团 体 标 准

《外周血中循环肿瘤细胞检测通用要求》

（征求意见稿）

编制说明

标准起草工作组

2024年5月

一、工作简况

（一）任务来源

根据2024年全国标准化工作要点，加强质量支撑和标准引领，深入推进国家标准化发展纲要各项重点任务实施，以标准有力引领现代化产业体系建设，推动标准化更好服务经济社会高质量发展。依据《中华人民共和国标准化法》和《团体标准管理规定》（国标委联[2019]1号）的相关要求，中国商业经济学会批准立项并联合相关单位共同制定《外周血中循环肿瘤细胞检测通用要求》团体标准。

（二）制定背景

CTCs是指恶性肿瘤在发展过程中播散并存活于外周血中的肿瘤细胞，与肿瘤的转移和预后密切相关。通过检测外周血中的CTCs，可以实时监测肿瘤动态、评估治疗效果，实现实时个体治疗。随着医疗技术的不断发展，循环肿瘤细胞（CTCs）检测在肿瘤诊断、治疗监测及预后评估中的重要性日益凸显。然而，由于外周血中CTCs含量极为稀少，对检测技术的灵敏度和特异性提出了极高的要求。

制定标准《外周血中循环肿瘤细胞检测通用要求》的目的和意义主要体现在如下几个方面：

一、统一技术要求：该标准旨在明确外周血中循环肿瘤细胞（CTCs）检测的技术要求，包括样本采集、处理、检测流程、数据解读等方面，以确保检测结果的准确性和可靠性。

二、提高检测质量：通过制定通用要求，促进各检测机构采用一致的技术方法和操作流程，从而提高CTCs检测的灵敏度和特异性，减少假阳性和假阴性的发生。

三、规范市场秩序：标准的制定有助于规范市场行为，防止劣质产品和服务进入市场，保护消费者的合法权益。

四、提升患者诊疗效果：准确可靠的CTCs检测结果有助于医生更准确地评估患者的病情、制定治疗方案和监测治疗效果，从而提升患者的诊疗效果和生活质量。

五、促进个性化医疗发展：CTCs检测是实现个性化医疗的重要手段之一。

通过制定通用要求，可以推动CTCs检测技术在个性化医疗领域的应用和发展，为患者提供更加精准、有效的治疗。

六、推动行业进步：标准的制定和实施将鼓励企业投入更多资源进行技术创新和研发，推动CTCs检测技术的不断进步。

（三）起草过程

3.1 标准研制阶段

2023年12～2024年3月，起草组通过企业调研，了解企业实际生产情况，并组织收集、整理相关标准化资料、专业文献等，经成分分析、研讨、论证后编写完成《外周血中循环肿瘤细胞检测通用要求》立项申请书及标准框架相关内容，并向中国商业经济学会提出标准立项申请。

3.2 标准立项阶段

2024年4月2日，中国商业经济学会正式发布了《外周血中循环肿瘤细胞检测通用要求》团体标准立项通知，并在全国团体标准信息平台进行公示。

3.3 标准起草阶段

2024年4～2024年5月，依据《中华人民共和国标准化法》、《国务院关于深化标准化工作改革方案》等文件的要求，按照团体标准的制修订程序组织有关技术人员成立标准起草工作组，通过相关信息化手段进行多次内容讨论和交流，并向相关单位和专家咨询，在广泛听取各方意见和充分论证的基础上，对标准初稿进行了完善和修改后经起草组确认，同意作为征求意见稿，公开征求意见。

二、编制原则

在标准制定过程中，标准起草工作组按照GB/T 1.1—2020 给出的规则编写，主要遵循以下原则：

（1）协调性：保证标准与国内现行国家标准、行业标准协调一致。

（2）规范性：严格按照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》给出的规则起草，保证标准的编写质量。

