

中国人类遗传资源平台

人体造血干细胞资源库建设技术规程

Technical Regulation

for Establishing Human Hematopoietic Stem Cell Resources Bank
of National Infrastructure of Chinese Genetic Resources

(讨论稿)

中国人类遗传资源平台项目组

2006年1月

前 言

人体造血干细胞资源库是指以向临床提供人类同种异体造血干细胞移植材料, 以及用于教学、科研为目的, 从存活或已死亡的供体中获取人体造血干细胞进行制备、处理、检测、保存和提供人体造血干细胞资源, 并描述其特征的具有相当研究实力的医疗机构。目前我国尚无关于人体造血干细胞库建设技术规范的国家标准, 为合理利用我国人体造血干细胞资源, 促进造血干细胞移植高新技术、移植医疗的临床实践和基础研究以及其它科研和教学工作的开展, 确保人体造血干细胞应用的安全性和有效性, 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。

本规程适用于人体造血干细胞库建设标准与人体造血干细胞操作程序和技术要求。因此在人体造血干细胞库、科研单位、医学院校和医院的特定科室(如移植)应规范执行。

目 次

前 言.....	II
1 范围.....	1
2 引用文献.....	1
3 术语和定义.....	1
4 人体造血干细胞资源库审批及监督管理.....	2
4.1 审批.....	2
4.2 监督管理.....	2
5 机构设置.....	2
6 工作人员要求.....	3
6.1 人体造血干细胞库主任要求.....	3
6.2 各部门负责人员要求.....	3
6.3 各部门工作人员任职条件.....	3
7 建筑和设施.....	3
8 仪器设备.....	4
9 签署知情同意书.....	5
10 供体健康检查和筛选.....	5
10.1 供体资格的确认.....	5
10.2 临床实验室检查.....	5
10.3 对所有造血干细胞供体的要求（筛选条件）.....	6
11 人体外周血造血干细胞的采集.....	7
12 干细胞冻存技术.....	7
13 记录及其保存.....	8
14 供给（发放）.....	8
15 管理.....	9
15.1 业务管理.....	9
15.2 质量管理.....	9
16 安全.....	10
参 考 文 献.....	12

人体造血干细胞资源库建设技术规程

1 范围

该技术规程中包括人体造血干细胞资源库的审批、机构设置、工作人员要求、建筑和设施、仪器设备、签署知情同意书、供体健康检查和筛选、造血干细胞的获取、处理、灭菌、储存和供给、记录及其保存、管理和安全等。

2 引用文献

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
ISO 9001:2000	质量管理体系-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
YY0033-2000	无菌医疗器械生产管理规范
GB18280-2000	医疗保健产品灭菌确认和常规控制要求
《血站管理办法》	
医疗器械监督管理条例	
《液氮库的管理办法》	

3 术语和定义

3.1 人体造血干细胞资源 human hematopoietic stem cell resource

是指可经过手术或穿刺等医学操作，从供体的机体中所得到的造血干细胞，及其相关信息资料。

3.2 造血干细胞 hematopoietic stem cell

指来源于人的骨髓、外周血或其他造血干细胞的造血前体细胞或造血祖细胞。

3.3 供体 donor

指存活或已死亡的个体，是人体造血干细胞移植和教学、科研的造血干细胞来源。

3.4 人体造血干细胞资源库专家委员会 advisory committee of human tissue banks

国务院卫生行政部门成立的由有关方面专家组成委员会，负责对人体造血干细胞资源库设置的申请、验收和考评提出论证意见，并负责制订人体造血干细胞资源库的建设、操作、运行等技术标准。

3.5 辐照灭菌 irradiation sterilization

是在屏蔽设施内，使辐照对象接受一定时间的受控辐射剂量照射。这项技术能够除去可引起感染的细菌。

4 人体造血干细胞资源库审批及监督管理

4.1 审批

人体造血干细胞资源库的设置必须经国务院卫生行政部门批准。人体造血干细胞资源库开展业务必须经执业验收及注册登记，并领取《人体造血干细胞资源库执业许可证》后方可进行。

