

分子病理诊断实验室建设指南(试行)

中华医学会病理学分会 中国医师协会病理科医师分会 中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会
国家卫生和计划生育委员会病理质量控制与评价中心 全国分子病理指导委员会

随着疾病个体化治疗的发展,分子病理诊断已越来越多地应用于临床。分子病理诊断主要是指基于疾病组织和细胞等标本的分子遗传学检测,用于协助病理诊断和分型、指导靶向治疗、预测治疗反应及判断预后等。分子病理诊断实验室的规范化建设包括实验室的设置和管理、人员、项目和试剂的准入、质量保证和质量控制体系的建立等多个方面,是准确实施分子病理诊断的关键环节,目前国内这一领域尚处于起步阶段,缺乏相应的准入要求。为保证我国临床分子病理诊断的质量,中华医学会病理学分会、中国医师协会病理科医师分会、中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会、国家卫生和计划生育委员会病理质量控制与评价中心、全国分子病理指导委员会联合制订分子病理诊断实验室建设指南。

一、总则

1. 本指南根据《医疗机构管理条例》《医疗机构临床实验室管理办法》《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》《医疗技术临床应用管理办法》和卫生部《病理科建设与管理指南(试行)》等^[1-6]文件制定。

2. 医疗机构应当统一管理分子病理检测项目,在规范的分子病理诊断实验室进行检测。

3. 以科研为目的的检测项目不得向临床出具检测报告,不得向患者收取任何费用,不得作为临床诊治的依据。

二、医院准入

三级甲等医院病理科应设置分子病理诊断实验室,符合条件的其他医院也可设置。

三、人员准入

1. 分子病理诊断实验室工作人员均应经过有资质的培训机构培训合格,并取得上岗证后方可上岗。

2. 实验室不得使用非本单位技术人员从事相关检测工作。

3. 实验室负责人应具有临床医学和病理专业背景、具有分子生物学相关工作经历、具有副主任医师以上专业技术职称、从事本专业的本单位在职医师,主要职责是监督实验室运行、实施质量控制、开展新项目等。

4. 授权签字人应是取得临床病理学和/或遗传学《执业医师资格证书》、具有中级或以上专业技术职称、从事本专业的本单位在职医师或技术人员。

5. 分子病理技术员应具备病理学、分子生物学的基本知识,大专以上学历,并进行过相关专业技术的技能培训或进修学习,获得相应的上岗资格证书。

6. 对实验室工作人员应制定工作能力评审的内容和方法,每年评审,对新进工作人员在最初 6 个月内应至少进行 2 次能力评审,保存评审记录。当职责变更时,或离岗 6 个月以上再上岗时,或政策、程序、技术有变更时,应对相关工作人员进行再培训和再评审。合格后才可继续上岗,并记录。

四、实验室的设置要求

分子病理诊断实验室应根据开展的项目进行相应实验室或实验区的设置,实验室设置能满足检测要求。最常用的设置如下:

1. 标本前处理区的设置:所有分子病理诊断实验室均应设置独立的标本前处理区,用于组织切片、脱蜡、水化、染色等。(1)标本前处理区场地基本要求:有保证开展工作的空间,且不影响工作质量、质量控制程序和人员安全。应包括切片区和脱蜡区,其中脱蜡、水化及染色须在通风设施中进行。(2)标本前处理区的设备:应包括切片机、裱片机、切片刀及防样本交叉污染的消毒用具、紫外灯、电热恒温箱、脱蜡缸、水化缸及 HE 染色缸。

2. 临床基因扩增实验室设置:对于涉及基因扩

DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2015.06.001

执笔人:周晓燕(复旦大学附属肿瘤医院病理科, E-mail: xyzhou100@yahoo.com);梁智勇(北京协和医院病理科, E-mail: liangzhiyong1220@yahoo.com)

通信作者:卞修武, E-mail: bianxiuwu@263.net;丁彦青 E-mail: dyqgz@126.com;步宏, E-mail: hongbu@scu.edu.cn;刘彤华, E-mail: liuth_pumch192911@yahoo.com

