

ICS 07.080

C 04

SZDB/Z

深圳市标准化指导性技术文件

SZDB/Z 185-2016

人类血液来源免疫细胞库建设与管理规范

The collection, processing, quality control and storage regulations for
Human blood Immune Cells

2016 - 04 -08 发布

2016 - 05 - 01 实施

深圳市市场监督管理局

发 布

目 次

前言.....	III
引言.....	IV
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 缩略词.....	3
5 细胞库的机构设置.....	3
6 细胞库的建设.....	4
7 生产操作规范.....	5
8 细胞库的管理.....	7
附 录 A (资料性附录) 知情同意书示例.....	12
附 录 B (资料性附录) 供者健康信息采集表.....	14
附 录 C (资料性附录) PBMC 制备步骤	15
附 录 D (资料性附录) PBMC 冻存步骤	16
附 录 E (资料性附录) 样本入库编码规则	17
参考文献.....	18

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由深圳市发展和改革委员会归口。

本标准负责起草单位：深圳华大基因研究院。

本标准主要起草人：周欣、张曦、蔡姗、冀旭、张家文、彭冬秀、陈玉、黎苑杰、项榕、李蕾、尹洁芳、贾佳。

本标准为首次发布。

引 言

自20世纪80年代以来，免疫细胞疗法备受关注，其系免疫疗法的一个重要分支，而后者被美国国立卫生研究院列为除手术、化疗、放疗以外的第四大癌症治疗模式。在2000年国际肿瘤生物治疗及基因治疗年会中指出“免疫细胞疗法是现在科技中唯一有可能彻底清除癌细胞的方法”。2009年我国卫生部颁布18号《医疗技术临床应用管理办法》，将免疫细胞疗法纳入第三类医疗技术进行管理，正式批准开展其临床治疗。

目前免疫细胞疗法在临床治疗中主要以利用从人体外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC）分离提取的T细胞为主，其采集过程方便、安全。2008年美国首例利用从病人血液中分离，扩增并回输自体免疫细胞方法成功治愈恶性黑色素瘤癌症，案例中的病人在追踪期内没有出现复发。2009年至2013年，免疫细胞的研究开始屡次登上诺贝尔医学奖的舞台，其中美国科学家Ralph Steinman将建立在树突状细胞基础上的免疫细胞个体化诊疗方案用于自己的胰腺癌治疗，并获得2011年诺贝尔医学奖。

世界范围内的免疫细胞库建设已经初具规模，在美国西雅图建立的HIV疫苗试验网络，以及其制定的PBMC质量管理体系，已存储符合高标准要求的HIV病人的PBMC共计23477例。2010年卫生部令79号，《药品生产质量管理规范》指出，对于免疫细胞治疗这类方法需要有标准操作程序和产品的质量控制。我国的人类血液来源免疫细胞库建设在快速发展中，但大多数此类细胞库未涉及到大规模的采集、长期性的存储模式，并存在样本管理无序、分散而不集中、封闭而不开放、缺乏标准化流程、缺乏质控体系与信息化管理、伦理学与法律不健全、低水平重复和浪费现象严重等重要问题。为此，建立人类血液来源免疫细胞库的地方标准、国家标准，规范其存储，保证应用质量，保障人体健康，保障公民的合法权益，并促进我国相关生物治疗技术的发展上具有重大的国际化战略意义。

人类血液来源免疫细胞库建设与管理规范

1 范围

本标准规范了人类血液来源免疫细胞库的机构设置、建设和管理。
本标准适用于人类血液来源免疫细胞库的建设与管理。

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（包括所有修改单）适用于本文件。

GB/T 1.1-2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写
GB 2894-2008 安全标志及其使用导则
GB/T 5458-2012 液氮生物容器
GB 7000.2-2008 灯具 第2-22部分：特殊要求 应急照明灯具
GB/T 12905-2000 条码术语
GB 13690-2009 化学品分类和危险性公示 通则
GB 15258-2009 化学品安全标签编写规定
GB/T 17172-1997 四一七条码
GB/T 18347-2001 128条码
GB/T 18883-2002 室内空气质量标准
GB 19489-2008 实验室 生物安全通用要求
GB 19652-2005 放电灯(荧光灯除外)安全要求
GB/T 20269-2006 信息安全技术 信息系统安全管理要求
GB/T 22278-2008 良好实验室规范原则
GB/T 27025-2008 检测和校准实验室能力的通用要求
GB 50016-2014 建筑设计防火规范
GB 50034-2013 建筑照明设计标准
GB 50052-2009 供配电系统设计规范
GB 50140-2005 建筑灭火器配置设计规范
GB 50346-2011 生物安全实验室建筑技术规范
GB 50351-2014 储罐区防火堤设计规范
AQ 3013-2008 危险化学品从业单位安全标准化通用规范
CNAS-CL05:2009 实验室生物安全认可准则
MH/T 1019-2005 民用航空危险品运输文件
WS/T 224-2002 真空采血管及其添加剂
WS/T 400-2012 血液运输要求
DB12/597-2015 医疗卫生机构医疗废物处理规范
WHO Third Edition 实验室生物安全手册

