

T/ZSMM

浙江省数理医学学会团体标准

T/ZSMM XXXX—XXXX

琼脂糖凝胶免疫固定电泳实验室检测 室内质量控制指南

Guide for Internal quality evaluation of laboratory for monoclonal immunoglobulin
identification and typing

（征求意见稿）

（本草案完成时间：2024年9月5日）

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

浙江数理医学学会 发布

目 次

| | |
|---------------------------------|----|
| 前言 | II |
| 1 范围 | 1 |
| 2 规范性引用文件 | 1 |
| 3 术语和定义 | 1 |
| 4 室内质控准备 | 2 |
| 4.1 质控人员 | 2 |
| 4.2 操作规程 | 2 |
| 4.3 仪器、试剂与耗材 | 2 |
| 5 质控物 | 2 |
| 5.1 质控物选择 | 2 |
| 5.2 质控物制备 | 2 |
| 5.3 检测与评价 | 3 |
| 5.4 分装与保存 | 3 |
| 5.5 使用与更换 | 3 |
| 6 质量控制过程 | 3 |
| 6.1 样本采集与处理 | 3 |
| 6.2 免疫固定电泳操作 | 4 |
| 6.3 结果判断与处置 | 4 |
| 7 质量控制数据 | 4 |
| 7.1 质控记录 | 4 |
| 7.2 统计处理 | 4 |
| 7.3 数据保存 | 4 |
| 7.4 周期性评价 | 5 |
| 附录 A（资料性） 免疫固定电泳常见图谱及分析处理 | 6 |
| A.1 血清 M 蛋白 | 6 |
| A.2 尿 M 蛋白 | 11 |
| 参考文献 | 14 |

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。

本文件由浙江数理医学学会提出并归口。

本文件起草单位：浙江大学医学院附属第一医院、浙江省中医药大学附属第一医院、浙江省立同德医院、浙江省人民医院、河南省中医院（河南中医药大学第二附属医院）、温州医科大学附属第一医院、浙江大学医学院附属第二医院、杭州市中医院、浙江省台州医院、西南医科大学附属医院、郑州大学第一附属医院、徐州医科大学附属医院、江西省上饶市人民医院、中原工学院、河南省生物工程技术研究中心。

本文件主要起草人：佟红艳、陈瑜、杨敏、孟海涛、金洁、马秋玲、马光华、俞颖、王伟、夏骏、王世兵、雷文、桑奕雯、谈潘莉、李芳琼、杨建荣、林宜、张华琴、金敏雅、邢宏运、王瑞强、徐银海、刘敏、沈佳坤、李春雷、王云龙。

琼脂糖凝胶免疫固定电泳实验室检测 室内质量控制指南

1 范围

本文件提供了琼脂糖凝胶免疫固定电泳实验室检测室内质量控制时涉及的室内质控准备、质控物、质量控制过程、质量控制数据等方面的指导和建议。

本文件适用于琼脂糖凝胶免疫固定电泳实验室检测的室内质量控制。

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 22576.1-2018 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分：通用要求

WS/T 227-2024 临床检验操作规程编写要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

单克隆免疫球蛋白 monoclonal protein, M 蛋白

浆细胞或B淋巴细胞单克隆大量增殖所产生的异常免疫球蛋白或其片段，具有相同氨基酸组成、排列顺序，空间构象和电泳特征也完全相同，无抗体活性，也称为 M 蛋白。

3.2

免疫固定电泳 immunofixation electrophoresis, IFE

用于确认样品中的单克隆免疫球蛋白的电泳技术。将蛋白样品在琼脂糖凝胶上进行区带电泳，再通过与特异性抗体反应，从而确认单克隆免疫球蛋白的存在及其类型。

3.3

血清免疫固定电泳 serum immunofixation electrophoresis, sIFE

血清蛋白在琼脂糖凝胶中分六个泳道进行蛋白电泳，然后在各泳道分别加入相应的固定液和特异的抗血清。分别为抗 γ 链（IgG 重链）、抗 α 链（IgA 重链）、抗 μ 链（IgM 重链）的抗血清和抗 κ 、 λ 轻链的抗血清。抗体与血清中的不同免疫球蛋白结合并发生抗原-抗体沉淀反应，蛋白固定液作为参照沉淀血清中所有蛋白，洗脱未结合蛋白后进行染色。观察免疫球蛋白的分布状态，如为弥散状则为多克隆免疫球蛋白，如出现致密条带，则为单克隆免疫球蛋白，通过致密条带所在泳道判断单克隆免疫球蛋白的类型。

3.4

尿免疫固定电泳 urine immunofixation electrophoresis, uIFE

尿液在琼脂糖凝胶中分六个泳道进行电泳，然后在各泳道分别加入相应的固定液和特异的抗血清。分别为抗 γ 链（IgG 重链）、抗 α 链（IgA 重链）、抗 μ 链（IgM 重链）的抗血清和抗 κ 、 λ 轻链的抗血清。抗体与尿液中的不同免疫球蛋白结合并发生抗原-抗体沉淀反应，蛋白固定液作为参照沉淀尿液中蛋白，洗脱未结合蛋白后进行染色。观察免疫球蛋白的分布状态，如为弥散状则为多克隆免疫球蛋白，如出现致密条带，则为单克隆免疫球蛋白，通过致密条带所在泳道判断单克隆免疫球蛋白的类型。如有必要，也可添加针对游离 κ 和游离 λ 的抗血清。

