

### 人间充质干细胞库建设与管理规范

Construction and management standard of human mesenchymal stem cell bank

(报批稿)

201X - XX - XX 发布

201X - XX - XX 实施



## 目 次

前 言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语与定义 .....	1
4 生命伦理 .....	4
5 人间充质干细胞库建设 .....	5
6 机构设置 .....	6
7 操作规范 .....	7
8 干细胞库管理 .....	13
附录 A（资料性附录） 供者健康调查和采集登记表 .....	20
附录 B（资料性附录） 人间充质干细胞库整体操作流程 .....	21

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由浙江省卫生和计划生育委员会提出并归口。

本标准起草单位：杭州易文赛生物技术有限公司、浙江省易文赛细胞药物和制品研究院。

本标准主要起草人：吴晓星、潘若浪、董伟仁、杜雯林、李亚洲、陈茜。

# 人间充质干细胞库建设与管理规范

## 1 范围

本标准规定了人间充质干细胞库、胎盘组织造血干细胞库的建设、操作规范和质量管理的的基本方法。本标准适用于人间充质干细胞库、胎盘组织造血干细胞库建设与管理。

## 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。

- GB 2894 安全标志及其使用导则
- GB 3095 环境空气质量标准
- GB/T 5458 液氮生物容器
- GB 7000.2 应急照明灯具安全要求
- GB/T 12905 条码术语
- GB 13690 化学品分类和危险性公示通则
- GB 15258 化学品安全标签编写规定
- GB/T 17172 417 条码
- GB/T 18347 128 条码
- GB/T 18883 室内空气质量标准
- GB 19489 实验室生物安全通用要求
- GB 19652 放电灯（荧光灯除外）安全要求
- GB/T 20269 信息安全技术信息系统安全管理要求
- GB/T 22278 良好实验室规范原则
- GB 50016 建筑设计防火规范
- GB 50034 建筑照明设计标准
- GB 50052 供配电系统设计规范
- GB 50140 建筑灭火器配置设计规范
- GB 50346 实验室建筑技术规范
- GB 50351 储罐区防火堤设计规范
- GB 50591 洁净室施工及验收规范
- AQ 3013 危险化学品从业单位安全标准化通用规范
- 《危险化学品安全管理条例》（国务院令第 591 号）
- 《药品生产质量管理规范》（卫生部令第 79 号）
- WHO Third Edition 实验室生物安全手册

## 3 术语与定义

下列术语与定义适用于本标准

3.1

**人间充质干细胞库 human mesenchymal stem cell bank**

用于储存人间充质干细胞及胎盘组织造血干细胞的专门机构。

3.2

**样本 specimen**

在特定时间从受试者或捐献者处获得的器官、组织、月经血等标本。

3.3

**样本接收室 sample reception room**

样本到达时用于初步检查、清点接收、核对信息、贴签分类或样本预处理前的区域。

3.4

**干细胞制备室 stem cell preparation room**

用于从样本中提取、分离和培养干细胞的专门区域。

3.5

**配液室 medium preparation room**

用于配置在细胞采集、分离、制备与储存等全过程中所需相关试剂的专门区域。

3.6

**检验室 test room**

用于检验干细胞形态、微生物、内毒素、活性、分子标志物等干细胞质量与特性的专门区域。

3.7

**干细胞存储室 stem cell storage room**

为干细胞提供符合低温保存条件的专门区域。

3.8

**样本编码 sample coding**

根据编码规则对样本进行编号的过程。

3.9

**干细胞质量控制 stem cell quality control**

为达到干细胞入库质量要求所采取的技术操作过程和相关行为活动。

3.10

**干细胞分离 cell isolation**

从机体器官或组织中分离出干细胞的过程。

## 3.11

**干细胞制备 stem cell preparation**

干细胞样本经过一系列规范处理达到入库标准的过程。

## 3.12

**原代培养 primary culture**

直接从机体取下器官、组织或细胞后立即进行的培养过程。

## 3.13

**传代培养 subculture**

当原代培养成功后，将细胞重新接种到新的培养器皿的培养基中进行的培养过程。

## 3.14

**干细胞冻存 stem cell cryopreservation**

使干细胞暂时脱离生长状态而低温保存其细胞生物特性的方法。

## 3.15

**干细胞复苏 stem cell thawing**

使干细胞从脱离生长状态重新获得生长活力的方法。

## 3.16

**液氮箱 liquid nitrogen container**

用于储存细胞的一种深低温冷冻设备。

## 3.17

**冻存管 tube**

在细胞冻存过程中用于储存细胞的无菌小管。

## 3.18

**压力容器 pressure vessels**

指盛装气体或液体，承载一定压力的密闭设备。

## 3.19

**生物危险 biohazard**

因生物因子导致的直接或潜在的危险。

3.20

**实验室生物安全** *laboratorial biosafety*

实验室的生物安全条件和状态不低于容许水平，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，符合相关法规、标准等对实验室生物安全责任的要求。

3.21

**化学安全** *chemical safety*

使用化学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。

3.22

**知情同意** *informed consent*

具有完全民事行为能力的人，在充分获取信息和理解其内容后作出的自愿参与研究的决定，并签署书面知情同意书的过程。

3.23

**生命伦理** *bioethics*

生命科学和卫生保健领域人行为的道德规范和原则。

3.24

**伦理审查委员会** *ethical review committee*

负责对科学研究中涉及的伦理道德问题，供者权益问题进行评估和审查的专门组织。

3.25

**科学审查委员会** *scientific review committee*

负责对生物样本采集、干细胞制备、保存、运输与使用等方案进行科学性审查的专门组织。

3.26

**生物安全委员会** *institutional biosafety committee*

负责指导、评估、监督细胞库的生物安全相关事宜的专门组织。

**4 生命伦理**

**4.1 签署知情同意**

人间充质干细胞库的工作人员应当对风险及收益进行有效评估，确保样本提供者或其近亲属对项目信息在当时科学技术条件下充分知情、形成全面和准确的认识，自愿做出是否同意采集样本的决定，并签署知情同意书。



