

ICS 11.100

CCS C 30

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 1363—2026

肺炎支原体抗体检测 吖啶酯化学发光法

Determination of mycoplasma pneumoniae antibody — acridinium ester
chemiluminescence method

2026 – 07 – 10 发布

2026 – 07 – 16 实施

广西标准化协会 发 布

前 言

本文件参照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。

本文件由广西预防医学会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：南宁市第四人民医院、东莞市人民医院、玉林市第一人民医院、玉林市第二人民医院、广西中医药大学第一附属医院、广西国际壮医医院、柳州市柳铁中心医院、来宾市人民医院、崇左市人民医院、河池市人民医院、柳州市中医医院（柳州市壮医医院）、柳州市妇幼保健院、钦州市第二人民医院、深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司、岑溪市人民医院、博白县人民医院、桂林市妇幼保健院、来宾市中医医院、靖西市人民医院。

本文件主要起草人：罗晓璐、黄宛虹、陆月禧、周晓萍、韦尚谋、莫伟平、罗晓成、刘泽端、邹光美、罗金、李明芬、陈翔、罗雪林、黄伟、覃卫洪、彭征、朱书宇、黄凯华、覃泽义、李金莲、秦文珍、彭秋玲、苏广谢、庞晓泸、张泳仪、曾嫚妮、苏振洲、甘丽英、潘刚熙、蒋勤和、于秋萍、梁洁琼、卢珮、韦振雷、张红雨、吕晓兰、梁柳、陈娴、朱云柳、李红霞、黄志超、梁显席、磨立达、马联、闭德武、麻秋英、黄晓东、罗顺达。

肺炎支原体抗体检测 吖啶酯化学发光法

警告：使用本文件的人员应有临床实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本文件界定了吖啶酯化学发光法涉及的术语和定义、缩略语，描述了吖啶酯化学发光法检测肺炎支原体抗体的方法。

本文件适用于人体血清/血浆中肺炎支原体抗体的吖啶酯化学发光法检测。

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/T 27424 合格评定 非可溯源生物物质控品质量控制规范
WS/T 661 静脉血液标本采集指南
YY/T 0314 一次性使用人体静脉血样采集容器
YY/T 1225 肺炎支原体抗体检测试剂盒

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

吖啶酯化学发光法 **acridinium ester chemiluminescence method**

一种基于化学发光原理，利用吖啶酯作为发光标记物，在特定化学反应条件下产生光信号，实现对目标物质定量或定性分析的检测技术。

3.2

灰区 **equivocal zone**

检测结果处于正常参考值与明确异常临界值之间的区域。

3.3

无反应性 **nonreactivity**

检测结果低于试剂说明书规定的临界值。

3.4

有反应性 **reactivity**

检测结果高于试剂说明书规定的临界值。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CAL: 校准品 (Calibrator)

COI: 临界值指数 (Cut Off Index)

EDTA: 乙二胺四乙酸溶液 (Ethylenediaminetetraacetic Acid)

IgG: 免疫球蛋白G (Immunoglobulin G)

IgM: 免疫球蛋白M (Immunoglobulin M)

MP-IgG: 肺炎支原体-免疫球蛋白G (Mycoplasma Pneumoniae-Immunoglobulin G)

MP-IgM: 肺炎支原体-免疫球蛋白M (Mycoplasma Pneumoniae-Immunoglobulin M)

RCF: 相对离心力 (Relative Centrifugal Force)

RLU: 相对发光强度 (Relative Light Unit)

5 原理

采用吖啶酯化学发光法检测, 以人体血清/血浆为待测样本。利用包被肺炎支原体抗原的磁微粒与样本中IgM/IgG抗体特异性结合, 经磁分离、清洗后, 加入吖啶酯标记的鼠抗人IgM/IgG抗体形成免疫复合物。加入预激发液与激发液激发吖啶酯产生化学发光, 仪器检测RLU, 并依据标准曲线自动计算血清/血浆样本中肺炎支原体抗体含量。

6 仪器和设备

- 6.1 全自动化学发光测定仪: 仪器核心参数包括样本/试剂加样体积误差 $\leq \pm 5\%$ 、孵育温控精度 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、发光检测线性范围 $10^3\text{ RLU} \sim 10^9\text{ RLU}$ 、磁分离效率 $\geq 95\%$ 、结果计算相对偏差 $\leq \pm 15\%$ 。
- 6.2 离心机: $\text{RCF } 1\,200 \times g \sim 1\,700 \times g$ 、 $10\,000 \times g \sim 35\,000 \times g$ 。
- 6.3 医用冰箱: $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及以下。

