



中华人民共和国医药行业标准

YY

—XXXX

核酸提取试剂盒（磁珠法）

Nucleic acid extraction and purification Kit (Magnetic beads method)

（征求意见稿）

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

发布

前 言

本标准的编写遵循了 GB/T1.1-2009 《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编写》的基本规定。

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这些专利的责任。

本标准由国家食品药品监督管理局提出。

本标准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。

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

核酸提取试剂盒（磁珠法）

1 范围

本标准规定了核酸提取试剂盒（磁珠法）（以下简称“试剂盒”）的术语和定义、规格和分类、技术要求、试验方法、标识、标签和使用说明书、包装、运输和贮存等。

本标准适用于采用磁珠法从血清、血浆、全血、脑脊液、乳汁、唾液、尿液、痰液、拭子或组织、石蜡包埋组织等各类临床样本中提取、纯化人类基因组核酸及其片段、病原体核酸及其片段的试剂盒。病原体核酸包含脱氧核糖核酸（DNA）、核糖核酸（RNA）、转运核糖核酸（mRNA）等。

试剂盒提取核酸的质量与被处理的样本有直接关系，因此试剂盒应规定被处理样本的质量和数量，如对样本的高脂肪、高胆固醇以及溶血等情况应详细说明。

核酸提取试剂盒（磁珠法）在临床试验中属于样本前处理用品，不单独使用，样本前处理过程中以核酸提取和纯化为目的有磁珠参与样本处理时，界定为核酸提取试剂盒（磁珠法）开始步骤。磁珠参与处理前步骤需要的物品不包含在试剂盒内时，应由生产企业说明或指定前处理试剂盒。

本标准不适用于样本输入、浓度结果输出、阴阳性结果输出类型的封闭试剂系统中包含的核酸提取试剂盒。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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/T29791.2-2013 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

3 术语和定义

下列术语与定义适用于本标准。

3.1

核酸 nucleic acid

由核苷酸或脱氧核苷酸通过3'，5'-磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子。具有非常重要的生物功能，主要是贮存遗传信息和传递遗传信息。包括核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）两类。

3.2

磁珠 magnetic beads

对超顺磁性纳米颗粒的表面进行一定的改良和修饰使其在不同条件下可与核酸分子特异高效结合和解离，这种超顺磁性纳米颗粒被称为磁珠，利用磁珠的这个特性在外加磁场的作用下，能从各种生物样本中分离纯化核酸DNA和RNA。

3.3

提取产量 yield

用核酸提取试剂盒（磁珠法）从一定质量或体积的生物样本中提取得到的目标核酸的总量。

3.4

核酸纯度 purity of nucleic acid

用核酸提取试剂盒（磁珠法）从一定质量或体积的生物样本中提取得到的产物中目标核酸相对其它杂质的量。

3.5

精密度 repeatability

用固定方法在正常和正确操作情况下，由同一操作人员，在同一实验室内，使用同一仪器，一定时期内，对相同样本作多个单次测试结果的一致性。

4 分类

可按如下方式分类：

1) 按照提取目标种类不同可分为：人类基因组提取试剂盒和病原体类核酸提取试剂盒两大类；病原体类核酸提取试剂盒又可分为细菌类核酸提取试剂盒、病毒类核酸提取试剂盒等。

2) 按照提取目标核酸类型不同可分为：脱氧核糖核酸（DNA）提取试剂盒和核糖核酸（RNA）提取试剂盒。

3) 按照使用时是否需要匹配仪器可分为：核酸提取仪用核酸提取试剂盒和手工法核酸提取试剂盒。

5 技术要求

5.1 外观

试剂盒应符合生产企业规定的外观要求；外观要求包含但不限于以下内容：试剂盒应组份齐全，包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚。