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本指导性技术文件：

3.1

免疫细胞 immune cell

指参与免疫应答或与免疫应答相关的所有细胞，主要包括T细胞、B细胞、NK细胞、单核-巨噬细胞、树突状细胞、粒细胞等。

3.2

样本 specimen

指在某特定时间从受试者或捐献者采集到的器官、组织、血液等样本。对于某些人类样本，样本可以表示个体的意思。

3.3

外周血单个核细胞 peripheral blood mononuclear cells

指人外周血中具有单个核的细胞群体，包括淋巴细胞和单核细胞。单核细胞经细胞因子诱导可分化为树突状细胞，是人体内最重要的抗原提呈细胞。淋巴细胞包括T淋巴细胞和B淋巴细胞，分别承担人体免疫系统中的细胞免疫和体液免疫，在体外用多种细胞因子共同诱导培养获得的一群异质细胞，称为细胞因子诱导杀伤细胞CIK，具有T淋巴细胞强大的抗瘤活性和自然杀伤细胞的非MHC限制性杀瘤特点。

3.4

接收区 acceptance zone

指样本送达时用于初步检查、清点接收或样本转移前进行包装、清点的缓冲区域。

3.5

细胞制备 cell preparation

指细胞样本经过一系列规范操作达到入库标准的过程。

3.6

细胞分离 cell isolation

指从机体组织或器官中分离出特定细胞成分的过程。

3.7

质量控制 quality control

指为使细胞样本达到入库标准所采取的操作技术和活动。

3.8

细胞冻存液 cell freezing medium

指由特殊配方制备而成用于细胞冻存的无菌液体。

3.9

细胞复苏 cell recovery

指把冻存的细胞恢复生长并保持原有特性的方法。

3.10

实验室生物安全 laboratory biosafety

指实验室的生物安全条件和状态不低于允许水平，并符合相关法规和标准对实验室生物安全责任的要求，避免实验室人员、来访人员、社区及环境受到不可接受的损害。

3.11

化学安全 chemistry safety

指使用化学物品时遵守一定的规范并有相应的紧急预案应对事故,防止危险化学品事故的发生并将事故的影响或损失降至最低。

3.12

知情同意 informed consent

指具有完全民事行为能力的自然人,在充分获取信息并准确理解其内容后,作出参与研究的决定,此决定不受恐吓、利诱或其他不当行为的影响。

3.13

伦理审查委员会 institutional review board

指专门负责对科学研究中涉及的伦理道德问题进行评估和审查的组织。

3.14

科学审查委员会 scientific review committee

指专门负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查的组织。

3.15

生物安全评审委员会 biosafety review committee

指专门负责制定生物安全政策和安全操作规范的组织。

4 缩略词

NIH: 美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health)

HIV: 人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus)

TP: 梅毒螺旋体 (Treponema Pallidum)

HBV: 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B Virus)

HCV: 丙型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus)

ALT: 谷丙转氨酶 (Alanine Aminotransferase)

WHO: 世界卫生组织 (World Health Organization)

GMP: 药品生产质量管理规范 (Good Manufacturing Practice)

PBMC: 外周血单个核细胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cells)

DC: 树突状细胞 (Dendritic Cell)

NK: 自然杀伤细胞 (Natural Killer Cell)

CIK: 细胞因子诱导杀伤细胞 (Cytokine-induced Killer Cell)

AABB: 美国血库协会 (American Association of Blood Banks)

ATCC: 美国菌种保藏中心 (American Type Culture Collection)

5 细胞库的机构设置

5.1 伦理审查委员会

5.1.1 细胞库应设有伦理审查委员会。伦理审查委员会由医药学、伦理学、法学等专家以及无利害关系的社区代表等人员组成。

5.1.2 伦理审查委员会应负责建立细胞库的伦理准则和相应的伦理操作规范,对相关伦理问题进行审查和评价。

5.1.3 伦理审查委员会应在样本相关研究项目开始前进行伦理审查及对已通过审查或正在进行的项目进行伦理监督,遵循样本提供者有知情同意权,隐私保护权,可能范围内风险最小的原则,保证样本提供者和相关人员的利益和安全。

5.2 科学审查委员会

5.2.1 细胞库应设有科学审查委员会。科学审查委员会应由生物和医学领域的专家组成。

5.2.2 科学审查委员会应负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查。

5.3 生物安全评审委员会

5.3.1 细胞库应设有生物安全评审委员会。生物安全评审委员会应由生物学家、医务人员、技术人员和实验室管理人员等各方面的专家或工作人员组成。

5.3.2 生物安全评审委员会负责细胞库的生物安全政策和安全操作规范的审查。

6 细胞库的建设

6.1 总则

细胞库实验区域和储存区域的设计以及设施的规划应符合 GB 50346-2011 的规定, 实验室设施与设备应符合临床应用级别的安全操作要求。

6.2 细胞库的规划

6.2.1 细胞库场地要符合长久储存要求, 避免频繁更换储存场地。

6.2.2 细胞库的设计和建设应符合 GB 19489-2008 的规定, 功能区域应至少包括辅助区(样本接收区、样本预处理区、仓储区)、细胞制备区、质量控制区、细胞储存区等区域, 每个区域应标识洁净级别和风险级别。

6.2.3 细胞库的办公区域设计应符合 GB 19489-2008 第5章实验室设计原则及基本要求的规定, 与进行细胞操作的实验区域之间应有墙壁进行物理隔开, 以确保办公区域的空气质量不受实验区域空气的影响。

6.2.4 细胞库的建设应由具有相应资质的施工单位进行。建设所用材料应符合要求, 达到防强酸、防强碱、防震等效果。细胞库建设完成后, 各功能区域的洁净级别应由专业的检测人员进行检测并出具合格证明。

