

# 行业标准《KRAS 基因突变检测试剂盒（荧光 PCR 法）》

## 征求意见稿编制说明

### 一、工作简况（包括任务来源、制定背景、起草过程等）

#### 1、任务来源：写明任务来源（文件、文号及项目编号）。

本标准由国家药品监督管理局提出，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。任务来源为国家药品监督管理局，药监综械注[2025]24号，本项目计划号为 I2025028-T-bj。

本标准的第一起草单位为：国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心

#### 2、工作过程：至少包括起草阶段、验证阶段、征求意见阶段、审查阶段等重点时间节点。

2025年3月20日在北京召开2025年SAC/TC136归口标准制修订工作线上启动会，来自企业、审评、检测机构、医院等多家单位参加了讨论。会上成立了起草小组，就标准主要大纲、工作进度及各起草单位承担工作进行了讨论。本次会议明确标准适用范围，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。会后根据意见，对草案进行进一步完善。

2025年6月19-20日在北京召开了标准讨论会，来自企业、审

评、检测机构、科研机构、医院等单位的代表共计 200 余人参加了讨论，邀请到徐英春（北京协和医院）、应建明（医科院肿瘤医院）、张瑞（卫健委临检中心）、王雅杰（北京地坛医院）、肖飞（北京医院）、马亮（中日友好医院）等专家参加了本次标准讨论会，参会代表具有广泛代表性。与会专家对标准内容，标准结构和技术内容进行充分讨论。与会专家及代表对工作组讨论稿进行了全面讨论，形成以下主要意见：

1. 血浆样本类型暂不纳入，血浆中游离 DNA 片段普遍较短，对检测试剂的检出限提出了更高要求，临床检测风险相对较高，且目前没有足够的验证条件，建议暂时不考虑纳入血浆样本类型。

2. 建议纳入 PCR 熔解曲线法。建议该方法学采用极差法进行精密度评价更为合适，并且需对熔解曲线法在低拷贝 DNA 水平下的精密度进行严谨、充分的验证，以确保其结果的可靠性。

3. 建议明确检出限指标的具体要求，表述需要进一步清晰化和明确化。

4. 其他编辑性修改：建议不同行标间性能指标名称保持一致。

2025 年 6 月至 7 月，秘书处组织开展了验证工作，发出了验证方案和验证稿，共计 8 家单位报名参与验证。在验证数据、结果的基础上，起草小组经过充分讨论，形成征求意见稿。

**二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据（编制原则、主要内容及其确定依据，修订标准时，还包括修订前后技术内容的对比）**

1、标准制定的意义、原则

RAS 是人类癌症中最常出现突变的致癌基因，目前已经在所有人类肿瘤的大约 1/5 中发现了突变引起的 RAS 蛋白激活。KRAS(Kirsten rats arcomaviral oncogene homolog) 是 RAS 家族的一员，KRAS 基因突变占 RAS 基因突变总数的 85%。在人类癌症中，KRAS 基因突变出现在接近 90%的胰腺癌中，30%-40%的结肠癌中，17%的子宫内膜癌中，15%-20%的肺癌中（大多为 NSCLC）。KRAS 基因突变也会在胆管癌、宫颈癌、膀胱癌、肝癌和乳腺癌等癌症类型中出现。由此可见，在上述多种癌症中，均有高比例的 KRAS 基因突变。

目前，国内已有多家公司生产的 KRAS 基因突变检测试剂盒获批，中国食品药品检定研究院也已有 KRAS 基因突变检测国家参考品（第二代 KRAS/NRAS/BRAF/PI3KCA 基因突变检测国家参考品，360041-202304）。尽管如此，不同试剂盒使用的产品企业标准各不相同，产品质量有所差异。因此，通过本行业标准的制定将有助于统一并提高该类试剂盒的质量标准，更好地满足临床使用需求。

本标准依据 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》起草。在制定过程中，始终贯彻科学性、合理性、适用性和规范性的核心原则，并紧密结合 KRAS 基因检测试剂的行业实践经验，确保标准内容的实用性和可行性。

