

DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2014.12.02

• 临床实验室信息化和数字化建设 •

临床实验室体液样本库建设*

朱建辉¹ 陈佳美¹ 林洁¹ 周建锋¹ 李怡² 叶辉铭^{1,2} (1. 厦门大学附属中山医院临床检验中心, 厦门市临床检验中心, 福建厦门 361004; 2. 厦门大学药学院转化医学中心, 福建厦门 361001)

摘要: 生物样本库是临床医学、基础医学和转化医学研究的基石和重要推动力。临床实验室(检验科)以血液等体液为日常检测对象,拥有丰富的体液标本资源,在体液样本库建设中具有显著优势。临床实验室应推进生物样本库标准操作规程文件撰写,标准化、规范化建设体液样本库,以促进医学检验学科的科研、教学的发展。

关键词: 体液样本库; 临床实验室; 转化医学

中图分类号: R446

文献标志码: A

临床医学、基础医学和转化医学研究均离不开标本,规范化、标准化的生物样本库对医学研究的重要性已得到广泛认可和关注。20 世纪末,多个欧美国家先后建立了国家级标准化生物样本库。随着我国对生物样本库资源的愈发重视,近年来在北京、上海等地也陆续建立起多个大型生物样本库。临床实验室(检验科)以血液等各种体液为检测对象,拥有丰富的临床体液标本资源。厦门市临床检验中心在体液样本库建设方面进行了一些尝试和探索。目前,体液样本库已初具雏形,对临床、教学和科研发挥着重要作用。现总结体液样本库建设过程中的一些心得和体会,供交流参考。

1 生物样本库及其重要性

医学研究领域的生物样本库包括经标准化收集、处理、储存和应用的健康和疾病个体的组织,全血、血浆、血清等体液及这些标本经处理获得的 DNA、RNA 和蛋白质等标本,与其相关的诊断、病理、治疗、随访、知情同意等信息资料,以及支持标本管理的质量控制和信息管理的应用系统。生物样本库在诸如疾病诊断、药物研发、疾病风险基因研究和流行病学研究等医学研究中发挥重要作用^[1-2]。20 世纪末欧美发达国家开始重视并推动标准化的生物样本库的建设,英国、日本等国家已分别建立了各自的国家生物样本库^[3-4]。时至今日,国际上生物样本库已向着标准化与规范化、专业化与职能化、产业化与信息化 3 个方向发展^[5]。受主观认识和某些客观因素影响,国内生物样本库的建设近年来才获得广泛关注。生物样本库特别是肿瘤样

本库的建设发展迅速,如北京大学临床肿瘤学院样本库^[6]、天津医科大学附属肿瘤医院肿瘤组织样本库^[7]。

我国已将转化医学提升到国家层面,如《中共中央关于制定国民经济和社会发展第十二个五年规划的建议》辅导读本中指出“以转化医学为核心,大力提升医学科技水平,强化医药卫生重点学科建设”。生物样本库作为临床、基础和转化医学研究基石和重要推动力^[8-9],尤显重要。

2 体液样本库规范化建设

国际上,特别是欧美国家的学术团体,如美国国家癌症研究所(NCI)、欧洲癌症研究所、英国医学理事等组织分别提出了建立标准化生物样本库以及特定标本收集的规范流程^[10-11]。其中,国际生物和环境样本库协会(International Society for Biological and Environmental Repositories, ISBER)致力于生物样本库建设的标准化,并定期发布样本库建设实践指南。2012 年 ISBER 发布第 3 版实践指南^[12]。该指南描述了生物样本库建设的各个环节,如场地规划、耗材选择、质量控制、运输使用、伦理法律等内容。国内专业化的样本库或大型医院的样本库特别是组织样本库的建设一般均以该指南为指导。

临床实验室的样本库一般以人体血液等体液为主,故也称为体液样本库。临床实验室体液样本库可能难以如大型的专业化的样本库一样严格按照 ISBER 指南的要求建设。但如上文所述,完整的生物样本库包括标本实物和与标本相关的信息资料。所以临床实验室要建立体液样本库至少应该考虑好

* 基金项目: 国家自然科学基金(81101331, 81472031)。

作者简介: 朱建辉, 1980 年生, 男, 主管技师, 硕士研究生, 主要从事临床检验工作; 陈佳美, 1982 年生, 女, 技师, 大学本科, 主要从事临床检验工作。朱建辉与陈佳美同为第一作者。