## 4.2 隐私保护措施

研究人员、医务人员、管理人员应当对样本提供者的个人信息采取保密措施，防止有意或意外泄露，若确需提供信息，需要经有关申请程序并提交伦理委员会批准同意后方可实施。

## 4.3 提供安全保护

研究人员或相关医务人员在获取样本的过程中尽可能控制风险，保护供者及样本安全。

# 5 人间充质干细胞库建设

## 5.1 场地要求

5.1.1 建设场地应选择周围环境较好的工业区域或其他区域，空气质量标准应符合 GB 3095 标准分级二级标准。

5.1.2 场地不应建设在将要拆迁的建筑，易发生自然灾害（地震、洪水、海啸等）的地区，以及市政规划不明确区域。

## 5.2 建设要求

5.2.1 人间充质干细胞库功能区建设与设计应与 GB 19489、GB 50346、GB 50591 规定相符

5.2.2 干细胞库功能区应包括业务区与办公区。业务区包括：样本接收室、干细胞制备室、配液室、检验室、干细胞存储室、更衣室、缓冲室、物料存储室、医疗垃圾存放室和消毒清洗室等，每个区域应标识洁净和风险级别。办公区包括办公室、会议室、档案室和监控室等。

5.2.3 人间充质干细胞库洁净区、非洁净区完全分开。办公区域的通风系统应与实验区域的通风系统独立分开，以确保两个区域的空气质量互不影响。不同洁净度等级房间之间应设有防污染措施，如缓冲间、气闸室和传递窗等。

5.2.4 人流通道和物流通道独立设置，避免混杂和交叉污染。

5.2.5 物料及废弃物应设专用传递窗，传递窗应具备消毒灭菌功能。

5.2.6 办公区域与实验区域应进行物理隔离，工作人员由专用通道进入实验区。

5.2.7 洁净室内的密闭门应朝空气洁净度较高的房间开启并加设闭门器，无窗洁净室的密闭门上宜设观察窗。不同等级的洁净室以及洁净区与非洁净区之间的压差，应不小于 5Pa，洁净区与室外的压差，应不小于 10Pa。

5.2.8 人干细胞库建设用材料应防渗漏、防火、耐腐蚀、防水和不起尘等，易于清洁和消毒灭菌。

5.2.9 人干细胞库内所有窗户应为密闭窗，玻璃耐撞击、防破碎。

5.2.10 洁净室内不宜安装水池和地漏。

## 5.3 设施与设备

### 5.3.1 消防设施

人干细胞库消防系统设计应符合 GB 50016 要求。洁净区技术夹层、非洁净区宜安装火灾自动烟感报

警装置、消防疏散警示标识、紧急逃生通道和安全出口（全封闭的玻璃门，并备有安全锤），安全出口设计应能够使仪器设备进出。

### 5.3.2 通风及空调设施

通风系统应符合GB/T 18883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。实验室空调系统应符合GB 19489的规定，有足够的温度和湿度控制。100级，10000级区域一般控制温度为20℃～24℃，相对湿度为45%～60%，100000级区域一般控制温度为18℃～28℃，相对湿度为50%～65%。

### 5.3.3 监控系统

应满足实时监控、记录和存储有控制要求的参数、关键设施设备的运行状态，包括液氮系统、冰箱等冷链系统以及细胞培养设备、电力系统等；应能监控、记录和存储故障的现象、发生时间和持续时间；应可以随时查看记录。

### 5.3.4 门禁系统

人干细胞库入口应设置门禁，保证授权后双人双锁进入干细胞储存库。

### 5.3.5 照明系统

人干细胞库的照明系统设计应符合GB 50034、GB 19652、GB 7000.2要求。核心功能区的照度应不低于350 lx，其他区域的照度应不低于200 lx，宜采用吸顶式防水洁净照明灯，应避免过强的光线和光反射。

### 5.3.6 电力供应系统

人干细胞库供电系统设计应符合GB 50052的规定。程控降温设备、低温冷冻设备、生物安全柜、送风机和排风机、照明、自控系统、监视和报警系统等，即断电直接影响干细胞质量的设备应配备不间断备用电源，电力供应应至少维持30min。

### 5.3.7 报警系统

应能对人干细胞库安全故障进行报警，报警应区分一般报警和紧急报警，且报警信号能够实时传送至责任人。

## 6 机构设置

### 6.1 伦理审查委员会

6.1.1 人间充质干细胞库应设有伦理审查委员会。伦理审查委员会由伦理学、医学、生物学、法学等专家以及无利害关系的社区代表人员组成。

6.1.2 伦理审查委员会对人间充质干细胞库相关伦理问题进行审查和评价。伦理审查委员会负责建立干细胞库的伦理准则和相应的操作规范，并在科学的前提下对样本相关研究项目或其他使用方案进行伦理审查，对已通过审查的项目或正在进行的项目进行伦理监督与审查，以保护样本提供者的权益和安全。

### 6.2 科学审查委员会

6.2.1 人间充质干细胞库应设有科学审查委员会。科学审查委员会由生物学、医学、药学等领域专家组成。

6.2.2 科学审查委员会应负责对样本采集、干细胞制备、保存、运输与使用等方案进行科学性审查。

### 6.3 生物安全委员会

6.3.1 人间充质干细胞库应设有生物安全委员会。生物安全委员会由生物学、医学、技术人员、实验室质量管理人员等各方面的专家和工作人员组成。

6.3.2 生物安全评审委员会负责对干细胞库的生物安全制度、安全操作规范进行审查。

## 7 操作规范

### 7.1 总则

人组织样本采集、运输、接收、分离、培养、冻存和复苏等涉及干细胞操作所有过程应制定相应标准和管理规范，符合GB/T 22278要求，并严格按照标准和规范执行。干细胞样本采集由专业的医护人员完成，样本制备由经过专业培训的人员完成。