4.2 监督管理

卫生部主管全国人体造血干细胞资源库的监督管理工作。县级以上地方人民政府卫生行政部门负责本行政区域内人体造血干细胞资源库的日常监督管理。

5 机构设置

5.1 人体造血干细胞库（以下简称干细胞库）实行主任负责制。

5.2 工作部门设置

人体造血干细胞库设置业务科室至少应涵盖以下功能：

- 人体造血干细胞造血干细胞获取部门：征集和筛选供体，获取造血干细胞。
- 人体造血干细胞造血干细胞储存部门：造血干细胞冷冻、保存及融解。

—— 人体造血干细胞造血干细胞供给部门：造血干细胞运输。

—— 人体造血干细胞档案管理部门：建立供体及受者及造血干细胞使用情况信息档案管理制度和计算机管理系统。

—— 质量管理部门。

6 工作人员要求

6.1 人体造血干细胞干细胞库主任要求

应具有临床医学专业及移植外科学临床经验的医学高级职称。人体造血干细胞资源库可设副主任，应具有临床医学或生物学中、高级职称。

6.2 各部门负责人员要求

6.2.1 人体造血干细胞负责造血干细胞获取的人员, 应具有医学中专以上学历, 2年以上医护工作经验, 经专业培训并考核合格者。

6.2.2 人体造血干细胞负责常规临床检验(包括传染病及各类微生物感染检测等)、深低温冻存及融化、造血干细胞配型、质量保证的人员, 应具有医学或相关学科本科以上学历, 4年以上专业工作经历, 并具有丰富的相关专业技术经验和较高的业务指导水平。

6.2.3 负责档案资料的人员应具相关专业中专以上学历, 具有计算机基础知识和一定的医学知识, 熟悉人体造血干细胞资源库的生产全过程。

6.2.4 负责其它业务工作的人员应具有相关专业大专以上学历, 熟悉相关业务, 具有2年以上相关专业工作经验。

6.2.5 所有医务人员必须具备良好的职业道德。

6.3 各部门工作人员任职条件

6.3.1 造血干细胞获取人员为经过严格专业培训卫生专业技术人员并经考核合格者。

6.3.2 造血干细胞处理技术人员为医学、生物学专业大专以上学历, 经培训并考核合格者。

6.3.3 造血干细胞冻存技术人员为大专以上学历、经培训并考核合格者。

6.3.4 造血干细胞库实验室技术人员为相关专业大专以上学历, 经培训并考核合格者。

7 建筑和设施

-
- 7.1 人体造血干细胞干细胞库建筑选址应保证周围无污染源。
 - 7.2 人体造血干细胞干细胞库建筑设施应符合国家有关规定，总体结构与装修应符合抗震、消防、安全、合理、坚固的要求。
 - 7.3 人体造血干细胞干细胞库建筑应该按生产工艺流程及所要求的空气洁净度级别合理布局。洁净区的洁净度应不低于 10 万级。根据换气次数、静压差、空气尘埃数、浮游菌数进行监测。洁净区与非洁净区之间必须设置缓冲设施，人、物流走向合理。建筑面积应达到至少能够储存一万份造血干细胞的空间；并具有造血干细胞处理洁净室、消毒室、深低温冻存室、造血干细胞配型室、细菌检测室、病毒检测室、造血干细胞检测室、流式细胞仪室等符合 GMP、GLP 标准的实验室。业务部门建筑面积应能满足其任务和功能的需要；
 - 7.4 业务工作区域应与行政区域分开。业务工作区域内污染区域应与非污染区域分开；
 - 7.5 实验室的墙壁、天花板和地面应平整、易清洁、不渗水、接缝密封、耐化学品和消毒剂的腐蚀。地面应防滑，不得铺设地毯。在实验室门口处应设挂衣装置，个人便装与实验室工作服分开设置。
 - 7.6 已消毒灭菌的造血干细胞储存容器或无菌取得的造血干细胞所暴露的严格工作区域的空气质量，应保证每立方米空气不超过 100 个微粒（小于或等于 0.5 微米）以及每 10 立方米空气中不超过 1 个细菌集落形成单位，与邻近区域的梯度压差应大于或等于 0.05 英寸水柱。
 - 7.7 干细胞库必须具有完备畅通的上下水、电力（具备双路供电或应急发电设备）、通讯和完善的消防安全系统，并应符合有关规定。
 - 7.8 污水、污物处理及废气排放设施应符合国家有关环境保护法律、法规的规定；应有与采、供造血干细胞任务相适应的运输车辆。

8 仪器设备

- 8.1 计算机、网络服务器等电脑网络设备。
- 8.2 开展病原体检测、造血干/祖细胞培养和检测、造血干细胞配型、冷冻保存、质量管理控制和检测所需的仪器设备。
- 8.3 能储存 1 万份造血干细胞的储存设备。
- 8.4 外周血单个核细胞采集设备。