通信作者: 叶辉铭, 副主任技师, 博士, E-mail: yehuiming@xmu.edu.cn。

如何规范地收集和保存标本实物,保证标本的质量;同时又要考虑如何收集完整的标本相关信息。

在体液样本库建设过程中,我们人为地分实体样本库和样本信息库,见图 1。实体样本库标本的收集和储存,其基本设备包括低温/超低温冰箱、液氮罐、冷冻架、冷冻盒。低温冰箱和液氮罐应配备具有报警功能的“温度监控系统”,对相应的存储设备进行实时温度监控。冷冻架为了方便标本的定位和存取,其设计应与存储设备及冷冻盒相适应,以最大限度提高存储设备的利用率。规范化的体液样本库建议使用条形码进行标本标识。与一维码比较,

二维码具有信息容量大、信息密度高、更容易印制、纠错能力强和译码可靠性高等优点^[13]。如果使用的是非预制条码的冷冻管,则需要配备相应的条形码打印机、耐低温的条形码标签和条形码阅读器。规范化和有价值的体液样本库应该有完整的标本信息,除标本类型、体积、备份数等基本信息外,还应包括标本溯源信息、病例基本信息、治疗和随访信息、相关本底值等检查信息。其中病例的基本信息可通过样本库软件与医院信息系统(HIS)的关联来获取,而标本的相关本底值可通过样本库软件与实验室信息系统(LIS)的关联获得。

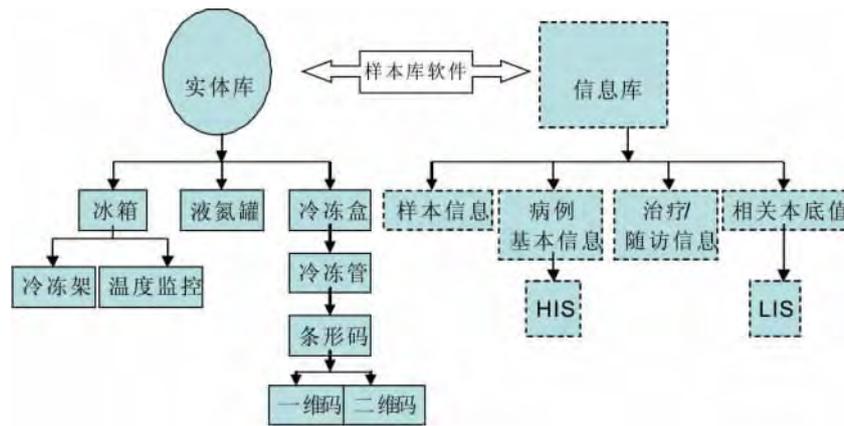


图 1 体液样本库建设模式

3 临床实验室体液样本库建设

3.1 临床实验室建设样本库的优势与不足 临床实验室在日常工作中需要对大量患者(或体检者)的血液等体液标本进行处理和分析。随着自动化设备的普及,分析所用标本量越来越少,检测后剩余标本的再利用值得广泛关注。充足的标本来源、临床检验技术人员熟练的标本处理技能和完善的质量保证体系都利于临床实验室建立体液样本库。日本检验工作者探索了一套将检测后标本储存建库并用于医学科研究的方案^[14]。但国内检验工作者对规范化的生物样本库建设的关注较少。

3.2 本中心临床体液样本库建设现状 厦门市临床检验中心体液样本库 -80℃ 储存容量超 2 000 L,拥有专业的生物样本库管理软件和温度监控系统,编写了标准操作规程(SOP)文件以规范标本收集和质量控制等过程。

3.2.1 体液样本库的“硬件”建设 存储设备是体液样本库最基本的硬件设施,包括冰箱、低温冰箱、超低温冰箱和液氮罐等,上述设备的选择需与样本库建设预期的容量相匹配,其内部空间也要与冷冻

支架、冷冻盒匹配。冷冻支架有框架型和抽屉型。抽屉型冷冻支架取用方便,但价格相对较高。冷冻盒有塑料和纸质等类型,冷冻管有外旋和内旋之分。条码化管理对样本库规范化建设十分重要,可根据成本和样本库建设需要,选择带预制条码的冷冻管或后制打印条码。根据样本库建设的实际情况,我们选择抽屉式冷冻支架、纸质冷冻盒并采用后制打印条码的模式。

