 (Z轴)，找到合适的焦平面，获取清晰的图像。

A.3.2 粒径及均一度

选择一张合适的透射电镜图片，利用统计软件统计100个胶乳微球的直径，计算得到平均尺寸及相对偏差。

附录B
(资料性)
荧光强度检查法

B.1 原理

首先，荧光分光光度计利用激发电源对样品进行激发。在激发过程中，样品中的某些分子吸收光子的能量，电子跃迁至激发态。这些激发态的分子具有较短的寿命，会在很短的时间内退激发，释放出荧光光子。荧光光子的能量和波长与激发光子的能量和波长有关，通常荧光波比激发波长长，这种现象称为斯托克斯位移。荧光分光光度计利用这一原理来测量样品的荧光强度。

其次，荧光分光光度计包含激发电源、样品室、荧光检测器和数据处理系统。激发电源通常为氙灯或汞灯，能够提供足够的能量来激发样品中的分子。样品室用于容纳样品，并确保激发光能够充分照射到样品上。荧光检测器用于测量样品在不同波长下的荧光强度，并将信号传输给数据处理系统进行处理和分析。

最后，荧光强度的测量通常通过单光束或双光束模式进行，单光束模式用于测量样品的荧光强度，而双光束模式用于消除背景干扰。荧光分光光度计通过测量样品的荧光光谱和荧光强度来确定样品的组成和浓度。

B.2 试剂及仪器

荧光分光光度计

B.3 检测步骤

B.3.1 应严格按各荧光分光光度计说明书与注意事项进行操作，并遵从以下规范。

B.3.2 按照各品种拟定规定的稀释剂，将供试品溶液稀释制成拟定浓度，按照各品种拟定的参数进行分析，结果应符合规定。

附录C
(资料性)
溶液颜色检查方法

C.1 原理

本法系将供试品溶液的颜色与规定的标准比色液比较。

C.2 试剂和仪器设备

C.2.1 比色用重铬酸钾液：精确称取在120°C干燥至恒重的基准重铬酸钾0.4000g，置500ml量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。每1ml溶液中含有0.800mg的 $K_2Cr_2O_7$ 。

C.2.2 比色用硫酸铜液：取硫酸铜约32.5g，加适量的盐酸溶液（1→40）使溶解成500ml，精密量取10ml置碘量瓶中，加水50ml、醋酸4ml与碘化钾2g，用硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)滴定，至近终点时，加淀粉指示液2ml，继续滴定至蓝色消失。每1ml硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)相当于24.97mg的 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 。根据上述结果，在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液（1→40），使每1ml溶液中含62.4mg的 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ，即得。

C.2.3 比色用氯化钴液：取氧化钴约32.5g，加适量的盐酸溶液（1→40）使溶解成500ml，精密量取2ml，置锥形瓶中，加水200ml，摇匀，加氨试液至溶液由浅红色转变至绿色后，加醋酸-醋酸钠缓冲液(pH6.0)10ml，加热至60°C，再加二甲酚橙指示液5滴，用乙二胺四乙酸二钠滴定液(0.05mol/L)滴定至溶液显黄色。每1ml乙二胺四乙酸二钠滴定液(0.05mol/L)相当于11.90mg的 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 。根据上述测定结果，在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液（1→40），使每1ml溶液中含59.5mg的 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ，即得。

各种色调标准贮备液的制备：按照下表（见表C.1）精密量取比色用氯化钴液、比色用重铬酸钾液、比色用硫酸铜液与水，混合摇匀，即得。

表C.1 标准贮备液的制备

单位：mL

色调	比色用氯化钴液	比色用重铬酸钾液	比色用硫酸铜液	水
绿黄色	-	27	15	58
黄绿色	1.2	22.8	7.2	68.8
黄色	4.0	23.3	0	72.7
橙黄色	10.6	19.0	4.0	66.4
橙红色	12.0	20.0	0	68.0
棕红色	22.5	12.5	20.0	45.0

表C.2 10mL规格体积制备表

单位：mL

色号	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
贮备液	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.5	6.0	7.5	10.0
水	9.75	9.5	9.0	8.5	8.0	7.5	7.0	5.5	4.0	2.5	0

C.3 颜色检查步骤

除另有规定外，取各品种项下规定量的供试品，置于25ml的纳氏比色管中，加水稀释至10ml。另取规定色调和色号的标准比色液10ml（见表C.2），置于另一25ml纳氏比色管中，管同置白色背景前，平视观察，供试品管呈现的颜色与对照管比较，应符合规定。