-
- 8.5 程控降温仪、超低温冰箱、家用冰箱、液氮储存罐与系统设备。
 - 8.6 造血干细胞专用获取器材和造血干细胞专用运输设备。
 - 8.7 高压消毒设备，如高压灭菌锅。
 - 8.8 采用国家规定的法定强制检定的计量器具必须有法定计量部门的检定合格证明。
 - 8.9 其它常规设备，包括空调机、空气净化系统、工艺用水净化系统、洁净区监测设备、清洗设备、封口机、超净工作台等。
 - 8.10 所有设备须验收合格，并运转良好。

9 签署知情同意书

干细胞库工作人员应当向造血干细胞供体说明造血干细胞的用途、保存方式以及可能带来的社会伦理等问题。造血干细胞的获取需遵循自愿和知情同意的原则。

对造血干细胞的获取及使用应取得供体的知情同意(参照“人类遗传资源收集知情同意技术规程”)，如供体未满 18 岁或无识别能力，由其法定监护人、配偶或家属代为同意。对于那些生前没有签署知情同意或捐赠意愿的潜在的尸体供体，需要有死者家属或其监护人签署同意。同时告知供体的隐私权将被严格保密，未经同意不会泄漏有关信息。

除干细胞库应当和供体必须签署知情同意书外，还应符合医学伦理的有关要求。

10 供体健康检查和筛选

10.1 供体资格的确认

所有供体在签署知情同意书后，均要进行体格检查和(或)既往史调查。

造血干细胞库主任应按照既定的由于细胞库主任和人体造血干细胞资源库专家委员会(以下简称专家委员会)共同商讨制定的标准，来判定其检查或调查结果是否达到健康检查标准后，方可进行造血干细胞的获取。

10.2 临床实验室检查

10.2.1 所有要求的临床实验室检查项目，都需在有本行政区域内卫生行政部门颁发的许可证的实验室操作完成。

10.2.2 获取异体造血干细胞移植供体的血液样品，检查 ABO 血型及 Rh 血型，检测是否有 HIV-1、HIV-2、梅毒螺旋体、HBV(包括 HBsAg、HBcAb)、HCV 以及 HTLV-1、HTLV-2

感染。留取部分样品进行冷冻，以便在所获取的造血干细胞应用之前出现新的或改善的技术时，对供体做回顾性检测。

10.2.3 除非在造血干细胞库主任和欲使用造血干细胞的造血干细胞移植机构都同意且证明是威胁生命的紧急情况下，所有的造血干细胞在用于临床前都需进行 HIV-1、HIV-2、HBsAg、HCV 以及 HTLV-I 的血液检测，并且证实反应结果为阴性。

10.3 对所有造血干细胞供体的要求（筛选条件）

10.3.1 在任何情况下，疑患有狂犬病或 HIV 感染者都不能做为供体。

10.3.2 供体的年龄限制由造血干细胞库主任和专家委员会根据造血干细胞种类的不同共同商讨制定。

10.3.3 除非在有干细胞库主任特殊批准的情况下，不得获取有下列情况之一的人员的造血干细胞用做异体移植造血干细胞：

——通过体检、既往史或尸检发现欲获取的部位有感染或全身败血症的迹象；

——患有自身免疫疾病或恶性肿瘤；

——有乙肝、丙肝或不明病因肝炎史；

——过去 1 年内有梅毒治疗史或试验证实患有梅毒；

——有变性或感染性神经系统疾病，例如传染性海绵样脑病、多发性硬化、阿尔茨氏海默病或不明病因的脑炎；

——过去 48 小时内接受过输血（12 岁以下供体）或接受 4 单位或以上的全血或成分血输注（成人供体）；

——有患有人类免疫缺陷病毒（HIV）感染高危风险的行为或因素；

——过去 5 年内使用过非治疗性注射药物；

——过去 5 年内热衷于肛交的男性或与另一男性口腔性交的男性；

——接受未经热处理的或病毒灭活的因子 VIII 或 IX 浓缩物；

——过去 1 年内为 HIV 阳性或满足上述任一情况个体的异性伴侣；

——过去 5 年内从事卖淫者及过去 1 年内为他们的异性伴侣者；

——长期接触中毒剂量的金、汞、铅者；

——过去 1 年内有过纹身或其它皮肤针刺情况（如穿耳、纹眉等），而针具不消毒或不严

格消毒；

- 过去的 6 个月内，曾被怀疑患有狂犬病的动物咬伤。
- 患有不明病因的疾病。
- 过去 3 年内患有疟疾或进 6 个月内去过疟疾流行性地区。
- 患有活动性或未经治疗的结核病。
- 患有弥散性恶性肿瘤，如淋巴瘤或白血病；
- 患有先天性风疹；
- 患有亚急性硬化性全脑炎；
- 患有雷亥综合征。