3.5

质量控制 quality control

用于满足和验证质量要求的操作技术和活动。

3.6

室内质量控制 internal quality control

检验人员按照一定的频度连续测定稳定样品中的特定组分，并采用一系列方法进行分析，按照统计学规律推断和评价本批次测量结果的可靠程度，以此判断检验报告是否可发出，及时发现并排除质量环节中的不确定因素。

3.7

均匀性 homogeneity

标准物质各指定部分中某个特定特性值的一致性。

3.8

稳定性 stability

体外诊断医疗器械在制造商规定界限内保持其性能特性的能力。

3.9

质控物/控制物质 control materials

被其制造商预期用于验证体外诊断医疗器械性能特征的物质、材料或物品。

4 室内质控准备

4.1 质控人员

4.1.1 质控管理人员和技术人员的资质、培训、评估可参照 GB/T 22576.1-2018 中 5.1 的要求。

4.1.2 室内质控的实施一般由技术人员和管理人员共同组成，技术人员完成质控检测后由管理人员负责判断。

4.1.3 技术人员在上岗之前宜进行不少于一个月的培训；管理人员应熟悉电泳检测实验，并具有三年以上相关工作经验；所有参与检测的人员应按临床实验室管理相关要求取得相应资质。

4.2 操作规程

4.2.1 实验室宜建立完整的琼脂糖凝胶免疫固定电泳的标准化操作规程，并对管理人员和技术人员进行操作规程的培训，使其掌握工作流程和工作要求。

4.2.2 操作规程的编制可参照 WS/T 227-2024 的要求。

4.3 仪器、试剂与耗材

4.3.1 质量控制操作前需要关注所使用的琼脂糖凝胶免疫固定电泳仪是否在保养和校准周期内。

4.3.2 试剂与耗材宜选用仪器配套产品，并确保在有效期内。

5 质控物

5.1 质控物选择

5.1.1 质控物宜选择使用国家批准上市的用于琼脂糖凝胶免疫固定电泳检测的商品化质控品，也可自行制备。

5.1.2 选择质控物时需要考虑基质类型、浓度、稳定性、均一性等因素。

5.1.3 选择液态基质质控物时，宜选择以血清样本为基体的质控物。

5.2 质控物制备

5.2.1 商业质控物可参考产品说明书按需求量制备。

5.2.2 自行制备质控物的基体材料和特性值宜接近实际样本，且数量充足。

5.2.3 制备质控物时可选择临床患者样本为材料，质控物材料应无溶血、黄疸、脂血，无细菌污染，且以下感染标志物检测结果应均为阴性：

——乙型肝炎表面抗原；

——丙型肝炎抗体；

——人类免疫缺陷病毒抗体；

——梅毒螺旋体抗体。

5.2.4 宜分别制备阳性质控物、阴性质控物。

5.2.5 经免疫固定电泳法或毛细管电泳法免疫分型证实为单克隆免疫球蛋白阴性的血清标本，可制备成混合血清阴性质控物。

5.2.6 经免疫固定电泳或毛细管电泳法免疫分型证实为 IgG、IgA、IgM、 κ 、 λ 单克隆阳性的任意组合，将阳性的血清样本按照一定比例充分混合制备成血清阳性质控物。

5.2.7 质控物一次制备量应在稳定期内满足实验室的日常使用。

5.3 检测与评价

5.3.1 市场购置的质控物宜在入库前进行检测评价，自行制备的质控物宜在分装存贮前进行检测评价。

5.3.2 检测评价一般由实验室管理人员和技术人员共同完成并签字确认。

5.3.3 质控物一般从均匀性、稳定性、有效性 3 个方面进行评价。

5.3.4 均匀性评价可采取每批次随机抽样多个单元的方法进行，分别从每份质控物（阴性、阳性）中随机抽取 5 个样品，同时在电泳仪上进行检测，每个质控物重复检测 2 次。5 个阴性、阳性样品检测结果均为阴性和阳性，评价结果为通过，否则为不通过。

5.3.5 市场购置的质控物稳定性评价可参考产品说明书或技术手册确定；自行制备的质控物稳定性评价需要关注质控物的贮存条件，在 $-20^{\circ}\text{C}\sim-80^{\circ}\text{C}$ 环境下冷冻存贮的质控物，其稳定性一般可保持 1 年以上。

5.3.6 市场购置的质控物有效期可参考产品说明书或技术手册；自行制备的质控物在符合存贮条件的环境中有效期一般为 1 年。质控物存贮超过 1 年或某个质控样品结果异常时，可按照 5.3.4 的方法进行均匀性评价，评价结果为通过时质控物为有效，否则为无效。

