

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

KRAS 基因突变检测试剂盒  
(荧光 PCR 法)

KRAS gene mutation detection kit  
(Fluorescent PCR)

征求意见稿

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



## 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/TC136）归口。

本文件起草单位：。

本文件主要起草人：。



# KRAS 基因突变检测试剂盒（荧光 PCR 法）

## 1 范围

本文件规定了人类Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物（Kristen rats arcomaviral oncogene homolog, KRAS）基因突变检测试剂盒的要求、标识、标签和使用说明、包装、运输和贮存,描述了相应的试验方法。

本文件适用于采用实时荧光PCR法、PCR熔解曲线法进行石蜡包埋肿瘤组织切片或新鲜冰冻肿瘤组织（如肿瘤组织、胸腹水中的肿瘤细胞等）提取的DNA样品中KRAS基因点突变的定性检测试剂盒。

本文件不适用于高通量测序法；不适用于KRAS基因其他类型突变的检测试剂盒。

## 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 191 包装储运图示标志

GB/T 29791.1 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标识） 第1部分：术语、定义和通用要求

GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息（标识） 第2部分：专业用体外诊断试剂

## 3 术语和定义

GB/T 29791.1界定的术语和定义适用于本文件。

## 4 要求

### 4.1 外观

外观要求至少应包括以下内容：

- a) 试剂盒应组分齐全，包装外观清洁，无泄漏，无破损；
- b) 标识、标签字迹应清晰。

### 4.2 准确性

检测国家阳性参考品或企业阳性参考品，试剂盒检测范围内的基因突变位点均应检出。  
企业阳性参考品应设置多个突变丰度，覆盖试剂盒检测范围内的所有基因突变位点。

### 4.3 特异性

检测国家参考品，结果应符合以下要求：

- a) 对阴性参考品进行检测，试剂盒检测范围内的基因突变位点均不应检出；
- b) 对试剂盒检测范围外的国家参考品进行检测，检测范围内的基因突变位点均不应检出。

检测企业阴性参考品，试剂盒检测范围内的基因突变位点均不应检出。

企业阴性参考品设置应遵照以下要求选择：

- a) 应包含经确认靶序列未发生突变的样品；
- b) 应考虑干扰和交叉反应因素。

### 4.4 精密度

采用实时荧光PCR法检测试剂盒，重复检测精密度参考品，阳性样品检测结果应突变位点准确且精密度应符合相应检测体系通道Ct值的变异系数（CV，%）应不大于5.0%，阴性样品检测结果应均为阴性。

采用PCR熔解曲线法检测试剂盒，重复检测精密度参考品，结果应突变位点准确且精密度应符合相应检测体系通道 $T_m$ 值的变异系数（CV，%）应不大于1.0%，也可采用其他合理方式进行评价。

参考品可不包含所有涉及的突变位点，但应遵照以下要求选择：

- a) 每个反应至少选择一个位点进行评价；
- b) 应设置略高于检出限浓度水平的阳性样品、中或强阳性水平样品、阴性样品（野生型样品）。

#### 4.5 检出限

检测国家检测限参考品或经标化的企业检出限参考品，结果应符合以下要求：

a) 对5%突变丰度检测限参考品和2.5%突变丰度检测限参考品进行检测，试剂盒检测范围内的基因突变位点均应检出；

b) 声称检出限低于2%~2.5%基因突变丰度的试剂盒，应选择使用相应野生型基因组DNA，将突变型样品稀释至声称的突变丰度后进行检测，相应基因突变位点均能检出。

### 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 准确性

应包括试剂盒检测范围内的全部基因突变位点。

检测国家阳性参考品中未包含的试剂盒检测范围内基因突变位点的企业阳性参考品，以及试剂盒检测范围内的国家阳性参考品各一次，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.3的要求；或检测企业阳性参考品一次，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.3的要求。

#### 5.3 特异性

检测国家阴性参考品和试剂盒检测范围外的国家阳性参考品或企业阴性参考品各一次，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.4的要求。

#### 5.4 精密度

取同一批号试剂盒，按产品说明书对精密度参考品重复进行10次检测并根据公式1计算出变异系数，判定结果是否符合4.5的要求。

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

式中：

$CV$ ——变异系数；

$SD$ ——检测结果的标准差；

$\bar{x}$ ——检测结果的平均值。

#### 5.5 检出限

应包括试剂盒检测范围内的全部基因突变位点。

检测国家检测限参考品中未包含的试剂盒检测范围内突变位点的企业检出限参考品，以及试剂盒检测范围内的国家检测限参考品各一次，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.6的要求；检测企业检出限参考品一次，按照产品说明书进行操作，判定结果是否符合4.6的要求。

### 6 标识、标签和使用说明

标识、标签和使用说明应符合GB/T 29791.2的规定。

### 7 包装、运输和贮存

#### 7.1 包装

包装应符合以下要求：

- a) 包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定；
- b) 包装容器应保证密封性良好、完整、无泄漏、无破损；
- c) 包装内应附有使用说明。

## 7.2 运输

制造商应规定试剂盒的运输条件。

## 7.3 贮存

制造商应规定试剂盒的贮存条件。

### 参 考 文 献

- [1] YY/T 1182-2020 核酸扩增检测用试剂（盒）
  - [2] 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）
-