

团 体 标 准

T/SZAS 19—2020

游离 DNA 保存管

Cell-free DNA collection tube

2020 - 06 - 11 发布

2020 - 07 - 12 实施

深圳市标准化协会 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 要求	2
5 试验方法	3
6 检验规则	4
7 色标、生产商提供的信息、运输及贮存、保质期	4
参考文献	6

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由深圳华大临床检验中心提出。

本标准由深圳市标准化协会归口。

本标准起草单位：深圳华大临床检验中心、深圳华大基因股份有限公司、江苏康为世纪生物科技有限公司、广州基赛生物科技有限公司、深圳市柏明胜医疗器械有限公司。

本标准起草人：沈建坤、彭智宇、张红云、唐美芳、许振朋、向嘉乐、方星星、张镜悬、殷剑峰。

游离 DNA 保存管

1 范围

本标准规定了游离DNA保存管（或称游离DNA采血管）的产品要求和试验方法。

本标准适用于游离DNA相关研究及实验的血液采集（如NIPT）以及游离DNA保存管制造商和通过保存人体静脉血样提取游离DNA进行相关检测的生物检测机构。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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。

WS/T 224-2018 真空采血管的性能验证

YY 0314-2007 一次性使用人体静脉血样采集容器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

游离DNA cell-free DNA

存在于外周循环血中游离于细胞外的部分降解了的机体内源性DNA。

3.2

添加剂 additive

在一个标本采集器中，添加的用来达到预期效果的试剂。

3.3

保存管 tube

带有附加物、添加剂用于盛装样本的器皿。

3.4

管盖 tube cap

密闭容器的盖子，包含内置胶塞和外部的管帽。

3.5

保水性 water-retaining property

容器在液体的保存和防止液体流失、挥发方面的性能。

3.6

目力检测 visual inspection

检测者通过正常或矫正视力进行检测。

3.7

NIPT Noninvasive prenatal testing

无创产前检测。

4 要求

4.1 材料及结构

4.1.1 保存管管体应透明无杂质，无变形损坏，表面应光滑，无锐边、毛刺、裂纹、脏污。

4.1.2 保存管的塞子不应松动，塞子与管紧密结合；应能经受4次取下和装上塞子，不出现泄漏。

4.1.3 需要对保存管的材料和预期的适用性进行确认，充分考虑保存管材料的可承受离心力、耐压、防摔、抗冻性能。在预期的实验条件下，保存管应无断裂、塌陷、破裂或其他可见损坏。

4.2 添加剂

4.2.1 应充分考虑添加剂的稳定性、可放置的时间、对温度和光照的敏感性。

4.2.2 若添加剂为液体，应充分考虑保存管的保水性，防止管内添加剂损失。添加剂应澄清透明、无沉淀、无悬浊物，不应有变色、结晶和体积变少等现象。

4.2.3 添加剂的体积应在规定体积的90%-110%之间。

4.3 无菌状态

游离DNA保存管用于采集检测者的血液，容器内部与检测者血流之间有直接接触的可能，产品要求无菌。

4.4 抽吸量

抽吸量应在公称液体容量的90%-110%之间。

4.5 保存时间

游离DNA保存管可有效保存血液中游离DNA至少4天。

4.6 凝血和溶血要求

4.6.1 保存管采血后，充分混匀的样本中不应出现凝块。

4.6.2 保存管采血后进行离心，血浆不应出现溶血现象。

4.7 游离DNA保存效果

4.7.1 使用保存管收集并离心获得的血浆，进行血浆游离DNA提取，每500 μ L血浆中获得的游离DNA应不少于2ng（除提取因素外）。

4.7.2 对提取的游离DNA进行片段大小检测，主峰应在166bp左右，无大片段污染。

4.7.3 临床检测项目可根据该项目的行业或企业标准来判定是否满足临床检测需求。

5 试验方法

5.1 材料及结构

- 5.1.1 保存管外观采用目测方法进行检测。
- 5.1.2 荧光泄漏实验方法参考 YY 0314-2007 附录 C。
- 5.1.3 管体强度检测方法参考 WS/T 224—2018 4.3

5.2 添加剂

- 5.2.1 添加剂是否变色、结晶采用目测方法进行检测。

5.2.2 添加剂体积测量方法

5.2.2.1 仪器

离心机、移液枪。

5.2.2.2 试验步骤

- 5.2.2.2.1 随机抽取 3 支保存管，放置于离心机中，3000 g 离心 1min，取下保存管。
- 5.2.2.2.2 轻轻打开保存管的管盖，使用移液枪缓慢吸取添加剂，调节移液枪排空空气，此时移液枪上的体积即为添加剂体积。

5.3 无菌状态

无菌及验证方法按 WS/T 224-2018 中 4.7 条规定的方法进行检测。

5.4 抽吸量

抽吸量的验证方法按 WS/T 224—2018 中 4.2 条规定的方法进行检测。

5.5 凝血和溶血要求

- 5.5.1 按照正确的步骤进行采血，保存管中充分混匀的血液标本在显微镜下观察应无凝块。
- 5.5.2 保存管采血后进行离心，目力检测上层血浆，不应出现溶血现象（临床原因除外）。