7 试剂和材料

警告: 预激发液中含有过氧化氢, 激发液中含有氢氧化钠, 对人体皮肤、呼吸道和消化道等有腐蚀风险, 操作时应做好安全防护措施。

- 7.1 除另有规定外, 所用化学试剂均为分析纯, 所有采样容器的技术要求应符合 YY/T 0314 的规定。
- 7.2 试剂盒: $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存放, 符合 YY/T 1225 的规定。组成包括但不限于:
 - 试剂 1 (R1): 肺炎支原体抗原包被的磁微粒, 磷酸盐缓冲液, 含防腐剂;
 - 试剂 2 (R2): 鼠抗人 IgG/IgM 抗体吖啶酯标记物, Tris 缓冲液, 含防腐剂;
 - 试剂 3 (R3): 磷酸盐缓冲液, 含防腐剂;
 - 校准品 (IgM 试剂盒至少含 2 个校准浓度, IgG 试剂盒至少含 3 个校准浓度): 含有已知浓度肺炎支原体 IgM/IgG 抗体的溶液, 用于建立定量检测的标准曲线, 其浓度范围覆盖方法的定量检测范围 (校准品浓度定值应溯源至国家/国际参考物质或经验证的一级参考品)。
- 7.3 预激发液: 过氧化氢 (H_2O_2) 溶液。
- 7.4 激发液: 氢氧化钠 (NaOH) 溶液。
- 7.5 清洗液: 磷酸盐溶液, 含防腐剂。
- 7.6 质控品: 按 GB/T 27424 的要求制备, 至少包括阴性和弱阳性质控品, 阴性质控品浓度宜为临界值的 0.5 倍, 弱阳性质控品浓度宜为临界值的 2~4 倍。
- 7.7 反应管: 聚丙烯材质, 无色透明。
- 7.8 无抗凝剂的真空采血管、含抗凝剂的采血管 (含肝素钠、肝素锂、EDTA 和柠檬酸钠等抗凝剂采血管)、促凝管 (含促凝剂和分离胶的采血管)。

8 样本采集和处理

8.1 静脉血液采集及处理

- 8.1.1 静脉血液样本的采集和处理参照 WS/T 661 的要求进行。
- 8.1.2 血清: 用无抗凝剂的真空采血管或促凝管 (7.8) 采集外周血, 非抗凝全血样本在室温下放置 30 min~60 min, 至自然凝固、血块充分收缩, 使用离心机 (6.2) 常温离心 15 min 后直接吸取血清进行检测, RCF 为 $1\,200 \times g \sim 1\,700 \times g$ 。
- 8.1.3 血浆: 用含抗凝剂的采血管 (7.8) 采集外周血, 抗凝全血样本混匀并经离心机 (6.2) 离心 15 min 后直接吸取血浆进行检测, RCF 在 $1\,200 \times g \sim 1\,700 \times g$ 之间。

8.2 样本保存

- 8.2.1 血液样本离心后的血浆/血清样本保存在带盖或其他密闭容器中。保存条件如下:
 - 在 8 h 内完成检测的, 可在室温下存放;

- 在 8 h 内无法完成检测的，放置于 2℃～8℃医用冰箱（6.3）中冷藏保存；
- 预计超过 7 d 无法完成检测的，将血清/血浆转移至冻存管保存在-20℃及以下医用冰箱（6.3）冷冻保存；
- 样本需要运输时，将血清/血浆转移至冻存管低温条件（2℃～8℃）下运输。

8.2.2 冷冻样本在复溶后进行充分混匀。

9 分析步骤

9.1 检测前准备

9.1.1 仪器准备

按照全自动化学发光测定仪（6.1）操作规程开机，执行自检与初始化。实验室应保持温度为10℃～30℃，相对湿度为20%～70%RH。

9.1.2 试剂与样本准备

将试剂（7.2）、反应管（7.7）等装载至指定位置，并确保余量充足。将校准品（7.2）、质控品（7.6）及待测样本平衡至室温后方可使用。

注：样本冻融次数不超过3次，不使用热灭活的样本。

9.2 标准曲线建立

9.2.1 将已知浓度的肺炎支原体 IgM/IgG 抗体校准品（7.2）放入全自动化学发光测定仪（6.1），选择需要校准的项目并启动，仪器按检测步骤进行校准，记录 RLU 值。