5.2 浓度范围

试剂盒对适用样本核酸提取应满足声称浓度范围，如可提取HBV 核酸的试剂盒的浓度范围是10IU/ml~1.0E+08IU/ml等。人类基因组类提取试剂盒不适用。

当提取试剂能够同时提取多种病原体时，可挑选其中一种或多种进行检测即可。

5.3 提取产量

试剂盒提取产量应满足声称提取产量。声称提取产量应针对一定量样本进行描述，这里一定量样本对于不同类型试剂盒应分类表述，如液体类样本应用体积表示，组织等固体类样本应用质量表示，干血片样本应用面积大小表示，石蜡切片样本应用切片厚度和细胞面积大小共同表示等。人基因组类试剂盒中的血清游离DNA提取试剂盒及病原体类核酸提取试剂盒中病毒类核酸提取试剂盒不适用。

5.4 核酸纯度

试剂盒提取样本后得到的提取物纯度值经紫外分光光度计测试OD₂₆₀/OD₂₈₀应满足声称纯度范围，DNA类试剂盒不小于1.5，RNA类试剂不小于1.8。人基因组类试剂盒中的血清游离DNA提取试剂盒及病原体类核酸提取试剂盒中病毒类核酸提取试剂盒不适用。

5.5 提取效率

用试剂盒提取3个不同数量级浓度的国家定量参考品、WHO定量参考品或经标化的企业定量参考品，非人类基因组类提取试剂提取后使用经国家食品药品监督管理局（SFDA）批准注册的相应荧光PCR试剂扩增提取物，每种参考品平均Ct值应不高于参考品标示Ct值加0.5；人类基因组类提取试剂提取后使用紫外分光光度计测试浓度值，测试浓度值应不低于参考品标示值的70%。

5.6 精密度

按照不同类别试剂分类要求：

a) 人类基因组类(除血清游离试剂)提取试剂(盒)

使用试剂盒提取经标化的企业参考品10次，使用紫外分光光度计检测提取物浓度值，其重复性误差CV应不大于15%，被提取参考品目标核酸含量应为试剂盒能处理样本核酸含量范围的中间值。

b) 病原体类核酸提取试剂盒

使用试剂盒提取同批次国家参考品或经标化的企业参考品10次，使用经过国家食品药品监督管理局（SFDA）批准注册的相应荧光PCR试剂扩增提取物得到Ct值，其重复性误差CV不大于5%，被提取参考品浓度应为试剂盒声称浓度范围的中间浓度。

6 试验方法

6.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查外观，结果应符合5.1的要求。

6.2 浓度范围

将试剂盒声称浓度范围内最高浓度样本梯度稀释(梯度稀释倍数 ≤ 10)至声称浓度范围内最低浓度，使用试剂盒对所有样本进行提取，提取结果应符合5.2要求。

注：为了避免超出后续检测方法线性范围，可将提取物梯度稀释进行检测以精确定量

6.3 提取产量

使用试剂盒提取一定量的目标样本，使用紫外分光光度计测量提取提取物浓度值，浓度值乘以洗脱体积计算出提取产量，其结果应符合5.3要求。

紫外分光光度计要求：波长必须覆盖200~400nm，且当OD₂₆₀值大于0.8时，需将提取物进行稀释，直至OD₂₆₀在0.2~0.8内，本标准中凡使用到紫外分光光度计时均有此要求。

6.4 核酸纯度

使用紫外分光光度计测量经本产品处理后提取产物的纯度值OD₂₆₀/280，其结果应符合5.4要求。

6.5 提取效率

按照试剂盒使用说明书要求，提取3个不同数量级浓度的国家定量参考品、WHO定量参考品或经标化的企业定量参考品各2次，结果应符合5.5要求。

如提取HBV核酸提取试剂，提取其一企业参考品，标示Ct值为26，提取扩增后平均Ct值为：26.2，既有 $26.2 < 26+0.5$ ，则对这一企业参考品的提取效率满足5.5要求。

6.6 精密度

6.6.1 人类基因组类(除血清游离试剂)提取试剂(盒)

对同一经标化的企业参考品进行核酸提取，共计10次，使用紫外分光光度计检测浓度值分别记为 X_i ($i=1, 2, \dots, 10$)，根据数据计算重复性误差CV值，其结果应符合5.6a)要求。其中

$$\bar{X} = (\sum_{i=1}^n X_i) / n, \quad n=10 \dots \dots \dots (1)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad n=10 \dots \dots \dots (2)$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \% \dots \dots \dots (3)$$

