基于可逆末端终止测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂生产环节风险清单和检查指南
——以人 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变检测试剂（可逆末端终止测序法）为例

本指南旨在指导和规范基于可逆末端终止测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂的现场核查工作，帮助医疗器械检查员把握产品风险及核查要求，统一核查尺度，同时也为注册申请人建立及运行质量管理体系的工作提供参考。

本指南是对基于可逆末端终止测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂的指导性要求，供检查员及注册申请人参考使用，帮助有关人员系统梳理该类产品的方法学原理、工艺流程及生产控制过程中的风险要点，不作为法规强制执行。注册申请人应依据申报产品的具体工艺特点，遵循相关法规要求建立质量管理体系并保持有效运行。

本指南是在现行法规和标准体系以及当前科技认知水平和现有产品技术基础上形成的，随着法规和标准的不断完善、科学技术的不断发展，相关人员参考时应注意其适宜性，密切关注适用标准及相关技术的最新进展，考虑产品的更新和变化。随着对产品理解的不断深入，本指南相关内容也将适时进行调整。

一、 基于可逆末端终止测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂的产品和生产信息（以人 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变检测试剂（可逆末端终止测序法）为例）

恶性肿瘤是导致我国居民死亡的主要原因之一，严重威胁我国人民的健康。随着精准医学的不断发展，通过基于肿瘤患者的基因突变谱来制定个性化的治疗方案，已成为临床肿瘤诊疗至关重要的一部分。高通量测序（high-throughput sequencing）即下一代测序（next

generation sequencing，NGS）的出现，使得肿瘤多个基因突变同时大批量检测成为可能。高通量测序技术可用于肿瘤相关突变基因的靶向测序，即选择基因组上与肿瘤关系密切的基因或基因区域作为靶向检测区域，广泛用于肿瘤诊疗及抗肿瘤药物的伴随诊断等相关领域。

（一）可逆末端终止测序法检验原理及检测过程概述

可逆末端终止测序法是一种基于可逆末端终止子、桥式 PCR 和边合成边测序（sequencing by sequencing，SBS）原理的高通量测序技术。检测步骤为将两端含有通用接头的文库加载到测序芯片 Flowcell 上，文库两端的通用接头序列与 Flowcell 基底上的 Oligo 序列互补，每条文库片段都经过桥式 PCR 扩增形成一个簇，测序时采用边合成边测序反应，即在碱基延伸过程中，每个循环反应只能延伸一个正确互补的碱基，根据四种不同的荧光信号确认碱基种类，保证最终的核酸序列质量，经过多个循环后，完整读取核酸序列，对核酸片段实现高通量并行深度测序。

可逆末端终止测序法的测序流程包括以下几个步骤。

（1）文库制备

文库制备是决定测序成功与否的关键。文库是指在需要测序的 DNA 片段两端加上能够与测序仪配合的接头序列，然后应用不同的方法产生上百万甚至更多的单分子多拷贝 PCR 克隆阵列。文库 DNA 常含有四段序列，包括与流动池（Flowcell）结合的区域（即接头序列）、测序引物结合的区域、待测的目标片段、标签序列区域（见图 1）。

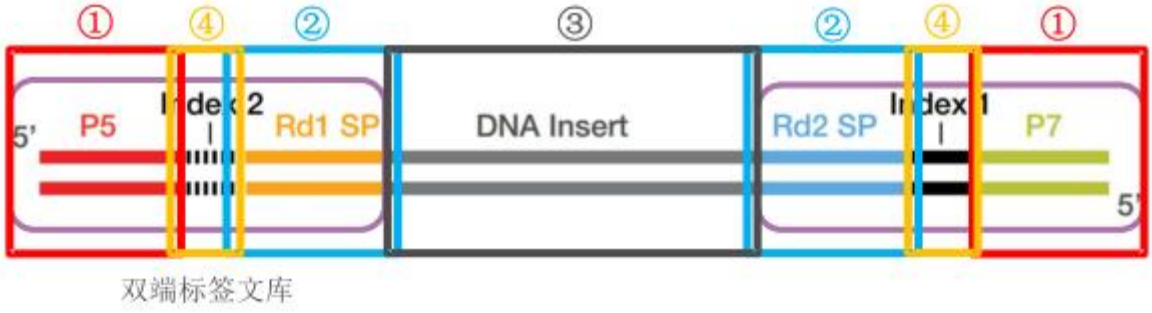


图 1：文库 DNA 示意图。①与流动槽（Flow cell）结合的区域，②测序引物结合的区域，③待测的目标片段，④标签序列区域。

肿瘤相关突变基因检测试剂的文库构建常采用靶向富集策略，常见的文库构建方法包括扩增法和杂交捕获法。扩增法是指在目标区域的两端设计特异性的引物，通过 PCR 的方法将目标区域富集出来，后续通过接头连接或者 PCR 的方法在扩增子的两端加上含有文库标签的通用序列完成文库构建。具体构建流程包括：①根据样本类型选择合适的方法提取基因组核酸，②引物杂交结合、靶向扩增、扩增产物纯化，③接头连接及纯化，④产物 PCR 扩增、纯化及质检。杂交捕获法是指通过基因组 DNA 打断、末端补齐、加 A、连接、DNA 片段筛选等一系列实验操作构建全基因组文库，而后通过杂交探针捕获的方法将含有目的区域片段的文库从构建好的全基因组文库中抓取出来。具体构建流程包括：①根据样本类型选择合适的方法提取基因组核酸，②DNA 片段化，采用超声法或酶切法将基因组 DNA 打断成合适大小的片段，③末端修复及磷酸化，加“A”尾，④接头连接及纯化，⑤靶向捕获前文库扩增及纯化，⑥杂交捕获，⑦靶向捕获后文库扩增及纯化。

（2）Flowcell（流动池）吸附

Flowcell 是一种有 2 个或 8 个泳道（lane）的玻璃板，每个泳道可以根据不同需求检测一个或多个样本。Flowcell 中随机分布了不同的寡核苷酸序列（P5’和 P7’），可分别与待测 DNA 上的接头 P5 和

P7 互补结合。同时检测多个样品时为了区分不同样本 DNA 产生的序列信息，分别在每个待测 DNA 样本中加入不同的标签序列，由此通过测序之前确定的标签与样本 DNA 的关系可以分别获取不同样本 DNA 的测序数据。

（3）桥式 PCR 扩增

该步骤目的是将碱基信号强度放大，以达到测序需要的信号要求。待测 DNA 序列通过接头序列与 Flowcell 上的序列杂交互补，以待测 DNA 序列为模板进行互补链延伸，然后模板链被切断并洗下去除；随后互补链与 Flowcell 上的接头序列杂交互补，进行链的合成，这个过程就是桥式 PCR。接下来合成的双链再经过解链，与 Flowcell 上接头杂交，延伸并不断重复多个循环，最终每个 DNA 片段都在各自的位置上集中成束，每一束含有多个 DNA 模板片段的拷贝。Flowcell 中每个 lane 有两列，每列有 60 个 tile，在每个 tile 中可生成不同的 DNA 簇。

（4）测序（SBS）

通过捕捉新合成的末端的标记来确定 DNA 的序列。可逆阻断技术反应体系包含 DNA 聚合酶、接头引物和带有特异荧光标记的 4 种 dNTP，这些 dNTP 的 3’端经过化学保护，每次只能添加一个 dNTP，随后洗脱反应，加入激发荧光所需的试剂并用激光进行激发，采集荧光信号分析后识别碱基，再加入化学试剂淬灭荧光信号并除去 dNTP 的 3’端的保护，进行下一轮反应。每个 tile 在每个循环中拍照 4 次，每个碱基 1 次。

（5）数据分析

（二）示例产品“人 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变检测试剂（可逆末端终止测序法）”概述

1.产品组成

产品组成通常包含建库试剂、捕获试剂或磁珠试剂（见图 2）。

当文库构建方法为扩增法时，产品的组成成分主要为建库试剂，

通常由引物混合物、扩增反应液、接头、阴性对照、阳性对照组成。引物混合物为针对不同基因以及内参基因设计的特定序列的寡聚核苷酸，扩增反应液中一般包含 DNA 聚合酶、dNTP 等扩增必需的原料和缓冲液成分，接头为特定序列的寡聚核苷酸。根据不同企业设计验证的结果，组分的名称及具体成分可能略有差异，比如可能存在 dNTPs 等原料与引物/探针配制于同一管检测液中的情况。阳性对照是含有特定的目标突变基因的细胞系 DNA，阴性对照通常是检测范围内基因野生型的细胞系 DNA。检测需要但试剂盒未包含的试剂及耗材还包括核酸提取纯化、定量、测序试剂和数据分析软件。