增的项目均应设置临床基因扩增实验室。临床基因扩增实验室规范化设置详见《临床基因扩增实验室管理暂行办法》和 ISO015189/CNAS95.2 设施和环境条件,简述如下:(1)场地基本要求:①应有保证开展工作的空间,且不影响工作质量、质量控制程序和人员安全。②设计与环境应适合所从事的工作。实验室设施宜保障能正确进行操作,设施包括能源、光照、通风、供水、废弃物处置及环境条件等。(2)区域划分要求:原则上,临床基因扩增实验室应当设置标本前处理区、试剂储存和准备区、标本制备区、扩增区、扩增产物分析区。各区有独立的通风系统,并有缓冲间。根据使用仪器的功能,区域可适当合并。例如使用实时荧光 PCR 仪,扩增区、扩增产物分析区可合并;采用样本处理、核酸提取及扩增检测为一体的自动化分析仪,则标本制备区、扩增区、扩增产物分析区可合并。(3)空气流向要求:各实验区与缓冲间应有一定的通风压力差,保证合理的空气流向,防止污染。实验室空气流向可按照试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区进行,防止扩增产物顺空气气流进入扩增前的区域。(4)设备要求:临床基因扩增实验室应配置检测工作所需的全部设备,按实验室工作区域划分,仪器设备基本配置标准如下:①试剂储存和准备区:应包括 2~8℃和-20℃以下冰箱、混匀器、微量加样器(覆盖 0.2~1 000 μL)、固定紫外灯和可移动紫外灯(近工作台面)、消耗品、专用工作服、工作鞋(套)和专用办公用品。②标本制备区:应包括 2~8℃冰箱、-20℃或-80℃冰箱、低温高速离心机、混匀器、水浴箱或加热模块、微量加样器、可移动紫外灯(近工作台面)、二级生物安全柜、紫外分光光度计、消耗品、专用工作服和工作鞋(套)和专用办公用品。③扩增区:应包括各种核酸扩增仪、微量加样器、可移动紫外灯(近工作台面);消耗品、专用工作服和工作鞋和专用办公用品。④产物分析区:应包括与检测项目相一致的设备、微量加样器、电泳仪器设备、凝胶成像系统、可移动紫外灯(近工作台面)、消耗品、专用工作服、工作鞋和专用办公用品。

3. 原位杂交实验室设置:(1)场地基本要求:应有保证开展工作的空间,且不影响工作质量、质量控制程序和人员安全,应包括实验区和图像采集与分析区。①实验区:用于标本预处理、消化、变性杂交、洗涤和封片等。使用荧光标记探针的检测应保证可以避光操作;②图像采集与分析区:用于阅片、图像采集、分析和出具报告等。使用荧光标记探针的检

测应保证可以避光操作。(2)设备要求:各区应配备以下相关仪器设备:①实验区:应包括电磁炉,水浴锅,离心机,pH 计;杂交仪,冰箱(-20~4℃);②图像采集与分析区:荧光显微镜,电脑及图像采集分析软件。

4. 免疫组织化学实验室设置:(1)场地基本要求:应有保证开展工作的空间,且不影响工作质量、质量控制程序和人员安全,应包括实验区和图像采集与分析区。①实验区:用于标本预处理、抗原修复、滴加一抗及二抗、DAB 显色、苏木素对比染色、洗涤、脱水和封片等;②图像采集与分析区:用于阅片、图像采集、分析和出具报告等。(2)设备要求:各区应配备以下相关仪器设备:①实验区:应包括切片刀、烤片机、不锈钢高压锅、医用微波炉、水浴锅、pH 计、湿盒;全自动免疫组织化学仪,冰箱(-20~4℃);②图像采集与分析区:光学显微镜,电脑及图像采集分析软件。

五、实验室生物安全

应符合国家实验室生物安全有关规定,具体可参照 CNAS-CL05:2009《实验室生物安全认可准则》^[7]。实施生物安全风险评估,针对各工作区制定针对性的防护措施及限制进入的标识和措施。各工作区域应有明确的标记,不同工作区域内的设备、物品不能混用。

六、检测项目准入

1. 开展项目:应为“全国医疗服务价格项目规范”中列入的项目,以及经当地权威机构技术准入评估后开展的项目。

2. 工作量要求:应有一定工作量,至少开展 1 项分子病理检测项目,每年检测量不少于 100 例。

七、质量保证和质量控制

任何分子病理诊断项目应建立完善的质量保证和质量控制体系。质量保证应贯穿实验前、中、后各个环节以保证实验过程的合理有效。质量控制包括室内质评和室间质评,以保证结果的准确可靠。相关内容较多,不同项目有不同的具体要求,特别强调以下几点:

1. 检测能力和检测体系评估:在正式开展新项目之前,必须对实验室的检测能力和检测体系(仪器、试剂、耗材)进行评估,应选择 1~2 家已开展且已获得资质的实验室进行比对验证,其一致性应在 95% 以上。建立标准操作程序,有完整的检测记录和技术档案。

