

T/SZMA

深圳市医学会团体标准

T/SZMA 002—2025

健康献血者白膜层中单个核细胞的检测与 质量技术规范

Technical specifications for the detection and quality of mononuclear cells derived
from the buffy coat of healthy blood donors

2025 - 12 - 22 发布

2025 - 12 - 22 实施

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	1
5 献血者白膜层单个核细胞制备的质量要求	1
5.1 献血者全血采集与运输	1
5.2 白膜层的分离制备	2
5.3 单个核细胞制备的质量要求	2
6 单个核细胞储存和复苏的质量控制	2
6.1 通则	2
6.2 质量检测机构的能力要求	2
6.3 质量控制项目及要求	2
6.4 单个核细胞储存的质量标准	3
6.5 稳定性考察	3
6.6 复苏的单个核细胞质量标准	4
6.7 不合格单个核细胞的处理	4
7 单个核细胞的质量评价与放行	4
7.1 单个核细胞储存入库质量评价与放行	4
7.2 单个核细胞发放质量评价与放行	4
8 单个核细胞的标签、包装和运输	4
8.1 标签	4
8.2 包装	4
8.3 运输	5
9 风险控制	5
9.1 物料的选择	5
9.2 健康献血者信息保密	5
9.3 编码管理	5
9.4 生物安全	5
参考文献	6

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由深圳市血液中心提出。

本文件由深圳市医学会归口。

本文件起草单位：深圳市血液中心、南方医科大学检验与生物技术学院、深圳市药品检验研究院、深圳科诺医学检验实验室、广州佰芮慷生物科技有限公司。

本文件主要起草人：黄力勤、宁理、曾劲峰、王平、黎诚耀、刘沐芸、张攀丽、孙丽艳、王聪、廖冬宁、李佩芳。

引 言

外周血单个核细胞（PBMC）作为人体外周血中重要的免疫细胞群体，包含T细胞、B细胞、NK细胞和单核细胞等多种免疫活性细胞，因其易于获取、可体外培养及高度可操作性，已成为免疫学、传染病学、肿瘤学和自身免疫疾病等基础研究领域的核心模型之一。单细胞测序、CRISPR基因编辑等技术的不断发展，推动PBMC的研究维度持续拓展。其不仅为疾病机制解析和精准治疗策略开发带来更深入的认知，更使PBMC在疾病诊断、治疗监测及新疗法开发中的应用价值日益凸显。因此，从健康献血者白膜层中分离单个核细胞，并对其检测和制定相应的质量技术规范对基础研究和临床应用十分重要。

我国在血液成分制备过程中，大量富含PBMC的白膜层因安全输血技术要求作为医疗废弃物处置，造成健康献血者来源PBMC资源的极大浪费。虽已出台一些PBMC相关技术文件，如《无偿献血者免疫细胞资源库专家共识》《T/CMBA 011 人外周血单个核细胞的采集、分离和保存》等，但健康献血者白膜层中单个核细胞制备、检测、储存和复苏流程的质量控制方面尚缺乏可执行的指导细则。

为充分利用健康献血者白膜层中的PBMC资源，保障细胞安全性，降低制备过程中的生物安全风险，制定本团体标准十分必要。本标准对健康献血者白膜层中单个核细胞的质量控制、评价放行等方面进行全面规范。

健康献血者白膜层中单个核细胞的检测与质量技术规范

1 范围

本文件规定了健康献血者白膜层来源单个核细胞的检测方法 with 质量技术要求。

本文件适用于制备、储存健康献血者白膜层单个核细胞的一般血站、医疗机构、研究机构和企业。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 18467 献血者健康检查要求
GB 19489 实验室生物安全通用要求
WS 400 血液运输标准
WS/T 360 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群指南
中华人民共和国药典
血站技术操作规程
全国临床检验操作规程
医疗器械冷链（运输、贮藏）管理指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

白膜层 buffy coat

健康献血者捐献的全血经加工离心后，在红细胞层与血浆层之间形成的灰白色细胞层，主要成分包括白细胞（含淋巴细胞、单核细胞等）和血小板。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PBMC：外周血单个核细胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cells)
HIV：人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus)
HBV：乙型肝炎病毒 (Hepatitis B Virus)
HCV：丙型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus)
HTLV：人类嗜T细胞病毒 (Human T-Lymphotropic Virus)
EBV：EB病毒 (Epstein-Barr Virus)
CMV：巨细胞病毒 (Cytomegalovirus)
TP：梅毒螺旋体 (Treponema pallidum)
CD：分化簇 (Cluster of differentiation)
GMP：药品生产质量管理规范 (Good Manufacturing Practice of Medical Products)

5 献血者白膜层单个核细胞制备的质量要求

5.1 献血者全血采集与运输

5.1.1 参照 GB 18467 和《血站技术操作规程》进行献血前检测，合格献血者签署知情同意书并采集全血。

5.1.2 采集的全血应按 WS 400 和《血站技术操作规程》执行运输前保存及运输。接收人员观察容器包装外观、检查并记录有无破损，逐项核对全血标签信息，确认无误后接收。