文库构建方法为杂交捕获法时，产品通常由建库试剂、捕获试剂和磁珠试剂组成。建库试剂包含 PCR 反应液、末端修复酶、连接酶、末端修复缓冲液、连接缓冲液、样本标签、接头、阴性对照、阳性对照。PCR 反应液中一般包含镁离子、dNTP、DNA 聚合酶等扩增中必需的原料及缓冲液成分；末端修复酶由 T4 多聚核苷酸激酶组成，连接酶由 T4 DNA 连接酶组成，样本标签和接头由特定序列的寡核苷酸组成，连接缓冲液包含镁离子、ATP 和缓冲液组分，末端修复缓冲液包含 dNTP 和缓冲液组分。捕获试剂包含 PCR 引物、PCR 反应液、捕获探针、封闭剂、洗涤液等。磁珠试剂由纯化磁珠和链霉亲和素磁珠组成。根据不同企业设计验证的结果，组分的名称及具体成分可能略有差异。检测需要但试剂盒未包含的试剂及耗材包括核酸提取纯化、定量、片段质控、测序试剂和数据分析软件。

图 2 ：人 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变检测试剂（可逆末端终止测序法）产品实物

2.预期用途

本产品用于体外定性检测人类结直肠癌患者经福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）组织样本（根据实际情况描述）中的 KRAS、BRAF、PIK3CA 基因变异（根据实际情况描述），其中 KRAS 基因野生型用于西妥昔单抗的伴随诊断，试剂盒所能检测的其他基因突变位点未经伴随诊断验证（根据实际验证情况描述）。

其检测结果仅供临床参考，不应作为患者个体化治疗的唯一依据。临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其他实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判定。根据文献，KRAS、BRAF、PIK3CA 检测结果可供医生在结直肠癌患者中选择合适的靶向治疗药物和判断预后时参考。

KRAS 基因突变后无需接受 EGFR 信号即可自动激活 MAPK-ERK 信号通路，引起细胞增殖，在转移性结直肠癌（mCRC）中，大约 50%的患者具有 KRAS 基因突变。KRAS 基因状态与西妥昔单抗注射液的疗效相

关,KRAS 基因野生型的转移性结直肠癌患者可以从西妥昔单抗注射液治疗中获益，而 KRAS 基因突变型的转移性结直肠癌患者则会对西妥昔单抗注射液的治疗产生耐药。

NCCN 指南建议，对 KRAS/NRAS 野生型的结直肠癌Ⅳ患者可选择 BRAF 突变检测。在转移性结直肠癌（mCRC）中，大约 7-10%的患者携带 BRAF V600E 突变，与预后不良有关。

PIK3CA 为磷脂酰肌醇-3-激酶的催化亚基，是 EGFR 的下游信号分子。PIK3CA 基因突变位点 H1047R 在 PIK3CA 基因突变型结直肠癌患者中突变率达到 21%。研究显示，PIK3CA 基因突变型结直肠癌患者预后较差，且对 EGFR 单抗治疗不敏感。因此，PIK3CA 基因突变检测在提示结直肠癌患者预后和指导质量方面的意义备受关注。

3.规格型号

XX 测试/套。

4.产品性能（以某获证产品为例）

4.1 外观

外包装盒无破损；外包装盒标签内容准确；试剂盒内组分齐全，密封良好，无漏液现象。

4.2 阴性参考品符合率

4.2.1 检测国家阴性参考品或企业阴性参考品，标注的 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变位点均不应检出。

4.2.2 检测试剂盒检测范围外的国家阳性参考品，标注的 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变位点均不应检出。

4.3 阳性参考品符合率

检测试剂盒检测范围内的国家阳性参考品或企业阳性参考品，标注的 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变位点均应检出。

4.4 重复性

检测企业重复性参考品，重复 10 次，阳性重复性参考品应全部检

出标注的基因突变位点，阴性重复性参考品均应未检出试剂盒检测范围内的基因突变位点。

4.5 最低检测限

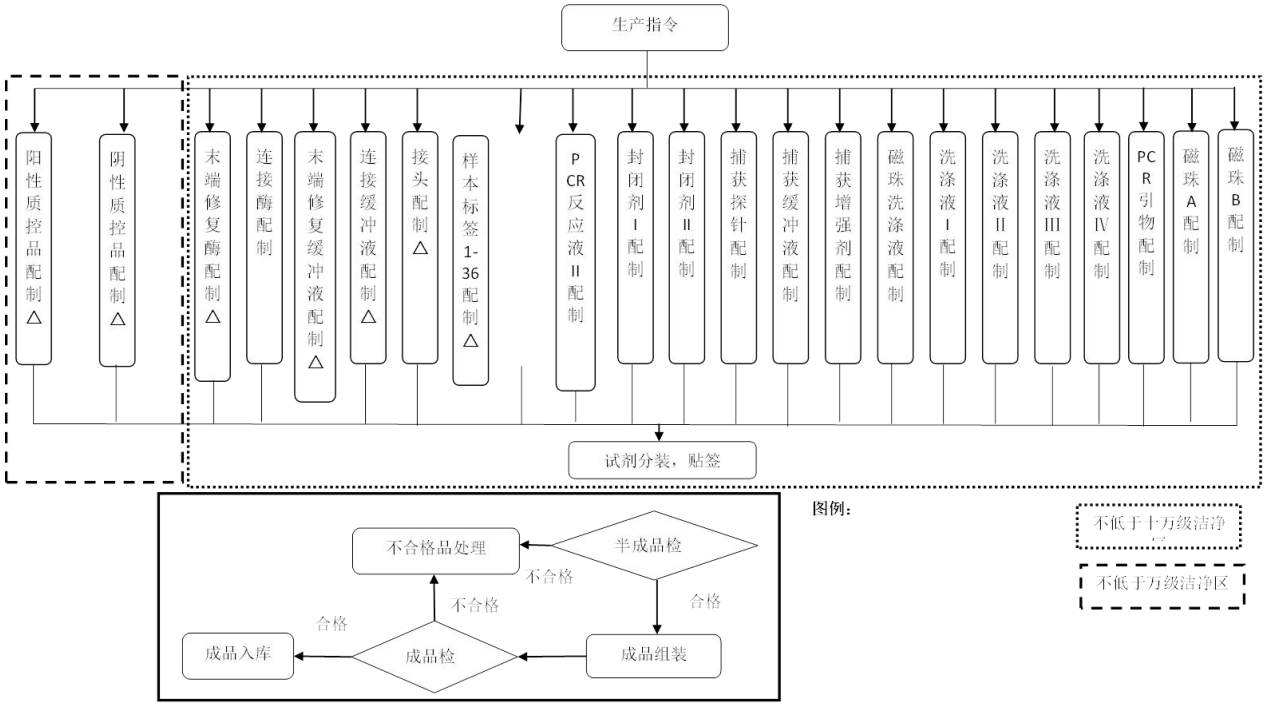
检测国家检测限参考品或企业检测限参考品，标注的KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变位点均应检出。（检测样本量和基因突变频率各产品不同）

（三）参考文献

1. 体外诊断试剂注册与备案管理办法
2. 医疗器械生产质量管理规范
3. 医疗器械生产质量管理规范附录体外诊断试剂
4. 医疗器械注册质量管理体系核查指南
5. 肿瘤相关突变基因检测试剂（高通量测序法）性能评价通用注册技术审查指导原则
6. 第二代测序技术检测试剂质量评价通用技术指导原则

（四）生产信息

1.工艺流程图示例（以某产品为例）



2.关键原材料及性能要求

该类产品的主要原材料包括样本收集及处理相关试剂主要原材料（如适用）、测序文库构建及测序过程中所需试剂原材料、阴阳性质控品和参考品等。如主要原材料若为企业自制，应提供其详细制备过程；主要原材料若为外购，其供应商应固定，不得随意更换。