11 人体外周血造血干细胞的采集

11.1 获取供体体表的消毒均应遵守外科手术室无菌操作原则，按照临床技术操作规范进行采集。房间洁净度达到 10 万级或以上，使用外周血单个核细胞采集设备，采集外周血单个核细胞。

11.2 速度：30-80ml/分。

11.3 循环量：7000-8000ml/次。

11.4 采集量：58ml/次（约含 16×10^9 MNC）收集在无菌血袋中。

12 干细胞冻存技术

12.1 肝素化

12.2 取样计数总单个核细胞数

12.3 取样，送检测 $CD34^+$ 细胞数及检查 ABO 血型及 Rh 血型，病原体检测

HBV（包括 HBsAg、HBcAb）HCV 以及 HTLV-1、HTLV-2 感染。及其它需要的微生物检测和免疫、遗传性疾病的检测梅毒螺旋体。

12.4 分装冻存袋

12.4.1 分装区域：选取优质耐液氮冻存的冻存袋分装，在符合 GMP、GLP 标准的实验室工作区，空气质量应保证每立方米空气不超过 100 个微粒（小于或等于 0.5 微米），以及每 10 立方米空气中不超过 1 个细菌集落形成单位，与邻近区域的梯度压差应大于或等于 0.05

英寸水柱的条件下进行。

12.4.2 一切液体都放在 4℃冰浴中。

12.4.3 采用密闭无菌管道系统，用冻存液将采集的单个核细胞稀释为所需浓度，排气，用封口机封口。

12.4.4 标签:包装上贴附的标签应标明造血干细胞类型（采用已经制定的标准化编码）、造血干细胞唯一的造血干细胞鉴定编号。贴附标签造血干细胞外。

12.4.5 选用冻存程序,用程控降温仪进行降温至所需温度。

12.4.6 最后放入液氮储存罐储存备用。

13 记录及其保存

干细胞库应建立记录保存制度。记载关于供体获取、制备、灭菌、菌检、保存、发放、临床应用、随访和仪器设备维护的有关信息。通过记录可以对每个造血干细胞产品的来源进行追溯，记录至少保存 10 年。有关卫生行政部门和检定机构对造血干细胞库进行定期或不定期的检查时，能随时提供有关资料。记录应及时、准确，以备查验及检索。所有的记录都应有书面记录和计算机记录作为备份。

14 供给（发放）

14.1 干细胞库只有接到有行医执照的临床医师的书面医嘱才能供给造血干细胞。干细胞库和造血干细胞移植机构都需对该医嘱进行记录。

14.2 造血干细胞冻存六个月后以及造血干细胞供给前，须再次对供体行 HIV-1、HIV-2、梅毒螺旋体、HBV（包括 HBsAg、HBcAb）、HCV 抗体检测，检验合格的方可向经卫生行政部门批准开展外科移植的医疗机构提供，并向医疗机构提交检验结果。未经检验或检验不合格的，不得向医疗机构提供。

14.3 干细胞库供给造血干细胞材料前，干细胞库主任需对造血干细胞材料进行检查，包括外观是否异常，有无明显的微生物感染迹象或可疑、捐赠者的情况和实验室检查结果、获取、处理、灭菌和储存过程。只有合乎要求的造血干细胞才可以供给临床移植使用。

14.4 造血干细胞从干细胞库运往造血干细胞移植机构的过程中要储存于合适的温度，造血干细胞在到达造血干细胞移植机构后移植前的一段时间内也应储存于合适的温度。

14.5 干细胞库供给造血干细胞材料的同时，应附加产品使用说明书和表明造血干细胞合法化的相关文件及证明。要求用户在收到产品后登记产品编号以备日后查询。

14.6 产品在手术室内用酒精消毒外层包装，然后逐层开启。取出产品，按产品标签和产品说明使用。产品复温应在手术室内进行，无菌生理盐水中可加入不会引起患者过敏反应的抗生素。

15 管理

15.1 业务管理

干细胞库必须对造血干细胞的采供进行严格管理，对供体、受体的详细资料和造血干细胞使用情况进行计算机管理并永久保存。具体包括：

——建立供体筛选和造血干细胞获取、冻存、供应、运输的流程；

——按流程顺序作好记录；

——作好档案管理工作。应设专用计算机，所有资料应备份，文字资料应放置整齐有序，注意防火、防盗及保密；

——做好随访工作。定期收集造血干细胞使用机构造血干细胞使用情况并记录受体的有关反馈信。

——做好保密工作。人类干细胞库工作人员应尊重供体和受体当事人的隐私权并严格保密，未经同意不得泄漏有关信息。除干细胞库负责人外，其他任何人不得查阅有关供体身份的资料和详细地址。各种记录及干细胞库与供体和受体之间的联系应予保密。