2. 病理评估:任何病变组织或细胞在检测前,

均要求有病理医师进一步明确病变组织是否与病理诊断一致,并评价标本有无出血、坏死和不利于核酸检测的前处理(例如含 HCl 的脱钙液处理),避免由于标本处理方法的不当而出现假阴性结果,评估标本中病变细胞(如肿瘤细胞)的总量和比例是否达到检测要求。

3. 室内质评和室间质评:定期开展实验室内部质量控制,做好相应记录,及时解决出现的问题。参加外部质量控制活动,每年应进行 1~2 次,外部质控阳性和阴性结果的一致性应达到 90% 以上。

4. 设备强检:应对分析设备如加样系统、检测系统和温控系统进行校准。应定期对 PCR 仪、加样器、温度计和恒温设备进行校准并有校准记录和报告。部分设备根据检测目的和要求,可按制造商校准程序进行,如生物安全柜、切片机、显微镜等。

八、试剂和消耗品准入和管理

1. 试剂选择:首选具有 CFDA 认证的试剂。应建立一套完整的试剂进购与质检标准操作规程,并严格实施和记录。

2. 试剂和消耗品的使用和记录:应在有效期内使用,并有试剂和耗材检查、接收或拒收、贮存和使用的记录。商品化试剂使用记录还应包括使用效期和启用日期。自配试剂记录应包括试剂名称或成分、规格、储存要求、制备或复融的日期、有效期及配制人。

3. 试剂和消耗品应有库存控制系统:库存控制系统应当包括所有相关试剂、控制物质和校准品的批号记录,实验室接收日期及投入使用日期记录。

4. 试剂和消耗品的质量评价:实验室应对影响检测质量的关键试剂、消耗品及服务的供应商进行评价;保存评价记录并列出生准使用的名录。

九、报告格式及内容

1. 分子病理诊断报告应有完善的报告格式和内容。应包括患者基本信息、标本信息(部位、类型、固定时间和固定方法等)、使用方法、主要试剂来源、对照设置情况、病理评估情况、检测结果、结论及必要的解释。

2. 免疫组织化学报告应作为常规病理报告的一部分,不宜单独签发免疫组织化学报告,应根据

常规病理报告进行评估检测结果、结论及必要的解释。

十、分子病理诊断实验室管理

应具备完善的质量管理体系,包括文件控制、合同的评审、外部服务和供应、投诉的处理、不符合的识别和控制、纠正措施、预防措施、持续改进、质量和技术记录、内部审核和管理评审,相关规定详见 CNAS-02:2008《医学实验室质量和能力认可准则》^[8]。

《分子病理诊断实验室建设指南(试行)》编写组成员(姓名按汉语拼音字母顺序排列):卞修武(第三军医大学西南医院)、步宏(四川大学华西医院)、陈杰(中国医学科学院北京协和医院)、丁彦青(南方医科大学南方医院)、丁伟(浙江大学医学院附属第一医院)、杜祥(复旦大学附属肿瘤医院)、侯英勇(复旦大学附属中山医院)、赖仁胜(江苏省中医院)、刘彤华(中国医学科学院北京协和医院)、刘卫平(四川大学华西医院)、刘艳辉(广东省人民医院)、梁智勇(中国医学科学院北京协和医院)、毛峥嵘(浙江大学医学部)、戚基萍(哈尔滨医科大学附属第一医院)、邱雪杉(中国医科大学附属第一医院)、邵建永(中山大学附属肿瘤医院)、石怀银(解放军总医院)、孙文勇(浙江省肿瘤医院)、王恩华(中国医科大学附属第一医院)、王国平(华中科技大学同济医学院附属同济医院)、王连唐(中山大学附属第一医院)、阎晓初(第三军医大学西南医院)、杨举伦(成都军区昆明总医院)、应建明(中国医学科学院肿瘤医院)、张波(北京大学医学部)、张杰(上海交通大学附属胸科医院)、曾瑄(中国医学科学院北京协和医院)、周晓军(南京军区南京总医院)、周晓燕(复旦大学附属肿瘤医院)、朱虹光(复旦大学上海医学院)、朱明华(第二军医大学附属长征医院)

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例[S]. 1994-02-26.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法[S]. 2006-02-27.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法[S]. 2010-12-06.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 医疗技术临床应用管理办法[S]. 2009-03-02.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 病理科建设与管理指南(试行)[S]. 2009-03-06.
- [6] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则在基因扩增检验领域的应用说明[S]. 2012-09-13.
- [7] 中国合格评定国家认可委员会. 实验室生物安全认可准则[S]. 2009-06-30.
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 2008-06-16.

(收稿日期:2015-03-23)

(本文编辑:王世贤)