5.4 分装与保存

5.4.1 市场购置的质控物宜按照产品说明书的要求和购置批次进行分装保存。

5.4.2 自行制备的质控物可分装在 Eppendorf 管中，并使用 Eppendorf 管贮存盒封装，贮存盒表面宜清晰标明以下信息：

——质控物名称；

——制备时间；

——制备人姓名及相关信息；

——制备批号；

——编号区间；

——贮存条件；

——使用范围。

5.4.3 自行制备的质控物宜在 $-40^{\circ}\text{C}\sim-80^{\circ}\text{C}$ 的环境中冷冻保存。

5.5 使用与更换

5.5.1 冷冻贮存的自行制备质控物，可将质控物置于常温环境中，待其恢复液体状态后使用。

5.5.2 质控物的更换宜在前一批号质控物使用结束前进行，新批号的质控物宜与其替代的质控物一起测定。

6 质量控制过程

6.1 样本采集与处理

6.1.1 血清样本采用静脉采血，血清管采集。采集的血液样本应新鲜，不溶血，避免脂血和血浆样品。

6.1.2 血液样本于低速离心机上， $2000\sim 3000\text{g}$ 离心 5 分钟，取上层血清作为血清样本，可在 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 下不超过一周，如需更长的保存期，宜将标本冷冻。

- 6.1.3 尿液样本留取中段晨尿于清洁干燥容器内，避免污染。
- 6.1.4 尿液样本应去除沉渣，可在 2-8℃下保存 72 小时，在-20℃下保存一周。如需长期保存，可加叠氮钠后放置于-80℃环境中冷冻保存。
- 6.1.5 血清和尿液单次琼脂糖电泳检测时，应按说明书要求采集足够的样品量，一般为几十微升。

6.2 免疫固定电泳操作

- 6.2.1 固定电泳仪开机自检正常后，应将质控物与样本在同一胶片上检测。
- 6.2.2 按照免疫固定电泳标准操作规程的要求完成电泳、胶片染色、风干、扫描等检测程序，获得免疫固定电泳图谱。
- 6.2.3 对免疫固定电泳图谱做好编号、信息标注等工作，分类保存。

6.3 结果判断与处置

- 6.3.1 定性检测质量控制的判断规则为阳性质控的结果均为阳性，阴性质控的结果均为阴性。
- 6.3.2 质控数据结果分为在控和失控，阴阳性相符为在控，阴阳性不符为失控。
- 6.3.3 质控测定出现失控情况时，查明失控原因，填写失控报告，上交实验技术负责人处理。
- 6.3.4 失控报告的内容主要包括：
 - 失控的质控品类型；
 - 失控情况的描述；
 - 失控原因分析；
 - 纠正措施；
 - 纠正效果评价；
 - 其他。

7 质量控制数据

7.1 质控记录

- 7.1.1 实验室负责人或指定人员至少每月对室内质量控制记录进行审查并签字。
- 7.1.2 质控记录宜包括以下信息：
 - 检测质控品的时间范围；
 - 仪器/方法名称；
 - 质控品的类型及名称；
 - 批号和有效期；
 - 试剂名称和批号；
 - 每个数据点的日期、操作人员；
 - 质控结果；
 - 结论。

7.2 统计处理

- 7.2.1 质量控制数据按质控品批次或每月统计 1 次。
- 7.2.2 统计处理的内容宜包括：
 - 当月检测原始质控数据；
 - 当月的失控报告单，失控原因，采取的纠正措施

