

《甲基化检测样本前处理试剂盒》

编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

本标准由国家药品监督管理局提出，医用高通量测序标准化技术归口单位归口。任务来源为《国家药监局综合司关于印发 2025 年医疗器械行业标准制修订计划项目的通知》（药监械注〔2025〕24 号），本项目名称为：甲基化检测样本前处理试剂盒，项目计划号为：I2025019-T-zjy。

（二）工作过程

本标准包括起草阶段、验证阶段、公开征求意见阶段、审查阶段、报批阶段等重点时间节点。

1.起草阶段

2025 年 4 月成立了起草小组，2025 年 4 月至 2025 年 5 月起草单位组织相关单位对标准草案进行讨论，形成了工作组草案；

2025 年 5 月 18 日，在深圳召开了标准讨论会议，就标准的结构、技术指标以及表述细节进行了讨论。会上标准起草人对标准的起草过程予以说明并汇报了工作组讨论稿的主要内容。会后起草小组根据意见对工作组讨论稿进行完善

和修改，并形成了工作组讨论稿。

2.验证阶段

（1）2025年6月进行了验证方案的撰写、修订和确认。

（2）2025年6月至2025年7月，对方案进行了验证。验证工作包括：准备验证参考品，参考品甲基化测序，考核基因区域位点划定，技术指标测定等；组织验证单位对标准逐条验证。

3.征求意见阶段

2025年7月根据验证评估结果，进行草案修订，形成了征求意见稿。

3.参与单位

各参与单位所做的起草和验证主要工作：标准全文的起草、以及输出行标草案及后续文稿修订工作；通过邮件、现场会议、微信群及视频会议等方式，对标准内容编制多次讨论研究分析；以及验证工作，包括验证方案定制、讨论与修订，验证参考品的制备与质检，标准技术条款的验证等。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

（一）标准制定的意义、原则

甲基化检测样本前处理试剂盒行业标准的建立在于规范甲基化分析前的方法和流程，提高甲基化检测整体流程的准确性和可靠性，促进甲基化检测在生命科学研究和临床诊断中的应用。建立行业标准可以统一所使用的甲基化检测样

本前处理试剂盒的技术规范和质量要求，使不同实验室之间的甲基化检测前处理结果具有可比性、准确性和重现性，促进从整体流程上夯实甲基化检测性能。

建立甲基化检测样本前处理试剂盒的行业标准可以促进甲基化检测前处理领域的发展和创新，推动甲基化检测技术的标准化和产业化，促进生命科学研究和临床诊断的进步和发展。

本标准编写格式按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则》的格式要求进行编写。制定标准时尽可能地做到简化、统一、协调和优化；既要考虑其先进性，也要考虑到实用性和可行性；既要符合国内外发展的需要，也要结合国内目前的实际状况。

（二）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

对现有的甲基化检测样本前处理试剂和技术方法进行调研评估，本标准编制小组在结合业内甲基化前处理常用方法和技术特点的基础上，参考体外诊断试剂制造商的检验技术和医学检验实验室临床应用情况，总结提炼出甲基化检测样本前处理试剂盒的技术要求和考核方法。并且由业内专家和企业代表结合实际临床应用需求进行充分讨论确定。

征求意见稿形成前，与会专家及企业代表对标准工作组草案进行了全面讨论，形成以下意见：

1. 针对标准条款【5.2 转化率】（检测国参或企业甲基化转化率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.2 的要求）和标准条款【5.3 保护率】（检测国参或企业甲基化保护率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.3 的要求）中提及的甲基化转化率/保护率参考品，其中包括 0%和 100%甲基化率的细胞系，因为不存在全基因组范围上的 0%和 100%，是否选择特定的甲基化区域进行考核。采纳。与标准要求技术指标评价方法一致，标准验证方案设计转化率/保护率参考品时，拟根据各参与单位产品检测范围、甲基化检测“明星”区域等筛选出待考核基因区域。确定考核范围后将在标准条款【5.2 转化率】和【5.3 转化率】中，或以附录的形式注明检测的基因区域和相应的标定甲基化率。

2. 标准条款【4.2 转化率】和【4.3 保护率】中，目前设置的转化率/保护率要求达到的指标值是否合适，评估正、反向酶法转化的指标值设置是否偏低。采纳。目前指标值的设置一方面来自参与单位自研数据，另一方面来自初步文献及产品调研，当前收集得到的指标值参差不齐。同时综合考虑标准的可行性、普适性等因素，设定出本标准当前版本中指标值。后续将进一步扩大验证和调研范围，用更广泛、全面的实测数据和研究结果，更新确定标准条款【4.2 转化率】和【4.3 保护率】中相应转化方法下转化率和保护率的指标值。

3. 针对标准条款【5.2 转化率】（检测国参或企业甲基化转化率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.2 的要求）和标准条款【5.3 保护率】（检测国参或企业甲基化保护率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.3 的要求）中提及的甲基化转化率/保护率参考品，对于其中细胞系样本甲基化比例下限的设定，是否考虑参考结直肠癌相关基因甲基化检测试剂盒(荧光 PCR 法)行标中最低检测限(LoD)的验证思路。不采纳。不涉及修改。结直肠癌相关基因甲基化检测试剂盒（荧光 PCR 法）行标中是将标定好的 LoD 样本发放给各验证单位检测并回报 ct 值和阴阳性判定结果，本标准中是对前置转化环节中转化和保护效率进行评估，回报具体的甲基化比例检出数值。两者的检测目的和检测使用的方法学均不相同，无法参考。后续针对转化率/保护率参考品中细胞系样本甲基化比例下限的设定，将收集各参与单位拟自行验证的甲基化比例 LoD 需求，结合制备过程中实际标定结果，综合评估得出。