2.1 样本收集处理试剂（如适用）

样本收集及处理相关试剂主要原材料信息，如样本前处理试剂、样本运输保存试剂、核酸提取试剂的主要组成成分等。

2.2 文库构建及测序过程中所需试剂

主要包含脱氧核糖核苷三磷酸（dNTP）、连接酶、聚合酶、样本标签、引物、探针、接头等；如为申请人自行研究的主要原材料，申请人应对测序文库构建的实验过程予以详述；并提供对各主要原材料的功能性研究。并对制备完成的原料成品进行质量检验以确认其符合标准要求，且整个生产工艺应稳定可控。如为申请人外购的主要原材料，应详述每一种原材料外购方来源，提交外购方出具的每种原材料性能指标及质量控制资料，并详述申请人对外购主要原材料的各指标质量要求以及确定该原材料作为本产品主要原材料的详细依据。核酸类检测试剂的包装材料和耗材应无脱氧核糖核酸酶和核糖核酸酶污染。

2.2.1 样本标签、引物、探针、接头

质量标准包括外观、序列准确性、纯度、浓度及功能性实验等。

2.2.2 dNTP

包括 dATP、dGTP、dCTP、dTTP、dUTP（如有），质量标准包括外观、纯度、浓度、功能性实验等。

2.2.3 酶

需要的酶主要包括聚合酶、连接酶、末端修复酶等，质量标准包括对纯度、浓度、活性和功能性实验等。

2.3 质控品

试剂盒一般包含阴性质控品和阳性质控品。阳性质控品模拟病人样本的目标核酸序列，可采用细胞系 DNA 制备，用于质控整个检测过程，包括核酸提取（如适用）、文库构建、测序和数据分析。阳性质控检测和分析过程应与临床样本方式一致。阴性质控品应明确不含有目标区域肿瘤突变基因。

2.4 企业参考品

该类产品的企业参考品一般包括阳性参考品、阴性参考品、最低检测限参考品和重复性参考品。企业参考品可采用细胞系或临床样本基因组 DNA。企业参考品的设置建议如下：

2.4.1 阳性参考品

理想状态下，阳性参考品应当包括对所申报产品每个基因型的质控样本。但考虑到基于 NGS 技术的可检测基因数量较多，申请人应结合产品预期用途、临床意义及基因类型等因素进行针对性和代表性的设计。

对于有明确肿瘤伴随诊断相关的基因，应考虑该类基因参考品设置的合理性和完整性，需包括伴随诊断相关的全部热点基因，建议采用临床样本或细胞系提取的核酸储备液作为原料。

阳性参考品的突变形式及拷贝数需采用有效方法进行确认，并明确接受标准。

2.4.2 阴性参考品

阴性参考品建议为正常临床样本的混合物或细胞系，应明确不含有目标区域肿瘤突变基因。

2.4.3 检出限参考品

申请人在设计阳性参考品时可一并考虑检测限参考品的设置及确认方式，并提供相关的依据。

2.4.4 重复性参考品

设置要求可参考阳性/阴性参考品。

3.关键过程/特殊过程

关键工序为配制。

4.质量控制点

质量控制点包括阴阳性质控品、样本标签、接头、酶溶液、引物、探针等组分的配制和分装。

二、 基于可逆末端终止测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂风险管理示例（该示例仅供参考，企业可以结合实际情况，建议按照ISO14971或GB/T 42062-2022《医疗器械风险管理对医疗器械的应用》提供的方法学来确定产品的损害严重度水平和损害发生的概率）

（一）确立风险可接受标准

运用危害分析方法对产品实施风险分析、风险评价、风险控制、综合剩余风险评价等风险管理活动，形成危害分析报告。

1.损害的严重度水平

损害的严重度水平采用定性分级的方法，分5个等级，内容见下表：

严重度分级	评分	定义
可忽略的	1	检测失败需重复检测
轻微的	2	假阳性；试剂成分污染环境需进行额外处理
严重的	3	假阴性；人员无需医疗介入的受伤
危重的	4	产品的有害成分导致用户需要医疗介入治疗
灾难性的	5	产品有害成分导致用户死亡或造成不可逆的严重伤害；造成公共健康威胁。

2.损害发生的概率（或等级）

损害发生的概率采用定性分级的方法，分5个等级，内容见下表：

概率计算公式： 上市前：发生的次数/临床评价的测试数*100% 上市后：发生的次数/销售的人份数*100%		
概率分级	**评分**	**定义**
经 常	5	$>10^{-4}$
有 时	4	10^{-5}～10^{-4}
偶 尔	3	10^{-6}～10^{-5}
极 少	2	10^{-7}～10^{-6}
不可能	1	$<10^{-7}$

3.单个风险可接受准则

结合损害的严重度分级和概率分级，形成如下5×5风险评价矩阵图：

可接受准则		1	2	3	4	5
		可忽略的	**轻微的**	**严重的**	**危急的**	**灾难性的**
经常	**5**	U	U	U	U	U
有时	**4**	A	U	U	U	U
偶尔	**3**	A	A	U	U	U
极少	**2**	A	A	A	U	U
不可能	**1**	A	A	A	A	A

说明：A：可接受的风险；U：不可接受的风险；

4.综合剩余风险可接受准则

同时满足以下方面：

（1）与产品预期用途相关的单个风险处于可接受水平；

（2）单个风险处于不可接受水平的风险数量不超过总风险数量的5%。

（二）初始危害分析

依据 YY/T 1437-2023《医疗器械 GB/T 42062 应用指南》的附录 A.2 的问题及附录 H.2 中的风险分析，结合本产品设计开发的性能特征，对产品的安全特征问题进行识别，识别可能的问题及危险，详见附录 1：《安全特征问题清单》所示（以某获证产品为例）。

通过填写安全特征检查清单，可对人 KRAS/BRAF/PIK3CA 基因突变检测试剂（可逆末端终止测序法）的安全特征进行初步了解，同时对以上危害进行了风险分析，详见附录 2：《初始危害分析表》（以某获证产品为例）。

（三）风险控制措施

经过对以上危害的风险分析，对不同的风险在产品实现全过程中采取了不同的控制措施，经验证有效，风险可控制在可接受范围，详见附录 3：《风险评价、风险控制措施记录表》（以某获证产品为例）。

三、基于高通量测序法的肿瘤相关突变基因检测试剂生产环节风险清单和检查要点

序号	风险环节	风险点及控制措施	检查要点
1	机构和人员	一、风险点： 1. 各部门职责和权限不明确，技术、生产和质量岗位的管理人员和操作人员的任职资格要求不明确，缺乏对实际问题作出正确判断和处理的能力，从而影响具体工作实施效果。 2. 未配备与产品相适应的具备相应资质与能力的生产技术人员和专职检验人员。 3. 从事影响产品质量工作的人员培训不到位，因能力/认识不足导致操作失误。 4. 不重视生产过程人员清洁要求。 5. 忽视人员健康档案的管理，对产品上市后的安全性产生风险。	1. 查看企业的质量手册、程序文件或相关文件，是否包括组织机构图，是否对各部门的职责权限作出规定并明确各部门的相互关系。 2. 查看相关文件中是否明确关键岗位人员（技术、生产和质量）的任职要求，任职要求是否涉及基因测序产品的特点。抽查具体人员的任命文件、学历证书、简历等专业背景的证明性资料，必要时可通过现场沟通、询问等方式考核人员的相关经验和能力。尤其应关注关键部门负责人的履职能力和日常工作中的履职情况。 3. 以基因测序产品特点和产品技术要求等文件为依据，查看企业的质量手册、程序文件或人员花名册等相关文件，确认企业是否配备了具备相应资质与能力的生产技术人员和专职检验员。 4. 查看企业制定的培训计划，依据计划中不同岗位人员