7.3 数据保存

7.3.1 每个月的月末，将当月质控数据汇总整理后存档保存，存档的质控数据内容与 7.2.2 的内容相同。

7.3.2 实验室宜保存 2 年以上的质量控制数据。

7.4 周期性评价

每个月的月末，观察阴性质控是否都为阴性，阳性质控是否都为阳性，如有失控，应查找原因并对质控方法重新设计。

附 录 A
(资料性)
免疫固定电泳常见图谱及分析处理

A.1 血清 M 蛋白

A.1.1 一般图谱

A.1.1.1 血清免疫固定电泳免疫球蛋白泳道呈均匀弥散分布为阴性结果，如图 A.1 所示。

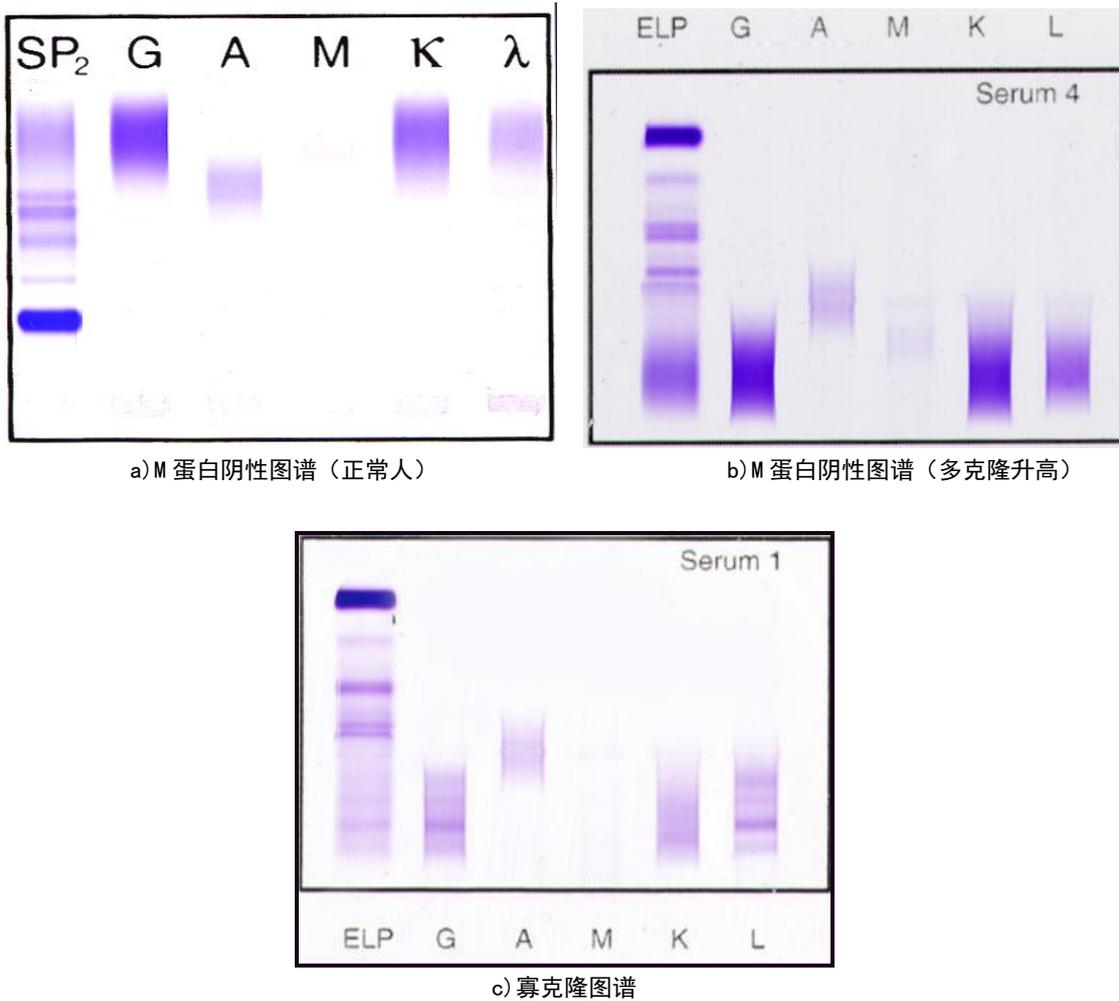


图 A.1 血清免疫固定电泳单克隆免疫球蛋白阴性图谱

A. 1. 1. 2 血清免疫固定电泳免疫球蛋白泳道出现狭窄而界限明确的条带为 M 蛋白阳性结果，如图 A. 2 所示。

