

团 体 标 准

T / LXLY XX-20XX

用于阿尔茨海默病生物标志物检测的脑 脊液样本处理规范

Processing standard of cerebrospinal fluid samples for measurement of
biomarkers of Alzheimer's disease.

(征求意见稿)

20XX-XX- XX 发布

20XX-XX-XX 实施

中国老年学和老年医学学会 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 基本要求.....	1
5 总体原则.....	2
6 操作方法和要求.....	3
7 评价与改进.....	5
参 考 文 献	6

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。

本文件由中国医学科学院北京协和医院提出。

本文件由中国老年学和老年医学学会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院北京协和医院神经科、中国医学科学院北京协和医院检验科、中国医学科学院北京协和医学院基础医学研究所、上海精神卫生中心。

本文件主要起草人：高晶、毛晨晖、董立羚、雷聃、王添艺、游云凡、仇宇悦、姜宇涵、李元亨、邱玲、马晓丽、王怡菲、许琪、沙龙泽、岳玲、肖世富。

用于阿尔茨海默病生物标志物检测的脑脊液样本处理规范

1 范围

本文件规定了用于阿尔茨海默病（Alzheimer's disease, AD）脑脊液（cerebrospinal fluid, CSF）生物标志物检测的脑脊液样本在采集后处理、储存与转运过程中的总体原则、采集后即时处置、转移/分装过程、血性样本的离心处理、储存条件与时限、转运要求、接收要求、解冻与混匀要求、实验室内样本管理要求、偏差样本处理。

本文件适用于各级医疗机构（含门急诊、病房及记忆门诊）和医学检验实验室开展AD的CSF生物标志物检测所涉及的样本处理与管理活动。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

阿尔茨海默病脑脊液生物标志物 CSF biomarkers of Alzheimer's disease

应用于阿尔茨海默病相关病理评估的脑脊液分子指标，包括 A β 40、A β 42、T-tau、P-tau。

4 基本要求

4.1 医疗机构

开展阿尔茨海默病脑脊液生物标志物检测的医疗机构须满足以下基本要求：

- a) 医疗机构应具备诊断认知障碍疾病和医学常规操作的基本从业条件。
- b) 拥有可进行腰椎穿刺的独立房间，并具有应对腰椎穿刺并发症的一般医疗支持条件。
- c) 拥有专门针对脑脊液样品收集、处理、分析机构，如检验专科。

4.2 人员资质

开展脑脊液生物标志物诊断的人员须满足以下基本要求：

- a) 临床医师具有有效的中国卫生健康委员会签发的《医师资格证书》及《医师执业证书》的执业医师。
- b) 临床操作人员需接受过规范化腰椎穿刺技术培训，检验人员需接受过标准化脑脊液样本检验技