5.6 游离 DNA 保存效果

5.6.1 保存管对游离 DNA 的保存效果受到采血后样本保存的时间、样本保存的温度、保存管批次等方面的影响，需要对保存管的性能进行充分验证：

- a) 模拟临床样本的采集、运输及实验过程，比较在预定的条件和采集样本后立即检测两种情况下，通过对比实验参数判断保存管在预定的条件下是否满足要求。
- b) 模拟临床样本的采集、运输及实验过程，通过比较考察管与比对管的差异，进行保存管的性能验证，必要时可建立新的样本采集、运输及保存的方式。

5.6.2 检测方法

5.6.2.1 仪器

低温离心机、Qubit 荧光定量仪、Agilent 2100 生物分析仪。

5.6.2.2 试剂

游离DNA提取试剂、Qubit™ dsDNA HS Assay Kit、Agilent 2100生物分析仪配套芯片和试剂。

5.6.2.3 检测步骤

5.6.2.3.1 采集3例以上血液样本。

5.6.2.3.2 将保存管在4℃条件下1,600 g离心10分钟，将上清转移至新的离心管中，注意不要吸收到中间层白细胞；将所得上清在4℃条件下16,000 g离心10分钟，将血浆转移到一个新的离心管中备用。

5.6.2.3.3 使用游离DNA提取试剂从500μL血浆中的提取游离DNA。

5.6.2.3.4 使用Qubit荧光定量仪检测游离DNA的浓度。

5.6.2.3.5 使用Agilent 2100生物分析仪进行游离DNA片段大小检测。

6 检验规则

6.1 有下列情况时都应进行检验：

- a) 在新产品投产前或准备用于临床之前，应对要求中的所有指标进行充分检验。
- b) 产品正常生产时，每年应至少对要求中的所有指标进行检验一次。
- c) 原料、工艺、配方有重大改变时，应对可能影响的指标进行检验。
- d) 新的批次在出厂和使用前应进行抽检。

6.2 判定规则

指标如有一项不合格，即判定产品不合格。

7 色标、生产商提供的信息、运输及贮存、保质期

7.1 色标

游离DNA保存管应与其他真空采血管区分，管盖及标签色彩部分使用深蓝色，色号PANTONE 2935 C (#0057B8)。

注1：色号参考国际标准色号：PANTONE Color（潘通色卡）。

注2：标签的色标不是指整个标签的颜色，而是指其色彩部分。

注3：管盖颜色是指管盖的外观颜色，不包括管盖内部的塞子颜色。

注4：本标准中的色标为推荐色标。

7.2 生产商提供的信息

7.2.1 保存管应附有便于使用者能够快速识别产品的信息，将产品的正确使用、功能、要求方面的信息传递给使用者。这些信息应标注在保存管的标签上和（或）一个保存管或多个保存管的包装上（内）。

7.2.2 保存管的标签不应将保存管全部环绕。标签内容正确，清晰易辨识，粘贴平整，无皱褶翘边、划破、污渍。

7.2.3 标签上应标明必要信息，包含但不限于以下内容：

- a) 制造商名称或商标和地址；

- b) 添加剂的识别或用途;
- c) 相应的“无菌”标识, 表明特定微生物状态或洁净程度说明;
- d) 避免二次使用标识;
- e) 生产许可证编号、产品技术要求编号及注册证编号;
- f) 批号, 以批 (LOT) 开头或系列号;
- g) 保存管或其部件能安全有效使用的陈述, 即有效期, 以年月日 (CCYY MM DD) 表示;
- h) 公称液体容量;
- i) 充装线;
- j) 特殊存储条件和 (或) 处置条件;
- k) 如必要可有相应的警示及其他特殊信息。

7.2.4 应在保存管标签上给出内装添加剂或用途的说明, 并用颜色进行标识。

注: 标签上颜色部分应与管盖色标一致。

7.3 运输及贮存

7.3.1 未使用过的保存管应在 18 °C-25 °C 避光运输和贮存。

7.3.2 采血后, 可在 6 °C-35 °C 保存和运输, 温度保持恒定。

7.4 保质期

游离DNA保存管保质期为1年。

参 考 文 献

- [1] Wong, D., et al. Optimizing blood collection, transport and storage conditions for cell free DNA increases access to prenatal testing. *Clin Biochem*.2013;46(12): 1099-1104.
- [2] Norton, S. E., et al. A stabilizing reagent prevents cell-free DNA contamination by cellular DNA in plasma during blood sample storage and shipping as determined by digital PCR. *Clin Biochem*.2013;46(15): 1561-1565.
- [3] Medina Diaz, I., et al. Performance of Streck cfDNA Blood Collection Tubes for Liquid Biopsy Testing. *PLoS One*.2016;11(11): e0166354.
- [4] Warton, K., et al. Evaluation of Streck BCT and PAXgene Stabilised Blood Collection Tubes for Cell-Free Circulating DNA Studies in Plasma. *Mol Diagn Ther*.2017;21(5): 563-570.
- [5] Parackal, S., et al. Comparison of Roche Cell-Free DNA collection Tubes to Streck Cell-Free DNA BCTs for sample stability using healthy volunteers. *Pract Lab Med*.2019;16: e00125.
- [6] YY 0314-2007 一次性使用人体静脉血样采集容器
- [7] WS/T 224-2018 真空采血管的性能验证
-