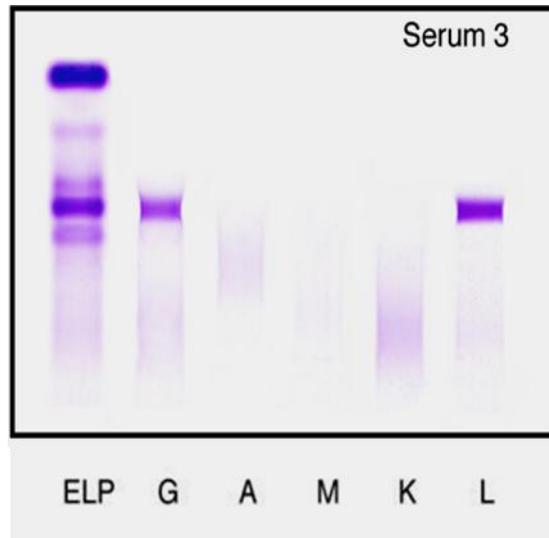


图 A. 2 M 蛋白阳性图谱

A. 1. 1. 3 通过是否存在狭窄而界限明确区带所在的电泳泳道确定 M 蛋白是否存在及 M 蛋白的类型（重链 IgG/IgA/IgM/IgD/IgE，轻链 Kappa/Lambda），如图 A. 3 所示。

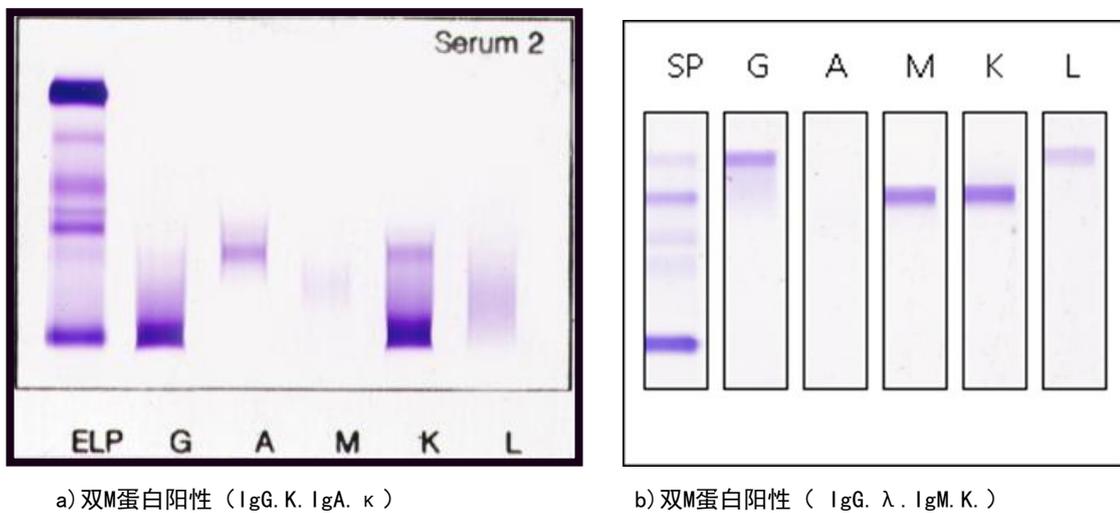


图 A. 3 双 M 蛋白阳性图谱

A. 1. 1. 4 一般情况下，先检测常见的重链类型 IgG/IgA/IgM 及总轻链 κ 和 λ ，如只出现单独轻链阳性或出现未结合的轻链阳性，建议加做游离轻链抗体检测或 IgD/IgE 抗体，如图 A. 4 所示。

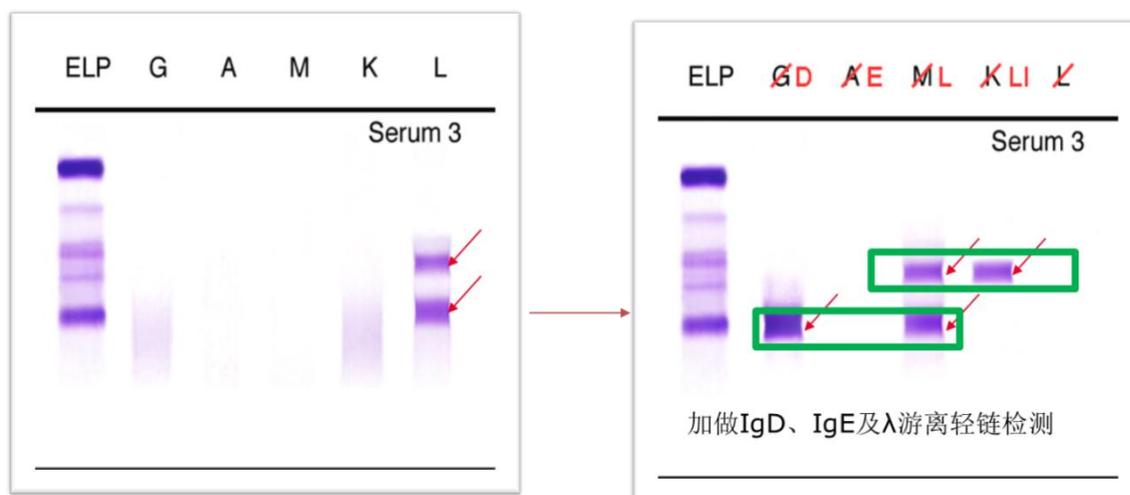


图 A. 4 双 M 蛋白图谱 (IgD λ + λ 游离轻链)