术培训。

c) 所有工作人员需接受过本文件要求培训及感染性材料管理、医疗废弃物管理、锐器管理培训。

4.3 分工

4.3.1 临床采集人员：负责受检者个人身份及检测编号核对、标本采集、容器选择与标识、采集后即时处置与交接。

4.3.2 样本转运人员：负责检测编号核对、冷链准备、温度监测、运输过程防倒置与防泄漏、到达实验室交接。

4.3.3 实验室接收人员：负责样本检测编号核对、验收、登记、必要的前处理（如血性标本离心）、储存分区管理及不符合项处置。

4.4 设备

4.4.1 硬件

脑脊液样本处理的硬件要求如下：

a) 离心机（可设定相对离心力 2000 g）。

b) 2~8℃冷藏设施；-20℃和/或-80℃冷冻设施（按实验室能力配置）。

4.4.2 软件

配备用于不同实验平台配套的数据分析及数据报告系统。

4.4.3 材料

应采用聚丙烯（PP）或等效低吸附采集管、耐受低温的低吸附螺旋盖冷冻管、冷链转运箱、冰袋或相变材料、温度记录装置及医疗操作基本防护、处置用品。

5 总体原则

5.1 通过统一的采集方式、容器材质、储运条件和关键时间节点，减少非生物学因素导致的浓度偏移。

5.2 样本采集后应避免颠倒试管与不必要的转移/分装。

5.3 宜使用新鲜样本完成检测；不宜采用二次及以上冻融的样本完成检测；需冻存时应采用本文件

6.4 “储存条件与时限”部分要求并控制冻融次数。

5.4 采集、接收、处理、储存、转运、解冻检测等关键环节应记录完整，以支持质量评估与问题追

因。

6 操作方法和要求

6.1 采集后即时处置

此项工作要求临床医师完成，主要包括以下内容：

- a) 采集方法应采用重力滴注方式收集脑脊液。
- b) 前 1-2ml 脑脊液，不应用于阿尔茨海默病脑脊液生物标志物检测。
- c) 容器应选择低蛋白吸附管，材质以聚丙烯为佳（同一实验室在建立参考区间和/或诊断界值时宜固定使用同类采集管）。
- d) 采集管内样本体积应占试管总容积的 66.6%~100%，检测前新鲜脑脊液无需颠倒混匀。

6.2 转移/分装过程

样本转运过程要求主要包括：

- a) 应避免颠倒试管。
- b) 应避免在不同试管之间转移或分装样本。
- c) 如必须更换容器，应选择同类低吸附容器并减少转移次数；应在记录中注明转移原因与次数。

6.3 血性样本的离心处理

检验前样本处理需遵循以下原则：

- a) 常规情况下不建议对脑脊液样本进行离心。
- b) 如样本肉眼可见血性污染，应在采集后 2 小时内进行离心以去除血细胞，并记录血性程度（肉眼观察）、离心时间、离心条件以及操作者。
- c) 离心条件宜为室温、2000 g、10 分钟；离心后吸取上清进行后续检测或储存，避免扰动沉淀。

6.4 储存条件与时限

样本无法及时检测，应根据预计检测时间选择储存条件，包括：

- a) 短期周转（<6 小时），可室温或低温；（6 小时~2 天），直立置于 4℃ 环境；
- b) 短期保存（≤2 周），冷藏于 2~8℃，直立放置；
- c) 中短期保存（≤8 周），采用螺旋盖低吸附管，冷冻于 -15~-25℃，直立放置；

d) 长期保存 (>8 周), 采用螺旋盖低吸附管, 确保封闭良好, 直立放置, 冷冻于 -80°C 。

6.5 转运要求

样本需要长距离转运或外送时, 应遵循以下原则:

- a) 避免试管颠倒, 保持直立状态, 减少样本反复接触空腔管壁。
- b) 外送或运输时间较长时, 宜根据预计检测时间选择 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 或 $-15\sim -25^{\circ}\text{C}$ 低温转运; 样本管与冷冻材料应避免直接接触。
- c) 转运容器应防渗漏、防破损; 样本外包装应符合生物样本运输要求并粘贴生物危害标识。
- d) 应记录转运起止时间、温度范围 (或温度记录器数据)、转运人员及交接签名。

6.6 接收要求

实验室或测量平台接收样本时, 应遵循以下原则:

- a) 核对样本编号信息、采集时间、样本类型、体积、容器类型及标签完整性。
- b) 检查是否存在明显泄漏、破损或严重污染; 脑脊液非无色时记录血性程度。
- c) 若样本信息不完整或未按要求采集、保存、转运的样本, 应拒收。
- d) 对可接收但存在偏差的样本, 应记录偏差并在检测报告中注明可能影响解释的事项。

6.7 解冻与混匀要求

实验室或测量平台解冻、分析样本时, 应遵循以下原则:

- a) 应在室温条件下完全融化后进行混匀, 而新鲜样本检测前无需混匀。
- b) 混匀宜采用缓慢旋转方式, 避免剧烈震荡产生泡沫。
- c) 反复冻融次数不应超过 2 次; 超过次数的样本应弃用并在报告中注明。