6.3 实验室设施与设备

6.3.1 空调与通风系统

细胞库的空调与通风系统应符合GB 19489-2008 第6.3.3条通风空调系统的规定, 气流由“清洁”空间向“污染”空间流动, 最大限度减少室内回流与涡流。实验室各个区域的温度与湿度应控制在规定范围内。

6.3.2 照明系统

细胞库的照明系统应符合GB 19489-2008 第6.3.7条照明系统的规定, 免疫细胞库及实验室的核心工作区的照度不低于350lx, 其它区域不低于200lx。

6.3.3 备用电源

细胞库的供电系统应符合GB 19489-2008 第6.3.6条电力供应系统的规定, 应急照明不得少于30分钟, 需安装后备电池或者与后备发电机相连, 并符合GB 7000.2-2008的规定。

6.3.4 安全设施

细胞库的安全设施应具备保障常规物理安全及生物安全的功能, 应符合GB 19489-2008 第6.3.8条自控、监视与报警系统的规定以及第7.22条消防安全的相关规定, 保证实验室安全有效地运行。

6.3.5 实验设备

细胞库的实验设备主要包括生物安全柜、离心机、二氧化碳培养箱、细胞计数仪、程序降温仪、液氮罐, 生物安全柜应符合二级 B 型生物安全柜要求, 对工作人员、环境和样本提供保护。液氮罐应设有温度报警和液面控制装置。所有设备的选择均应符合通用要求。

7 生产操作规范

7.1 样本的采集

7.1.1 血液样本的采集应符合《血站基本标准》中血液采集的相关规定。

7.1.1.1 样本提供者须做血液初、复检，合格后方可采用。采血人员应具有资格证书，培训考核合格者方能上岗。

7.1.1.2 采集过程应符合无菌操作规程，所使用的一次性注射器、采血袋等耗材必须是在有效期内的。

7.1.1.3 采血人员采集时应轻摇血液，防止凝血或溶血。

7.2 样本的运输

7.2.1 血液样本的运输应符合《血站质量管理规范》第 17 章中血液运输的相关规定以及 WT/S 400-2012 血液运输要求的规定。

7.2.1.1 血液样本运输前应与采集人员核对采集信息，样本采集完后应立即送往实验室。若特殊情况不能及时送达，应及时放在 4℃ 冰箱冷藏，且样本抵达时间不能超过 12h。

7.2.1.2 血液样本运输应使用专门的血液运输箱，运输过程应实时监控运输箱状态，确保箱体温度维持在 4℃ 左右，并做好运输前、中、后温度记录，且防止箱体剧烈震荡。

7.3 样本的接收

7.3.1 样本接收时，做好自我防护工作，应戴好手套与口罩，确认送达接收室的样本及信息记录是否齐全。

7.3.2 观察样本容器包装的外观，检查有无破损并记录，检查信息记录表上的信息是否与样本信息对应，确认无误后进行接收。

7.3.3 样本接收后应及时将信息反馈给样本发送方。

7.4 免疫细胞的制备

应建立免疫细胞制备的标准操作规程及管理程序，并在符合 GMP 的标准上严格执行。免疫细胞库的主要储存类别为 PBMC。PBMC 的制备步骤见附录 C。

7.5 免疫细胞的冻存

免疫细胞的冻存需加入适当的冷冻保护液，按照标准密度进行冻存，遵循程序降温的原则。在符合 GMP 要求的基础上严格执行，并进行严格的质量控制。PBMC 的冻存步骤见附录 D。

7.6 细胞入库

7.6.1 细胞入库必须有严格的过程控制及完整的信息录入、档案填写。

7.6.2 将冻存好的细胞移至细胞暂存库中储存，储存温度为 -196℃ ~ -135℃，同时对细胞样本进行质量检测，包含细胞数量与活率检测，细胞无菌性鉴定（需氧菌及真菌检测、厌氧菌及真菌检测）、支原体检测、细菌内毒素检测、细胞纯度鉴定（流式检测）、细胞功能鉴定（Elisa 检测）。

7.6.3 将符合入库标准的细胞从细胞暂存库转移至细胞储存库中，在储存温度为 -196℃ ~ -135℃ 的液氮罐中长期储存。

7.7 细胞复苏

建立细胞复苏标准操作程序并配备相应的信息记录。

a) 自液氮或干冰容器中取出冻存管，检查盖子是否旋紧。

- b) 将冻存管立即放入 37℃ 水浴锅中解冻，轻摇冻存管使其在 1 分钟内全部融化，以 75% 酒精擦拭冻存管外部，移入无菌操作台内。
- c) 取出细胞悬液，将解冻的细胞悬液加入含有培养基的离心管内，离心洗涤 2~3 次，加入新鲜培养基重悬细胞，混合均匀，转移至培养瓶，放入二氧化碳培养箱培养。

7.8 细胞出库

7.8.1 总则

细胞在需要使用、转移或销毁时，需进行细胞出库。细胞出库前应首先向伦理审查委员会和科学审查委员会提出申请，通过审核后方可进行。细胞库应建立人类免疫细胞使用、转移和销毁的标准操作规程。

7.8.2 细胞使用出库

7.8.2.1 细胞出库基本程序：需要使用细胞时，细胞库出库人员填写能够记录细胞储存位置变更的相关记录后，在质量管理人员监督并签字复核下，由细胞库出库人员进行出库。