9.2.2 IgM 抗体测试各个浓度校准品（7.2）的 RLU 值，每个浓度测 2 次，取平均值，按式（1）进行定量计算。

9.2.3 IgG 抗体测试各个浓度校准品（7.2）的 RLU 值，每个浓度测 2 次，取平均值，以浓度为横坐标，RLU 值为纵坐标，并结合试剂盒的主校准曲线绘制校准曲线。

注1：新批号试剂启用、超过试剂制造商声明的校准效期、质控失控、仪器维修等情况发生时，均进行校准。不同批号校准品不混用，使用配套校准品。

注2：校准结果有效期不超过试剂制造商声明期限，且最长不超过30 d，到期重新校准。

9.3 检测步骤

9.3.1 在全自动化学发光测定仪（6.1）上选择肺炎支原体 IgM、IgG 抗体检测项目，将样品放在相应样本架并置于进样装载轨道上，启动仪器。

9.3.2 加样与第一次孵育：将 5 μL 血清或血浆样本与 95 μL 样本稀释液（R3）（7.2）、50 μL 包被有肺炎支原体抗原的磁微粒（R1）（7.2）混匀并 37℃±0.5℃孵育 10 min，形成抗原-抗体复合物。

9.3.3 分离与清洗：取清洗液（7.2）清除未结合的物质。

9.3.4 加样与第二次孵育：加入 100 μL 吡啶酯标记的鼠抗人 IgM/IgG 抗体（R2）（7.2）并 37℃±0.1℃孵育 10 min，形成“抗原-抗体-标记二抗”的复合物。

9.3.5 分离与清洗：再次进行磁性分离与清洗，去除游离的标记抗体。

9.3.6 信号激发与检测：依次加入 100 μL 预激发液（7.2）与 200 μL 激发液（7.2）混匀后，化学发光系统测定反应产生的 RLU 值。

注：在确保方法学原理与核心反应条件不变的前提下，可以对具体操作参数进行优化，所有参数设置均包含在经验证的标准操作程序中。

9.4 数据处理

9.4.1 IgG 抗体测试浓度由全自动化学发光测定仪（6.1）根据式（1）计算获得。

$$Y = D + \frac{A-D}{1+(X/C)^B} \quad (1)$$

式中：

Y ——样品相对发光强度；

X ——浓度；

- A ——最大理论信号值;
 D ——最小理论信号值;
 B ——斜率;
 C ——半效浓度, 信号值介于A和D正中间时的浓度。

9.4.2 IgM 抗体按式 (2) 计算获得 COI:

$$COI = \frac{RLU \times M}{A \times RLU_{C0} + B \times RLU_{C1} + C} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- COI ——临界值指数;
 RLU ——样品相对发光强度;
 M ——样本检测浓度系数;
 A ——CAL1对应系数;
 RLU_{C0} ——CAL1相对发光强度;
 B ——CAL2对应系数;
 RLU_{C1} ——CAL2相对发光强度;
 C ——常数。

注: 结果保留位数和各仪器制造商使用的方法学、仪器界面的展示方式有关, 不同仪器的RLU值不具备可比性, 系数M、A、B、C由试剂盒制造商提供, 随校准品配套给出, 每次校准后仪器自动更新系数值。

10 结果判定

10.1 肺炎支原体 IgM 抗体结果判定

- 10.1.1 COI < 0.9 时, 视为无反应性。
 10.1.2 0.9 ≤ COI < 1.1 时, 视为灰区。
 10.1.3 COI ≥ 1.1 时, 视为有反应性。

10.2 肺炎支原体 IgG 抗体结果判定

- 10.2.1 MP-IgG 浓度 < 24.0 AU/mL 时, 视为无反应性。
 10.2.2 24.0 AU/mL ≤ MP-IgG 浓度 < 36.0 AU/mL 时, 视为灰区。
 10.2.3 MP-IgG 浓度 ≥ 36.0 AU/mL 时, 视为有反应性。

注: 不同平台的结果判定各自对应不同的验证过程。

11 结果解释

按附录A的规定执行。

12 质量控制

- 12.1 吡啶酯原料和试剂盒应储存在避光、2℃~8℃的低温环境。所有从低温环境取出的样本、校准品、质控物等, 应平衡至室温至少 30 min 后进行检测。
 12.2 生物安全: 本文件涉及传染性生物样本 (处理可能含病原体的血清/血浆), 应在生物安全二级实验室内开展相关操作, 配备手套、口罩和实验服等个人防护装备。
 12.3 技术人员: 应具备医学/检验/生物专业教育背景, 取得检验相关资格证书, 上岗前应通过培训并考核合格。
 12.4 室内质控: 每个实验室应建立质控均值和可接受的范围, 每批次检测样本宜测试一次质控品 (7.6), 同一批次检测样本数量超过 50 份时, 每 50 份样本追加一次质控品检测。每次校准后应测试一次质控品 (7.6), 质控结果在合格范围内方可检测样本。应使用符合 7.6 要求的质控品或其他适用质控品, 其浓度水平应至少涵盖阴性和弱阳性。质控品复溶及保存应遵循制造商说明书的规定。质控结果未落在可接受的范围内时, 表明测试结果不可信, 不应发送临床检测报告, 查找并纠正失控原因, 实验室应评估失控之前的临床样本检验结果的有效性。