A. 1. 2 条带中间未着色

A. 1. 2. 1 抗原浓度过高时，电泳图谱可能会出现条带中间未着色的情形，如图 A. 5 所示。

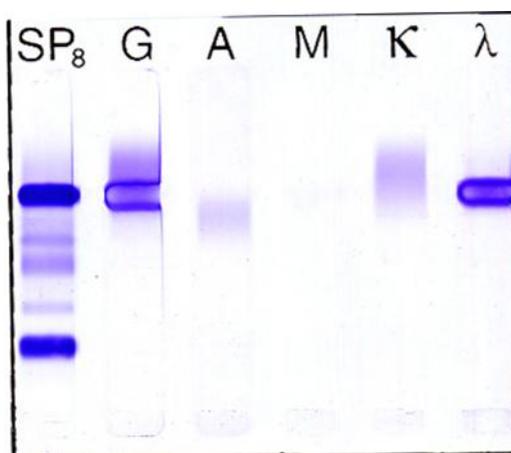


图 A. 5 条带中间未着色图谱

A. 1. 2. 2 电泳图谱出现条带中间未着色的情形时，可适当增加稀释比例后再次检测。

A. 1. 3 非特异结合条带

A. 1. 3. 1 非特异结合条带图谱的特征为特异结合的泳道条带染色很深而非特异结合的条带较浅，但条带在泳道中的位置相同，如图 A. 6 所示。

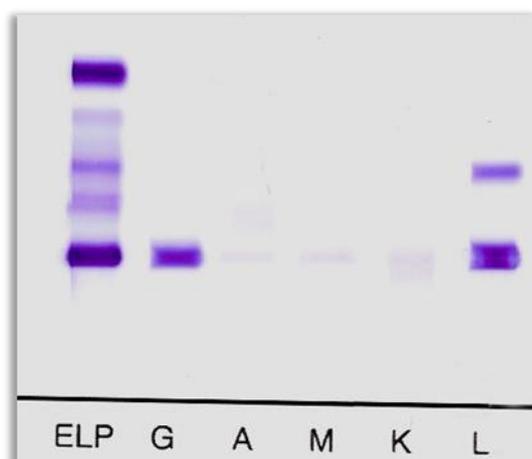


图 A.6 非特异结合条带图谱

A. 1. 3. 2 电泳图谱出现非特异结合条带情形时，可按照血清和生理盐水 1:1 稀释后再次检测。

A. 1. 4 呈现聚合物

A. 1. 4. 1 免疫球蛋白具有不同的分子形式，电泳图谱中会出现不同的聚合物，如图 A. 7 所示。

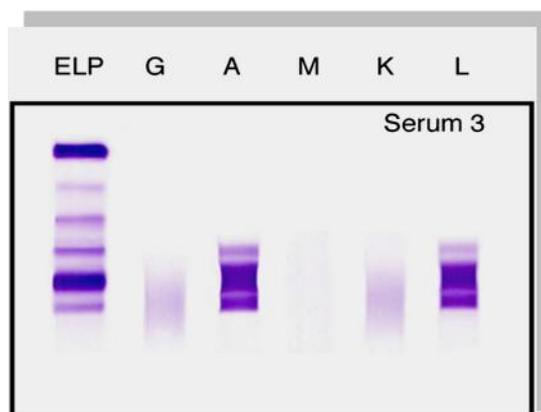


图 A.7 呈现聚合物图谱

注：IgA λ 出现不同形式的聚合物

A. 1. 4. 2 电泳图谱呈现聚合物情形时可采取 β -巯基乙醇处理血清标本或使用二硫苏糖醇（DTT）还原液处理血清标本再次检测，二者处理后效果相同， β 巯基乙醇有刺激性气味。

A. 1. 4. 3 采取 β -巯基乙醇处理血清标本 15min 后，再次检测。所用 β -巯基乙醇宜新鲜配置。配置和解聚步骤如下：

- 配置 10% β -巯基乙醇： 10 μ L β -巯基乙醇 + 90 μ L 生理盐水；
- 配置 1% β -巯基乙醇： 10 μ L 10% β -巯基乙醇 + 90 μ L 生理盐水；
- 25ul 1% β -巯基乙醇+75ul 血清标本 15min；
- 按照常规稀释标准步骤进行再次检测。