式中：

\bar{X} 为n次结果的平均值； X_i 各次检测结果；S为n次结果的标准偏差；CV为重复性误差。

6.6.2 病原体类核酸提取试剂盒

用同一参考品进行提取检测，共计10次，使用同一台获得国家注册认证的荧光PCR仪器和有国家注册证的相应种类荧光PCR试剂扩增检测提取物，检测Ct值分别记为 X_i ($i=1, 2, \dots, 10$)，根据数据计算重复性误差CV值，其结果应符合5.6b)要求。其中

$$\bar{X} = (\sum_{i=1}^n X_i) / n, \quad n=10 \dots \dots \dots (3)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad n=10 \dots \dots \dots (4)$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \% \dots \dots \dots (3)$$

式中：

\bar{X} 为n次结果的平均值； X_i 各次检测结果；S为n次结果的标准偏差；CV为重复性误差。

7 标识、标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的规定。

8 包装、运输和贮存

8.1 包装

试剂盒应按生产企业的包装要求。

8.2 运输

试剂盒应按生产企业的运输要求。

8.3 贮存

试剂盒应按生产企业的贮存要求。

参 考 文 献

[1]GB/T 21415-2008 体外诊断医疗器械生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性 (ISO17511:2003,IDT)。

[2]YY/T 0316 医疗器械风险管理对医疗器械的应用 (ISO 14971, IDT)

[3]YY 0466-2003 医疗器械用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 (ISO 15223:2000, IDT)

[4]ISO/FDIS 18113-1 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - In vitro diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 1: General requirements and definitions

[5]EN375-2001 Information supplied by the manufacturer with in vitro diagnostic reagents for professional use

[6]EN980-2003 Graphical symbols for use in the labelling of medical devices

《核酸提取试剂盒（磁珠法）》标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源：按照国家食品药品监督管理总局《总局办公厅关于印发2017年医疗器械行业标准制修订项目的通知》（食药监办械管〔2017〕94号）文的要求，本标准的计划项目号为I2017006-T-BJ，归口单位为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）。

2、工作过程：

- 1) 从4月6日启动会开始至5月完成了行业标准起草；
- 2) 6月根据讨论意见完善草案，由北检所王瑞霞老师召集多家企业对标准进行了全面验证，7月初形成征求意见稿；
- 3) 7月~8月征求意见；
- 4) 9月起草小组处理收集到的意见，形成送审稿；
- 5) 10月委员会年会，全体委员对标准进行审查、投票；
- 6) 11月根据审查意见，修改完善，形成报批稿；
- 7) 12月整理报批材料、报批。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

1、标准制定的意义、原则

本标准制定的意义在于通过标准的执行能够提高国内核酸提取试剂盒（磁珠法）产品整体质量水平，促进核酸提取试剂盒（磁珠法）行业有序发展。标准中性能参数设定的原则在于满足行业内部各厂家对自家产品建立规范要求，为行业产品提供可被广泛使用的技术标准。

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。

核酸提取试剂盒（磁珠法）行业标准性能指标制定依据为后续检测方法对提取物浓度和质量要求，以及行业领域专家评价同类试剂优劣性能时关注的指标。目前本标准中核酸提取效率指标大家一致认为应该有一定的规定，但是在具体检测执行过程中比较难给出标准，验证前的标准中引入了通过荧光PCR定量至浓度值的方法，通过验证，该方法不能起到相应作用，并且对于TB、NG、UU等项目没有定量PCR试剂可以使用，验证后依据验证报告将“提取效率”实验方法由“通过荧光PCR定量至浓度值”更改为通过荧光PCR检测至Ct值，其数值大小与定标后的企业参考品标示Ct值相比较。