5.2 白膜层的分离制备

5.2.1 全血中白膜层的分离，应采用多联血袋或无菌接驳技术，于密闭环境下完成相关操作。

5.2.2 参照《血站技术操作规程》分离制备白膜层。

5.2.3 宜使用 400mL 全血分离制备白膜层，分离所得的白膜层细胞体积应为 15—30mL。

5.2.4 白膜层在制备为单个核细胞前，应储存在 2—8℃ 环境中。

5.3 单个核细胞制备的质量要求

5.3.1 单个核细胞制备前应完成表 1 所列的病原体检测，检测合格的血液方可用于单个核细胞的制备。

5.3.2 单个核细胞制备前，应检查白膜层的包装容器外观无肉眼可见破损、渗漏，容器封口严密完整。核对交接信息，确认无误后，方可开展制备操作。

5.3.3 单个核细胞的制备应在符合 GMP 规范的细胞实验室内完成。

5.3.4 从全血采集到单个核细胞分离制备的时间应≤8 小时。

5.3.5 制备所使用的仪器设备应经过检定或校准，确认满足技术要求。

6 单个核细胞储存和复苏的质量控制

6.1 通则

单个核细胞在储存前及复苏后均应进行质量检测，并符合本质量标准要求。

6.2 质量检测机构的能力要求

6.2.1 检测机构应具备本文件所列项目开展所需的实验室环境、专业人员、设备、检测试剂与材料。

6.2.2 检测机构应具备对本文件所列项目的检测能力。

6.2.3 宜选择本文件所列检测项目已通过中国合格评定国家认可委员会（CNAS）认可的检测机构。

6.3 质量控制项目及要

6.3.1 检测项目要求

本文件所列检测技术方法为推荐性要求。若有医学文献、权威机构技术验证报告、行业公认指南等证明材料，能够充分验证其检测准确性、可靠性及适用性的其他方法和技术，经评估确认后，亦可用于相关项目的质量检测。评估过程应符合质量管理体系要求，并保留完整验证记录。

6.3.2 细胞数量

参照《全国临床检验操作规程》白细胞计数方法，或采用细胞计数仪进行检测。

6.3.3 细胞活率

参照《全国临床检验操作规程》中细胞活力相关检测原理及通用方法，计算细胞活率。

6.3.4 细胞表面标志物

参照 WS/T 360 的相关要求进行检测。

6.3.5 无菌检测

可采用下列方法之一进行无菌检测：

a) 直接接种法：参照《中华人民共和国药典》无菌检查法中相关方法进行检测；

b) 呼吸信号法：参照《中华人民共和国药典》细胞类制品微生物检查指导原则中相关方法进行检测。

6.3.6 支原体检测

参照《中华人民共和国药典》支原体检查法进行检测。

6.3.7 细菌内毒素检测

参照《中华人民共和国药典》细菌内毒素检查法进行检测。

6.3.8 病原体检测

参照《中华人民共和国药典》生物制品病毒安全性控制中的技术标准进行病原体检测。

6.3.9 可见异物检测

参照《中华人民共和国药典》可见异物检查法进行检测。

6.4 单个核细胞储存的质量标准

储存的单个核细胞应至少符合表1中的质量标准。

表1 储存的单个核细胞质量标准

序号	项目	质量标准
1	病原体检测	HBV
2		HCV
3		HIV
4		TP
5		EBV
6		HTLV
7		CMV
8	细胞数量	5×10^7 - 10×10^7 个/份
9	细胞活率	$\geq 90\%$
10	细胞表面标志物	CD3 ⁺
11		CD19 ⁺
12		CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺
13	无菌检测	无细菌生长
14	支原体检测	阴性
15	细菌内毒素检测	<0.5EU/mL
16	可见异物检测	无可见异物

6.5 稳定性考察

6.5.1 稳定性考察的项目选择及质量要求

储存的单个核细胞的稳定性考察项目及质量要求可参考表2。

表2 稳定性考察项目及质量要求

序号	项目	质量要求
1	储存容器完整性和密闭性	储存容器完整且密闭，无破损
2	细胞活率	$\geq 70\%$
3	细胞冻存复苏回收率	$\geq 70\%$
4	细胞表面标记物	与储存质量标准一致
5	无菌检测	无细菌生长
6	支原体检测	阴性
7	细菌内毒素检测	<0.5EU/mL

6.5.2 稳定性考察计划的制定和实施

应依据储存的单个核细胞的特性，制定储存细胞质量稳定性年度考察抽样方案和计划，并按计划实施。

应每年至少执行一次稳定性考察，如遇特殊情况（如容器破损，断电，储存环境温度异常等），应进行风险评估，确认是否需要增加临时性稳定性考察。

6.5.3 稳定性考察的结果分析

应对稳定性考察结果进行趋势分析，以监测细胞储存的连续稳定性并改进细胞储存技术。若稳定性考察结果不符合质量要求，需立即评估同批次所有细胞的质量，必要时启动细胞销毁流程。

