

ICS 11.100
CCS G 05

CITS

团体标准

T/CITS 235—2025

循环肿瘤细胞检测技术规范

Technical specifications for detection of circulating tumor cell

2025-01-16 发布

2025-01-16 实施

中国检验检测学会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 人员要求	1
5 检测技术要求	1
5.1 标本采集	1
5.2 标本处理	2
5.3 检测方法	2
5.4 结果判定与报告	2
6 质量控制与保证	3
6.1 检测系统性能验证	3
6.2 分析前质量管理	3
6.3 分析中质量管理	3
6.4 分析后质量管理	4
附录 A（资料性） CTC 检测系统分析性能参数验证方法示例	5
参考文献	7

前 言

本文件按照 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》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由南方医科大学南方医院、中国医学科学院肿瘤医院、中国人民解放军空军军医大学和杭州华得森生物技术有限公司提出。

本文件由中国检验检测学会归口。

本文件起草单位：南方医科大学南方医院、中国医学科学院肿瘤医院、中国人民解放军空军军医大学、南京医科大学第一附属医院/江苏省人民医院、武汉大学中南医院、国家纳米科学中心、上海市第十人民医院、山东大学齐鲁医院、复旦大学附属中山医院、杭州华得森生物技术有限公司、北京中科纳泰科技有限公司、北大荒集团总医院、北京实安科技有限公司、北京中检体外诊断工程技术研究中心、北京医学检验学会、江苏格诺生物科技集团有限公司、江苏汇先医药技术有限公司、江苏莱尔生物医药科技有限公司、上海复迪生生命科学有限公司、阳普医疗科技股份有限公司、益善生物技术股份有限公司、宜昌美光硅谷生命科技股份有限公司、国军标（北京）标准化技术研究院、通标伟业（北京）标准化技术研究院。

本文件主要起草人：郑磊、蔡贞、陈静、崔巍、邢金良、潘世扬、汪付兵、胡志远、孙奋勇、杜鲁涛、郭玮、张开山、刘琼明、王艳峰、李娜、穆红、何伟、颜菁、李健平、丁波、田艳丽、蒲晓宇、邓亚光、戴其全、樊素慧。

循环肿瘤细胞检测技术规范

1 范围

本文件规定了循环肿瘤细胞检测的检测人员要求、技术要求和质量控制要求。
本文件适用于医疗机构、第三方检测机构和相关科研机构等单位开展循环肿瘤细胞检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T 42060 医学实验室 样品采集、运送、接收和处理的要求
CNAS—GL039—2019 分子诊断检验程序性能验证指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

循环肿瘤细胞 *circulating tumor cell; CTC*

从实体肿瘤病灶（原发灶或转移灶）脱落并进入外周血液循环的肿瘤细胞。

注：本文件不适用于非实体肿瘤。

3.2

分子分型 *molecular classification*

利用核酸、蛋白、代谢物等分子标志物对 CTC 进行亚型分析。

4 人员要求

4.1 实验室应配置检验医学、病理学或临床医学相关背景知识的技术人员，CTC 检测和报告岗位的技术人员应相对固定。

4.2 实验室应建立技术人员培训与考核制度，CTC 检测人员经过理论和操作实践的培训和考核后，方可进行 CTC 项目检测。

4.3 实验室应定期开展技术人员操作技能考核和检测能力比对，如根据典型和非典型 CTC 检测图谱开展人员能力比对等。

4.4 实验室应建立 CTC 检测人员的培训档案，记录培训时间、培训内容、考核结果等，并定期对培训档案、检测人员资质进行审查。

5 检测技术要求

5.1 标本采集

5.1.1 检测标本类型应为抗凝全血。

5.1.2 采血部位和采集时间点应根据诊疗方案、治疗周期、研究目的等实际情况选择，治疗或研究的全过程中标本采集条件应相对固定。

5.1.3 应优先选择检测方法配套或推荐的采血管类型。无明确指定时，可根据检测目的、检测时长和保存剂的特点选择经医疗器械注册的采血管。

5.1.4 采集要求应依据 GB/T 42060 的规定执行，包括但不限于：

- a) 标本采集人员应告知受检者在标本采集前一天清淡饮食，且不宜饮酒；
- b) 应采用质量合格的采血管，并确认在效期范围内；
- c) 不可在输液侧或大量补液后立即采血；
- d) 采血时应在负压作用下引导血液流入采血管，不应过度拉伸压脉带，采血时间不宜超过 1min。