### 7.2 样本采集场所

7.2.1 人组织样本的采集场所一般为洁净手术室，无菌采集。

7.2.2 人月经血样本和乳牙样本的采集场所无洁净级别要求，但需保持个人基本卫生。

7.2.3 新生儿脐带、胎盘、骨髓样本的采集场所应达到II级洁净手术室要求。

7.2.4 脂肪组织样本的采集场所需达到III级洁净手术室要求。

### 7.3 样本采集方法

#### 7.3.1 新生儿脐带来源间充质干细胞

7.3.1.1 胎儿分娩后，在距胎儿脐部5cm至8cm处，用止血钳分别夹住脐带上下两端，消毒剂消毒脐带。

7.3.1.2 用消毒剪刀于两钳中间断脐，截取至少15cm无针孔的脐带置于无菌采集瓶中，同时加入保存液以浸没脐带组织。贴条形码作为唯一标识。

7.3.1.3 脐带的两端需要用手术线结扎。

#### 7.3.2 新生儿胎盘来源间充质干细胞或造血干细胞

7.3.2.1 胎儿娩出后，待胎盘与母体完全分离，用生理盐水充分清洗胎盘，再用75%医用酒精快速冲洗表面。

7.3.2.2 迅速将胎盘放入胎盘采集盒，再加入保存液予以全部浸没。

7.3.2.3 采集盒密闭包装，并贴上条形码作为唯一标识。

#### 7.3.3 人脂肪来源间充质干细胞

7.3.3.1 脂肪组织采集过程由整形外科医生实施，需制定抽脂方案和术前术后的防感染措施。

7.3.3.2 行脂肪抽吸术时应尽可能保证抽脂过程无菌，采集完毕转移至采集瓶中，确保密封，并贴上条形码作为唯一标识。

#### 7.3.4 人骨髓来源间充质干细胞

7.3.4.1 骨髓组织采集前应联系负责骨髓采集医师，制定骨髓穿刺方案和术前术后的防感染措施。

7.3.4.2 行骨髓穿刺术，抽取骨髓液，即时转移至无菌采集瓶中保存，确保密封，并贴上条形码作为唯一标识。

#### 7.3.5 人子宫内膜来源间充质干细胞

7.3.5.1 组织来源：手术切除成年女性子宫内膜增厚组织或子宫内膜异位组织，置于采集液中保存，并贴上条形码作为唯一标识。

7.3.5.2 月经血来源：成年女性月经期第二天开始采集，将月事杯消毒后置于阴道内，收集月经血。约6h~10h将收集满月经血后的月事杯取出，将月经血转移至采集液中保存，并贴上条形码作为唯一标识。

#### 7.3.6 人乳牙来源间充质干细胞

7.3.6.1 收集没有牙体和牙髓病变、自然脱落的乳牙。

7.3.6.2 将乳牙置入采集液中保存，并贴上条形码作为唯一标识。

### 7.4 样本运输

7.4.1 运输装置在设计与用材上须防渗漏、防辐射、抗震动、耐压、耐热等，并标识清楚。

7.4.2 新生儿脐带或胎盘、人脂肪、骨髓、子宫内膜和乳牙样本的运输温度为2℃~8℃，运输时间不超过36h。

7.4.3 运输须采用平稳、安全、快速的运输途径。

7.4.4 运输人员应是经过培训合格的专门人员。

### 7.5 样本接收

7.5.1 样本接收应遵从安全与准确的原则，做到样本与供者一一对应。

7.5.2 样本接收时，应做好自我防护工作，接触样本之前应佩戴手套与口罩。

7.5.3 接收样本后应先观察样本容器外包装的外观，检查有无破损并记录。

7.5.4 检查外观后，工作人员再检查样本采集信息记录表是否齐全，同时确认记录表上信息已经填写完整，检查信息记录表信息是否与样本信息一一对应，样本及记录表上应贴有一致对应的条形码，确认无误后进行接收。

7.5.5 样本接收后，使用医用酒精消毒清理容器外表面，如不能及时对样本进行处理，需把样本保存在2℃~8℃条件下，最长时间不超过12h。

7.5.6 样本量应能够满足制备方和检测方的最低要求。

7.5.7 样本接收后应及时将信息反馈给样本发送方。

7.5.8 干细胞库应制定样本拒收标准，按照样本拒收标准拒收样本，并及时通知有关部门或负责人，同时做好相应记录。

## 7.6 人间充质干细胞分离与原代培养方法

### 7.6.1 新生儿脐带间充质干细胞

新生儿脐带组织剥取华通氏胶，以组织块贴壁法或胶原酶消化法分离新生儿脐带间充质干细胞，使用贴壁法进行原代培养。

### 7.6.2 新生儿胎盘间充质干细胞

去除胎盘羊膜及母体面组织，剪取脐带近端的胎盘组织以酶消化法分离胎盘间充质干细胞，贴壁法进行原代培养。

### 7.6.3 新生儿胎盘造血干细胞

去除胎盘羊膜及母体面组织后，将剩下的胎盘组织剪碎至糜状，再用胶原酶消化获取有核细胞，经分离纯化步骤后进一步获得造血干细胞。

### 7.6.4 人脂肪间充质干细胞

成人脂肪组织剪碎至糜状，以胶原酶消化法分离脂肪间充质干细胞，贴壁法进行原代培养。

### 7.6.5 人骨髓间充质干细胞

人骨髓液样本，以密度梯度离心法分离骨髓间充质干细胞，贴壁法进行原代培养。

### 7.6.6 人子宫内膜间充质干细胞

子宫内膜组织样本通过胶原酶消化法分离子宫内膜干细胞，贴壁法进行原代培养。月经血样本以密度梯度离心法，通过人淋巴细胞分离液获取子宫内膜干细胞，贴壁法进行原代培养。

## 7.7 干细胞换液

为了确保干细胞生长所必需的营养水平和消除代谢物毒害作用，换液需根据干细胞生长情况及培养基状态进行综合判断，换液操作通常是移走培养瓶中原有的部分或全部培养液，再加入新鲜培养液。首次换液需要在镜下观察到原代细胞完全贴壁和延展后方可进行，不得超过一周。换液操作需符合GMP要求。