A. 1. 4. 4 使用二硫苏糖醇（DTT）还原液处理血清标本 7min 后，再次检测。二硫苏糖醇还原液可提前配制（0.5 M），密封并保存于-18 至-30 $^{\circ}$ C 条件下。解聚步骤如下：

- 还原性溶液为 0.5 M DTT 溶液；

- 使用前于室温下复溶混匀；
- 0.5M DTT 溶液 3 μ L+180 μ L 血清标本，室温下孵育 7 分钟；
- 按照常规使用方法，立即进行再次检测。

A. 1. 5 条带展宽

A. 1. 5. 1 IgA 型图谱往往具有不同的聚合度，易出现条带展宽的情形，如图 A. 8 所示。

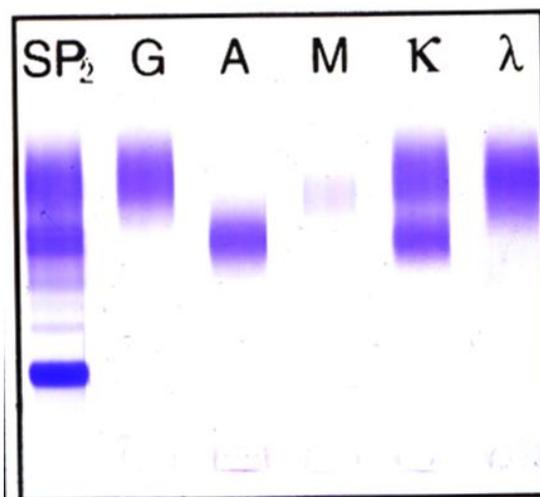


图 A. 8 条带展宽图谱

A. 1. 5. 2 电泳图谱呈现条带展宽情形时，可使用用 β -巯基乙醇处理血清标本 15min 或 0.5M DTT 处理血清样本后，再次检测。

A. 1. 6 点样印记

A. 1. 6. 1 凝胶孔堵塞可造各泳道点样所在位置均存在狭窄条带，图谱中呈现成点样印记，如图 A. 9 左图所示。

A. 1. 6. 2 电泳图谱呈现点样印记时，排除仪器点样错误，确认为样品问题时，可使用 β -巯基乙醇处理血清标本 15min 或 0.5M DTT 处理血清样本后，再次检测，如图 A. 9 右图所示。。

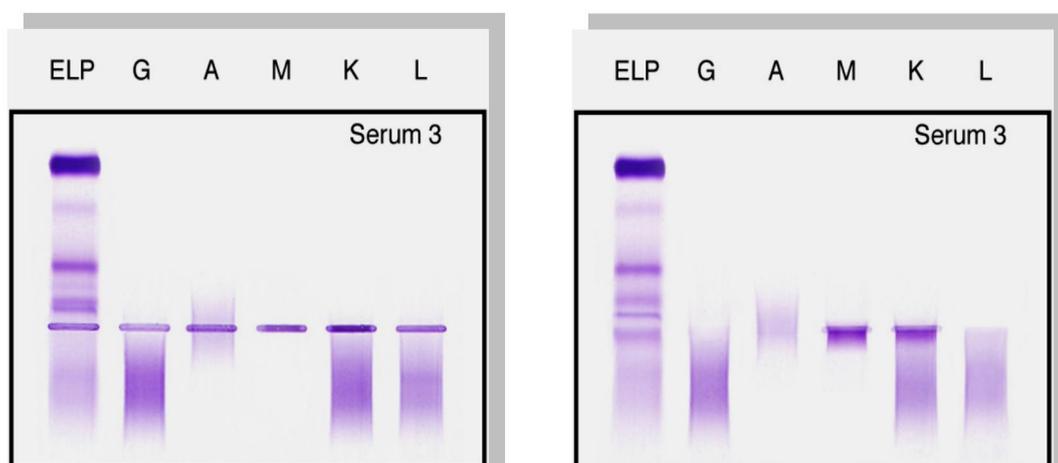


图 A. 9 点样印记图谱

注：左图为出现印记，右图为解聚处理后，显示有IgM.K单克隆。

A. 1. 7 单克隆抗体药物干扰

A. 1. 7. 1 单克隆抗体药物存于血清中时，免疫固定电泳图谱可呈现微弱的单克隆条带，如图 A. 10 左图所示。

A. 1. 7. 2 电泳图谱存在单克隆抗体药物干扰情形时，可选用经药监部门批准的针对特定单克隆抗体药物的移除试剂，排除单克隆抗体药物干扰，如图 A. 10 右图所示。

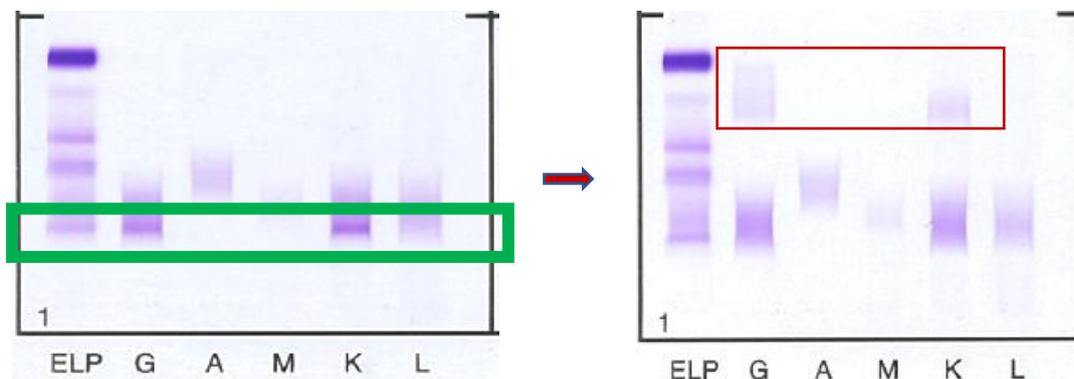


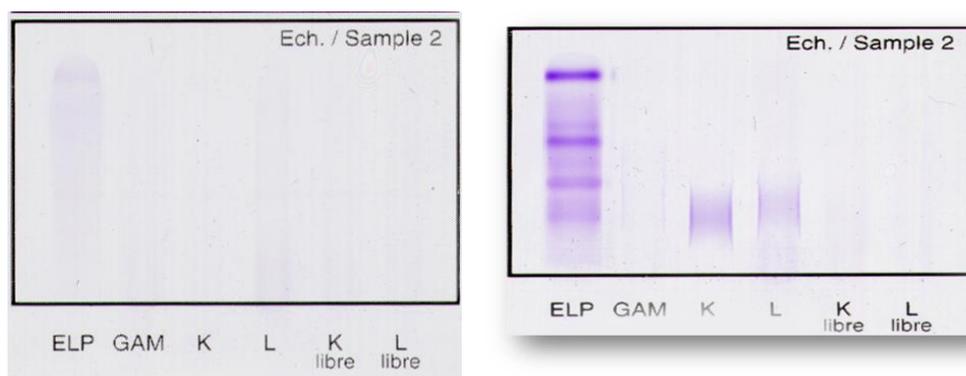
图 A. 10 单克隆抗体药物干扰图谱

注：含有单克隆抗体药物时，左图免疫固定显示 γ 区有IgG Kappa条带（绿框部分），右图为经过单克隆抗体移除实验处理后，药物条带移至胶片上方靠近 $\alpha 1$ 区位置（红框部分）， γ 区呈现多克隆。