13 性能验证

性能验证指标的选择应满足该项目的预期用途，宜包括：符合率、精密度、检出限、抗干扰能力等，实验室应根据不同检验项目的预期用途，选择对检验结果质量有重要影响的参数进行验证。性能验证方法见附录B。

14 检测后样本保存与处理

14.1 检测后样本宜密封后放置 2℃~8℃医用冰箱（6.3）保存 7 d。

14.2 无需保存的样本应进行高压蒸汽灭活（121℃，30 min），按医疗废弃物处理。



附录 A
(规范性)
结果解释

A.1 肺炎支原体 IgM 抗体 (MP-IgM) 结果解释

A.1.1 无反应性：不能排除感染，感染初期 (1 d~3 d) 或恢复期 (抗体水平下降后)，MP-IgM 可能为阴性，高度怀疑感染时，应由医生结合病史、临床症状、体征、影像学表现和其他检测结果 (如核酸检测) 综合判断，必要时复查。

A.1.2 灰区：结果判定为灰区时，提示受检样本中的 MP-IgM 水平未达到呈反应性的判断标准，实验室应对该样本进行复查 [原样本高速 (RCF: $10\,000\times g\sim 35\,000\times g$) 离心 15 min 后重测] 或动态监测抗体变化，或由医生根据受检对象的病史、临床症状、体征、影像学表现和其他检测结果 (如核酸检测) 综合判断。

A.1.3 有反应性：IgM 抗体通常在感染后 1 周出现，3~4 周达到高峰，持续 2~3 个月。结果判定为有反应性时，提示可能为近期感染/急性感染。

A.2 肺炎支原体 IgG 抗体 (MP-IgG) 结果解释

A.2.1 无反应性：不能排除感染，感染初期抗体可能为阴性，高度怀疑感染时，应结合病史、临床症状、体征、影像学表现和其他检测结果 (如核酸检测) 综合判断，必要时复查。

A.2.2 灰区：结果判定为灰区时，提示受检样本中的 MP-IgG 水平未达到呈反应性的判断要求，实验室应对该样本进行复查 [原样本高速 (RCF: $10\,000\times g\sim 35\,000\times g$) 离心 15 min 后重测] 或动态监测抗体变化，或由医生根据受检对象的病史、临床症状、体征、影像学表现和其他检测结果 (如核酸检测) 综合判断。

A.2.3 有反应性：IgG 抗体通常在感染后 2~4 周出现，可持续数月至数年。结果判定为有反应性时，提示可能为既往感染过肺炎支原体；患者病程中双份血清/血浆 (间隔 2~4 周) MP-IgG 水平上升 4 倍及以上时，提示现症感染或复发感染可能，可结合受检对象的病史、临床症状、体征、影像学表现和其他检测结果 (如核酸检测) 进行综合判断。

附录 B (资料性) 性能验证方法

B.1 性能验证时机

B.1.1 新检验程序常规应用前。

B.1.2 任何严重影响检验程序分析性能的情况发生后，应在检验程序重新启用前对受影响的性能进行验证。影响检验程序分析性能的情况包括但不限于：仪器主要部件故障、仪器搬迁、设施 and 环境的严重失控等。

B.1.3 常规使用期间，实验室可基于检验程序的稳定性，利用日常工作产生的检验和质控数据，定期对检验程序的分析性能进行评审，应能满足检验结果预期用途的要求。现用检验程序的任一要素（仪器、试剂、校准品等）变更，如试剂升级、仪器更新、校准品溯源性改变等，应重新进行验证。

B.2 性能验证参数

性能验证指标的选择应满足该项目的预期用途，宜包括：符合率、精密度、检出限、抗干扰能力等，实验室应根据不同检验项目的预期用途，选择对检验结果质量有重要影响的参数进行验证。

B.3 性能验证方案

B.3.1 方法符合率

选取阴性样本10份（包含至少5份其他呼吸道病原体阳性的样本）、阳性样本10份（包含急性期、恢复期至少5份弱阳性样本，1份极高值阳性样本），共20份样本，随机每4份分成一组，采用参比方法和候选方法均每天按照患者样本检测程序进行平行检测一组样本，即将本实验室与参比实验室用同一方法对同批样本所测数据进行比较，计算符合率，判断方法在本实验室的可行性。