## 7.8 干细胞传代

原代干细胞一般在达到80%~90%融合度可进行传代操作，传代操作应即时、迅速、密度适宜。整个操作应符合GMP要求，并有严格的质量控制措施，保证无外源微生物污染。

## 7.9 干细胞质量检验

### 7.9.1 存储质量检验及基本要求

7.9.1.1 人干细胞入库储存前应完成相应的质量检验，达到质量要求的方能入库存储。

7.9.1.2 人间充质干细胞存储质量基本要求如表 1。

表1 人间充质干细胞存储质量基本要求

质量指标	最低标准	检验方法
细胞形态	贴壁生长，伸展呈长梭形，形态均一	显微镜下观察
细胞数量	每毫升 $1 \times 10^6$ 个细胞，每管1毫升	参照《全国临床检验操作规程》第3版白细胞计数方法执行
细胞活率	不得低于90%	台盼蓝拒染法
微生物检测	细菌和真菌检测结果应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版四部通则1101无菌检测法执行
支原体	结果应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版四部通则3301支原体检查法执行。
内毒素	$\leq 0.5$ EU/ml	参照中国药品检验标准操作规程2010版细菌内毒素检查法执行。
病毒检测	HIV 抗体、HBsAg、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM、HTLV 抗体、EBV 抗体检测应为阴性； HCV、HBV、HIV 病毒核酸检测应为阴性。	血清 ELISA 检测 核酸检测
细胞表型	CD73、CD90 和 CD105 阳性率不低于 95%；CD45、CD34、CD14、CD19 和 HLA-DR 阳性率不高于 2%。	采用流式细胞术进行测定
染色体核型	染色体数量应为 46，XX/XY，无染色体缺失、异位和重排现象	采用 G 带分析法进行测定
三系分化能力	在体外条件培养基诱导培养下，能够分化成脂肪、成骨和软骨细胞	采用国际惯用（条件培养基）方法

7.9.1.3 人胎盘造血干细胞存储质量基本要求如表 2。

表2 人胎盘造血干细胞存储质量基本要求

质量指标	最低标准	检验方法
有核细胞数量	总数应不少于 $5 \times 10^8$ 个	参照《全国临床检验操作规程》第3版血细胞自动分析仪检测有核细胞数量

表2 人胎盘造血干细胞存储质量基本要求（续）

质量指标	最低标准	检验方法
细胞活率	应不低于90%	采用台盼兰拒染法检测
微生物检测	细菌和真菌检测结果应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版 四部通则1101无菌检测法执行
支原体	结果应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015年版 四部通则 3301 支原体检查法执行。
CD34阳性细胞数	不得小于 0.2%	采用流式细胞术进行测定
内毒素	≤0.5EU/ml	参照中国药品检验标准操作规程 2010 版细菌内毒素检查法执行。
病毒检测	HIV 抗体、HBsAg、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM、 HTLV 抗体、EBV 抗体检测应为阴性； HCV、HBV、HIV 病毒核酸检测应为阴性。	血清 ELISA 检测 核酸检测
集落形成	应检测到 CFU-GM 造血细胞集落生成	采用甲基纤维素半固体培养法进行验证

### 7.9.2 质检报告出具

质量控制人员根据检验结果，出具质量检测报告。干细胞质量应制定不合格标准，判定为合格的干细胞按照规范流程入库。判定为不合格的干细胞，需经过不合格干细胞处置流程，作医疗废物处理。

### 7.10 干细胞冻存

干细胞制备达到要求的细胞系可进行冻存操作，冻存细胞需加入适当的冷冻保护液，遵循程序降温原则，该操作应符合 GMP 要求，并有严格的质量控制标准和要求，保证无外源微生物污染。

### 7.11 干细胞入库

干细胞入库前，微生物等其他检测结果滞后，此时应在不影响细胞质量的前提下对干细胞进行低温（-80℃）暂时储存，待确认所有检测结果合格后，方可将细胞置于液氮箱内进行长期储存。储存时工作人员需做好低温防护措施（如佩戴抗冻手套、面罩等），将经程控降温的干细胞放入指定位置，置于液氮箱（-196℃~-135℃）长期储存，并有严格的过程控制，记录完整，及时将信息录入、档案填写。

### 7.12 干细胞复苏

自液氮容器中取出冻存管，检查盖子是否旋紧。将冻存管立即投入37℃~42℃水浴锅中，轻摇冻存管使其在1min内全部融化，以75%酒精擦拭冻存管外部，移入无菌操作台内。转移干细胞悬液至含有培养基（生理平衡缓冲液）的离心管内，离心洗涤后加入新鲜培养基重悬干细胞，将细胞转移至培养瓶，放入CO<sub>2</sub>培养箱培养。冻存管内复苏的细胞活率应不低于75%。

## 7.13 干细胞出库

## 7.13.1 使用出库

7.13.1.1 临床研究或其他需要使用干细胞时，应由伦理审查委员会、科学审查委员会以及生物安全委员会就干细胞使用的伦理道德、供者权益、使用方案安全性与科学性等问题，进行全面评估与审核。通过审核方能出库使用。同时应保证细胞供者对细胞出库情况完全知情并签订同意书的条件下，完成出库流程。

7.13.1.2 干细胞出库时，由出库操作人员严格按照出库标准操作出库。出库流程符合 GMP 管理要求，质控人员需监督出库过程，填写细胞出库记录，样本数据管理系统中录入出库信息。

7.13.1.3 储存的干细胞需要定期检查出库的情况，由出库操作人员严格按照出库标准操作出库，质控人员监督出库过程，填写细胞出库记录，更新样本数据，样本数据管理系统中录入出库信息。