		二、控制措施 1. 应当建立与体外诊断试剂生产相适应的管理机构，同时明确各部门的职责、权限。 2. 体外诊断试剂生产、技术和质量管理人员应当具有医学、检验学、生物学、免疫学或药学等与所生产产品相关的专业知识，并具有相应的实践经验，以确保具备在生产、质量管理中履行职责的能力。 3. 凡在洁净室（区）工作的人员应当定期进行卫生和微生物学基础知识、洁净作业等方面培训。临时进入洁净室（区）的人员，应当对其进行指导和监督。 4. 从事体外诊断试剂生产的全体人员，包括清洁、维修等人员均应当根据其产品和所从事的生产操作进行专业和安全防护培训。	的培训需求（如卫生与微生物学、洁净室作业的注意事项、安全防护和岗位作业指导书等）。抽查培训记录，确认生产人员熟悉如引物、接头、酶等关键组分的配制分装等工序步骤，必要时可通过口头提问等方式进行现场询问。确认检验人员熟悉基因测序的原理及技术，查看检验人员的培训是否按照相应的产品技术要求以及检验规程内容培训，此外还应对有需要的人员进行微生物知识、P2 实验室安全防护等生物安全相关内容的培训，尤其应关注新进员工的培训情况和实施内部培训讲师的能力或资质。 5. 查看企业对人员健康的管理要求，抽查直接接触产品的岗位人员的健康档案资料，需要关注体检或健康证的具体检查项目，是否包含传染性和感染性疾病。

		5. 应当建立对人员的清洁要求，制定洁净室（区）工作人员卫生守则。人员进入洁净室（区）应当按照程序进行净化，并穿戴工作帽、口罩、洁净工作服、工作鞋。裸手接触产品的操作人员每隔一定时间应当对手再次进行消毒。裸手消毒剂的种类应当定期更换。 6. 应当制定人员健康要求，建立人员健康档案。直接接触物料和产品的操作人员每年至少体检一次。患有传染性和感染性疾病的人员不得从事直接接触产品的工作。	
2	厂房与设施	一、风险点： 1. 未配备适宜的厂房设施和生产环境，导致产品实现过程和防护过程失效。 2. 相关区域布局不合理，对产品实现过程产生风险。 3. 厂房未考虑特殊产品的防护要求，存在	1. 生产环境：查看工艺流程图和产品技术要求等文件是否明确各生产工序的洁净度级别，测序类基因检测试剂的配液和分装的生产环境应当不低于100,000级洁净度级别，阴、阳性对照品处理操作的生产环境应当不低于10,000级洁净度级别。查看厂区平面布局图，

		生物安全性风险。 二、控制措施 1. 生产、行政和辅助区的总体布局合理，不得互相妨碍。生产和检验场所及设施应当与产品生产规模、品种和要求相适应。 2. 基因测序试剂的生产涉及引物、探针、酶、脱氧核糖核苷三磷酸、接头、样本标签等活性类组分，上述活性类组分的配制及分装等生产工序的生产区域应当不低于100,000级洁净度级别。基因测序试剂的阴、阳性对照品可能涉及临床样本、假病毒颗粒、质粒、细胞系来源DNA等具有潜在污染性物料，该类物料处理操作的生产区域应当不低于10,000级洁净度级别，并应当与相邻区域保持相对负压，一般建议在生物安全柜	各功能区域的划分和布局是否存在交叉、混乱等情况，布局面积是否和实际产能匹配，现场核实生产和检验是否在独立的建筑物或空间内进行，空调系统是否独立，进/出风口设计是否合理且不互相污染。查看洁净室的平面布局图，现场核实生产车间布局及工艺流程操作间的设置是否合理；涉及质粒等活性物料的处理操作是否与相邻区域保持相对负压。厂房的设施设备要进行验证和确认，制定合理的环境监测频次。 2. 检验环境：测序试剂检验室的分区及各分区面积可根据具体产品情况、测序平台、检测流程和日常检测量进行设置。 3. 仓储环境：应根据试剂盒及原材料的存储要求设置不同的仓储分区，如常温库、冷库和冻库，配有环境监测和报警装置。仓储区要进行充分的验证，如：冷库及冻库应对空调系统的温度调节能力、开门最长时间、断电保护、满载、空载等情况进行逐一验证。 4. 企业参考品及阳性对照的配制可能涉及不同类型的临

		内操作，可以避免污染环境和操作者。 3. 基于测序方法的基因检测试剂的生产和检验应当在独立的建筑物或空间内进行，保证空气不直接联通，防止扩增时形成的气溶胶造成交叉污染。其生产和质检的器具不得混用，用后应严格清洗和消毒。 4. 易燃、易爆、有毒、有害、具有污染性或传染性、具有生物活性或来源于生物体的物料的管理应当符合国家相关规定。所涉及的物料应当列出清单，专区存放、专人保管和发放，并制定相应的防护规程。	床样本、假病毒，企业应建立人源样本管理制度，识别风险等级。查看是否有相应的防护设备及管理措施，如生物安全柜的配备，样本保存、处理及灭活的管理制度，个人防护和操作规范，医废的消毒处理等。 5. 是否已识别并列出危害物料清单，并明确危害的种类、风险和控制措施，现场确认是否符合要求。
3	设备	一、风险点： 1. 未配备与产品生产/检验相适宜的设备，导致产品实现过程和质量控制过程失效。 2. 需要冷藏、冷冻的原料、半成品、成品，	1. 根据生产工艺流程图和工艺作业文件，现场确认企业是否配备必需的生产设备，是否具有批量生产的能力；现场设备是否明确状态标识，是否制定了具体操作规程及校准要求等，如：移液器是否定期校准，其精度

		未配备相应的冷藏、冷冻储存设备，未按规定监测设备运行状况、记录储存温度。 3. 未定期进行设备的验证及维护保养，导致产品的性能指标出现较大的偏差。 三、 控制措施 1. 应当配备与所生产产品和规模相匹配的生产设备、工艺装备，应当确保有效运行，如：可调节移液器、离心机、混匀仪、分液器等；生产设备的设计、选型、安装、维修和维护应当符合预定用途，便于操作、清洁和维护。 2. 应当配备与产品检验要求相适应的检验仪器和设备，包括但不限于DNA打断仪、荧光定量仪（用于核酸定量）、PCR扩增仪、片段分析仪、基因测序仪、测序数据分析软件、紫外可见光分光光度	是否满足实际生产要求，同时应关注校准机构的资质和校准范围的适宜性。 2. 依据产品技术要求及成品检验规程，现场确认企业是否具备进货检验、过程检验和出厂检验的能力；主要检验设备是否定期进行校准和维护。检验设备主要为荧光定量仪（用于核酸定量）、PCR扩增仪、基因测序仪等，应当明确校准周期，并定期送检以保证设备的适用性。基于测序原理的基因检测试剂还需匹配测序数据分析软件，应当对软件进行确认。 3. 根据原材料、中间品、成品的储存要求配备相适应的仓储环境，查看冷库验证报告，至少包括：温度均匀性验证、空载验证、满载验证、断电报警验证及开门作业验证等内容。企业同时应配备应急发电设备，设置上下限报警温度，并能够及时预警相关管理人员进行处理。 4. 查看极端天气条件（例如酷暑、梅雨季节或寒冬季节）时仓储区域的温度记录，是否持续满足物料和产品的储存要求；查看运输管理文件，是否明确试剂运输过

		计、恒温混匀仪、生物安全柜等。主要检验仪器和设备应当具有明确的操作规程。 3. 基因测序类检测试剂的主要原料（如引物、酶、dNTP 等）、中间品以及成品应根据需求选择适宜的储存条件，主要原料和成品的储存条件常为-20±5℃。基因测序检验配套用试剂如核酸提取、纯化、定量试剂的保存条件应符合相应的说明书的要求。企业应当配备相应的冷冻和冷藏储存设备，并按规定监测设备运行状况、记录储存温度。同时应当配备符合其温度要求的运输设施设备，如:冷链车、冰袋保温箱等。 4. 生产设备应当有明显的状态标识，防止非预期使用；应当建立检验仪器和设备的使用记录，记录内容应当包括使用、校准、维护和维修等情况。	程中的防护要求和方法；现场确认是否具有相应的运输设施设备，若委托第三方进行运输，可查看双方的委托协议（重点关注是否明确运输温度要求）、受托方的资质及冷链运输验证资料。