6.8 实验室内样本管理要求

实验室或测量平台长期从事脑脊液标志物检测工作, 应定期完善内部质控, 包括:

- a) 建立样本处理关键控制点清单, 并对人员进行培训与考核。
- b) 建立样本台账, 至少记录: 受检者标识、采集时间、接收时间、处理步骤 (含离心)、储存温度与位置、转运信息、冻融次数。
- c) 对冷藏或冷冻设备进行温度监测与报警管理, 温度记录应可追溯并定期审核。
- d) 样本处理偏差 (如温度超限、延迟离心等) 应纳入不符合项管理并形成纠正、预防措施记录。

6.9 偏差样本处理

应如实记录并汇报实验室内发生的可能造成测量差值的事件，相关样本不应再行后续检测，具体包括：

- a) 储存或转运温度超出规定范围；
- b) 采集后至离心（血性样本）超过规定时限；
- c) 冻融次数超过 2 次或无法确认冻融史；
- d) 样本发生泄漏、破损或疑似污染；
- e) 样本发生不必要转移或分装，且对结果影响无法评估。

7 评价与改进

7.1 生物信息登记

本文件涉及的各个节点均应设置样本信息记录，确定责任人与复核人定期进行内部核查，交互验证，确保样本信息及相关操作、处理信息真实完整。患者个人信息及疾病诊疗信息仅储存于临床节点，避免泄露患者个人隐私。

7.2 室内质控

脑脊液生物标志物检测精度受到实验室因素影响大，应定期对实验室因素做检测与差异控制，具体措施包括：

- a) 实验室应监测并记录样本的储存环境信息，定期核查样本储存环境、储存条件是否符合规范要求。
- b) 实验室储存样本时，应确认样本是否满足本规范要求，及时甄别偏差样本。
- c) 定期检查转运过程器械、温度是否符合本规范要求。

参 考 文 献

- [1] 《中华医学会神经病学分会痴呆与认知障碍学组. 阿尔茨海默病源性轻度认知障碍诊疗中国专家共识2024. 中华神经科杂志. 2024;57(7):715-37.
- [2] Zou Y, Yu S, Ma X, Ma C, Mao C, Mu D, et al. How far is the goal of applying β -amyloid in cerebrospinal fluid for clinical diagnosis of Alzheimer's disease with standardization of measurements? *Clin Biochem.* 2023;112:33-42.
- [3] Bittner T, Zetterberg H, Teunissen CE, Ostlund RE, Jr., Militello M, Andreasson U, et al. Technical performance of a novel, fully automated electrochemiluminescence immunoassay for the quantitation of β -amyloid (1-42) in human cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement.* 2016;12(5):517-26.
- [4] Leitão MJ, Silva-Spínola A, Santana I, Olmedo V, Nadal A, Le Bastard N, et al. Clinical validation of the Lumipulse G cerebrospinal fluid assays for routine diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2019;11(1):91.
- [5] Giangrande C, Delatour V, Andreasson U, Blennow K, Gobom J, Zetterberg H. Harmonization and standardization of biofluid-based biomarker measurements for AT(N) classification in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst).* 2023;15(3):e12465.
- [6] Engelborghs S, Niemantsverdriet E, Struyfs H, Blennow K, Brouns R, Comabella M, et al. Consensus guidelines for lumbar puncture in patients with neurological diseases. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017;8:111-26.
- [7] Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Arai H, Batish SD, Bernardini S, et al. The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimers Dement.* 2011;7(4):386-95. e6.
- [8] Hansson O, Batrla R, Brix B, Carrillo MC, Corradini V, Edelmayer RM, et al. The Alzheimer's Association international guidelines for handling of cerebrospinal fluid for routine clinical measurements of amyloid β and tau. *Alzheimers Dement.* 2021;17(9):1575-82.
- [9] Tijms BM, Willems EAJ, Zwan MD, Mulder SD, Visser PJ, van Berckel BNM, et al. Unbiased Approach to Counteract Upward Drift in Cerebrospinal Fluid Amyloid- β 1-42 Analysis Results. *Clin Chem.* 2018;64(3):576-85.
- [10] Lame ME, Chambers EE, Blatnik M. Quantitation of amyloid beta peptides $A\beta$ (1-38), $A\beta$ (1-40), and $A\beta$ (1-42) in human cerebrospinal fluid by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem.* 2011;419(2):133-9.