7.13.1.4 干细胞出库应制定出库质量基本要求，具体见表 3。满足出库要求的干细胞方能使用，不满足出库要求的干细胞不能使用，作医疗废弃物处理。

表3 人间充质干细胞出库质量基本要求

质量指标	最低标准	检验方法
细胞形态	悬浮情况下，细胞大小均一，形态规则，胞膜完整，透光度好	显微镜下观察
细胞活率	不得低于 90%	台盼蓝拒染法
微生物检测	细菌和真菌应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则无菌检查法进行
支原体	结果应为阴性	参照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 3301 支原体检查法执行。
内毒素	$\leq 0.5\text{EU/ml}$	参照中国药品检验标准操作规程 2010 版细菌内毒素检查法执行。
病毒检测	HIV 抗体、HBsAg、HCV 抗体、TP 抗体、CMV-IgM、HTLV 抗体、EBV 抗体检测应为阴性； HCV、HBV、HIV 病毒核酸检测应为阴性。	血清 ELISA 检测法 核酸检测
细胞表型	CD73、CD90 和 CD105 阳性率不低于 95%； CD45、CD34、CD14、CD19 和 HLA-DR 阳性率不高于 2%。	采用流式细胞术进行测定



表3 人间充质干细胞出库质量基本要求（续）

质量指标	最低标准	检验方法
染色体核型	染色体数量应为 46, XX/XY, 无染色体缺失、异位和重排现象	采用 G 带分析法进行测定
三系分化能力	在体外条件培养基诱导培养下, 能够分化成脂肪、成骨和软骨细胞	采用国际惯用 (条件培养基) 方法

### 7.13.2 废弃出库

7.13.2.1 储存时限超过 20 年且客户要求重新签订新的储存协议的细胞, 应经过评估后继续给予储存服务。

7.13.2.2 当供者提出反悔意见, 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废弃, 并将样本提供者相关信息和数据从信息系统中清除。

7.13.2.3 样本的废弃应首先提出废弃申请, 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。

7.13.2.4 样本废弃过程应详细记录, 包括细胞编码、废弃原因、废弃处理方式、批准和执行废弃的日期、废弃操作时间等信息。废弃处理方式应按照医疗废弃物有关规定执行。

### 7.13.3 转移出库

7.13.3.1 干细胞库因结构调整等情况需要进行干细胞转移的, 应按照干细胞转移操作规范进行转移操作。

7.13.3.2 干细胞转移操作所用的时间应在规定时限内, 确保干细胞及其冻存容器的温度在 $-135^{\circ}\text{C}$ 以下。

7.13.3.3 转移过程要做好相应记录。

## 8 干细胞库管理

### 8.1 人员要求与管理

#### 8.1.1 人员要求

8.1.1.1 负责新生儿脐带、胎盘样本采集人员为经过严格专业培训的护士或助产士职称以上卫生专业技术人员并经过考核合格者。

8.1.1.2 干细胞库应设质量授权人一职, 由法人授权, 任职资质应符合《药品生产质量管理规范(GMP)》要求, 主要承担细胞产品放行的职责, 确保每批已放行产品的生产、检验和储存均符合质量标准。

8.1.1.3 干细胞库应设细胞库主任一职, 由法定代表人担任或授权, 保证干细胞库日常工作按规范运行, 库主任应具有生物学或医学相关专业硕士以上学历, 三年以上行业质量管理工作经验。干细胞库主

任下设技术主管和质控主管，其中质控主管应具备药学、医学或生物学本科以上学历，在质量管理方面有丰富的经验。技术主管应具备具有生物学或医学相关专业本科以上学历，在生产管理方面丰富经验。

8.1.1.4 负责干细胞制备、深低温冻存及复苏的技术人员应具有制剂基本知识、生物安全知识、GMP理论基础和至少1年以上细胞培养工作经历，同时应具有生物学或相关专业大专以上学历。

8.1.1.5 负责干细胞质量控制人员应具有制剂基本知识、质量管理和GMP理论基础，有医学检验或药企质量相关工作经验，同时应具有生物学或医学检验相关专业本科以上学历。

### 8.1.2 人员培训与考核

8.1.2.1 干细胞库工作人员上岗前应经过专业培训，培训形式应包含内部培训与外部培训。内容包括但不限于干细胞理论与实践、生命伦理、干细胞法律法规、GMP管理、制剂基本知识、细胞培养基础、生物安全、仪器设备使用与维护方法、物料管理与清洁卫生、干细胞库管理、岗位职责、操作规范等内容，外部培训经由相关行政部门组织，所有培训需经考试合格并取得相关资质后由干细胞库主任批准方可上岗。

8.1.2.2 干细胞库工作人员每年应按计划接受培训并参与考核。考核未通过者，应重新接受培训，考核合格后由干细胞库主任批准后方可再次上岗。

8.1.2.3 干细胞库工作人员培训及考核结果应有相关档案记录。

### 8.1.3 人员出入制度

8.1.3.1 人干细胞库工作区域应建立实验室人员及外来人员准入制度，并建立相应人员准入登记记录制度。细胞库设立门禁系统，非实验室工作人员须经干细胞库主任审批后，由指定工作人员陪同进入实验室，未经许可不得随意触碰仪器设备、翻阅文件记录、拍照或携带物品进出。

8.1.3.2 有严重免疫系统疾病，或正在服用免疫耐受药物者；有呼吸道感染或发热症状者；身体有开放式损伤者和有传染性疾病或病毒携带者不宜进入干细胞库。

### 8.1.4 人员健康管理

干细胞库实验室工作人员（包括管理人员、技术员和质控员）应具备的健康要求：抗-HAV、HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、梅毒抗体检测应为阴性；技术员与质控人员除无以上传染病史外，需（矫正）视力正常，无色盲、色弱。干细胞库工作人员应每年接受体检一次。

### 8.1.5 供者健康管理

对干细胞供者的基本信息与健康信息应进行详细采集与记录，同时做好对供者的隐私保护。干细胞供者应无血液系统疾病、内分泌系统疾病、恶性肿瘤史、性病及高危人群史、吸毒史、一般传染性疾病或其他遗传疾病；HIV、HBV、HCV、HTLV、EBV与CMV抗体与核酸检测应为阴性。

供者健康调查和采集登记表参见附录A。

## 8.2 实验室安全管理

### 8.2.1 消防安全

8.2.1.1 人干细胞库需设置消防给水系统，其设计应根据生产的火灾危险性建筑物耐火等级以及建筑物的体积等因素确定。保证消防装置时刻处于可用状态，此外还应确保安全通道畅通且有明确指示。