2、本标准性能指标制定依据，对于有争议指标的处理及验证情况。

本标准的性能指标主要包括外观、核酸提取功能、准确性、特异性、精密度、检出限等，参考了国家参考品相关要求、《人KRAS突变

基因检测试剂（PCR法）注册审查指导原则》（征求意见稿）、相关文献及已上市KRAS基因突变检测试剂的性能指标设置经验，并结合临床使用的需求进行指标制定。

有争议的指标为精密度。关于采用实时荧光 PCR 法检测试剂盒，多家单位验证结果显示阴性样本检测时不输出具体数值、无法进行变异系数（CV）计算，因此根据实际验证情况对采用实时荧光 PCR 法检测试剂盒的精密度指标进行了调整，将阳性样本和阴性样本的精密度指标要求分别表述，确保指标的科学性和可操作性。关于采用 PCR 熔解曲线法检测试剂盒，根据企业调研和专家讨论确定了相关指标。

### **三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证、预期的经济效果、社会效益和生态效益；**

本标准共有 8 家单位报名参与验证，目前已收到 3 家单位的验证数据和结果，基本覆盖了标准要求的性能指标。

所有验证单位的数据均显示外观、准确性和特异性指标均完全符合预设指标要求，证明了性能指标和检验方法设置的合理性。准确度指标中，3 家单位检测了试剂盒检测范围内的国家阳性参考品，结果显示均为相应型别阳性，2 家单位检测了企业阳性参考品，相应突变位点均被检出。特异性指标中，3 家单位检测了国家阴性参考品和试剂盒检测范围外的国家参考品，结果均为阴性，2 家单位检测了企业阴性参考品，结果均为阴性。满足验证要求。

在检出限验证中，3 家单位对国家检测限参考品进行了检测，1 家单位可检出稀释至 1%突变丰度的国家检测限参考品，1 家单位数据

显示可检出 2.5%突变丰度的国家检测限参考品，以上验证结果均符合设定的性能指标要求。另外，1 家单位结果显示可检出 5%突变丰度的检测范围内的国家检测限参考品，对于 2.5%突变丰度的国家检测限参考品，有一个检测范围内的位点检出限设置较高，无法检出该位点的 2.5%突变丰度的国家检测限参考品，属于产品设计原因。

在验证中，2 家单位使用实时荧光 PCR 法检测试剂盒进行验证，所有单位对阳性样本的变异系数（CV）验证结果均合格，阴性样本不输出具体数值，检测结果均为阴性（未检出）。基于此结果，我们对精密度指标进行了调整，将阳性样本和阴性样本的精密度要求分别表述。

3 家单位均未对核酸提取功能指标进行验证，无法为该指标的制定提供数据支持，经起草组讨论，删除该要求。制造商会在分析性能评估中对核酸提取功能进行研究。

本标准的整体验证工作充分证实了标准各性能指标要求的可行性和科学性，并根据试验验证反馈进行了调整。本标准已较为全面地涵盖了 KRAS 基因突变检测试剂的关键性性能指标要求，具有适宜的技术规范及指导作用。该标准的贯彻实施将有效规范相关产品要求，对促进行业发展有积极的作用，并带来显著的社会经济效益。

**四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。**

尚无相关国际标准或国外先进标准。

## 五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本标准与有关的现行法律、法规和强制性国家标准不冲突。符合现有医疗器械监管法律法规要求。

## 六、重大分歧意见的处理经过和依据。

标准制定过程中无重大分歧意见。

## 七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

建议本标准为推荐性标准。

## 八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

建议在本行业标准发布后实施前进行标准宣贯，宣贯对象是企业、各级医疗器械监管查验审评部门。

建议标准发布后 12 个月实施。

## 九、废止现行有关标准的建议。

无。

## 十、其他应予说明的事项。

本标准不涉及专利，不涉及版权风险。

标准起草工作组

2025 年 7 月 31 日