		5. 应当确定所需要的工艺用水及检验标准，可自制或外购，主要用于引物、酶、反应液等物料的溶解、稀释。	
4	文件管理	一、风险点： 1. 未建立与与基于测序方法的基因检测试剂相适应的生产质量管理体系文件和记录要求，导致产品实现过程和质量控制过程以及可追溯性失效。 二、控制措施 1. 应建立文件和记录管理的要求。 2. 应确保有效受控版本应用在产品实现过程中。 3. 应确保质量记录的真实性和可追溯性。 4. 应确定作废的技术文件等必要的质量管理体系文件的保存期限，以满足产品维修和产品质量责任追溯等需要。	“文件管理”这一章节主要确认质量管理体系文件的完整性和符合性，重点关注： 1. 是否制定文件和记录的管理制度。 2. 现场抽查具体文件，如：生产作业指导书、原材料质量标准和检验作业指导书等，其制定、审核及批准是否与规定流程相一致；现行版本是否为有效受控版本。 3. 抽查批生产记录、检验记录等，是否满足真实可追溯的要求。

5	设计开发	一、风险点： 1. 产品立项初期考虑的内容不全面，导致设计输入时不充分，最终的产品存在设计缺陷，产生漏检、错检的风险。 2. 未全部识别设计开发过程中的变更，造成最终产品信息有误。 3. 设计开发输出不完整，不满足设计输入的要求，无法有效指导生产，影响生产过程的持续性和稳定性。 4. 设计验证和确认不充分，不完整，导致产品性能缺陷，不能满足预期用途。 二、控制措施 1. 产品设计和开发策划时，在各阶段的评审、验证、确认和设计转换等活动中应当在满足通用要求的前提下充分考虑肿瘤相关突变基因检测试剂（高通量测序法）产品特殊要求，如肿瘤相关突变	1. 抽查设计输入清单及附件资料，是否包含：预期用途、性能指标、法规要求等基本内容，尤其需关注近期是否有新标准或新技术审评指导原则的实施，企业是否有识别。 2. 查看设计输出资料，是否已满足采购、生产、质量控制等基本需求。 (1)物料质量标准中是否明确物料的质量要求，包括引物、探针、接头、dNTP 的分子量、浓度、纯度及纯化方式、序列、保存稳定性等要求；连接酶、聚合酶、逆转录酶及限制性内切酶的酶类型及酶活、热稳定性及工作效率要求；阳性质控品中靶基因片段的序列要求； (2)生产工艺文件中是否明确具体配方、操作注意事项等内容； (3)检验规程中是否明确各指标的检验规则，是否输出测序数据的生物信息分析流程或软件等相关文档； (4)样本管理制度中是否明确存在潜在生物安全性风险的临床样本的防护、使用、保存和最终销毁的管理要求

		基因检测试剂（高通量测序法）性能评价通用注册技术审查指导原则(2019 年第 83 号)。 2. 设计和开发输入应当包括预期用途规定的功能、性能和安全要求、法规要求、风险管理控制措施和其他要求。 3. 设计和开发输出应当满足输入要求，包括采购、生产和服务所需的相关信息、产品技术要求等。 4. 应当对设计和开发的更改进行识别并保持记录。必要时，应当对设计和开发更改进行评审、验证和确认，并在实施前得到批准。如：引物、探针等关键物料的供应商发生改变、性能指标或检验方法的变化、生产工艺的优化等，关键原料变更应根据原料种类按法规要求进行变更注册或者按照新产品重新注册。	等。 3. 查看研发资料的真实性和合规性。研究资料中应包： (1)主要原材料（引物、探针、脱氧三磷酸核苷、接头、连接酶、聚合酶、逆转录酶、限制性内切酶、样本收集及处理相关试剂等）的研究资料， (2)主要生产工艺及反应体系的研究资料，生产工艺主要包括酶浓度、引物/探针浓度、dNTP 浓度、阳离子浓度等，反应体系主要包括临床样本用量、试剂用量、反应条件、质控体系设置等。申报产品如包含核酸分离/纯化试剂，应查看核酸分离/纯化工艺优化的研究资料。如包括但不限于核酸体积、质量、浓度、纯度及完整性等。 (3)分析性能评估资料、样本稳定性、适用样本类型、稳定性研究、阳性判断值研究等。主要分析性能指标包括准确性、阴阳性参考品符合率、检测限、空白限、分析特异性、精密度，NGS 测序试剂常通过与适当的对比方法比较，如核酸测序或其他经过验证的方法，评估申报产品准确性能。查看研究资料中是否明确所有

		5. 应当对设计和开发进行确认，以确保产品满足规定的使用要求或者预期用途的要求，并保持确认结果和任何必要措施的记录。目前，肿瘤相关突变基因检测试剂采取临床试验的确认方法。	检测要素（如仪器、软件、消耗品、试剂等）和分析性能用样本信息（如样本数量、类型、编号等）；查看企业是否可提供上述研究的原始记录，满足可追溯的要求。同时查看原始记录中最终确认的结论是否和输出的采购要求、工艺规程等文件一致。 (4) 参考品研究资料。查看参考品原料选择、基因突变类型及序列设置、突变频率和拷贝数设置及确认方法、制备过程、定值研究及评价指标等。查看参考品溯源过程的测量程序或参考方法的相关信息及详细的验证资料。核对企业参考品的配制规程与注册提交的企业参考品组成、基因突变类型、样本类型及具体浓度等信息是否一致；抽查企业参考品配制记录，重点关注配制用样本来源及定值的准确性和可追溯性。 4. 现场查看研制条件，包括配合使用的设备、仪器、试剂和生物信息分析软件，确认是否满足产品研发需要。抽查主要设备的使用记录，是否能够真实反映研发过程；抽查研发期间主要物料、验证用样品的使用台账，台账内容至少应包括：物料来源、数量、使用量、剩

			余量及最终销毁等信息。研制过程中使用到的生物样本还应满足追溯要求，涉及人体来源的样本，应有合法来源证明（如协议、交接单等）。 5. 查看设计开发验证资料，若委托第三方进行产品全性能的验证，需关注该机构的承检资质及验证过程中是否有性能要求或检测方法的优化或更改，针对关键变更企业是否识别并进行过内部评审。研制过程中存在与相应机构共同研发的，应当保留相应的协议。 6. 查看设计开发确认资料，肿瘤相关突变基因检测试剂应通过临床试验路径进行临床评价。临床试验应符合《体外诊断试剂注册与备案管理办法》（国家市场监督管理总局令第 48 号）、《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》（国家药品监督管理局通告 2021 年第 72 号）的要求，如相关法规、文件有更新，临床试验应符合更新后的要求。应关注试验方、受试者选择、样本量、临床机构、临床试验结果统计分析。抽查临床试验报告，查看记录是否完整，是否记录考核试剂信息、对比试剂信息、第三方试剂信息（如有），入组

			受试者的临床背景信息等。 7. 查看设计变更资料，是否存在性能指标、关键原料及供方、生产工艺、反应体系、参考品设置、样本类型、与产品配合使用的核酸提取纯化试剂等发生变化的情况，是否已进行设计评审，按法规要求进行变更注册或者按照新产品重新注册。 8. 查看风险管理计划及报告，是否结合肿瘤相关突变基因检测试剂及测序试剂的特点，按照 YY/T 1437-2023《医疗器械 GB/T 42062 应用指南》的要求识别可能存在的风险，并进行风险分析和风险控制措施的实施。
6	采购	一、 风险点： 1. 主要原料的质量标准不明确或未按规定的要求进行进货检验，无法判定物料满足法规及注册批件的要求，存在合规性风险。 2. 采购的物料不符合制定的质量标准，存在产品上市后的安全隐患。 3. 未与主要供应商签订质量协议，物料来	1. 肿瘤相关突变基因检测试剂作为第三类 IVD 产品进行管理，目前主要物料的质量标准均在产品技术要求附录中明确，故可根据附录内容，查看企业制定的物料质量标准与法规批件要求是否一致，抽查具体批次物料的检验报告，其检验项目及结果是否一致。 2. 查看关键原料的质量标准是否全面，不同原料的关注点如下：①引物、探针、接头、样本标签、dNTP：关注供应商信息、物料外观、核酸序列、纯度、分子量、