附录D
(资料性)
pH值检测方法

D.1 原理

pH值测定法是测定水溶液中氢离子活度的一种方法，pH值即水溶液中氢离子活度的负对数， $pH = -\lg a_{H^+}$ 。但氢离子活度难以由实验准确测定。为实用方便，溶液的pH值规定为由下式测定：

$$pH = pH_s - \frac{E - E_s}{k} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

E为含有待测溶液（pH）的原电池电动势，V；

E_s为含有标准缓冲液（pH_s）的原电池电动势，V；

k为与温度（t，℃）有关的常数；

$k = 0.059 + 0.000198(t - 25)$ 。

由于待测物的电离常数、介质的介电常数和液交界电位等诸多因素均可影响pH值的准确测量，所以实验测得的数值只是溶液的表现pH值，它不能作为溶液氢离子活度的严格表征。尽管如此，只要待测溶液与标准缓冲液的组成足够接近，由上式测得的pH值与溶液的真实pH值还是颇为接近的。

测定pH值时需选择对氢离子敏感的电极与参比电极组成电池。常用地对氢离子敏感的电极（即只是电极）有玻璃电极、氢电极、醌-氢醌电极等；参比电极有甘汞电极、银-氯化银电极等。现已广泛使用将指示电极与参比电极组合成一体复合电极，最常用的为玻璃电极-饱和甘汞电极和玻璃电极-银-氯化银电极的复合电极。

D.2 试剂和仪器设备

D.2.1 酸度计；

D.2.2 校准液。

D.3 pH值检测步骤

D.3.1 应严格按照酸度计说明书与注意事项进行操作，并遵从以下规范。

D.3.2 测定之前，应按制造商提供的乳胶颗粒信息，选择三种或两种适合的标准缓冲液对仪器进行校正，使供试品溶液的pH值处于它们之间。如果供试品溶液的pH值超出上述标准缓冲液的pH范围，选择pH接近供试品的三种或两种标准缓冲液进行校正。

D.3.3 每次更换标准缓冲液或供试品溶液前，应用纯化水充分洗涤电极，再用所换的标准缓冲液或供试品溶液洗涤，或者用纯化水充分洗涤电极后将水吸尽。

D.3.4 开机通电预热几分钟，将所选用的校准液恢复至室温，用合适的校准液校正酸度计。

D.3.5 取适量试样置于烧杯或其他容器中，用试样淋洗电极后将电极浸入试样中，轻轻摇动，待酸度计平衡稳定后，读数。

附录E
(资料性)
固含量检测方法

E.1 原理

固含量是指在规定的条件下，经干燥后乳胶颗粒的重量，通常以百分率表示。

E.2 试剂和仪器设备

E.2.1 扁形称量瓶；

E.2.2 鼓风干燥箱，控温精度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ；

E.2.3 玻璃干燥器；

E.2.4 分析天平，精度应不低于0.1 mg。

E.3 固含量检测步骤

E.3.1 取2只干净的称量瓶，分别标记为1号、2号。将称量瓶置于鼓风干燥箱中干燥至恒重并记录（干燥后，称量前应将称量瓶置玻璃干燥器中放冷至室温）。

E.3.2 分别取乳胶颗粒约1g至上述2只称量瓶中，将称量瓶敞口置于鼓风干燥箱中干燥至恒重并记录（干燥后、称量前应将称量瓶置玻璃干燥器中放冷至室温），根据下列公式计算固含量。

$$\text{固含量} = \frac{X_1 - X_2}{S} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

x_1 ：干燥后样品和称量瓶总重量（g）；

x_2 ：干燥前称量瓶重量（g）；

S ：样品重量（g）。

附录F
(资料性)
官能团含量检测方法

F.1 官能团为羧基时含量测定

F.1.1 原理

电导滴定法 (conductometric titration) 是电化学分析法的一种将标准溶液滴入被测物质的溶液, 从电导率的改变而决定终点的方法。

F.1.2 试剂和仪器设备

F.1.2.1 盐酸滴定液

F.1.2.2 氢氧化钠溶液

F.1.2.3 电位滴定仪

F.1.3 检测步骤

称取约2.0g样品于100ml玻璃烧杯中, 加入70±10mL水于盛有样品的玻璃烧杯中, 用NaOH调节pH值。

按各品种拟定的条件进行参数设置, 然后用盐酸滴定液进行滴定。平行测试2次。

待检测完成后, 采用滴定曲线拟合确定化学计量点, 以电导率倒数为0的点所对应的体积为V1(ml) (若未给出倒数为0的点, 则取接近倒数为0的点所对应的体积), V2的取值使用相交线进行设置, 取第二阶段和第三阶段的交点得到V2, 代入下列公式计算羧基含量值。

$$\text{羧基含量 (}\mu\text{mol/g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 1000}{m \times G} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