4. 针对标准条款【4.2 转化率】、【4.3 保护率】、【4.4 重复性】和【4.5 回收率】，考虑非提取 DNA 后直接转化，而是提取 DNA 先建库连接接头，之后再进行转化的情况是否适用。采纳。修本标准适用于对 DNA 样本进行转化的试剂（盒）。但由于样本类型、提取得到的 DNA 类型，以及甲基化检测方法学丰富多样，后续将在对各关键考核指标提出

要求时尽可能充分考虑不同情况的适用性，对特殊情况或不适用的情况进行备注说明。此条意见中提及的情况可能受到连接效率和纯化回收率的影响，后续将进一步调研，在验证时充分考虑，并在本标准条款【4.2 转化率】、【4.3 保护率】、【4.4 重复性】和【4.5 回收率】中进行说明。

5. 针对标准条款【4.2 转化率】、【4.3 保护率】、【4.4 重复性】和【4.5 回收率】，考虑生殖方向微量样本或扩增后转化是否适用。采纳。本标准适用于对 DNA 样本进行转化的试剂（盒）。但由于样本类型、提取得到的 DNA 类型，以及甲基化检测方法学丰富多样，后续将在对各关键考核指标提出要求时尽可能充分考虑不同情况的适用性，对特殊情况或不适用的情况进行备注说明。此条意见中提及的情况可能涉及在微量 DNA 投入量时对转化/保护效率或片段质量的影响，以及 DNA 扩增时对甲基化的影响，后续将进一步调研，在验证时充分考虑，并在本标准条款【4.2 转化率】、【4.3 保护率】、【4.4 重复性】和【4.5 回收率】中进行说明。

6. 针对标准条款【5.2 转化率】（检测国参或企业甲基化转化率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.2 的要求）和【5.3 保护率】（检测国参或企业甲基化保护率参考品，每份检测 1 次，判定结果是否符合 4.3 的要求），考虑转化率和保护率的验证时，只检测一次是否合适。采纳。

对【5.2 转化率】和【5.3 保护率】中检验方法进行修改。本行标在关键考核指标制定时，已纳入转化率、保护率，以及重复性考核指标，针对这三个指标均需开展验证。其中重复性考核即为专门针对转化率和保护率在多次重复检测时能否稳定检出的验证，体现为每个重复性检测参考品每次检测均需达到本标准对转化率和保护率的要求，以及每个转化率/保护率重复性检测参考品对应的重复检测结果间 CV 不高于 5.0%。考虑到标准使用的可操作性，将标准条款【5.2 转化率】修改为：检测国参或企业甲基化转化率参考品，按照制造商产品说明书检验要求进行，判定结果是否符合 4.2 的要求。将标准条款【5.3 保护率】修改为：检测国参或企业甲基化保护率参考品，按照制造商产品说明书检验要求进行，判定结果是否符合 4.3 的要求。

7. 针对标准条款【4.4 重复性】和【5.4 重复性】，进一步完善对重复性指标要求的描述；标准条款【5.2 转化率】和【5.3 保护率】中，转化率/保护率等指标值计算建议给出计算公式。采纳。对本标准条款【4.4 重复性】、【5.2 转化率】、【5.3 保护率】和【5.4 重复性】的内容和描述持续修订，完善对重复性指标要求的描述，以及增加相关指标值的计算公式。

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

国内外尚无用于规范甲基化检测样本前处理，即进行转化处理的相关标准、指南或共识。在肿瘤 DNA 甲基化标志物检测及临床应用专家共识（2024 版）中提出：DNA 甲基化检测需要针对不同的标本类型与检测应用选择适宜的转化方法，并关注转化技术的最新进展。

目前甲基化检测样本前处理试剂盒已经商品化并有备案产品，其下游的甲基化检测试剂在生育和肿瘤检测等领域已有许多临床应用，特别是肿瘤领域已有相关辅助诊断产品获批。对甲基化检测样本前处理试剂盒建立标准，可进一步夯实整体甲基化检测质量，更好的服务于临床和广大患者。

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

业内暂无专门针对甲基化检测样本前处理试剂的相关法律、法规和强制性标准。目前关于甲基化检测的标准基本为 DNA 甲基化的测定，多为 PCR 法检测相关（如行标）。

转化是甲基化检测中的重要步骤，目前备案的甲基化检测样本前处理的试剂盒产品（约）127 个。结合已备案产品的技术参数，整合业内经验；参考业内对转化方法的最新研究和技术特点；以及参考下游甲基化检测应用对转化产物的要求等，通过综合调研和实际验证，提炼其中相关技术要求作为参考。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本指南与有关的现行法律、法规和强制性国家标准不冲突。引用了 GB/T 191-2008 包装储运图示标志和 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等 2 个标准。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本指南制定过程中无重大分歧。

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行业标准。

建议标准发布后 12 个月实施。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议

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、各级医疗器械监管部门。

建议标准发布后一年内实施宣贯，宣贯对象是企业、医学实验室、省市药监局等相关部门。

九、废止现行有关标准的建议

无。

十、公平竞争审查

经公平竞争审查，本标准未限制或变相限制市场准入和退出，未限制或者变相限制商品要素自由流动，未影响经营

者生产经营成本，未影响经营者生产经营行为，不适用《公平竞争审查条例》第十二条的规定。

十一、其他应予说明的事项

本标准不涉及专利，不存在版权风险。

标准起草工作组

2025 年 7 月 20 日