7.8.2.2 临床治疗需使用细胞库内细胞时，细胞库出库人员需核对库存细胞信息和细胞使用者信息，制定严格的细胞发放计划，再进行出库，并进一步跟踪使用情况。

7.8.2.3 科研用途使用细胞库的细胞时，需保证样本提供者在充分知情并签订知情同意书（知情同意书见附录 A）的前提下完成细胞出库。

7.8.3 细胞转移出库

7.8.3.1 细胞库内部因整改、扩容或评估冻存细胞质量等情况而需要进行细胞转移时，按照具体的细胞转移操作规范进行转移操作。

7.8.3.2 细胞转移操作应确保细胞及其冻存容器的温度在 -135℃ 以下，转移过程要做好相应记录。

7.8.4 细胞销毁出库

7.8.4.1 当样本储存时限超过 20 年，样本提供者未与相关人员协定是否继续储存并不同意无偿捐赠为科研样本时，统一由样本管理人员进行销毁，并将销毁情况更新记录在信息系统中。

7.8.4.2 当样本提供者提出撤销知情同意书，要求销毁所提供的样本时，应遵从样本提供者的意见将样本销毁，并将样本提供者相关信息和数据从信息系统中清除。

7.8.4.3 样本销毁应首先提出销毁申请，通过伦理审查委员会和科学审查委员会的审核后方可进行，细胞库应建立销毁的标准操作规范，并按照此规范操作。

7.8.4.4 应对样本的销毁进行记录，包括销毁样本的名称与数量、销毁的原因、批准和执行销毁的日期、销毁的操作人员等。

7.9 细胞发放

7.9.1 当样本提供者需要使用细胞库内本人细胞时，由细胞库出库人员填写细胞出库相关记录后，由质量管理人员监督并签字复核下，由细胞库出库人员进行出库。并对细胞进行复苏、培养、质量检测。

7.9.2 将符合发放标准的细胞发放，并填写发放记录。质量不合格的细胞需进行记录，且不能发放。

8 细胞库的管理

8.1 总则

细胞库应建立并实施质量目标、质量方针，遵循相关法律法规要求。明确在整个样本采集、制备、储存的全过程中的质量要求，包括全面质量保证（QA）和质量控制系统（QC），并以完整的质量体系文件形式明确规定及监控其有效性。确保所制备的免疫细胞适用于预定的用途，符合规定的要求和质量标准。

8.2 人员管理

应确定细胞库工作人员的从业资质，制定培训与考核制度，保证良好的专业技能和操作规范，以及员工健康管理制度，避免因人员因素产生生物安全危害。

8.2.1 人员资质

8.2.1.1 生产管理人员资质

生产管理人员应当至少具有相关专业本科学历，具有至少三年从事免疫细胞培养、实验室管理以及质量管理的实践经验，其中至少有一年的细胞库管理经验，接受相关的专业知识培训。

8.2.1.2 质量管理人员资质

质量管理人员应当至少具有相关专业本科学历，具有至少五年从事实验室管理和质量管理的实践经验，接受过相关的专业知识培训。

8.2.1.3 实验室技术人员的资质

- a) 必须具备相关专业教育经历，相应的专业技术知识及工作经验，熟练掌握自己工作范围内的技术标准、方法和设备技术性能。
- b) 必须进行上岗前体检，由生物安全负责小组组织实施。体检指标除常规项目外还应包括与从事工作有关的特异性抗原、抗体检测。体检合格后建立健康监测档案不符合岗位健康要求不得从事相关工作及进入实验室。
- c) 在满足上述基本原则的前提下，必须是自愿从事相关实验活动，了解所从事工作的生物安全风险，必要时在生物安全知情书上签字，并经实验室负责人批准后，才能上岗工作。

8.2.1.4 样本提供者资格

样本提供者需提供近3个月内医院的健康体检报告和血液检测报告，血液检测报告中包括血常规和五项传染病乙肝、丙肝、梅毒、艾滋病、谷丙转氨酶的检测。实验室需对样本提供者提供的血液样本进行五项传染病乙肝、丙肝、梅毒、艾滋病、谷丙转氨酶的再次检测并形成报告。样本提供者健康信息采集表见附录B，各项检测指标合格者，具备提供样本的资格。

8.2.2 人员培训与考核

8.2.2.1 工作人员必须系统的接受相关生物安全知识、法规制度培训和业务岗位培训与考核，领取岗位培训合格证书后方可上岗。

8.2.2.2 每年应至少培训并考核一次。考核未通过者，应重新接受培训，成绩合格后方可再次上岗。

8.2.2.3 培训及考核结果应有相关档案记录及查阅制度。

8.2.3 人员健康管理

8.2.3.1 工作人员应进行严格体检，条件合格者方可录用。

8.2.3.2 如工作人员出现不宜从事实验室相关工作的身体状况时，不得进入相关区域工作。

8.2.3.3 应根据岗位需要进行免疫接种。

8.2.3.4 应建立员工健康档案，并至少每年体检一次。

8.2.3.5 细胞库若发生生物安全暴露，相关人员应接受必要救治并制定医学观察方案。对于出现异常情况者，应暂时调离工作岗位，或永久调离。若再次上岗需体检合格，并取得主管人员的批准。