V2: 第二阶段和第三阶段的交点所对应的体积 (ml);

V1: 电导率倒数为0的点所对应的体积 (ml);

C: 盐酸浓度 (mol/L);

m: 样品称样量 (g);

G: 固含量 (%)

F.2 官能团为氨基含量测定

F.2.1 原理

电导滴定法 (conductometric titration) 是电化学分析法的一种将标准溶液滴入被测物质的溶液, 从电导率的改变而决定终点的方法。

F.2.2 试剂和仪器设备

F.2.2.1 氢氧化钠滴定液

F.2.2.2 盐酸溶液

F.2.2.3 电位滴定仪

F.2.3 检测步骤

称取约2.0g样品于100ml玻璃烧杯中, 加入70±10mL水于盛有样品的玻璃烧杯中, 用盐酸调节pH值。

按各品种拟定的条件进行参数设置, 然后用氢氧化钠滴定液进行滴定。平行测试2次。

待检测完成后, 采用滴定曲线拟合确定化学计量点, 以电导率倒数为0的点所对应的体积为V1(ml) (若未给出倒数为0的点, 则取接近倒数为0的点所对应的体积), V2的取值使用相交线进行设置, 取第二阶段和第三阶段的交点得到V2, 代入下列公式计算氨基含量值。

$$\text{氨基含量 (}\mu\text{mol/g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 1000}{m \times G} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

V2: 第二阶段和第三阶段的交点对应的体积 (ml)

V1: 电导率倒数为 0 的点所对应的体积

C: 氢氧化钠浓度 (mol/L);

m: 样品称样量 (g);

G: 固含量 (%)

附录G
(资料性)
粒径及均一度

G.1 原理

主要基于光散射技术，通过测量颗粒在溶液中的散射光来推算颗粒的粒度。具体来说，当光束照射到样品中的粒子时，会发生散射现象，散射光的强度和角度与粒子的大小、形态等参数有关。通过测量散射光的强度和角度，可以计算出粒子的尺寸分布、聚集状态等信息。

G.2 试剂及仪器设备

纳米粒度仪

G.3 粒径检测步骤

G.3.1 应严格按照纳米粒度仪说明书与注意事项进行操作，并遵从以下规范。

G.3.2 开机通电预热15-20分钟。

G.3.3 测试前，可根据供试品的特性，选择适宜的分散方法使供试品分散成稳定的混悬液。分散方法如下：

G.3.3.1 用10 μ L移液器取10 μ L胶乳到相应器皿中，根据胶乳固含量用移液器取相应的胶乳保存液（每1%固含量加入1ml保存液）稀释待测胶乳至最终胶乳固含统一为0.01%。

G.3.3.2 取一个粒径仪专用比色皿（要求皿壁光滑洁净，无划痕，使用时，用手捏住皿的棱边，避免弄脏皿壁）。

G.3.3.3用1000 μ L移液器取1 mL纯水冲洗皿内壁，将水吸出，取1 mL待测胶乳稀释液润洗皿壁，吸出，再用移液器向比色皿中注入1 mL待测胶乳稀释液，需将枪头靠紧皿壁，使待测液沿皿内壁缓慢流下，盖上皿盖混匀后用粒径仪进行粒径测定。

G.3.4 要求皿壁光滑洁净，无划痕，使用时，用手捏住皿的棱边，避免弄脏皿壁。

G.3.5 供试品分散均匀后采用适宜的溶剂定量稀释至拟定的浓度进行测试。

参 考 文 献

- [1] GB/T 29791.1-2013 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
- [2] GB/T 9881-2008 橡胶 术语
- [3] GB/T 2035-2008 塑料术语及其定义
- [4] GB/T 14666-2003 分析化学术语
- [5] GB/T 6325-94 有机化工产品分析术语
- [6] YY/T 1255—2015 免疫比浊法检测试剂（盒）（透射法）
- [7] ISO 80004-6 Nanotechnologies - Vocabulary - Part 6: Nano-object characterization
- [8] ISO 19807-2 Nanotechnologies — Magnetic nanomaterials — Part 2: Specification of characteristics and measurement methods for nanostructured magnetic beads for nucleic acid extraction
- [9] 体外诊断试剂主要原材料研究注册审查指导原则 国家药品监督管理局
- [10] 免疫检测词典 人民卫生出版社
- [11] 生命科学实验指南系列 科学出版社
- [12] 免疫检测原理与应用 人民卫生出版
- [13] 中国药典分析检测技术指南 中国医药科技出版社
- [14] 中国药典2020年版 中国医药科技出版社