——建立完善干细胞库必须具备的工作制度。（职工守则；各级行政、技术人员岗位职责制度；职工岗位培训制度和继续教育制度；各种仪器设备采购、使用、维护、报废制度；大型、精密、贵重仪器设备专管专用制度；各类器材、药品与试剂的采购、使用、制备的检定制度；供体的筛选和隐私保密制度；检测出的输血传播病原微生物的登记和报告制度；血液标本留样保存管理制度；造血干细胞的包装、低温保存、运输及发放前的质量认定、核对、发放制度；造血干细胞的报废制度；安全制度；各种登记、记录收集、管理和保存、发放制度；污物处理制度。）

15.2 质量管理

15.2.1 获取、处理、检测以及储存设备的体积、构造及摆放位置应适合工作的需要，确

保证造血干细胞和工作人员的安全，要进行预防性保养和维护、定期检查及测试是否正常工作，并做记录。对需要控制温度的区域及确保干细胞库正常工作的设备进行监控，并做记录。

15.2.2 所有的试剂或溶液都应在有效期内，正确保存，并需标明性质、滴定度、强度或浓度、推荐的贮存方式、保质期限以及其他有关的信息。过期后，所有的物品不得投入使用。变质的以及活性低于标准的物品即使处于有效期内，也应废弃。

15.2.3 造血干细胞获取、制备、无菌、保存技术和实验室检查技术的有效性。保证造血干细胞获取、制备、灭菌、保存、质量管理的操作程序符合骨髓库制定的技术操作规程。

15.2.4 每周对液氮槽的液氮水平至少要进行 2 次检查，以便能及时发现问题影响储存造血干细胞质量的波动情况。

15.2.5 干细胞库应与用户保持密切联系，收集造血干细胞移植后的临床随访记录和用户意见。对使用后出现的不良反应和投诉进行分析研究，与专家委员会商讨后加以改进。

15.2.6 具备完善、健全的规章制度，健全业务管理操作规范和档案管理规范、技术操作手册及造血干细胞采供计划书，包括获取和供应范围等。应保证从事造血干细胞获取、处理、实验室检查和储存的工作人员在业务区域内随时可以拿到有关于不同造血干细胞获取、处理、实验室检查和储存的技术操作手册或其他操作指南。

15.2.7 定期或不定期对干细胞库进行自查，提供干细胞库规章制度执行情况、造血干细胞质量、服务质量及数据资料管理情况的报告，并接受主管部门的检查或抽查。

16 安全

16.1 在实验室中，对化学品的存放、处理、使用及处置的规定和程序应符合良好化学实验室行为标准。应按照相关标准在每个储存容器上标明每个产品的危害性质和风险性。应要求所有人员按安全操作规程工作。对实验室内所用的每种化学制品的废弃和安全处置应有明确的书面程序。应严格按照相关法律法规及本机构的规章制度集中处理。使这些物质安全及合法地脱离实验室控制。

16.2 应用高压灭菌器消毒灭菌物品时，要对每个循环的压力、温度和持续时间给以记录，并至少保存一年。每次操作时，保证这些参数均在生产商推荐使用的操作标准范围内。如果其中 1 个或多个参数设在标准以外，所有的物品需重新进行灭菌。

16.3 冰箱应适当标记以明确其规定用途。用于储存造血干细胞、样品和试剂的冰箱不得用做其他用途。

16.4 食品、饮料及类似物品只应在指定的区域中准备和食用。食品和饮料只应存放于非实验室区域内指定的专用处。

16.5 实验室内禁止吸烟。

16.6 禁止在工作区内使用化妆品和处理隐形眼镜。长发应束在脑后。在工作区内不应佩戴戒指、耳环、腕表、手镯、项链和其他珠宝。

16.7 在实验室内操作人员要着消毒的隔离服装，戴乳胶手套，不能穿出于工作区域以外。在实验室工作区域外应有存放个人衣物的条件。

参 考 文 献

- [1] AATB. Standards for tissue banking. American Association of Tissue Banks. 2001.
- [2] Phillips GO, Pedraza JM. The International Atomic Energy Agency (IAEA) programme in radiation and tissue banking: past, present and future. Cell Tissue Bank, 2003, 4: 69-76.
- [3] 李宝兴, 孙世荃. 骨库技术与操作规范. 中华骨科杂志, 2004, 24 (10) :638-640.
- [4] 达万明主编. 自体造血干细胞移植 兰州: 甘肃科学技术出版社. 1995