8.2.1.2 制定消防安全检查计划。

8.2.1.3 每年至少组织消防演习一次。

8.2.1.4 人干细胞库的防火系统建设应符合 GB 19489 的规定。

8.2.1.5 人干细胞库灭火器的配置应符合 GB 50140 的规定。

8.2.1.6 人干细胞库储存区防火设计应符合 GB 50351 的规定。

## 8.2.2 压力容器安全

8.2.2.1 压力容器的管理应严格执行国家质量监督检验检疫总局颁布的《固定式压力容器安全技术监察规程》及国家有关的压力容器安全技术规定条例和制度。

8.2.2.2 压力容器的使用部门要加强对压力容器的管理，压力容器的操作与维护应有专人负责，操作各种压力容器时必须严格遵守操作规程，操作人员应经过安全教育和干细胞库培训。

## 8.2.3 液氮安全

8.2.3.1 人干细胞储存库区域应保证通风良好，应安装氧浓度检测器。

8.2.3.2 人干细胞库工作人员在执行细胞出入库操作时必须做好防护措施（如使用防护面罩和防冻手套等）。

8.2.3.3 干细胞储存库应定期巡查，保证液氮供应不出现短缺。所有液氮储存箱（罐）最好设置为自动充液模式，以确保液位恒定。

8.2.3.4 人干细胞库的液氮安全，应符合 GB/T 5458 的规定。

8.2.3.5 每年至少组织生物安全事故应急预演一次。

## 8.2.4 生物安全

8.2.4.1 人干细胞库应制定切实有效的生物安全管理制度；编制安全管理体系文件（涵盖安全管理目标、安全管理手册和操作规程等）；应制定生物危害评估方案、生物安全事故应急预案等安全管理措施。

8.2.4.2 人干细胞库应建立生物安全自查工作制度，详列生物安全控制环节清单，定期检查。

8.2.4.3 人干细胞库制定的各项安全管理制度和体系文件需由生物安全委员会审议批准后方可生效。

8.2.4.4 人干细胞库的生物安全制度应符合《WHO 生物安全手册》和 GB 19489 的规定。

## 8.2.5 化学用品安全

8.2.5.1 人干细胞库涉及到的有毒有害物质，应根据 GB 13690 设立相应的安全储存制度，应有明确的管理与使用制度，并有相应的记录登记储存与使用。

8.2.5.2 人干细胞库涉及有毒有害物质的工作区，设计应符合 AQ 3013 规范。

8.2.5.3 干细胞库实验室危险化学品安全管理应符合《危险化学品安全管理条例》（国务院令第 591 号）的相关要求。

## 8.2.6 安全标识

8.2.6.1 人干细胞库相关区域及相关设施应具有安全标识，标识内容如医疗垃圾、危险品、消防设施、液氮容器、洁净区等应清晰明确。

8.2.6.2 人干细胞库中相关安全标识的设计和编写应符合 GB 15258 和 GB 2894 的规定。

### 8.3 物料管理

#### 8.3.1 采购

##### 8.3.1.1 对生产商的要求

生产商至少应提供企业法人营业执照、医疗器械生产许可证的复印件或传真件，试剂类物料的生产商还应提供药品生产许可证及注册证的扫描、传真或复印件；试剂类物料及与细胞直接接触的物料还应有生产商提供的该批次物料的质检报告。销售人员应提供销售人员委托书及有效身份证明。

##### 8.3.1.2 对经销商的要求

经销商至少应提供企业法人营业执照、医疗器械和药品的经营许可证与产品注册证的扫描、传真或复印件；产品销售的授权书；同时还应提供该批次物料的质检报告；销售人员应提供销售委托书及有效身份证明。

8.3.1.3 物料采购时需详细描述物品名称、货号、生产商、品牌、批号、有效期和注意事项等。

#### 8.3.2 验收

8.3.2.1 物料到达后，应由物料管理人员进行初验，检查生产商、供应商的资格和物料的外包装、质量证明文件等基本信息。初验合格的物料置于待检区，并通知质控人员进行检验。

8.3.2.2 质控人员检测完毕后出具检测报告，交至仓库管理员。如检测情况不合格，则需填写《物料不合格报告》交至采购员处，贴上禁用标识。

#### 8.3.3 贮存

8.3.3.1 仓库对于物料存放应分类分区管理，标识清楚，安全使用。库存物料标志包括合格、不合格、待验、退货物料等，分别用清晰明确的标识标记，按照规定区域存放，不得混放。

8.3.3.2 库房应保持有良好的贮存环境：阴凉、通风、干燥、清洁。有防止虫鼠和其它小动物进入的措施。

8.3.3.3 根据物料的性质、特点和仓储条件，应对在库物料进行日常及定期的检查、保管养护，并随时调整养护方法和保管措施，切实保证贮存物料无潮湿、霉变、虫蛀、鼠咬、污染、渗漏、挥发、破损等情况发生。对贵重物料和易变质、不稳定、近有效期或有变质迹象的物料，要加强巡查，并做好记录。

8.3.3.4 仓库部门应制定严格的人员进出管理制度，非仓库工作人员未经批准不得擅自进出仓库，质控人员若需对仓库进行巡查、抽检，需由仓库工作人员全程陪同，不得私自挪用物品。

8.3.3.5 物料入库、领用和退库应有严格的登记制度。

#### 8.3.4 制备

8.3.4.1 用于人干细胞制备、冻存和复苏的物料必须在使用过程中详细记录，包括批号和用量等信息，确保涉及细胞操作相关的每个环节都可追溯。

8.3.4.2 人干细胞制备过程中应尽量避免使用人源或动物源性血清,不得使用同种异体人血清或血浆。

## 8.4 设备管理

### 8.4.1 使用

8.4.1.1 设备的设计、大小、选型、安装、改造和维护应符合干细胞制备要求。设备的设计和布置应尽可能降低发生污染、交叉污染和偏差的风险,便于操作、清洁、维护。

8.4.1.2 仪器设备的使用应定人定机,严格执行岗位责任制。所有设备都应制定操作规程和责任人,其操作规程要详细、明确。

8.4.1.3 设备操作人员在上机前应进行设备的结构、性能、技术规范、维护知识和安全操作规程的理论与实际技能的培训,做到三懂(懂结构、懂原理、懂性能)、四会(会使用、会维护、会检查、会排除故障),并经考试合格后,方可实践操作。

