



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

结直肠癌相关基因甲基化检测试剂盒 (荧光 PCR 法)

Colorectal cancer related gene methylation detection kit(Fluorescent PCR)

征求意见稿

2023-7-30

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

国家药品监督管理局 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 要求 | 1 |
| 5 试验方法 | 3 |
| 6 标签和使用说明书 | 3 |
| 7 包装、运输、贮存 | 3 |
| 参考文献 | 5 |

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/TC 136）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

结直肠癌相关基因甲基化检测试剂盒（荧光 PCR 法）

1 范围

本文件规定了结直肠癌相关基因甲基化检测试剂盒的术语和定义、要求、试验方法、标签和使用说明书、包装、运输和贮存。

本文件适用于定性检测外周血血浆和粪便样本的结直肠癌相关基因甲基化状态,如Septin9、SDC2、BCAT1、SFRP2、TFPI2、NDRG4和BMP3基因等。

本文件适用于荧光PCR法、PCR荧光探针法等方法的试剂盒,不适用于高通量测序法的试剂盒。

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 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
GB/T191-2008包装储运图示标志

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

DNA甲基化 DNA methylation

在DNA甲基化转移酶的催化作用下,将一个甲基基团添加在DNA分子的碱基上。最常见的是将甲基基团加在CpG二核苷酸胞嘧啶的第5位碳原子上,形成5-甲基胞嘧啶(5mC)。

3.2

亚硫酸氢盐转化 Bisulfite conversion

用亚硫酸氢盐诱导DNA氧化脱氨,非甲基化的胞嘧啶转变为尿嘧啶,而甲基化的胞嘧啶保持不变。之后进行PCR,对产物进行检测,判断甲基化状态。

4 要求

4.1 外观

试剂盒应符合制造商规定的外观要求。试剂盒各组分应齐全、完整、无液体渗漏。

4.2 核酸提取功能

适用时,核酸提取功能应符合如下要求:

a) 含有核酸提取组分的试剂盒，制造商应对核酸提取做适当要求，并对核酸提取功能进行验证，如：充分考虑样本提取过程存在的干扰因素；

b) 样本需要提取，但不含有核酸提取组分的试剂盒，由制造商说明或指定提取试剂盒，并提供验证资料；

c) 样本不单独体现提取步骤，直接进行亚硫酸氢盐转化的试剂盒，制造商应对整体实验环节的功能性做适当要求，并提供验证资料。

4.3 转化功能

适用时，亚硫酸氢盐转化功能应符合如下要求：

a) 含有亚硫酸氢盐转化组分的试剂盒，制造商应对亚硫酸氢盐转化功能做适当要求，并进行验证，如：甲基化转化率等；

b) 不含有亚硫酸氢盐转化组分的试剂盒，由制造商说明或指定转化试剂盒，并提供验证资料。

4.4 准确性

检测国家阳性参考品或企业阳性参考品，结果应为结直肠癌相应基因甲基化阳性。

阳性参考品的设置应包括不同甲基化比例的甲基化阳性的结直肠癌样本。

4.5 特异性

检测国家阴性参考品或企业阴性参考品，结果应为结直肠癌相应基因甲基化阴性。

阴性参考品的设置遵循以下原则：

a) 应包括肠镜结果无异常的正常人样本；

b) 应包括结直肠良性病变和临床常见的消化道良性疾病（如肠道炎症）样本；

c) 应包括其他消化道肿瘤样本。

4.6 检测限

对于粪便样本检测试剂盒，检测浓度不高于 $2\text{ng}/\mu\text{L}$ 或基因组 10ng 背景下，甲基化比例不高于2%的国家检测限参考品或企业检测限参考品，结果应为结直肠癌相应基因甲基化阳性。

对于血浆样本检测试剂盒，检测浓度不高于 $1\text{ng}/\mu\text{L}$ 或基因组 30ng 背景下，甲基化比例不高于1%的国家检测限参考品或企业检测限参考品，结果应为结直肠癌相应基因甲基化阳性。

4.7 重复性

检测甲基化阳性的重复性参考品，平行检测10次，结果应均为结直肠癌相应基因甲基化阳性，且相应检测通道Ct值的变异系数（CV,%）应不高于5.0%。

检测甲基化阴性的重复性参考品，平行检测10次，结果应均为结直肠癌相应基因甲基化阴性，且相应检测通道Ct值的变异系数（CV,%）应不高于5.0%。

5 试验方法

5.1 外观

在自然光下，以正常视力或矫正视力目视检查，判定结果是否符合4.1的要求。

5.2 核酸提取功能

适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合 4.2 的要求。

5.3 转化功能

适用时，按照制造商提供的方法进行试验，判定结果是否符合 4.3 的要求。

5.4 准确性

检测阳性参考品，每份检测1次，判定结果是否符合4.4的要求。

5.5 特异性

检测阴性参考品，每份检测1次，判定结果是否符合4.5的要求。

5.6 检测限

检测检测限参考品，每份检测1次，判定结果是否符合4.6的要求。

5.7 重复性

检测阳性重复性参考品和阴性重复性参考品，每份检测10次，计算检测结果的平均值 (\bar{x}) 和标准差 (S)，按照式 (1) 计算变异系数 (CV)，判定结果是否符合4.7的要求。

$$CV=S / \bar{x} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

式中：

S—10次测试结果的标准差；

\bar{x} —10次测试结果的平均值。

6 标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的规定。

7 包装、运输和贮存

7.1 包装

应符合GB/T 191的规定。

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] YY/T0466.1-2016 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第1部分：通用要求
 - [2] YY/T 1182-2020 核酸扩增检测用试剂（盒）
 - [3] YY/T 1586-2018肿瘤个体化治疗相关基因突变检测试剂盒（荧光PCR法）
 - [4] 薛开先主编. 表[观]遗传学词典[M]. 北京：人民卫生出版社, 2016.
-