样本库管理软件和温控软件是体液样本库规范化建设必需配备的两个重要程序。虽然有多种方式可进行标本信息的管理,如手工记录、办公软件 Excel 等,但专业的样本库软件更能保证标本信息数据库的完整和安全,也更有利于科研合作交流。目前有多种商品化的样本库管理软件,在软件的设计细节上有些差异,但软件的框架结构基本相似,一般都包括标本管理、患者管理、空间管理、随访管理、实验和课题管理、统计、系统设置等功能模块。软件的具体功能则可通过与软件公司的沟通,设计个性化模式,同时可通过软件与 LIS 以及医院的病历系统、影像系统、病理系统进行连接。温控管理软件实时监控冰箱等存储设备的温度,能在温度变化超出设

定的温控警戒值时第一时间向负责人发送通知短信,以便相关人员能第一时间处理。

3.2.2 体液样本库“软件”建设 首先,体液样本库应该至少安排一位兼职主管负责日常管理和协调工作;常规的标本收集和软件信息系统管理也应由相对固定的人员负责。经常性的人员培训对于样本库的规范化建设至关重要,培训内容至少包括采集规范、质量控制、相关伦理知识、签署保密声明、安全防护等内容,只有经过良好的充分的培训,才能保证规范化操作的执行。

其次,SOP文件应该参照国内外的相关规范文件,结合各自实验室的实际情况编写。我科体液样本库共有SOP文件17个,包括厦门市临床检验中心体液样本库建设概述、体液样本库建设的伦理与法律问题、体液样本库的安全管理、体液样本库一般工作流程、体液样本库的入库管理、体液标本的存储、体液样本库的使用管理、科研标本的出库和运输管理、体液样本库设备使用管理、体液样本库耗材选择和使用管理、样本库管理软件的使用、标本采集和处理的一般流程、血液标本的采集与处理、尿液标本的采集与处理、脑脊液标本的采集与处理、其他标本的采集与处理、标本的销毁。

3.2.3 体液样本库建设的其他注意事项 伦理保护是样本库建设和使用中不可忽视的一个重要问题,如标本捐献者知情同意、隐私保护问题等。国外学者通过标本收集时的扩大告知和伦理学委员会的审核等方法,来达到既能充分利用宝贵的标本资源又能有效保护捐献者权益的要求^[15-18]。实际工作中,笔者科室本着医学伦理学保护患者权利的基本原则,在医院医学伦理学委员会的监管下建设体液样本库。根据不同的标本来源和使用用途采取不同的伦理处理方式。对于使用剩余检测标本用于非基因项目研究,且研究结果不会透露任何标本来源者信息时,如体外诊断试剂临床试验研究,向伦理学委员会提供不需知情同意书的研究备案;牵涉到基因检测或者需要额外采集患者标本以留样入库的研究,则需向伦理学委员会提供完整的伦理学申请并获得患者的知情同意。安全管理是体液样本库建设和使用中不容忽视的另一个重要问题。样本库的安全包括人员安全、设施和设备安全、操作安全、标本数据安全、标本转运安全、生物安全和化学安全等多个方面^[19]。因此,生物样本库的安全管理措施不仅包括配备必备的防护措施以保证操作人员避免生物危害、防范超低温冰箱和液氮的冻伤风险、防范液氮

和干冰的低氧危险等人身安全,也包括保证充足的散热空间、定期设备维护以防范电气和火灾风险,更需要特别通过权限设置保证标本信息不被泄露、通过及时备份保证数据不丢失。存储设备故障时标本转移的应急方案也是保证标本安全的重要举措,是不可忽视的重要安全措施之一。

4 体液样本库建设实例

临床实验室最常见的血液标本,根据不同实验目的留取血清、血浆和血细胞3种不同成分。血浆一般选择EDTA或枸橼酸钠抗凝。血浆和血清的初步分离条件为抽血后2h内 $1\ 500\times g$ 离心10min,分装3~5管保存。血细胞如果是作为DNA实验用途,可直接将全血或弃血浆后的血细胞标本分装保存,如果是RNA实验用途的标本则以1:3的比例将全血加入RNA保护剂中充分混匀后保存。

4.1 优势病种标本收集 收集本地肝癌、食管癌等患者的血液标本,可通过住院信息系统、手术患者安排信息等筛选待入库患者,通过患者住院号跟踪查找其治疗前后的血液标本并分装保存。标本信息至少包括姓名、性别、民族、出生日期、职业、家族史、既往史和联系电话等,并通过样本库管理软件与医院LIS相关联,调取标本的相关检验指标本底结果;与医院影像系统关联,调取影像信息;与病理系统链接,调取病理结果。

4.2 科研课题组标本收集模式 以华法林药物基因组样本库为例,2010年在确立该研究课题方向后,课题组先行建设样本库,标准化收集华法林使用患者的血浆和全血,以及患者用药、疾病状态等信息资料,并进行定期的随访,收集患者用药的不良反、有效性、稳定剂量等资料信息。