注：可接受判断标准为所用制造商检验方法（候选方法）标准。无可用的制造商标准时，可根据实验室检测方法的预期用途制定实验室验证可接受标准。符合率最低可接受标准为阴/阳性符合率均 $\geq 80\%$ 。

B.3.2 检出限

根据试剂制造商说明书声明将已知浓度样本（国家标准物质、国际标准物质、制造商参考品等）进行系列稀释至制造商声明的最低检出限浓度，在不同批内对该浓度样本进行测定（如测定5 d，每天测定4份样本），样本总数不应少于20个，稀释液可根据情况选用制造商提供的稀释液或阴性血清。

注：可接受判断标准为 $\geq 95\%$ 的样本检出阳性，检出限验证通过。

B.3.3 精密度

B.3.3.1 免疫学定性检验程序以量值或数值形式表达定性结果时，进行精密度验证。

B.3.3.2 采用2~3个浓度水平样本（应包含临界值样本），每个水平在检测系统上每日重复检测至少3次，5个工作日完成检测，计算变异系数（CV值）。

注：可接受判断标准为批内精密度 $\leq 10\%$ 或符合制造商说明书提供的可接受范围。中间精密度 $\leq 15\%$ 或符合制造商说明书提供的可接受范围。

B.3.4 抗干扰能力

B.3.4.1 应验证与检测对象可能存在交叉反应的物质对检测的影响。

B.3.4.2 应验证说明书中涉及的干扰物质对测定的影响。

B.3.4.3 干扰验证试验步骤如下：

——将目标物分别为阴性、弱阳性、阳性不同浓度的共5份样本和相应干扰物进行一定比率的混合（混合后的浓度为制造商声明的最高不影响浓度）；

——加入干扰物质的量应小于样本量的 10% (对照组加入等量的健康人阴性血清)，未添加干扰物质的阴性、弱阳性、阳性不同浓度的 5 份样本作为对照；

——实验样本和对照样本重复检测至少 2 次，计算结果并记录。

注1：干扰物质主要包括胆红素、血红蛋白、甘油三酯等。

注2：可接受判断标准为加干扰物质的阳性组结果和阳性对照组结果之间符合率 $\geq 80\%$ ；添加干扰物质的阴性组和阴性对照组结果均为阴性。

B.3.5 生物参考区间验证（小样本验证）

B.3.5.1 宜使用制造商提供、国家/行业公认的参考范围作为实验室检测项目的生物参考区间。验证方法如下：从本地表面健康人群中筛选 20 人，采样并测定，测定值剔除离群值后若不满 20 例需补足，将这 20 个测定值与需验证的参考区间比较，记录结果。

B.3.5.2 若落在参考限外的测定值不超过 2 个，则该参考区间可直接使用；若 ≥ 3 个测定值超出，则需重新筛选 20 人重新验证，同样若不超过 2 个测定值超出该参考区间的则可以使用；若仍然有 ≥ 3 个测定值超出，则实验室应重新检查所用的分析程序，考虑人群与参考区间差异。

B.3.6 携带污染率

B.3.6.1 应选择无溶血、无黄疸、无脂血的样本，也可使用校准品或质控品代替。高值样本选择浓度至少为阳性判断值的 10 倍的有反应性样本；低值样本选择已知为无反应性的样本（或零浓度样本、稀释液）。

B.3.6.2 先连续测定高值样本 3 次（H1、H2、H3），随后立即连续测定低值样本 3 次（L1、L2、L3）。

B.3.6.3 低值样本全部为无反应性，则判定为携带污染率合格，检测系统无显著交叉污染；若低值样本检出有反应性，则判定为携带污染率不合格。应排查仪器加样针、反应杯、搅拌棒等共用部件的清洗情况，或优化检测顺序、增加清洗程序。

参 考 文 献

- [1] YY/T 1155—2019 全自动发光免疫分析仪
- [2] YY/T 1174—2010 半自动化学发光免疫分析仪
- [3] 李桦, 肖鸽飞, 张霞, 等. 三种方法检测肺炎支原体抗体的一致性分析[J]. 中国实用医药, 2020, 15 (14): 20-22.
- [4] 《肺炎支原体IgM/IgG抗体检测试剂注册技术审查指导原则》(国家药监局2021年第4号通告).



中华人民共和国团体标准
肺炎支原体抗体检测 吡啶酯化学发光法
T/GXAS 1363—2026
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究