5.2 标本处理

5.2.1 实验室应建立并执行标本接收、检测、存储和销毁制度。

5.2.2 血液标本采集后应立即送检。不能立即送检时，应按照检测方法要求的条件保存，并在限定时间内转移至实验室进行处理。

5.2.3 应设定标本检测完成后的保存期限和保存条件。标本保存期满后，应按照感染性医疗废弃物进行销毁。

5.3 检测方法

5.3.1 总体要求

5.3.1.1 CTC 检测可分为 CTC 分离与富集、鉴定、下游分析等步骤，检测参数包括 CTC 数量、形态或功能表型、分子特征等。

5.3.1.2 应结合具体的肿瘤类型和检测目的选择适宜的检测方法，并充分评估所选方法的分析性能，包括但不限于回收率、检测范围和检测限、精密度及抗干扰能力等。

5.3.1.3 CTC 检测方法选择应考虑以下要求：

- a) 能够高特异性识别 CTC，准确区分肿瘤细胞与非肿瘤细胞；
- b) 具有高灵敏度，可检测出 ≤ 10 个 CTC/5 mL 全血；
- c) 具有较好的纯度，能最大程度地减少非肿瘤源性细胞污染；
- d) 具备良好的可重复性；
- e) 能够检测出不同表型 CTC，包括上皮型、间质型及上皮-间质混合型等；
- f) 具备多参数分析能力：能够检测 CTC 的多种生物学特性，如表面分子、基因突变、表达谱等；
- g) 如需进行单细胞测序、细胞培养等，分离的 CTC 应保持生物学活性。

5.3.2 分离和富集

5.3.2.1 应根据技术原理和特点、应用目的和后续鉴定与分析的要求，选择适宜的分离和富集方法。

5.3.2.2 应根据所选分离和富集方法的要求，确定是否需要预先进行红细胞裂解和去除白细胞等处理。

5.3.2.3 如需标本标记，应选择特异性结合肿瘤细胞表面标志物的抗体/探针。孵育时，抗体/探针应与肿瘤细胞充分接触，并在适当的温度下进行反应。

5.3.2.4 分离和富集系统应具有高捕获率、高灵敏度和高特异性。有批量检测需求时，还应兼顾设备富集速率和检测通量大小的要求。

5.3.3 鉴定和下游分析

5.3.3.1 富集后可利用肿瘤细胞特异性蛋白质、RNA、DNA 表达以及肿瘤细胞功能特性等，对 CTC 进行鉴定与分析，包括但不限于细胞表型和功能分析、基因表达和突变分析、药物靶点分析等。

5.3.3.2 应综合考虑上游分离富集技术的特点和下游应用目的，选择合适的鉴定及分析技术，如免疫组化/免疫荧光技术、原位杂交技术、荧光定量 PCR 技术等。

5.3.3.3 应根据不同肿瘤类型选择特异性标志物，并结合细胞形态学特征和功能特点进行 CTC 鉴定及分子分型。

5.3.3.4 涉及 CTC 体外培养、单细胞测序等下游分析时，不应选择可能破坏细胞生物活性和结构完整性的鉴定方法。

5.4 结果判定与报告

- 5.4.1 结果判定应综合考虑各个环节可能的影响因素，并结合受检者临床表现、病理诊断和影像学等相关检查结果，对 CTC 检测结果进行确认、审核和必要的解释。
- 5.4.2 检测报告应包括但不限于以下内容：
- 受检者信息；
 - 临床诊断；
 - 标本信息（标本采集部位、采集时间、采集量、送达时间、检测时间等）；
 - 方法学描述（检测方法及其适用肿瘤类型）；
 - 检测结果（细胞计数、分子分型、细胞图像、历史检测结果及可能的下游分析等）；
 - 局限性说明。
- 5.4.3 当需要对报告做出解释和建议时，应在检验报告中清晰标注解解释和建议的依据。