8.4.1.4 仪器设备应有明确标识,包括《仪器设备标识卡》和《仪器设备状态卡》。《仪器设备标识卡》应有设备名称、设备编号、责任人及有效期等信息。

8.4.1.5 检验设备应定期校正。计量器具的采购、验收、使用以及校正等需符合国家相关规定,对于不合格的计量器具不得使用。对于关键设备应由厂家定期维护与校正,厂家需出具检测报告。对于封存、闲置设备的管理以及重新使用应符合相关规定。

### 8.4.2 校验

8.4.2.1 所有仪器设备的采购、验收、使用以及校正等需符合国家相关规定,以保证仪器设备符合预期使用要求。

8.4.2.2 人间充质干细胞库应根据仪器制造商说明或权威机构的推荐认真做好所有检验系统的校准或校验验证工作。

8.4.2.3 国家规定的强校设备应送至权威检定机构进行定期检验;可自行校验的设施设备应建立标准操作规程及能提供标准物质质量值的溯源。

8.4.2.4 由制造商进行校验的,须要求对方提供能进行相关检验服务的资质证明并能提供标准物质的溯源。

8.4.2.5 在检定体系文件中,应包括仪器设备校验的方式、方法,明确实施校验的期限及实施的要求。

### 8.4.3 维护与维修

8.4.3.1 设备的维护与维修不得影响干细胞库正常工作。

8.4.3.2 设备应制订设备预防性维护计划和操作规程。

8.4.3.3 经改造或重大维修的设备应重新确认或验证,符合要求后方可使用。

8.4.3.4 设备应定期维护与检修。对于所有仪器设备,由工程师检修时,设备负责人要详细记录校验步骤;内部技术人员检修时,要提前制定检修规程、检修技术标准并严格执行,以保证检修质量。

8.4.3.5 设备的维修、维护以及校正应有相应的记录。

### 8.4.4 文件管理

8.4.4.1 建立设备使用、清洁、维护和维修的操作规程，以及相应记录。

8.4.4.2 建立设备档案，保存设备采购、安装、确认和验证、维修和维护、使用、清洁的文件和记录。

## 8.5 样本管理

### 8.5.1 人干细胞编码

8.5.1.1 人干细胞库的样本（细胞）应有条码识别，从样本到达实验室直至细胞入库整个过程，有且唯一一个编号。条码设置应符合 GB/T 12905、GB/T 17172、GB/T 18347 规则。

8.5.1.2 干细胞编码原则应以清楚有效区别不同来源、不同供者样本。

8.5.1.3 待储存于液氮箱中的干细胞冻存容器必须附有耐低温的一维条形码，通常是现场编辑打印。在样本库容量较大的情况下，可选择附有耐低温、防脱落的二维码的冻存管作为细胞储存用，确保信息永不丢失。

### 8.5.2 数据信息管理

8.5.2.1 人间充质干细胞库宜采用信息化管理，信息管理系统应符合 GB/T 20269 要求。

8.5.2.2 信息管理系统应建立安全保障，防止黑客入侵、计算机病毒传播和数据损坏等意外情况，应定期对数据信息进行维护和备份，以应对信息和数据意外损坏，及时进行异地备份和历史备份。

8.5.2.3 信息管理软件应能监测存储细胞库位信息和细胞出入库动态，保证全过程可追溯。

### 8.5.3 档案管理

8.5.3.1 干细胞库里储存的每一份人间充质干细胞均有档案，样本采集、细胞制备、冻存、复苏等操作过程产生的原始记录以及储户的个人信息公开记录完整，实行文件归档管理。

8.5.3.2 建立计算机档案管理系统，便于档案查询、统计分析和数据传输。

8.5.3.3 纸质或电子档案查阅，需经干细胞库主任同意，由档案管理人员协同进行相关行为。

8.5.3.4 电子与纸质档案保存时间至少在 22 年以上，档案的管理符合相关规定。

## 8.6 文件管理

### 8.6.1 质量体系文件

8.6.1.1 人间充质干细胞库应通过 ISO 9001 等质量管理体系认证。

8.6.1.2 干细胞库的质量体系文件应符合 ISO 9001 等质量认证体系对文件的所有要求。

8.6.1.3 标准操作文件应包括样本采集、运输与接收、干细胞制备、冻存、复苏、出入库和质量控制等所有操作流程与步骤，能够正确规范相关操作人员的操作过程。

8.6.1.4 相关记录应记录干细胞库的各类活动过程，做到可追溯。对所产生的数据和信息应进行实际详细的记录并保存。所有记录应填写完整、清楚，容易理解和检查；需要删改的，应该能辨明修改内容、人员、时间。

8.6.1.5 所有记录文件应能够永久保存，关键数据信息应进行电子备份保存。

## 8.7 质量风险管理

### 8.7.1 风险控制

8.7.1.1 人干细胞库应针对相关活动制定详细的质量控制规程，活动主要包括样本采集、样本接收、干细胞制备、细胞出入库、细胞废弃、检验（委托检验）等活动。

8.7.1.2 人干细胞库内应建立内审和管理评审机制，内审和管理评审应包括质量体系评估、记录检查，并提出改进和纠正措施，评价整改有效性。

8.7.1.3 人干细胞库应定期召开质量会议，对近期产品质量相关数据进行分析 and 评价，制订改进方案。

8.7.1.4 储存于干细胞库里的细胞应定期抽检，确保储存样本的质量。抽检不达标的，应究其原因并及时整改。

### 8.7.2 质量保证

8.7.2.1 人干细胞储存体系的设计与研发应考虑 GMP 和 ISO 9001 的要求，其产品的设计、开发、输入、输出、评审、验证、确认、更改的控制全过程应建立相应的管理规程。