8.3 安全管理

8.3.1 总则

应制定必要的意外事故安全制度和生物安全制度，危险物品或器械使用安全制度和安全标识，并标识清晰。建立必要的预防措施和应急预案，避免安全事故的发生并尽可能减小安全危害。

8.3.2 消防安全

8.3.2.1 需配备必要的防火系统及灭火装置。

8.3.2.2 应定期对消防系统和消防装置进行检查，以确保其处于随时可用状态。

8.3.2.3 应对实验室工作人员进行防火安全训练，所有人员每年至少参加一次训练。

8.3.2.4 细胞库的防火系统建设应符合 GB 19489-2008 的规定。

8.3.2.5 细胞库灭火器的配置应符合 GB 50140-2005 的规定。

8.3.3 压力容器安全

8.3.3.1 压力容器指压力气瓶及高压灭菌装置。

8.3.3.2 压力容器应由持有压力容器操作资格证的专业人员操作。压力容器使用应建立使用记录档案，并应按照相关规程定期检验、调整和检修、维修保养。

8.3.3.3 压力容器安全应符合《中华人民共和国特种设备安全法》的规定。

8.3.4 化学用品安全

8.3.4.1 涉及到的有毒有害物质，应建立分类储存、使用、登记等管理制度。

8.3.4.2 购进可能有危害的化学物品都必须附有材料安全数据表。所有危险化学品都需要以易于识别的形式进行标记，使专业和非专业人员很容易警觉其潜在的危险性。标记可以是文字、图标、标准化代码或多种形式并存。

8.3.4.3 应建立危险化学品用品事故危险评估和应急预案，以应对可能发生的危害性事故。

8.3.4.4 相关工作人员应接受处理危险化学品溅溢的培训，以应对突出事故。

8.3.4.5 细胞库内涉及有毒有害物质的工作区域，应符合 AQ 3013-2008 的规定。

8.3.5 液氮安全

8.3.5.1 液氮罐及其管道系统需设置减压阀，以防止爆炸。

8.3.5.2 应用到大量液氮罐储存时，需安装氧浓度检测器。

8.3.5.3 工作人员在操作中接触到液氮时，需使用防护面罩和隔热手套并做好其它防冻措施。

8.3.5.4 应确保维持正常使用至少 3 天的液氮供应量。细胞库应定期检查液氮容量，并建立相应的检查登记制度。

8.3.5.5 细胞库的液氮安全，应符合 GB/T 5458-2012 的规定。

8.3.6 生物安全

8.3.6.1 应建立严格的生物安全及危害性评估方案、疾病传播预防方案、生物安全审查制度及生物安全事故应急预案。

8.3.6.2 细胞库的生物安全制度应通过生物安全委员会及生命伦理委员会的批准后方可实行。

8.3.6.3 应保证实验室的安全运行，包括防止实验室工作人员的感染、防止实验室操作的病原微生物对环境的污染、防止检测样品的污染。

8.3.6.4 实验室发生病原微生物感染时，实验室工作人员应当立即采取控制措施，防止扩散。应及时向相关领导报告事故情况，以对事故进行及时处理。

8.3.6.5 细胞库的生物安全制度应符合《WHO 生物安全手册》和 GB 19489-2008 的规定。

8.3.6.6 细胞库的疾病传播预防应符合《中华人民共和国传染病防治法》的规定。

8.3.7 安全标识

细胞库相关区域及相关设施应具有安全标识，标识形式如颜色、图标、光信号等和标识内容如危险品、消防设施、洁净区等应清晰明确，标识的设计和编写应符合 GB 15258-2009 和 GB 2894-2008 的规定。

8.3.8 医疗废物处理

8.3.8.1 细胞库所产生的医疗废物的处理应符合 DB12/597-2015 的规定。

- a) 在盛装医疗废物前，应当对医疗废物包装物或者容器进行认真检查，确保无破损、渗漏和其他缺陷。
- b) 废血要用容器封存，专用垃圾袋包装，确认无渗漏后再行处理。
- c) 含有细菌、病毒的污水污物应先进行高温高压灭菌消毒后，再用专用垃圾袋包装处理。
- d) 废液的处理，应符合国家的相关规定，根据废液的性质进行正确处理。

8.4 物料耗材与仪器设备管理

8.4.1 物料耗材管理

8.4.1.1 细胞库所用物料耗材需从具有专业资质并经过验证核实的供应商处采购，且具备检验合格证明文件。物料的采购信息应具有严格的记录登记制度。

8.4.1.2 物料耗材包装应保证完整无破损，入库时严格进行分区，待抽检结果合格后方可出库使用。对于储存条件和有效期，应具有定期的审查制度和特殊情况下的应急预案，并具有记录登记文件。

8.4.1.3 细胞库应具有物料耗材管理系统和相应的信息管理系统。

8.4.1.4 库存管理应符合细胞库的工作实际，在具备一定量储备的同时，避免长期积压导致的效力下降或过期使用。

8.4.1.5 物料的使用应具有严格的文件记录制度，包括物料的标识、使用范围、使用时间出入库等信息。物料的信息要做到可溯源审核。

8.4.2 仪器设备管理

8.4.2.1 建立设备管理程序及标准操作程序，操作人员在操作前进行相应理论教育与实际技能的培训。

8.4.2.2 应由专人进行维护、管理，设备的运行状态应进行明确标识

8.4.2.3 当设备出现故障或性能无法达到工艺要求时，需进行维修、升级或报废。

8.5 文件管理

细胞库应制定相应的质量体系文件并受控管理，包含质量手册、管理性文件、标准操作文件与相关记录。所有文件记录按照相关法律法规要求双人审核签字。产生的所有原始文档和电子文档的形式进行保存，并建立相应的管理规程。