		源和质量不能得到有效保证。 4. 无法追溯关键原材料的采购记录。 二、控制措施 1. 应当根据采购物品对产品的影响，确定对采购物品实行控制的方式和程度，并明确各采购物料的质量标准，至少应符合产品技术要求附录中的内容。 2. 应当与主要原材料供应商签订质量协议，明确双方所承担的质量责任。 3. 应当建立采购记录，包括采购合同、原材料清单、供应商资质证明文件、质量标准、检验报告及验收标准等。采购记录应当满足可追溯要求。	浓度等，一般会进行功能试验；②聚合酶、连接酶、扩增酶：关注点包括但不限于供应商信息、外观、酶活、热稳定性、工作效率、蛋白纯度、效期和功能性试验；③细胞系 DNA 和参考品：关注外观、浓度、效期和序列等。如采购的关键原材料为混合体系，应关注混合体系中各关键组分信息及质量要求。 3. 应关注关键原材料供方的评审记录、双方签订的质量协议、采购记录的追溯性、关键物料是否符合质量标准、是否满足产品技术要求的规定等。对于经销商（非生产商），可查看其经销代理资质或采购原始记录，以满足追溯性要求。 4. 抽查具体批次的物料采购及进货检验记录，对照质量标准、检验规程等文件，核对一致性和可追溯性，通常采购记录至少应包括采购订单、采购发票及发货单等。对于进货检验记录中企业不自检的项目，需重点关注供方质保书或出厂检验报告。 5. 抽查企业参考品配制用原料的采购信息，是否同样可满足可追溯的要求。

			6. 研发及检验过程可能涉及临床样品，查看由临床机构或第三方提供的样本清单，是否已记录样本来源、可追溯性编号、灭活状态、样本类型、数量、保存条件、生物安全检测信息、临床诊断结果等信息，以上信息应由提供方进行确认，并可提供双方的合作协议。
7	生产管理	一、风险点： 1. 未明确工艺流程及工艺参数或过程操作与规定的要求不一致，不能保证过程质量和产品质量满足规定的要求。 2. 标识不清晰导致的混淆和非预期使用，造成安全隐患和功能失效。 3. 生产信息记录不完整，无法有效追溯，无法证明生产过程的真实性。 4. 验证工作不到位，导致过程控制失效。 二、控制措施 1. 应当编制生产工艺规程、作业指导书等，明确关键工序和特殊过程。	1. 企业根据产品设计开发输出相应的生产规程、作业指导书以及相关程序文件，明确关键工序和特殊过程，并按要求进行验证和确认。 2. 抽查具体批生产记录，对照工艺作业指导书的配方及参数要求，核对是否一致。尤其需关注生产工艺与产品技术要求附录中生产工艺是否一致。同时应关注批生产记录中的内容是否全面，至少应包括：产品名称、规格型号、原材料名称及批号、生产批号或产品编号、生产日期、数量、主要设备、工艺参数、操作人员等内容。 3. 查看标识相关管理制度，是否明确产品标识、设备标识、状态标识和区域标识等内容，同时可进行现场核实，是否进行了有效标识。

		2. 每批（台）产品均应当有生产记录，并满足可追溯的要求。生产记录应当包括：产品名称、规格型号、原材料批号、生产批号或产品编号、生产日期、数量、主要设备、工艺参数、操作人员等内容。 3. 应当建立产品标识控制程序，用适宜的方法对产品进行标识，以便识别，防止混用和错用。应当在生产过程中标识产品的检验状态，防止不合格中间产品流向下道工序。对现场各类物料和生产区域、设备、管路的状态进行识别和管理。 4. 应当按照物料的性状和储存要求进行分类存放管理，应当明确规定中间品的储存条件和期限。如：如：引物、探针的工作母液、高浓度缓冲液储存液等。。	4. 关注生产过程中涉及长期保存的中间品有效期的规定，抽查相应的验证资料，验证方法是否合理，验证结论是否和最终输出的规定一致。 5. 是否按照规定对每批产品中关键物料进行物料平衡核查，针对有显著差异的情况，企业是否及时进行了原因分析和处理。 6. 生产过程中如涉及临床样本的操作是否按照相关规定实施。
8	质量控制	一、风险点： 1. 制定的成品检验规程未覆盖产品技术要求的所有指标或与产品技术要求不	1. 查看成品检验规程，与已批准的产品技术要求相对照，是否已覆盖。肿瘤相关突变基因检测试剂的产品技术要求中的检测方式分为检测国家参考品或企业参考品

		一致，存在产品性能失效的风险。 2. 未制定各指标的检验规则，存在安全风险和性能失效的风险。 3. 检验记录的追溯性差，无法证明检验过程的真实性。 4. 检验设备未定期维护和校准，检验结果可靠性差，存在产品性能失效的风险。 5. 未建立有效的产品放行程序，存在产品质量的安全风险。 二、控制措施： 1. 应当根据强制性标准以及经注册或者备案的产品技术要求制定产品的检验规程，并出具相应的检验报告或证书。检验规程中应明确各指标的检验规则。 2. 每批产品均应当有批检验记录，并满足可追溯要求。检验记录应当包括进货检验、过程检验和成品检验的检验记录、	两种，鉴于可操作性，企业出厂检验一般只检测企业参考品，具体方法应与产品技术要求中一致。 2. 企业应制定整个检测流程的标准操作程序文件，内容包括： (1)对 NGS 技术检测全过程包括的样本收集处理、文库制备、测序、数据分析、结果报告等过程的描述。 (2)应明确样本处理、文库制备、测序、生信分析等环节主要质量控制参数。如文库浓度及片段长度、碱基识别质量值（Base Call Quality scores）、过滤后有效 Reads 数、有效测序深度（如经过去重处理等）、符合最低测序深度和平均测序深度要求的区域(%)等。 (3)生物信息分析流程应描述清晰，包括每一步骤使用软件的名称、版本、参数设置要求、来源（例如：内部开发以及第三方）等，参数设置包括但不限以下指标：说明检查每个位点的碱基质量值和每个读段的平均质量值，碱基的频率分布，读长分布及是否存在重复序列和人工序列的评价方法，以保证按照该流程生物信息分析结果可复现。

		检验报告或证书等。 3. 应当定期对检验仪器和设备进行校准或检定，并予以标识。 4. 应当规定产品放行程序、条件和放行批准要求。	3. 抽查批检验记录，应记录产品名称、批号、检验设备编号、检验用试剂批号（如企业参考品批号）、操作人员、日期等基本信息，查看信息是否完整满足可追溯要求。应对生物信息分析流程及软件有完整的记录。 4. 检验过程中采用的计算机软件或生物信息分析流程，发生改变或版本升级时，应评估是否对产品质量产生影响，若对产品质量产生影响，应当进行确认。建立完善的生物信息分析程序或软件的版本控制方案。 5. 查看企业参考品的配制作业指导书，参考品的配制、定量、序列信息、溯源要有明确的依据并保存参考品的使用台账。应着重关注参考品生物安全风险，如果使用的参考品是临床样本，要根据相关的实验室规定做好防护，实验废物要按照相关的要求进行处理。现场可抽查具体批次的参考品配制记录，核对其操作与作业指导书要求是否一致，企业提供的原始记录要完整可追溯，至少应包括：阳性样本的定值记录（如有）、母液的稀释/分装记录和具体批次企业参考品的配制/分装记录，以满足可追溯要求。同时应关注企业参考

			品的有效期及复验的相关规定和验证资料。 6. 查看检验设备台账，抽查主要检验设备的校准记录，如荧光定量仪（用于核酸定量）、PCR 扩增仪、基因测序仪等的校准证书，并现场核实状态标识。 7. 查看产品上市前放行审查程序，是否对放行流程进行了详细规定，抽查具体批次的放行记录，是否和规程一致，同时应关注放行人员的授权书和履职情况。
9	销售和售后服务	一、风险点： 1. 医疗器械经营企业销售资质未核实，不符合法规和规范的要求 二、控制措施： 1. 核对代理商或经销商以及分下游经营公司的经营资格，满足追溯要求。	1. 确认企业追溯管理相关规定是否覆盖代理商或经销商保存医疗器械分销记录的相关规定；确认是否按规定实施销售追溯管理，抽查销售记录，是否能实现有效追溯。核对销售对象是否为有医疗器械经营许可证，并具备相应储存条件的医疗器械经营企业。
10	不良事件监测、分析和改进	一、风险点： 1. 未建立有效的上市后不良事件监测体系，无法有效实施不良事件监测。	1. 检查是否建立不良事件监测的规定，确认规定覆盖了部门/人员职责、监测程序、报告时限、报告途径、调查、处置、内外部接口等内容。确认已按规定开展了不良事件监测活动并持续保持相关记录。

