

中国人类遗传资源 疾病新鲜组织收集整理保存 技术规程

Technical Specification for the Fresh Tissue Trimming
and Preservation of Chinese Disease Genetic Resources

(讨论稿)

中国人类遗传资源平台

2005年10月

前 言

新鲜组织是指以人体疾病诊断及治疗为目的，从患者的机体中切取的未经特殊化学试剂处理的病变组织。为了提高疾病的诊断质量、促进临床工作、探讨及研究疾病的发病机制，收集整理保存人类疾病新鲜组织非常重要。该技术规程中要求包括临床资料的完整性和病理诊断的准确性、操作人员资格的认定、标本处理的程序、所需的设备和条件，以及人类疾病新鲜组织应用的范围。

目前，我国尚无关于人类疾病新鲜组织收集整理保存工作的国家标准，为使我国相关工作有章可循，规范操作和管理，我们根据目前的研究积累，参考国际相关做法，同时结合中国国情，制定本规程。

目 次

前 言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	2
4 临床资料及疾病诊断.....	2
5 操作人员的资格认定.....	2
6 标本的处理.....	3
7 处理和存放标本的环境及条件.....	4
8 标本的保存方法.....	4
9 标本的管理和使用.....	5
参 考 文 献.....	6

人类疾病新鲜组织收集整理保存技术规程

1 范围

本规程适用于直接采用人体疾病新鲜组织进行的相关科研操作，以及通过直接制片或后续固定和石蜡包埋等处理进行疾病诊断与研究的操作等，因此在科研单位、医学院校和医院应规范执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本规程的引用而成为本规程的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本规程，然而，鼓励根据本规程达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本规程。

GB/T 1.1-2000 标准的结构和编写规则

GB 19489-2004 生物安全通用要求

ISO 15189 医学实验室质量和能力的专用要求

ICD-10 WHO 国际疾病分类编码

CNAL AC23-2003 医学实验室认可准则

《人类疾病固定组织收集整理保存技术规程》

《人类疾病石蜡包埋组织收集整理保存技术规程》

《人类 DNA 标本收集整理保存技术规程》

《人类 RNA 标本收集整理保存技术规程》

《人类蛋白质标本收集整理保存技术规程》

《人类疾病组织冰冻切片的技术规程》

《液氮库的管理办法》

《遗传资源的共享原则》

《人类遗传资源管理办法》

《赫尔辛基宣言》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 人类疾病新鲜组织资源

是指可经过手术或穿刺等医学操作，所得到的未经特殊化学试剂处理的人体各种疾病组织材料，包括其相关信息资料。

3.2 标本

为了进行疾病的临床诊断、治疗及相关的研究工作，所切取或采集的人体各组织器官的样本。

4 临床资料及疾病诊断

所有收集的新鲜组织标本都必须要求有完整的临床及病理资料，保证疾病的正确诊断和正确取材，并以备查验及检索。主要包括如下内容：

- a) 病人的基本资料，包括姓名、性别、年龄、联系方式、病案号和身份证号等。
- b) 病人的病史资料，包括现病史、相关既往病史、手术方式、术中所见、其它相关检查的阳性指征、临床诊断和相关处理措施，以及临床治疗等。
- c) 病理诊断的结果、病变的描写、大体照片及显微镜下照片、病理号及相关数据库的编码等。

5 操作人员的资格认定

必须具有如下资格的人员才能从事疾病新鲜组织的收集整理保存工作：

- a) 具备临床医学大学本科以上学历；
- b) 受过1年以上病理专业的专门训练；
- c) 具有1年以上取材经验和操作动手能力；
- d) 能够判定标本的部位和解剖关系，能够识别病变部位、大体变化特点及其与正常组织的界限；
- e) 具有高度的责任心，工作态度认真负责。

6 标本的处理

a) 手术中切除的完整的新鲜组织标本应立即放在专用密闭容器内由专人负责及时移交病理科。

b) 巨检和取材必须由病理医师进行，并同时配备相关人员负责记录。

c) 巨检和取材过程中应严防污染工作人员和周围环境。

d) 病理医师对新鲜病理标本进行巨检和取材前，应与记录人员认真核对所切取的标本与申请单上的相关内容是否一致，对有疑问的标本必须逐步进行核实。

e) 每例标本取材前后应用流水彻底清洗取材台面和所有相关器物，严防被检查的新鲜组织被无关组织或其它异物污染。

f) 巨检和取材应按照临床技术规范进行，病变的切取应具有代表性，如肿瘤性病变，取材时要包括肿瘤、肿瘤包膜及周围的组织。取材的数量既要满足临床病理诊断的需要又要考虑医学研究的需要。

g) 标本必需具备详细病理诊断报告。

h) 在保证常规病理诊断的前提下，选择性留取新鲜组织标本进行适当地保存。要同时保存病变部位及正常对照部位（肿瘤标本要求有癌旁组织以及周边其他部位非病变组织，癌旁组织通常指病变部位旁 2cm 之内的组织区域），并同时做好编号和登记。