（3）适用性：结合生产企业管理实践和产品的主要环境影响，提出对企业产品的具体质量要求和生产经营规范。

三、主要技术内容及其确定依据

本文件规定了外周血中循环肿瘤细胞检测的方法原理、试剂材料和仪器设备、样本采集与处理、测定结果、质量控制与安全管理。

本文件适用于外周血中循环肿瘤细胞的检测。

本文件给出了循环肿瘤细胞的术语和定义。将循环肿瘤细胞定义为：从原发灶或转移灶脱落进入外周血中的肿瘤细胞，在肿瘤的转移和复发过程，发挥着重要作用，是液体活检技术中的重要检测对象。

方法原理

基于免疫学和形态学相结合的方法，采用微孔滤膜芯片，将CTC分离或分离富集后染色成像，根据癌细胞形态学的传统认知，如细胞体积大、畸形、染色质异常、核仁体积大和核仁数目多等特点，在数字荧光显微镜下进行肿瘤细胞特征性病理形态学检测。

试剂材料和仪器设备

试剂材料

检测所需的试剂材料包括但不限于：

——CTC 富集滤膜芯片：

1) 微孔滤膜，直径 25 mm 聚碳酸酯膜，随机分布 9000 个直径 8 μm 微孔；
2) 定量滤纸，剪成长宽各 2.5 cm 方块状；
3) 滤膜芯片盒：制作长宽各 5 cm，深 1.5 cm 方形塑料材质盒子，分盒底和盒盖；盒盖和盒底接触部分四周有卡槽，使盒底和盒盖能结合紧密；盒盖中央制作直径 1.5 cm 孔，孔周边结构平整，孔内侧周边向内微凸起，以便粘贴滤膜；在滤膜芯片盒内填充定量滤纸达到盒上沿，在盒盖孔内侧凸起处放置密封圈，再在密封圈上放置微孔滤膜，然后把盒盖扣在盒底座上，完成滤膜芯片盒的制作；

——红细胞裂解液，pH 为 7.2～7.4；

——1%甲醛溶液；

——磷酸缓冲液（PBS）：浓度为 1×PBS（0.01mol/L），pH 为 7.2～7.4；

——细胞固定液：甲醇、丙酮、多聚甲醛；

——细胞封闭液：PBS（含 0.5%～10%BSA 或小牛血清），pH 为 7.2～7.4；

——细胞膜与细胞核膜通透液：曲拉通 X-100；

——细胞洗涤液：PBS（含吐温-20），pH 为 7.2～7.4；

——染色液 1：标记绿色荧光的 CK8、18、19 和 Vimentin 单克隆抗体以及标记红色荧光的核仁蛋白单克隆抗体的 PBS 稀释液，稀释倍数根据各实验室探索的条件；

——染色液 2：DAIP 染液，稀释倍数根据各实验室探索的条件；

——载玻片：规格为 25mm×75mm,厚度为 1mm～1.2mm；

——盖玻片：规格为 22mm×22mm,厚度为 0.13mm～0.16mm；

——封片胶。

仪器设备

检测所需的仪器设备包括但不限于：

——水浴锅：RT+5℃～99℃；

——数字荧光显微镜。

样本采集与处理

样本采集

a)血样采集前应向患者解释清楚检测的目的和方法，消除其顾虑。

b)血样采集前一天，患者应保持清淡饮食，避免饮酒，以免影响检测结果。

c)血样采集时应避免患者情绪紧张，以减少应激反应对样本的影响。

d)血样采集环境应保持清洁，采血器具应无菌，以避免样本污染。

e)采样对象应为已确诊的肿瘤患者，或疑似存在肿瘤转移的患者。

f）采用静脉采血的方式，使用无菌技术采集患者外周静脉血，常规采集静脉 EDTA 抗凝血 5～10mL。为避免针头穿刺带入上皮细胞污染，一般采集两管血液，一管用于 CTC 检测，另一管用于其他实验。