		二、控制措施： 1. 应按法规要求开展不良事件监测。 2. 应建立纠正、预防措施程序，确定潜在问题的原因，采取有效措施，防止问题发生。	2. 检查是否建立纠正预防措施程序，确定产生问题的原因，采取有效措施，防止相关问题再次发生。

附录 1《产品安全性特征清单》

（以某获证产品为例）

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.1 医疗器械的预期用途是什么和如何使用医疗器械？	本产品用于体外定性检测人类结直肠癌患者经福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)组织样本中KRAS、PIK3CA和BRAF基因突变。其中KRAS基因野生型用于西妥昔单抗的伴随诊断检测。其检测结果仅供临床参考，不应作为患者个体化治疗的唯一依据。临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其他实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判定。	使用危险（源）	H1
A.2.2 医疗器械是否预期植入？	否	不适用	不适用
A.2.3 医疗器械是否预期可能和患者或其他人员接触？	与试剂盒使用者接触，不与患者接触。	操作危险	H2

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.4 在医疗器械中采用了什么材料或组分，或者什么材料或组分与医疗器械共同使用或接触？	含有寡聚脱氧核糖核酸、酶、无机盐离子、磁珠等组分。包装材料是冻存管，不需要在仪器上使用。	环境危险	H3
A.2.5 是否有能量输送给患者或从患者身上获取？	否	不适用	不适用
A.2.6 是否有物质提供给患者或从患者身上提取？	患者的福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）样本。	操作危害，患者样本错误影响检测结果	H4
A.2.7 医疗器械是否处理生物材料用于随后的再次使用、输液/血或移植？	否	不适用	不适用
A.2.8 医疗器械是否以无菌形式提供或预期由使用者灭菌，或用其它微生物学控制方法？	否	不适用	不适用

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.9 医疗器械是否预期由用户进行常规清洁和消毒？	否	不适用	不适用
A.2.10 医疗器械是否预期改善患者的环境？	否	不适用	不适用
A.2.11 是否进行测量？	用于体外定性检测人类结直肠癌患者经福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）组织样本中 KRAS、PIK3CA 和 BRAF 基因突变。其中 KRAS 基因野生型用于西妥昔单抗的伴随诊断检测。	功能危险	H5
A.2.12 医疗器械是否进行分析处理？	否，需要配套测序仪及数据分析软件进行分析得出最终结果。	不适用	不适用

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.13 医疗器械是否预期和其它医疗器械、医药或其它医疗技术联合使用？	核酸提取处理：需要使用核酸提取试剂对石蜡包埋组织样本的 DNA 进行提取； 核酸纯化试剂：需要核酸纯化试剂对 PCR 产物进行纯化； 测序仪； 基因测序仪的配套测序试剂； 数据分析软件。	操作危害，客户可能使用了不适用的器械进行核算提取或测序分析导致结果不准确。	H6
A.2.14 是否有不希望的能量或物质输出？	否	不适用	不适用
A.2.15 医疗器械是否易受环境影响？	包装盒和产品说明书中注明了储存环境条件和储存有效期，试剂盒内各组分保存条件为-20±5℃或 2~8℃，密闭保存，有效期 12 个月，避免反复冻融。运输过程需有保温措施，如果运输过程不符合要求，会导致试剂失效。	操作危险	H7

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.16 医疗器械是否影响环境?	试剂盒的物质不会对环境造成影响,但是实验检测后的废物可能具有污染性，应按医疗/危险废弃物处理。	环境危险	H8
A.2.17 医疗器械是否需要耗材或附件?	否，但使用过程中需要配套的 EP 管、PCR 反应管和 tip 头等常用耗材。	不适用	不适用
A.2.18 是否需要维护和校准?	检测过程需要质控品，但不需要维护和校准。	操作危险	H9
A.2.19 医疗器械是否有软件?	否	不适用	不适用
A.2.20 医疗器械是否允许获取信息?	否	不适用	不适用
A.2.21 医疗器械是否存储患者护理的关键数据?	否	不适用	不适用
A.2.22 医疗器械是否有货架寿命的限制?	试剂盒内各组分保存条件为-20±5℃或 2~8℃，密闭保存，有效期 12 个月，避免反复冻融。	操作危险	H10
A.2.23 是否有延时或长期使用效应?	否	不适用	不适用

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.24 医疗器械承受何种机械力？	否	不适用	不适用
A.2.25 什么决定医疗器械的寿命？	试剂盒各组分的稳定性决定了试剂盒的寿命，而试剂盒运输、储存条件可能影响试剂盒各组分的稳定性。	操作危险	H11
A.2.26 医疗器械是否预期一次性使用？	可进行多个测试，拆封后根据不同组分保存条件要求分别保存，使用效期不变。	操作危险	H12
A.2.27 医疗器械是否需要安全地最终停用或处置？	试剂盒的物质不会对环境造成影响，但是实验检测后的废物可能具有污染性，应按医疗/危险废弃物处理。	环境危险	同 A.2.16 H8
A.2.28 医疗器械的安装或使用是否要求专门的培训或专门的技能？	需要专业人员经培训后进行操作。	操作危害，操作者未经培训进行操作导致检测结果不准确。	H13

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.29 如何提供安全信息？	说明书和标签、包装标识上提供相关注意信息，包括使用方法、储存条件、有效期、注意事项、生产制造信息和检验方法局限性。	信息危害，信息缺失或错误造成使用者使用错误	H14
A.2.30 是否建立或引入新的制造过程？	否	不适用	不适用
A2.31 医疗器械的成功应用，是否取决于用户接口的可用性？			
A.2.31.1 用户界面设计特性是否可能促成使用错误？	否	不适用	不适用
A.2.31.2 医疗器械是否在因分散注意力而导致使用错误的环境中使用？	否	不适用	不适用
A.2.31.3 医疗器械是否有连接部分或附件？	否	不适用	不适用
A.2.31.4 医疗器械是否有控制接口？	否	不适用	不适用

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.31.5 医疗器械是否显示信息？	否	不适用	不适用
A.2.31.6 医疗器械是否由菜单控制？	否	不适用	不适用
A.2.31.7 医疗器械的成功使用是否取决于用户的知识、技能和能力?	使用者应该具备分子生物学相关知识,熟悉有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范。	操作危险	同A.2.28 H13
A.2.31.8 医疗器械是否由具有特定需求的人使用？	否	不适用	不适用
A.2.31.9 用户界面能否用于启动非授权的动作？	否	不适用	不适用
A.2.32 医疗器械是否使用报警系统？	否	不适用	不适用
A.2.33 医疗 器械可能以什么方式被误使用(是否故意)?	操作者可能没有按照预期用途使用,用于其他基因的检测诊断或直接将结果用于指导患者用药。	使用危险	同A.2.1 H1

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
A.2.34 医疗器械是否预期为移动式或便携式?	否	不适用	不适用
A.2.35 医疗器械的使用是否依赖于基本性能?	试剂盒的性能依赖于各个组分的性能，如果组分的性能不达标，可能会导致错误的检测结果。产品性能指标如准确性、特异性及精密度等会影响患者的最终检测结果。	功能危害 ----不正确的测量	H15
A.2.36 医疗器碱的使用是否具有一定的自动化程度?	否	不适用	不适用
A.2.37 医疗器械是否产生一个输出，作为确定临床行为的输入?	其检测结果仅供临床参考,不应作为患者个体化治疗的唯一依据。临床医生应结合患者病情、药物适应症、治疗反应及其他实验室检测指标等因素对检测结果进行综合判断。	使用危险	同 A.2.1 H1
H.2.2 与患者的安全有关的特性			
H.2.2.2 与患者安全有关的性能特性	可能出现假阳、假阴结果	功能危险	同A.2.35 H15

问题内容	特征判定	危险（源）类型	危险（源）编号
H.2.2.3 与患者安全有关的可靠性特性	质控品可能出现不稳定或操作不当	操作危险	同 A.2.18 H9
H.2.2.4 与患者安全有关的数字信息技术特性	样本详细信息(样本类型、描述、采集时间)	操作危险	同 A.2.6 H4
生产、运输过程的操作危害			
原料检验入库	不合格物料流入生产中，导致中间品不合格		H16
配制	投料量不准确，导致中间品或成品不合格		H17
分装	分装量不均匀，导致成品检验不合格		H18
贴签	标签内容与组分不一致		H19
组装	组分缺失、或组分错误、混批等		H20
成品入库	入库储存温度不合格		H21
运输	包装盒损坏、试剂瓶破碎，运输温度不合格		H22