i) 应用于不同目的的标本取材时间的限定有所不同。用于电镜观察的标本，应在离体 1 小时之内进行保存；用于 DNA 提取等分子生物学研究的标本应在离体 2 小时之内进行保存；用于 RNA 等特殊要求的标本应在离体 30 分钟之内进行保存；用于活细胞培养及观察的标本，应在离体 4 小时之内进行保存；用于普通染色及观察的标本，最长不应超过 24 小时进行保存。标本离体之后应在生理盐水中存放，保证其渗透压相对平衡。

j) 新鲜标本中胃肠道等有腔脏器标本要展平、钉板固定；脾脏、肝脏及胰腺等实质性脏器或容易自溶的标本要及时切开，否则标本将无法进行后续处理。不同种类的疾病组织标本及其不同组织部位，取材方法各不相同，详见取材方法。对于同一疾病，要求在不同程度的病变部位分别取材、标记并进行相应的保存。

k) 不同使用目的的标本保存时间有所差异。用于科学研究的标本，在新鲜取材后，先用液氮冻过，再直接于 -70°C 冰箱中保存，依据不同的科研需要确定标本的保存时间；一

般用于 DNA, RNA 提取及其它分子生物学研究的标本需要将组织切割成直径小于 1cm 的组织块, 然后冻存; 有条件的实验室, 也可将标本置于 -150°C 或 -196°C 液氮中长期保存; 用于普通染色观察的标本, 以 4% 甲醛溶液常温固定, 一般可以保存一个月; 用于教学的标本, 先暴露最显著病变部位, 然后进行固定, 可长期保存。详细的标本固定和处理方法请参见《人类疾病固定组织收集整理保存技术规程》。

7 处理和存放标本的环境及条件

7.1 存放空间及其设施

- a) 室内宽敞通风, 有排气设备, 室内有毒气体含量低于国家要求的工作环境标准;
- b) 光线充足, 具有消毒设备;
- c) 水电设施完善, 备有应急电路。

7.2 标本陈列柜

应具备换气设备, 分层高度适当, 便于标本盛放容器的取放和柜子的清洁。

详见《人类疾病固定组织收集整理保存技术规程》中“实验室及工作区的条件”一章。

7.3 取材器械

- a) 基本器械。包括刀柄, 刀片, 剪刀, 镊子, 探针, 锤子, 锯条等;
- b) 特殊器械。包括照相设备和计算机录入设备等;
- c) 保存标本的仪器设备。包括 -70°C 低温冰箱、 150°C 低温冰箱或液氮罐或液氮柜,

及其相关辅助材料, 如带有编号的标本盛装盒和冻存管等。

7.4 盛装标本的容器

密封性好、广口、具有标号框、耐低温, 其大小以可容纳约为标本体积十倍的固定液为宜。RNA 等特殊实验需要的标本必须冻存于经特殊处理的无 RNA 酶的冻存管中。且取材所用的刀、剪等器械都需进行相应的处理。详见《人类 RNA 收集整理保存技术规程》。

8 标本的保存方法

8.1 登记

由病理医师取材并用于保存的组织标本, 必须进行编号和记录;

8.2 标本库

标本于-70℃冰箱（或-150℃冰箱）或-196℃液氮罐（柜）中冷存，具体要求依实验目的不同稍有差异，详见《人类DNA标本收集整理保存技术规程》、《人类RNA标本收集整理保存技术规程》、《人类蛋白质标本收集整理保存技术规程》。

8.3 其它保存方法和用途

新鲜组织标本经后续处理并保存。

8.3.1 4%甲醛溶液固定

方法和用途详见《人类疾病固定组织收集整理保存技术规程》和《人类疾病石蜡包埋组织收集整理保存技术规程》。

8.3.2 冰冻切片

用于手术中快速病理诊断。该新鲜组织不能接触任何液体，如生理盐水、酒精、二甲苯等溶剂，特别是脑组织严禁接触上述物质。由于冰冻快速病理诊断要求时间短，所以标本处理要及时，取材部位要具有代表性，不可盲目取材，以免延误诊断。用于免疫组化和原位杂交等特殊实验的冰冻切片应保存在-20℃。详见《人类疾病组织冰冻切片的技术规程》。

8.3.3 细胞培养

在无菌操作下，用生理盐水反复冲洗组织，并将其切成小块，胰蛋白酶或胶原酶等消化后，采用适宜的培养液进行细胞培养。

9 标本的管理和使用

标本库由有资格的保管人员负责实物、资料和数字化管理，即遵照标本库和液氮库的管理和使用办法。详见《人类疾病组织标本资源的管理和使用技术规程》、《液氮库的管理和使用技术规程》、《人类疾病石蜡包埋组织收集整理保存技术规程》和《遗传资源的共享原则》。

参 考 文 献

- [1] (英)C. F. A. 卡林著, 孔庆雷译. 组织病理学与组织化学技术手册. 北京: 科学出版社. 1982
- [2] 李学农主编. 现代病理与实验诊断技术. 北京: 人民军医出版社. 2003
- [3] 中华医学会编著. 临床技术操作规范: 病理学分册 北京: 人民军医出版社. 2003
- [4] 徐思行, 余心如主编. 病理诊断与技术规范. 浙江: 浙江大学出版社. 2003
- [5] Juan Rosai. Surgical Pathology. Ninth edition. Mosby. 2004
- [6] Weidner, Cote, Suste, Weiss. Modern Surgical Pathology. Saunders. 2003