6 质量控制与保证

6.1 检测系统性能验证

- 6.1.1 应选用经医疗器械注册或备案的试剂与耗材，并兼顾其与检测设备的兼容性。
- 6.1.2 检测系统使用前应依据 CNAS—GL039—2019 完成性能验证，验证参数包括但不限于回收率、检测范围和检测限、精密度、抗干扰能力等，并制定标准实验操作规程（standard operation procedure, SOP）。CTC 检测系统分析性能参数验证方法示例见附录 A。
- 6.1.3 实验室自建 CTC 检测系统应根据自建方法相关文件要求进行检测参数的性能确认。
- 6.1.4 应注意所选 CTC 检测系统的适用范围。性能验证/确认应根据检测方法声明适用的肿瘤类型选择对应的肿瘤细胞系，泛癌种方法应选择 3 种以上肿瘤类型对应的细胞系进行验证。
- 6.1.5 跨癌种应用时应考虑不同起源、不同病理类型肿瘤细胞的理化性质差异，并进行充分的性能验证和临床观察研究。

6.2 分析前质量管理

- 6.2.1 应根据检测项目的具体要求，对 CTC 标本采集的质控变量进行规定，包括采血时间、是否禁食、采血时受检者体位、采血管类型及抗凝物质要求、采血部位、采血量等，按照临床采血技术要求操作，并遵守生物安全相关要求。
- 6.2.2 分析前 SOP 应涵盖标本采集、预处理、保存和运输等过程，并对质控变量进行充分的说明和解释。
- 6.2.3 应建立规范化的标本接收程序。针对受检者信息、标本采集时间、标本接收时间、标本状态等应有可追溯的记录。
- 6.2.4 标本接收前应检查是否存在凝血、溶血、脂血等异常情况，对不合格标本应及时与临床沟通。
- 6.2.5 应使用与检测方法匹配的试剂及耗材对 CTC 标本进行预处理，并对标本保存、运输和预处理过程中可能影响检测结果的变量进行有效追踪和管理。

6.3 分析中质量管理

- 6.3.1 实验室应根据 CTC 检测参数和检测平台建立相应的质量控制和管理程序，对 CTC 分离与富集、鉴定及分析的全过程进行质量控制。若质控结果与预期不相符，应立即启动失控处理程序，分析失控原因并保留相关记录。
- 6.3.2 试剂/耗材质检应包括外包装检查和可能影响检测结果的关键性能参数检查，使用过程中应定期监测和记录试剂/耗材的保存温度和有效期。仪器设备应规范记录使用情况，并定期进行维护、保养和校准。
- 6.3.3 室内质控环节应根据不同检测平台特点合理设计各关键步骤的质控要点，如：
- 微流控芯片法应监控泵的流速控制和每批芯片的均一性；
 - 膜过滤法应充分考虑负压泵的稳定性、滤过膜孔径的大小和均一性；
 - 磁珠法应设立阴、阳性细胞质控品；
 - 不同标记抗体或探针及杂交试剂的质量控制等。
- 6.3.4 实验室自制质控品应尽可能与临床标本在肿瘤细胞类型、大小及分子特性等方面具有一致性或

相似性，并确认性能稳定、数量充足。质控品应由固定的专业技术人员在固定的实验区域进行制备和分装，并提供批次质控报告。

6.3.5 采用相同检测系统的实验室应定期开展室间比对活动，比对频次应至少每年1次，比对标本的数量至少5份，包括阴性、低值和高值标本。

6.3.6 无法开展室间比对时，可采用其他替代方法判断检测结果的可接受性，如标本的盲法重检，与其他方法比较或临床相关性分析。

6.4 分析后质量管理

6.4.1 CTC检测结果确认应再次核查标本质量是否符合要求，检测过程中仪器设备是否运转正常，质控是否在可接受范围内，是否有干扰检测结果的因素，CTC结果与受检者的临床病情或关联检验参数之间是否存在不可解释的现象等。必要时，应对异常结果或疑难结果复查。