8.6 质量控制

8.6.1 应对样本采集、细胞制备与冻存、入库和出库全过程进行质量控制。

8.6.1.1 样本入库、出库前，质量控制负责人应对样本进行质量评价，保证样本符合质量要求。

a) 样本的质量评价应包括：主要制备生产工艺和质量控制检验方法的验证；综合考虑实际生产条件和保证生产质量必需的检查、检验；所有必需的生产记录和质量控制记录填写的完整性及经相关人员签名及复核；对变更或偏差处理完成所有必要的取样、检查、检验和审核；所有与该样本有关的偏差均已有明确的解释说明或者已经过彻底调查和适当处理情况；如偏差还涉及其他样本，应当一并处理。

b) 细胞样本必须经过质量控制责任人审核，符合规定要求和质量标准的细胞方可入库、出库。

8.6.1.2 制订、验证和实施所有质量控制操作规程。严格按照操作规程执行操作管理并做好相关记录。

8.6.1.3 免疫细胞操作环境和储存环境条件由专人进行监控和维护，并形成记录。

8.6.1.4 质量控制区应当与生产区分开。实验室的设计应当确保其适用于预定的用途，并能够避免混淆和交叉污染，应当有足够的区域用于样品处置、留样和稳定性考察样品的存放以及记录的保存。

8.7 信息化管理

8.7.1 样本实时监控

应安装温湿度检测仪实时检测样本的储存环境是否正常，异常情况时自动启动报警系统装置，及时通知相关管理人员进行处理。储存室摄像头实时监控整个环境，保障样本的安全入库及出库。

8.7.2 数据规范

8.7.2.1 总则

样本编码规范统一，格式规整，数据完整可溯源。应对每一个录入数据库的样本设置唯一的ID，对原始样本ID和新增录入ID进行跟踪。细胞库接收没有标记的样本时，每个样本容器都必须标上含有样本编码的条形码。细胞的编码应遵循唯一性的总原则。在满足总原则的基础上，应精简，长度保持统一。

8.7.2.2 编码规则

样本的编码由区域代码、类型代码、年份、流水号、分管号五部分组成，具体的编码规则见附录E。

8.7.3 信息安全

信息管理系统应根据不同工作人员的职责设置不同的管理和访问权限，确保信息安全。所有数据和修改均具有可追溯性。所有数据（除纸质原件）集中存储于服务器并应定期维护和备份，信息管理系统应建立安全保障，防止黑客入侵、计算机病毒传播、数据损坏等意外情况。

8.7.4 信息化管理系统

8.7.4.1 应有统一和完整的信息系统或数据库用于样本信息的记录与储存，并满足样本追踪、检索的需求。

8.7.4.2 所有样本信息（采集、处理、储存、使用信息、捐赠者相关信息）和体检及临床信息都应在信息系统中记录。

- 8.7.4.3 所有记录应分别进行纸质和电子版归档。纸质记录应用标签分类存放，电子版记录应汇编成表格类的形式存储，以便快速的数据检索和多属性的组合查询，获取实时及历史实验记录。
- 8.7.4.4 应根据实际需求制定备份周期，按周期对样本信息与数据进行备份，以应对信息和数据的意外损坏，并及时进行异地备份与历史备份。
- 8.7.4.5 细胞库的信息管理系统宜与其他相关的数据系统兼容或关联，以便共享样本信息和数据。

附 录 A
(资料性附录)
知情同意书示例

免疫细胞储存项目知情同意书

尊敬的先生/女士：

免疫细胞（Immune Cell）是白细胞的俗称，包括淋巴细胞和各种吞噬细胞等，也特指能识别抗原、产生特异性免疫应答的淋巴细胞等。免疫细胞是人体内清除各种细菌，病毒和肿瘤的细胞，维持人体的健康，简单的说免疫细胞是人体的国防军，在细胞疫苗、过继免疫细胞治疗、免疫调节及抗感染领域具有广泛的应用前景。

本项目由 XXX 发起，面向健康成年人，从样本提供者抽取的外周血中提取免疫细胞并于气相液氮（-135℃至-196℃）环境中进行为期二十年的储存。

供者资格：①身体健康；②采集前三个月血清学传染病五项（乙肝、丙肝、梅毒、艾滋、谷丙转氨酶）检测报告合格。

1.采集：

- 在指定机构手工采集外周血 80mL-100ML，采集所得的免疫细胞群用于纯化 PBMC（外周血单个核细胞）并储存，依据个人身体状况采血量可能会略微增加。
- 采集血液 10mL，用于病毒检测，一周内出报告，结果合格方可参与本项目。

2.您享有的权益：自由、自愿选择将您的免疫细胞储存在 XXX 细胞中心（以下简称细胞中心）；若决定退出，本中心将终止储存您的样本并对它进行统一处理，此举不会对您的医疗或者其他方面的利益造成损失。