4.3 稀有珍贵标本的收集 以脑脊液为例,脑脊液检验在中枢神经系统疾病(如脑炎、脑膜炎等)或肿瘤(含转移性肿瘤)的辅助诊断中发挥重要作用。作为一种难得的珍贵标本,收集脑脊液、建脑脊液样本库很有意义。本实验室对于脑脊液标本收集入库的简要操作流程如下:将完成所有检验项目后剩余的标本(包括脑脊液常规、细胞学和脑脊液生化标本)集中在1.8mL冷冻管中, $1\ 500\text{ r/min}$ 离心5min,吸取上清液至2.0mL冷冻管,分装300~500 μL 一管,剩余至少200 μL 沉渣于1.8mL冷冻管。每个标本冷冻管按照编号规则编号,并注明沉渣管或上清液管。同时详细记录标本对应信息,包括原始标本号、患者姓名、年龄、性别、住院号、诊断等。

临床实验室在体液样本库建设上具有相当的优势和便利,规范化的体液样本库对于临床检验诊断学科的临床诊疗、医学教学和转化医学研究等均有重要的促进作用。

致谢:感谢厦门大学附属中山医院临床检验中心张忠英教授和厦门大学药学院曾骥孟教授对体液样本库建设的指导,感谢厦门大学附属中山医院临床检验中心陈丽娴、陈雪琴老师参与体液样本库的日常维护。

5 参考文献

- [1]Morente MM, Fernandez PL, de Alava E. Biobanking: old activity or young discipline? [J]. *Semin Diagn Pathol* 2008, 25(4):317-322.
- [2]董哲君,肖飞,郭健. 生物样本库建立现状及进展[J]. *中华检验医学杂志* 2013, 36(2):130-134.
- [3]Barbour V. Uk biobank: a project in search of a protocol? [J]. *Lancet* 2003, 361(9370):1734-1738.
- [4]Triendl R. Japan launches controversial biobank project [J]. *Nat Med*, 2003, 9(8):982.
- [5]丛宪玲,孙然,王涵,等. 国内外组织标本库发展的现状及启示[J]. *中国实验诊断学* 2010, 14(1):148-150.
- [6]季加孚. 北京大学临床肿瘤学院标本库的建设[J]. *北京大学学报(医学版)* 2005, 37(3):329-330.
- [7]韩洪秀,杨敏,李向红. 肿瘤组织库的建立与规范化管理[J]. *中华病理学杂志* 2008, 37(12):849-850.
- [8]Hawkins AK. Biobanks: importance, implications and opportunities for genetic counselors [J]. *J Genet Couns*, 2010, 19(5):423-429.
- [9]Hewitt RE. Biobanking: the foundation of personalized medicine [J]. *Curr Opin Oncol*, 2011, 23(1):112-119.
- [10]Yuille M, van Ommen GJ, Brechot C, et al. Biobanking for Europe [J]. *Brief Bioinform*, 2008, 9(1):14-24.
- [11]Vaught JB, Caboux E, Hainaut P. International efforts to develop biospecimen best practices [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(1):912-915.
- [12]李启沅,钱方洋,吴娜娜,等. 生物样本库最佳实践 2012: 科研用生物资源的采集、贮存、检索及分发 [J]. *中国医药生物技术*, 2012, 7(suppl):1-61.
- [13]郭爱华,张翠,余永国,等. 二维码技术在生物样本库编码中的应用与评价 [J]. *中国医药生物技术* 2012, 7(4):306-307.
- [14]Goto M, Furuta K. Re-utilization of clinical laboratory patient-derived samples [J]. *Rinsho Byori*, 2006, 54(9):918-923.
- [15]Hansson MG. Ethics and biobanks [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(1):8-12.
- [16]Helgesson G, Dillner J, Carlson J, et al. Ethical framework for previously collected biobank samples [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(9):973-976.
- [17]Hens K, Nys H, Cassiman JJ, et al. Genetic research on stored tissue samples from minors: a systematic review of the ethical literature [J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A(10):2346-2358.
- [18]Secko DM, Preto N, Niemeyer S, et al. Informed consent in biobank research: a deliberative approach to the debate [J]. *Soc Sci Med*, 2009, 68(4):781-789.
- [19]余永国,周学迅,郭爱华,等. 生物样本库的安全管理措施 [J]. *转化医学杂志* 2013, 2(2):103-105.

(收稿日期:2014-08-09)

(本文编辑:王海燕 陈维忠)