6.4.2 实验室应建立完善的结果审核和报告制度，制定发布检验结果的程序，准确、清晰、客观地出具检验结果。

6.4.3 检测报告应由具有相应资质的人员审核签发，并遵循保密原则，保护受检者隐私。

附录 A

(资料性)

CTC 检测系统分析性能参数验证方法示例

A.1 回收率

利用细胞掺入实验测定 CTC 检测系统的回收率。根据拟开展 CTC 检测的肿瘤类型，选择适宜的肿瘤细胞系，计数一定数量的细胞（根据具体肿瘤类型和检测系统的检测范围确定；制备至少两个水平的标本）加入健康人静脉血作为模拟血样，重复检测 3 次~5 次，计算检测的细胞数占掺入细胞数的百分比即为回收率。

注：回收率为 80%~120%可认定为合格。实验室可根据所选 CTC 检测系统的特点和实际应用需求确定可接受的回收率合格标准。

CTC 检测系统性能验证常用细胞系参考见表 A.1。

表 A.1 CTC 检测系统性能验证常用细胞系参考

常用细胞系	MCF-7、HeLa、A549、HepG2、SK-BR-3
基于细胞大小差异	-
大细胞	NCI-H1975、MDA-MB-231、HCC-LM-3、HuH-7、Calu-3
小细胞	HT-29、SMMC-7721、NCI-H747、NCI-H196、NCI-N87、NCI-H1688
基于肿瘤细胞标志物	-
上皮型	HT-29、MCF-7、CACO-2、CAPAN-2
间质型	GIST-T1、U-87 MG
混合型	HeLa、A549、PC-3
<p>注：MCF-7、SK-BR-3、MDA-MB-231：人乳腺癌细胞系； HeLa：人宫颈癌细胞系； A549：人非小细胞肺癌系； NCI-H1688：人小细胞肺癌细胞系； NCI-H1975、Calu-3：人肺腺癌细胞系； HepG2、HCC-LM-3、HuH-7、SMMC-7721：人肝癌细胞系； HT-29、NCI-H747、CACO-2：人结肠直肠癌细胞系； NCI-N87：人胃癌细胞系； CAPAN-2：人胰腺癌细胞系； GIST-T1：人胃肠道间质瘤细胞系； U-87 MG：人中枢神经肿瘤细胞系； PC-3：人前列腺癌细胞系。</p>	

A.2 检测范围和检测限

根据拟开展 CTC 检测的肿瘤类型选择对应的肿瘤细胞系制成系列数值梯度（结合说明书提供的检测范围设定）的细胞悬液分别加入健康人静脉血作为模拟血样，通过检测的肿瘤细胞数量评估检测系统的检测范围和检测限是否符合说明书声称的参数标准以及实际应用需求。

A.3 精密度

将对应工具细胞根据方法的检测范围制备已知数量（高、中、低值）的多份细胞悬液冻存。每次检测取一份细胞悬液加入健康人静脉血中，制成高、中、低值的模拟血样，重复检测各水平模拟血样10次~20次，评估检测系统批内和批间精密度是否符合说明书声称的参数标准以及实际应用需求。

A.4 抗干扰能力

将对应工具细胞掺入健康人静脉血制备成模拟低值标本，加入与厂家说明书声明相同浓度干扰物质（如甘油三酯、胆红素、药物等），重复测定3次以上，评估检测系统抗干扰能力是否符合说明书声称的参数标准以及实际应用需求。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会检验医学分会分子诊断学组. 循环肿瘤细胞临床应用与实验室检测专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44 (11): 1008-1020
- [2] 中国抗癌协会. 中国肿瘤整合整治指南: 液体活检[M]. 天津科学技术出版社, 2023. 3
- [3] 中国研究型医院学会微创外科学专业委员会. 循环肿瘤细胞检测在结直肠癌中的应用专家共识[J]. 腹腔镜外科杂志, 2019, 24 (1): 74-80
- [4] Alexander Ring, Bich Doan Nguyen-Sträuli, Andreas Wicki, Nicola Aceto. Biology, vulnerabilities and clinical applications of circulating tumour cells[J]. Nat Rev Cancer, 2023, 23 (2): 95-111. doi: 10.1038/s41568-022-00536-4