3.您需要做的事：告知本中心需要了解的有关自身或家族史、当前身体状况、是否正在使用某些药物、曾经是否参与其他研究、目前是否正参与其他研究等信息。

4.受益：储存期间，如果您在临床治疗上需要用到该份细胞，本中心将为您提供细胞复苏服务。

5.风险与不适：

- 抽取血液样本，本中心按照医院常规采血流程进行，若出现不适，将按照医院常规方法处理；
- 存在样本制备失败的风险，属一般技术性风险，处理方式见合同。

6.隐私和保密：您的样本将以样本编号的方式而非您的姓名进行标识。您的个人信息均属保密，我们不会向任何人和机构透露，政府强制的命令除外。此知情同意书只依法供 XXX 生命伦理委员会或政府管理部门查阅。

7.疑问诉求：如果您有任何关于项目的疑问，可现在向本中心提出。如果将来您还有什么问题，请联系：

XXX 生命伦理委员会，邮箱：XXX，地址为 XXX。

XXX 细胞中心：电话 XXX，邮箱 XXX，网站 XXX，地址为 XXX。

* 8.退出：您可在任何时候无需提供任何理由单方面决定退出该项目。您不能自行转移样本。决定退出本项目时，您需提前一个月以书面方式或其他能记录的方式告知细胞中心。对于样本，您需以书面方式提出申请并提交细胞中心进行备案后，由我们予以统一处理(选择其中一项打√，如未选择默认按 A 项处理)：

☐A.无偿捐赠予 XXX；☐B.按《医疗废弃物管理条例》统一销毁。

* 告知声明

我已告知该样本提供者可能的风险及获益情况，给予他/她足够的时间阅读、与他人讨论知情同意书，并解答了其相关的问题；我已告知该样本提供者当遇到与自身权利/权益相关问题时可随时与 XXX 生命伦理委员会联系，并提供了准确的联系方式；我已告知该样本提供者本知情同意书一式两份，他/她将得到签名后的一份知情同意书，上面包含我和他/她的签名。

样本接收者签字

日期

* 知情同意声明

我已详细阅读了知情同意书，项目专员已向我作了详尽的说明，我完全了解参加本次样本储存的目的、我的权益和风险等，并确保个人信息是保密的。

我自愿参加本次样本储存，并同意按照本知情同意书的内容配合细胞中心人员的操作，认真完成本次样本储存。本知情同意书一式两份，我将得到签名后的一份知情同意书。

样本提供者签字

日期

当样本提供者本人无民事行为能力时，由其法定监护人代知情同意的权利和责任，并在下方签名确认。

样本提供者法定监护人签名

日期

与本人的关系

如未能提交三个月内的血液检测报告复印件，则需另外采集血液 10mL 用于病毒检测，并在以下栏目签字。

知情同意声明

我已详细阅读了知情同意书，项目专员已向我作了详尽的说明，我完全了解样本采集的目的、我的权益和风险等，并确保个人信息是保密的。并同意本人的血液样本用于病毒检测。

我自愿参加本次样本采集，并同意按照本知情同意书的内容配合细胞中心人员的操作，认真完成本次样本采集。本知情同意书一式两份，我将得到签名后的一份知情同意书。

样本提供者（签字）

日期

（血液样本）

附 录 B
(资料性附录)
供者健康信息采集表

表B.1给出了供者健康信息采集表。

表 B.1 供者健康信息采集表

参与者信息			
姓名		年龄/出生日期	
国家民族		过往疾病	☐ 有_____ ☐ 无
身份证号码		联系电话	
联系地址		联系邮箱	
血液检测信息			
血型	☐ A ☐ B ☐ O ☐ AB	RH	☐ + ☐ -
血常规	Hb(血红蛋白) g/L; WBC(白细胞) X109/L; PLT(血小板) X109/L		
HBsAg(乙肝病毒表面抗原)	☐ + ☐ -	HBcAg(乙肝病毒 e 抗原)	☐ + ☐ -
HBsAb(乙肝病毒表面抗体)	☐ + ☐ -	HBcAb(乙肝病毒 e 抗体)	
HBcAb-IgG (乙肝病毒核心抗体 IgG)	☐ + ☐ -		
HCV-Ab (丙肝病毒抗体)	☐ + ☐ -	HIV-Ab(I+II) (免疫缺陷病毒抗体)	☐ + ☐ -
TPPA 梅毒螺旋体特异性抗体		谷丙转氨酶(ALT)	
备注			

附 录 C
(资料性附录)
PBMC制备步骤

PBMC的制备步骤见以下:

- 1) 将血袋中的血转移到离心管中, 使用经灭菌消毒的剪刀剪断塑料管, 小心把袋中的外周血倾倒入离心管中, 将外周血袋热合封口。
- 2) 离心分离出血浆, 2000rpm, 10min, 室温离心。
- 3) 离心完毕后分层, 吸取上层血浆层到离心管中, 贴上血浆编码标记暂于 4℃保存。
- 4) 下层血细胞稀释: 用生理盐水按 1:1 的比例稀释血细胞, 混匀。
- 5) 铺层加样: 将稀释的血液样本缓慢匀速的加入到盛有室温的淋巴细胞分离液上方, 两者比例约为 1:1, 铺层的整个过程都应注意不能打破淋巴分离液与血液样本的分界面。离心: 2000rpm, 20min, 室温, 慢升慢降。
- 6) 提取单个核细胞: 离心完毕后, 离心管内出现明显分层, 由下到上分别为: 红细胞层、粒细胞层、ficoll 层、单个核细胞层、血浆生理盐水层。吸取血浆生理盐水层弃之, 直至距白膜层 5mm 处, 小心将红细胞层之上的白膜层转移至 50ml 离心管中, 补充生理盐水, 细胞悬液与生理盐水比例大于 1:3, 混匀。
- 7) 离心: 2000rpm, 10min, 室温。
- 8) 离心完毕后弃掉上清液, 用 40ml 生理盐水重悬细胞沉淀, 混匀, 取 0.5ml 混匀悬液计数。离心: 1500rpm, 10min。
- 9) 离心完毕后收集上清液留作无菌检测, 细胞沉淀即为目的细胞。
- 10) 以《中国药典》、《中国 GMP 实施指南》等为指导, 针对前体细胞-外周血单个核细胞 (PBMC) 的分离、冻存、表型鉴定和功能检测等过程。