8.7.2.2 明确规定制备和质量控制活动，并实施。

8.7.2.3 明确管理职责。

8.7.2.4 保证制备以及采购和使用的试剂耗材、培养液正确无误。

8.7.2.5 确保细胞制备、冻存等技术操作中间环节所需的控制以及其它中间控制环节得到实施。

8.7.2.6 确保验证的实施。

8.7.2.7 严格按各种书面规程进行制备、检查、检验和复核。

8.7.2.8 有适当的措施保证贮存和随后的各种处理过程中，干细胞质量在规定时间内保持相对稳定。

8.7.2.9 定期评估质量保证体系的有效性、及时性、适用性。

8.7.2.10 制定风险控制程序，以规定与产品安全相关的风险的识别、分析、评价和控制的过程和方法，以保证风险管理的有效性，从而确保产品的安全性和有效性。

8.7.2.11 建立内外部审核制度，对质量目标、方针进行内外部评审及管理评审。

附 录 A  
(资料性附录)  
供者健康调查和采集登记表

供者健康调查和采集登记表见表A.1。

表A.1 供者健康调查和采集登记表

条形码		采集医院:					
储存类型: 自存 ( ) 捐献 ( )							
供者资料							
姓名				年龄			
性别				住院号			
血型				民族			
职业				电话			
联系地址							
疾病调查史							
编号	调查项目	结果	编号	调查项目	结果		
1	血液系统疾病	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	7	乙型肝炎	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
2	内分泌系统疾病	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	8	丙型肝炎	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
3	恶性肿瘤史	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	9	艾滋	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
4	性病史	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	10	梅毒	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
5	吸毒史	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	11	巨细胞病毒	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
6	遗传病史	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无	12	其他异常情况	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无		
医生签名				日期			
化验情况							
检验项目	HBsAg	HCV 抗体	HIV 抗体	TP 抗体	CMV-IgM	EBV 抗体	HTLV-1 抗
检验结果							
采集和交接							
采集时间				采集地点			
采集人				抵达时间			
承运人				细胞库接收人			



附 录 B  
(资料性附录)  
人间充质干细胞库整体操作流程

人间充质干细胞库整体操作流程见图B.1。

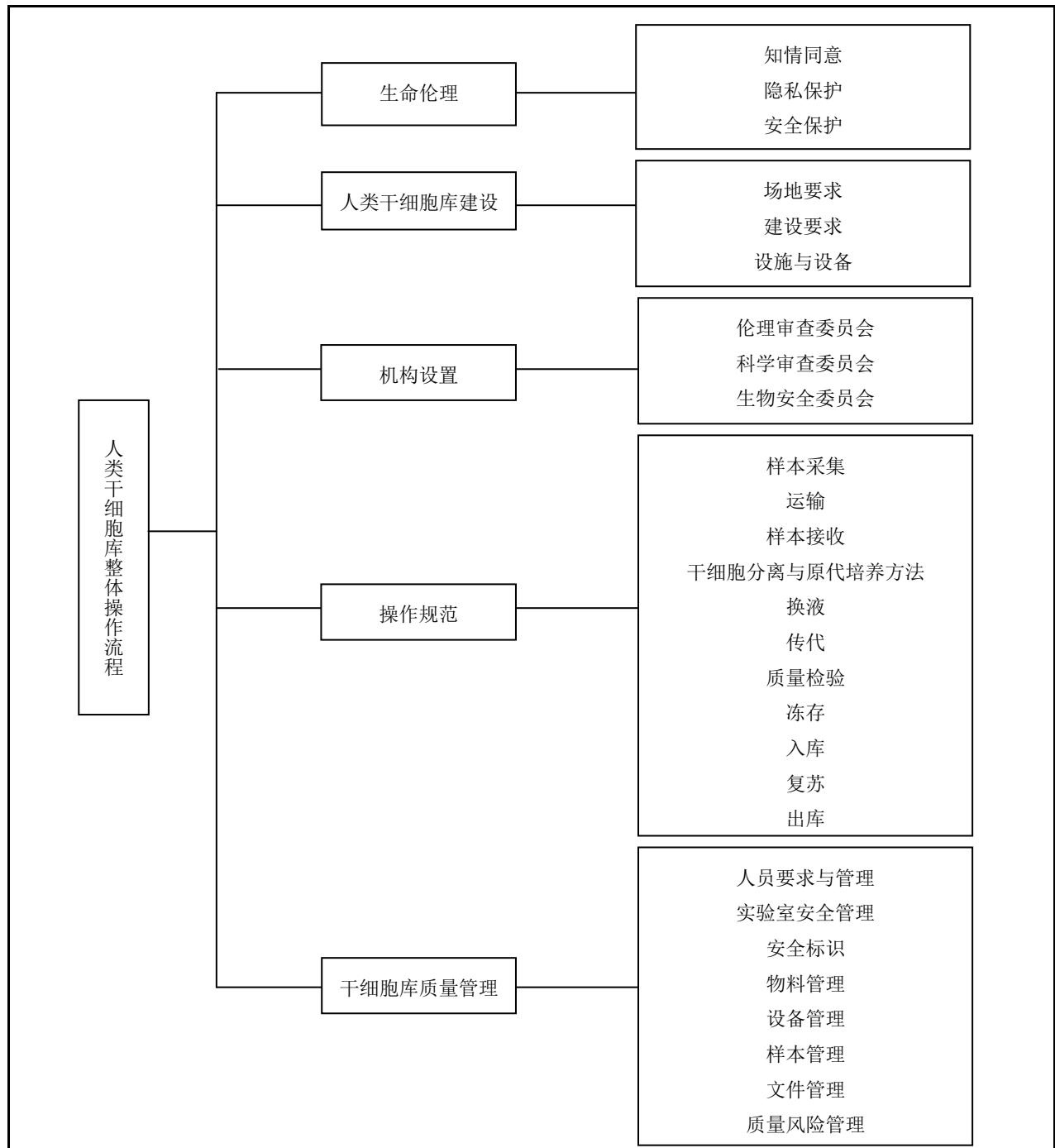


图 B.1 人间充质干细胞库整体操作流程