附录 2《初始危害分析表》

（以某获证产品为例）

危险（源）类型	危险（源）编号	可预见的事件及事件序列	危险情况及产生的后果或伤害	初始风险控制方案分析
使用危险	H1	操作人员未按照产品预期用途进行使用，检测结果直接用于结直肠癌患者的诊断或用药	影响检测结果，病人延误或错误治疗，疾病加重	在说明书【预期用途】注明
操作危险	H2	操作人员未采取任何防护措施仅进行操作	人员受伤或环境受到破坏	说明书中明确使用防护信息
环境危险	H3	操作人员在使用后未正确的处理废弃物	将具有污染性的废弃物没有经过处理直接倒入下水道，对水资源造成污染	说明书规定废弃物按《医疗废弃物管理条例》处理
操作危险	H4	采取样本类型不对，导致检测结果不准确	影响后续检测结果，病人延误或错误治疗，疾病加重	说明书中明确样本类型

危险（源）类型	危险（源）编号	可预见的事件及事件序列	危险情况及产生的后果或伤害	初始风险控制方案分析
功能危险	H5	参考范围建立不准确导致患者结果假阳性或假阴性	产品不满足检测要求，病人延误或错误治疗，疾病加重	设计开发进行参考区间研究，在说明书中提示
操作危险	H6	客户可能使用了不适用的器械进行核酸提取或测序分析导致结果不准确	操作不当导致结果不准确，病人延误或错误治疗，疾病加重	说明书明确配套试剂
操作危险	H7	试剂储存及运输条件研究不足或客户未在合适的条件下运输和保存	试剂盒失效，病人延误或错误治疗，疾病加重	设计开发进行试剂的储存和运输稳定性研究，说明书中明确运输、储存要求
环境危险	H8	检测后的废弃物具有污染性	将具有污染性的废弃物没有经过处理直接倒入下水道，对水资源造成污染	说明书规定废弃物按《医疗废弃物管理条例》处理
操作危险	H9	质控品性能差或操作者可能未使用质控品进行控制	操作不当导致结果不准确，病人延误或错误治疗，疾病加重	试剂开发时进行质控品研究，在说明书中明确质控要求
操作危险	H10	使用过期产品	使用过期产品，检测结果不准确	在说明书和标签上明示产品有效期

危险（源）类型	危险（源）编号	可预见的事件及事件序列	危险情况及产生的后果或伤害	初始风险控制方案分析
操作危险	H11	储存温度未控制在合理范围	未按照储存要求储存产品，检测结果不准确	说明书规定储存要求
操作危险	H12	产品开封稳定性差，或操作者拆封后各组分未按照要求进行储存	拆封后未在合适条件下储存，检测结果不准确	设计开发时进行开封稳定性研究，说明书规定开封有效期
操作危险	H13	操作者未经过相应的培训	检测结果错误	说明书中明确本试剂盒为体外诊断试剂，操作要求一定的专业性，操作人员应当经过专业培训。
信息危险	H14	说明书中注意事项、操作步骤描述繁琐或不清晰易懂，或信息不全	操作者无法正确使用产品	严格执行《医疗器械说明书、标签和包装标识管理规定》和《体外诊断试剂说明书编写指导原则》，说明书进行审核和确认。
功能危险	H15	产品性能指标不符合要求	导致检测结果不准确	设计开发时进行产品性能研究，每批严格按照产品技术要

危险（源）类型	危险（源）编号	可预见的事件及事件序列	危险情况及产生的后果或伤害	初始风险控制方案分析
				求和产品检验规程进行检验
操作危险	H16	原材料不合格物料流入生产中，导致中间品不合格	中间品报废	对原材料进行功能检验。
操作危险（源）	H17	投料量不准确，导致中间品和成品不合格	不合格的试剂导致检测结果不准确。	对投料相关器具和仪器进行校准，投料过程一人进行，独立复核。
操作危险（源）	H18	分装量不均匀，导致成品不合格。	不合格的试剂导致检测结果不准确。	对分装相关器具和仪器进行校准，并进行成品检验。
操作危险（源）	H19	贴签过程标签内容与组分不一致。	成品报废或客户使用错误，检测结果不准确。	贴签人员自检，对标签进行物料平衡，进行成品检验。
操作危险（源）	H20	组装批号不一致。	成品报废或客户使用错误，检测结果不准确。	组装人员自检，对标签进行物料平衡，进行成品检验。
操作危险（源）	H21	入库储存温度不合格。	检测结果不准确。	入库前后进行确认，并设置货位卡。
操作危险	H22	运输过程包装盒损坏，运输	影响销售，检测结果不准	对发货的试剂盒按照标准操

危险（源）类型	危险（源）编号	可预见的事件及事件序列	危险情况及产生的后果或伤害	初始风险控制方案分析
（源）		过程试剂瓶破碎,运输温度不合格	确。	作规程进行，并根据相应退货管理规程进行退货。

附录 3 《风险评价、风险控制措施记录表》

（以某获证产品为例）

危险（源）类型	危险（源）编号	风险估计			采取控制措施	
		严重度	概率	风险水平	（初始）措施计划	记录
使用危险	H1	3	1	A	在说明书【预期用途】注明	说明书
操作危险	H2	3	2	A	说明书中明确使用防护信息	说明书
环境危险	H3	2	3	A	说明书规定废弃物按《医疗废弃物管理条例》处理	说明书
操作危险	H4	3	3	U	说明书中明确样本类型	说明书
功能危险	H5	3	2	A	设计开发进行参考区间研究，在说明书中提示	说明书
操作危险	H6	3	2	A	说明书明确配套试剂	说明书
操作危险	H7	3	2	A	设计开发进行试剂的储存和运输稳定性研究,说明书中明确运输、	1. 工艺文件 2. 产品标签

危险（源）类型	危险（源）编号	风险估计			采取控制措施	
		严重度	概率	风险水平	（初始）措施计划	记录
					储存要求	和说明书 3. SDS 报告
环境危险	H8	3	2	A	说明书规定废弃物按《医疗废弃物管理条例》处理	说明书
操作危险	H9	3	2	A	试剂开发时进行质控品研究，在说明书中明确质控要求	产品说明书、产品包装盒及标签标识
操作危险	H10	3	2	A	在说明书和标签上明示产品有效期	说明书
操作危险	H11	3	1	A	说明书规定储存要求	产品说明书
操作危险	H12	3	2	A	设计开发时进行开封稳定性研究，说明书规定开封有效期	说明书

危险（源）类型	危险（源）编号	风险估计			采取控制措施	
		严重度	概率	风险水平	（初始）措施计划	记录
操作危险	H13	3	2	A	说明书中明确本试剂盒为体外诊断试剂,操作要求一定的专业性,操作人员应当经过专业培训。	说明书
信息危险	H14	3	3	U	严格执行《医疗器械说明书、标签和包装标识管理规定》和《体外诊断试剂说明书编写指导原则》，说明书进行审核和确认。	说明书
功能危险	H15	3	1	A	设计开发时进行产品性能研究，每批严格按照产品技术要求和产品检验规程进行检验	检验记录
操作危险	H16	3	2	A	对原材料进行功能检验。	检验记录

危险（源）类型	危险（源）编号	风险估计			采取控制措施	
		严重度	概率	风险水平	（初始）措施计划	记录
操作危险（源）	H17	3	2	A	对投料相关器具和仪器进行校准，投料过程一人进行，独立复核。	生产记录
操作危险（源）	H18	3	2	A	对分装相关器具和仪器进行校准，并进行成品检验。	生产记录
操作危险（源）	H19	3	3	U	贴签人员自检，对标签进行物料平衡，进行成品检验。	生产记录
操作危险（源）	H20	2	2	A	组装人员自检，对标签进行物料平衡，进行成品检验。	生产记录
操作危险（源）	H21	3	2	A	入库前后进行确认，并设置货位卡。	生产记录
操作危险（源）	H22	3	2	A	对发货的试剂盒按照标准操作规	操作记录

危险（源）类型	危险（源）编号	风险估计			采取控制措施	
		严重度	概率	风险水平	（初始）措施计划	记录
					程进行，并根据相应退货管理规程进行退货。	