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

广东达安公司对本标准的验证结论：通过对外观、线性范围、最低检出线、定量检测线、精密度和提取效率等方面的验证试验，使用达安核酸提取或纯化试剂盒配套达安乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒，可以得出：1、达安的核酸提取或纯化试剂盒外观完整无破损；2、线性范围为 100IU/ml~5.0×10⁸IU/ml；3、试剂盒规定的最低检测限 30IU/ml 的阳性率为 100%；4、定量检测线 100IU/ml 的定量值的对数值的 CV 值小于等于 5%；5、批间和批内线性范围内的精密度的 CV 值小于等于 5%；6、提取康彻斯坦定量参考品，平均检测浓度的常用对数值不低于参考品标示值的常用对数值减 0.5。

广东达瑞公司验证结论：手工提取各项目验证标准符合行业标准方案要求，验证合格。自动化提取除了重复性CV比较大外，个别干血片样品浓度较低，其他的各项均符合行业标准方案要求。

湖南圣湘公司验证报告总结表：

| 项目 | | 验证结果 | 标准要求 | 结论 |
|------------|--------------|--|-------------------------------------|--|
| 5.1 外观 | | 包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚 | 包装外观清洁、无泄漏、无破损；标志、标签字迹清楚 | 适用 |
| 5.2 浓度范围 | | 检测范围为 $2.0 \times 10^8 \text{ IU/ml} \sim 2.0 \text{ IU/ml}$ | 满足声称浓度范围 | 部分适用，当提取试剂能够同时提取多种病原体时，每种病原体都做检测范围操作性不强，故建议注明可挑选其中一种或多种进行验证即可。 |
| 5.3 提取产量 | | 不小于1.2ug | 满足声称提取产量 | 适用 |
| 5.4 核酸纯度 | | OD260/280 均不小于1.5 | 满足声称纯度范围，DNA类试剂盒不小于1.5，RNA类试剂不小于1.8 | 适用 |
| 5.5 提取效率 | | 较高的提取效率和较低的提取效率均能得到符合该项指标的结论 | 平均检测浓度的常用对数值应不低于参考品标示值的常用对数值减0.5 | 不适用 |
| 5.6 精密度 | 5.6.1 人类基因组类 | CV值为3.5% | CV值不大于15% | 适用 |
| | 5.6.2 病原体类 | CV值为0.44% | CV值不大于5% | 适用 |

复星长征公司验证结论：从上述验证结果看，本公司两种核酸提取及纯化试剂规格（体液DNA、体液RNA）按照《核酸提取试

剂（盒）》行业标准技术要求检测，提取浓度范围、提取效率、精密密度技术指标符合标准要求。

安图生物公司验证结论：1、病毒类核酸提取试剂（盒）全部符合行标验证要求；2、人类基因组核酸提取试剂盒提取全血验证“5.4 核酸纯度”不符合行标要求，其余符合要求。

本标准前期的验证主要为技术层面的实验验证，技术经济没有在验证范围，也无法对预估经济效果。

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。

还没有与本标准相同或相似的国际标准和国外先进标准；各个企业内部进行产品研发过程中都进行了与国外同类试剂的对比测试，本次标准技术指标验证没有涉及国外已有产品的对比。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

核酸提取试剂盒（磁珠法）行业标准的起草目前是按照强制性标准要求起草的，但是该试剂盒在国家食品药品监督管理局诊断试剂分类目录中划分在一类备案试剂当中。从不同部门监管程度分析对该类试剂的监管要求不大相同。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

本标准中目前还没有重大分歧。

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。

核酸提取试剂盒（磁珠法）行业标准目前是按照强制性标准要求起草的，但是该试剂盒在国家食品药品监督管理局诊断试剂分类目录中划分在一类备案试剂当中，指标和性能是由企业自行设定和检测，因此建议该行业标准按照推荐性标准执行。

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）

本标准规定产品属于医疗器械分类目录一类备案产品，从分类标准出发大家制定生产和质检规范不如二类、三类产品，建议本标准实施过程从试行开始，给予企业一定时间更改生产质检流程。

九、废止现行有关标准的建议。

截止目前还没有与核酸提取试剂盒相关的行业标准或者其它类型标准。

十、其他应予说明的事项。

本标准为新制定标准，且编写时间有限，对现有市场产品调研不能完全覆盖，征求意见过程中，还希望大家多提宝贵意见，完善标准。

标准起草工作组

2017年7月