血液样本应在 4℃～8℃环境下保存，72h 内进行 CTC 检测。

样本处理

样本处理按如下步骤进行：

a)在 CTC 富集滤膜芯片上加入 1.5mL 血液，等待血液过滤完毕；

b)加入 1mL 红细胞裂解液，等待过滤完毕；

c）加入 1mL 1%甲醛溶液，等待过滤完毕；

d）加入 1mL PBS，过滤完毕后，拆开盒子，取出微孔滤膜放入六孔板中，在孔中加入 1mL 细胞固定液，室温固定 10min。吸出废液；

e)加入 1mL 封闭通透液，37℃ 10min，吸出废液；

f)加入 500μL 染色液 1，37℃ 40min，吸出废液，

g)加入 500μL 染色液 2，37℃ 10min，吸出废液，

h)加入 2mL 细胞洗涤液冲洗 3 次，每次 3min。

i)染色完毕后把滤膜转移到载玻片上，滴加封片胶，将盖玻片放置其上。

j)将封片后的玻片移到数字荧光显微镜，按常规方法寻找非血源脱落细胞。

测定结果

a)在血样中检出单个 CTC、白细胞群围绕的 CTC 或 CTC 团簇即为阳性。

b)在血样中进行检测，未检测到单个 CTC、白细胞群围绕的 CTC 或 CTC 团簇即为阴性，提示检测样本无 CTC。

c)结果应按照合适的病人管理程序与来自诊断测试（即影像学、实验室检查）、体检和完整病史等信息结合使用。

质量控制

质量控制方法

a)实验室应建立一套完整的质量控制体系，确保检测结果的准确性和可靠性。

b)实验室应定期进行内部质量控制检测，包括使用已知浓度的质控样本或标准品进行测试。

c)应定期对检测人员进行培训和技能评估，确保其熟练掌握检测技术。

d)实验室可参与外部质量控制计划，如实验室间比对测试。

仪器与试剂

a)使用的仪器应定期进行校准和维护，确保其性能稳定可靠。

b)应定期对仪器进行性能测试，如精确度、灵敏度、特异性等。

c)使用的试剂应符合相关标准和规定，确保其质量和稳定性。

d)应定期对试剂进行质量检查，包括有效期、保存条件等。

样本处理与保存

a)样本处理过程应遵循标准化操作程序，确保处理的一致性和准确性。

b)样本应在适当的条件下保存，以确保其稳定性和可靠性。

c)应定期对保存的样本进行质量检查，评估其保存状态和可用性。

数据处理

a)检测数据应进行严格的统计分析和处理，确保结果的准确性和可靠性。

b)对异常数据进行复核和验证，避免误判和错误结果。

质量控制记录与报告

a)实验室应建立完善的质量控制记录和报告制度，详细记录检测过程中的各项数据和信息。

b)应定期对质量控制记录和报告进行审核和分析，以便及时发现问题并采取改进措施。

安全管理

a)实验室安全管理及工作人员行为符合 GB 19489 的规定。

b)实验室应设置明显的安全警示标识，标明危险区域和注意事项。

c)实验室工作人员应穿戴适当的防护装备，如实验服、一次性手套、口罩和实验帽等，以防止样本污染和自身感染。

d)在处理样本和试剂时，应遵循标准的操作程序，避免直接接触有害物质。

e)实验室应定期进行安全检查，及时发现并排除安全隐患。

f)应对实验室进行功能分区，各区的工作服实验用具和实验记录本应区分标记，不应混用。注意因交谈或其他活动造成的飞沫、落尘带入的污染，必要的情况下在超净工作台中进行操作。

g)操作区应有专门的固体和液体废弃物收集容器，废弃物应进行无害化处理。实验室应具备相应的生物安全设备和措施，如生物安全柜、高压灭菌器等。

h)实验室应制定应急预案，明确应急处理流程和责任人。定期对实验室工作人员进行应急处理培训，确保其能够熟练掌握应急设备和措施的使用方法。

三、标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明

本文件不涉及专利及知识产权问题。

四、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国内同类标准水平的对比情况

本文件为首次自主制定，不涉及国际国外标准采标情况。本文件参考依据：

GB 19489　实验室　生物安全通用要求

五、与有关现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本文件与相关法律、法规、规章及相关标准协调一致，没有冲突。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本文件在制定过程中未出现重大分歧意见。

七、贯彻标准的要求和措施建议

本文件发布后，应向相关企业进行宣传、贯彻，推荐执行该文件。

八、其他应当说明的事项

无。