- [11]Giangrande C, Vaneeckhoutte H, Boeuf A, Lalere B, Hirtz C, Lehmann S, et al. Development of a candidate reference measurement procedure by ID-LC-MS/MS for total tau protein measurement in cerebrospinal fluid (CSF). *Clin Chem Lab Med.* 2023;61(7):1235-44.
- [12]Weber DM, Tran D, Goldman SM, Taylor SW, Ginns EI, Lagier RJ, et al. High-Throughput Mass Spectrometry Assay for Quantifying β -Amyloid 40 and 42 in Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem.* 2019;65(12):1572-80.
- [13]Boulo S, Kuhlmann J, Andreasson U, Brix B, Venkataraman I, Herbst V, et al. First amyloid β 1-42 certified reference material for re-calibrating commercial immunoassays. *Alzheimers Dement.* 2020;16(11):1493-503.
- [14]Feng L, Huo Z, Xiong J, Li H. Certification of Amyloid-Beta ($A\beta$) Certified Reference Materials by Amino Acid-Based Isotope Dilution High-Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry and Sulfur-Based High-Performance Liquid Chromatography Isotope Dilution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal Chem.* 2020;92(19):13229-37.
- [15]Hansson O, Mikulskis A, Fagan AM, Teunissen C, Zetterberg H, Vanderstichele H, et al. The impact of preanalytical variables on measuring cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis: A review. *Alzheimers Dement.* 2018;14(10):1313-33.
- [16]Darrow JA, Calabro A, Gannon S, Orusakwe A, Esquivel R, Traynham CJ, et al. Effect of Patient-Specific Preanalytic Variables on CSF $A\beta$ 1-42 Concentrations Measured on an Automated Chemiluminescent Platform. *J Appl Lab Med.* 2021;6(2):397-408.
- [17]Janelidze S, Stomrud E, Brix B, Hansson O. Towards a unified protocol for handling of CSF before β -amyloid measurements. *Alzheimers Res Ther.* 2019;11(1):63.
- [18]Vanderstichele HM, Janelidze S, Demeyer L, Coart E, Stoops E, Herbst V, et al. Optimized Standard Operating Procedures for the Analysis of Cerebrospinal Fluid $A\beta$ 42 and the Ratios of $A\beta$ Isoforms Using Low Protein Binding Tubes. *J Alzheimers Dis.* 2016;53(3):1121-32.
- [19]Hansson O, Rutz S, Zetterberg H, Bauer E, Hähl T, Manuilova E, et al. Pre-analytical protocol for measuring Alzheimer's disease biomarkers in fresh CSF. *Alzheimers Dement (Amst).* 2020;12(1):e12137.
- [20]Toombs J, Foiani MS, Wellington H, Paterson RW, Arber C, Heslegrave A, et al. Amyloid β peptides are differentially vulnerable to preanalytical surface exposure, an effect incompletely mitigated by the use of ratios. *Alzheimers Dement (Amst).* 2018;10:311-21.

[21]del Campo M, Mollenhauer B, Bertolotto A, Engelborghs S, Hampel H, Simonsen AH, et al. Recommendations to standardize preanalytical confounding factors in Alzheimer's and Parkinson's disease cerebrospinal fluid biomarkers: an update. *Biomark Med.* 2012;6(4):419-30.