附 录 D
(资料性附录)
PBMC冻存步骤

PBMC的冻存步骤见以下:

- 1) 收获细胞, 将其制成细胞悬液, 取少量细胞悬液进行计数后离心。
- 2) 配置冻存液: 根据上一步的细胞计数结果计算冻存液用量, 将 DMSO 与自体血浆按照 1:9 的比例混合, 混合液即为冻存液。将配好的冻存液放入 4℃ 冰箱中降温待用。
- 3) 离心后获得细胞沉淀, 弃掉上清。加入适量的低温冻存液, 使最终的细胞冻存密度在 $8 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7/\text{mL}$ 。
- 4) 分装: 将冻存终细胞悬液分装到 2ml 冻存管中, 每管 1mL。
- 5) 贴标签, 封口: 将分装后的冻存管贴上细胞编码标签, 并在冻存管口封上封口膜。
- 6) 将封口后的冻存管放入程序降温盒中, 并转移到 -80℃ 冰箱中过夜。
- 7) 次日将程序降温盒中的细胞转移到气相液氮罐中或者细胞库中, 按照细胞上的编码依次排列入库并填写入库记录: 将冻存细胞批号、编码、冻存日期、冻存数量及细胞入库的位置等信息填入冻存位置示意图。
- 8) 处理程序降温盒: 用完后的程序降温盒先去除表面细胞编码标签, 再放入 4℃ 冰箱储存。使用 5 次后更换程序降温盒内的异丙醇。

附 录 E
(资料性附录)
样本入库编码规则

人类血液来源免疫细胞入库样本编码规则由区域代码（大写英文字母）+样本类型代码（两位数）+年份（四位数）+样本流水号（四位数）+分管号（四位数）组成，具体规则如下。

- a) 区域代码：区域代码由一位大写英文字母组成，具体指代方式可根据免疫细胞库规模来确定。如 A 代表深圳实验室、B 代表广州实验室。
- b) 类型代码：样本类型代码由 2 位阿拉伯数字组成，用以区分免疫细胞类型。
- c) 年份：年份由公历年份的 4 位数字组成。如 2013 代表 2013 年。
- d) 流水号：流水号为若干位阿拉伯数字组成，具体位数可根据年度收样计划来确定。如每年计划收集样本数量为百万级，流水号的位数可设置为 7 位。
- e) 分管号：由若干位阿拉伯数字组成。如 0002 表示某份样本的第 2 管。

示例见下图 E.1：A04201500010002。

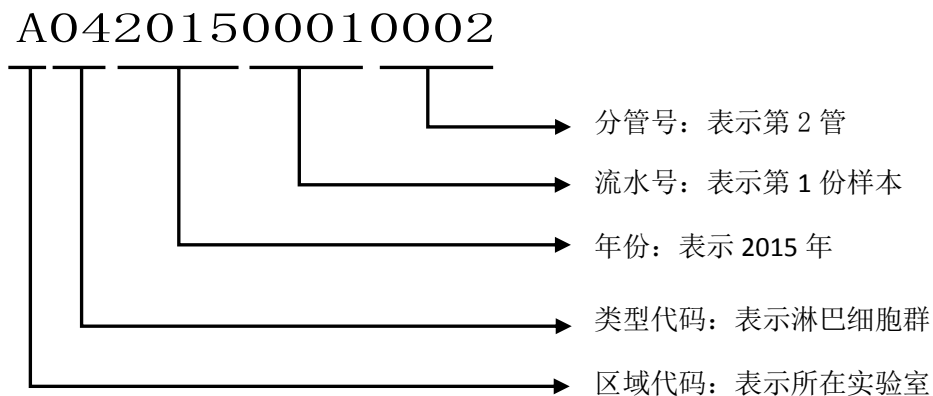


图 E.1 样本入库编码示意图

参 考 文 献

- [1] 《医药工业洁净厂房设计规范》
 - [2] 《药品生产质量管理规范》
 - [3] 《医疗技术临床应用管理办法》
 - [4] 《WHO生物安全手册》
 - [5] 《Benefits of a comprehensive quality program for cryopreserved PBMC covering 28 clinical trials sites utilizing an integrated, analytical web-based portal》
 - [6] 《中国GMP实施指南》
 - [7] 《世界卫生组织采血指南》
 - [8] 《涉及人的生物医学研究伦理审查办法（试行）》
 - [9] 《中华人民共和国特种设备安全法》
 - [10] 高东英.GB 18467-2011, 献血者健康检查要求[S].北京：中华人民共和国卫生部，2011.
 - [11] 《中华人民共和国传染病防治法》
 - [12] 《中国医药生物技术协会生物样本库标准(试行)》
 - [13] 《血站管理办法》
 - [14] 《药品注册管理办法》
-