A. 2 尿M蛋白

A. 2. 1 一般图谱

A. 2. 1. 1 尿免疫固定电泳免疫球蛋白泳道呈均匀弥散分布或者基本空白染色为阴性结果，如图 A. 11 所示。



a) 单克隆免疫球蛋白阴性 无蛋白

b) 单克隆免疫球蛋白阴性 有多克隆蛋白

图 A. 11 尿M蛋白阴性图谱（正常人）

A. 2. 1. 2 尿免疫固定电泳免疫球蛋白泳道出现狭窄而界限明确的条带为M蛋白阳性结果，如图 A. 12 所示。

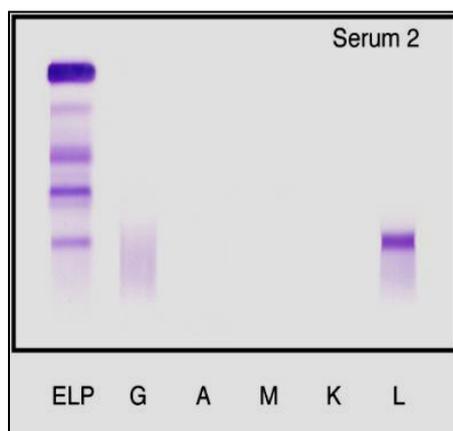


图 A. 12 尿 M 蛋白阳性图谱

A. 2. 1. 3 通过是否存在狭窄而界限明确区带所在的电泳泳道确定 M 蛋白是否存在及 M 蛋白的类型（重链 IgG/IgA/IgM/IgD/IgE，轻链 Kappa/Lambda）。

A. 2. 1. 4 一般情况下，先检测常见的重链类型 IgG/IgA/IgM 及总轻链 κ 和 λ ，如只出现单独轻链阳性或出现未结合的轻链阳性，建议加做游离轻链抗体检测或 IgD/IgE 抗体，如图 A. 13 所示。

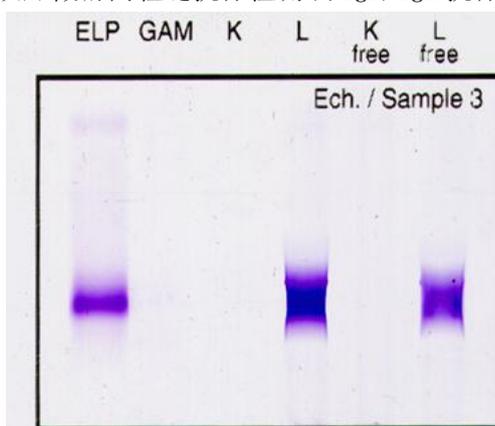


图 A. 13 尿游离轻链阳性图谱

A. 2. 2 条带中间未着色

A. 2. 2. 1 抗原浓度过高时，尿 M 蛋白固定电泳易出现图谱条带中间未着色的情形，如图 A. 14 所示。

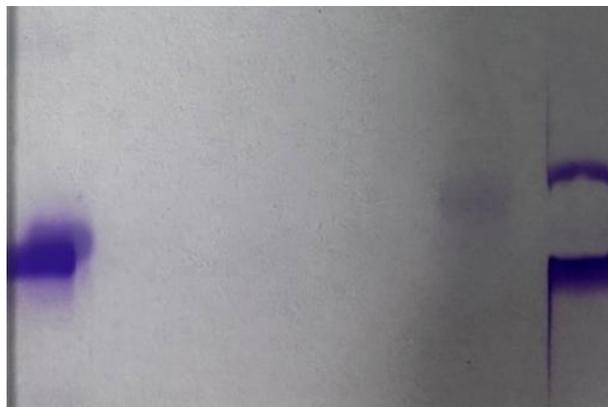


图 A. 14 条带中间未着色图谱

A. 2. 2. 2 固定电泳图谱出现条带中间未着色的情形时，可适当增加稀释比例后再次检测。

A. 2. 3 点样印记图谱

A. 2. 3. 1 凝胶孔堵塞可造成各泳道所在位置均存在狭窄条带，形成点样印记图谱，如图 A. 15 所示。

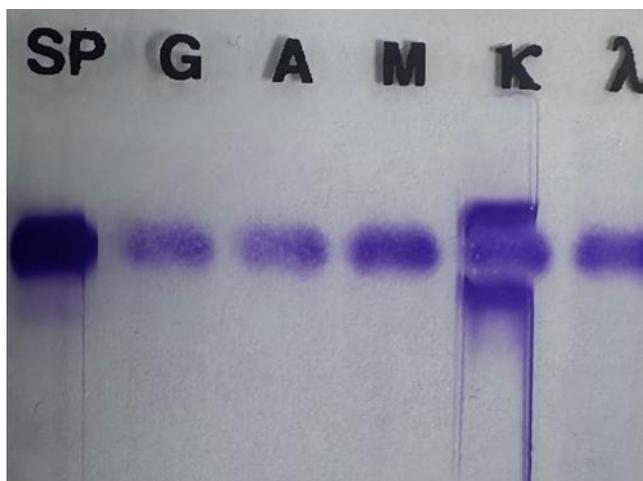


图 A. 15 点样印记图谱

A. 2. 3. 2 尿 M 蛋白固定电泳出现点样印记图谱时，一般为非特异结合，应该稀释后再次检测。

A. 2. 4 Bence Jones 蛋白的聚合

A. 2. 4. 1 若尿液中存在过多的 Bence Jones 蛋白（游离轻链成分），通常会发生不同程度的聚合，从而降低检测的灵敏度，若未获得预期检测结果，且怀疑发生 Bence Jones 蛋白聚合现象，宜在电泳分析前进行解聚操作。

A. 2. 4. 2 Bence Jones 蛋白聚合解聚的操作方法为：

- 将 100 μL 尿样和 5 μL β - β -巯基乙醇混合（10%，以 1:10 的比例用水稀释）；
- 15 分钟后按常规样本进行检测。

参 考 文 献

- [1] T/CGSS 013-2020 单克隆丙种球蛋白实验室诊断指南
 - [2] CNAS-GL005-2018 实验室内部研制质量控制样品的指南
 - [3] 安崇文, 陈剑, 逢璐, 等. 免疫固定电泳检测室内质量控制样品的研制和评价[J]. 检验医学, 2024, 39 (1) : 37-42.
 - [4] 徐双, 刘扬, 温磊, 等. Hydrashift 2/4 daratumumab检测消除达雷妥尤单抗对血清免疫固定电泳干扰的应用[J]. 中华血液学杂志, 2021, 42(10):6.
-