6.6 复苏的单个核细胞质量标准

储存的单个核细胞复苏后，应至少符合表3中的质量标准，并作为后续流程的源头质量控制项目。

表3 复苏的单个核细胞质量标准

序号	项目	质量标准
1	细胞活率	≥70%
2	细胞数量	依实际使用需求
3	无菌检测	无细菌生长
4	细菌内毒素	<0.5EU/mL
5	可见异物检测	无可见异物

6.7 不合格单个核细胞的处理

不符合储存和复苏质量标准的单个核细胞视为不合格细胞。应建立不合格细胞销毁处理程序，包括复核、标记、隔离、批准、销毁和记录。

7 单个核细胞的质量评价与放行

7.1 单个核细胞储存入库质量评价与放行

- 7.1.1 制备和检测环境应符合相应的技术要求。
- 7.1.2 操作人员应具备在不同洁净级别环境完成细胞相关操作的能力。
- 7.1.3 使用的设备经过检定或校准且在有效期内。物料供应商应经过审核，确保物料来源合法，有证明文件保证物料质量符合技术要求。
- 7.1.4 全血的采集与运输，以及白膜层细胞的运输均符合要求。
- 7.1.5 全血及白膜层的接收、标识以及暂存符合要求。
- 7.1.6 细胞检测结果应符合表1的要求。
- 7.1.7 采集、运输、制备、分离、冻存过程中不存在可能影响细胞质量的偏差。若有偏差发生，需评估其对细胞质量的影响，确认无影响后方可继续使用。

7.2 单个核细胞发放质量评价与放行

- 7.2.1 发放的细胞有储存入库的质量评价及放行记录。
- 7.2.2 细胞在储存期间，应定期检查储存容器有无影响细胞储存质量的异常情况（如容器破损，断电，储存环境温度异常等），若有异常情况发生，应确认异常情况对储存细胞质量无影响。
- 7.2.3 细胞出库及复苏过程正常。
- 7.2.4 细胞发放标签内容打印清晰、准确、完整，满足使用单位和运输要求。
- 7.2.5 细胞运输包装容器外观正常，无破损，有保温措施。

8 单个核细胞的标签、包装和运输

8.1 标签

- 8.1.1 建立单个核细胞编码规则，该编码应应用于健康献血者白膜层来源单个核细胞制备、储存、复苏和使用的全流程，编码宜明确区分不同流程阶段，同时便于溯源。
- 8.1.2 单个核细胞内包装标签内容至少应包括细胞名称、编码、规格、有效期、存储条件，宜包含制备日期、装量、储存条件、制备单位等信息。
- 8.1.3 根据运输要求及质量要求，外包装标签可印刷“冷藏运输”“小心运输”和“轻拿轻放”等图示。

8.2 包装

- 8.2.1 直接接触单个核细胞的包装容器，应为与细胞体积相适配的细胞转移袋或冻存管。
- 8.2.2 直接接触单个核细胞的包装材料在使用前，应确认包装效果，确保细胞在运输周期内的效用与完整性，并防止损害、变质、污染或其他不良影响的发生。

8.3 运输

- 8.3.1 单个核细胞运输应使用外部容器，该容器应由能耐受内容物泄漏、碰撞、压力变化、温度波动及戳刺的材料制成。
- 8.3.2 运输温度应确保单个核细胞的质量稳定，宜采用干冰或液氮作为运输介质。
- 8.3.3 运输人员资质、冷库及冷藏车的要求，均不得低于《医疗器械冷链（运输、贮藏）管理指南》的规定。
- 8.3.4 运输单个核细胞时，不应经过放射性检测装置。若确需进行相关检查，应对容器内细胞进行人工查验。
- 8.3.5 运输容器应配备实时温度记录装置，应保存或打印运输过程中的温度记录，温度记录应至少保存3年。

9 风险控制

9.1 物料的选择

- 9.1.1 单个核细胞制备、储存和复苏过程中用到的物料如分离液、稀释液、冷冻保护剂等，应优先使用有药品、医疗器械或体外诊断试剂注册证明的产品。
- 9.1.2 可使用有充分证据支持的物料，证据需能证明该物料在本文件规定的技术条件下适用。证据来源包括医学文献、临床试验报告、检测机构证明等资料。此类物料应进行无菌、支原体和细菌内毒素检测，检测结果需符合质量要求。

9.2 健康献血者信息保密

严禁向任何外部机构或个人泄露献血者个人信息，献血者个人信息仅限记录于健康筛查记录、知情同意书，不得留存于其他载体。在采集时及时赋予采集编码，该编码具有唯一性，也是后续记录中的唯一标识。

9.3 编码管理

编码系统应由专人负责管理，确保每一份细胞样本所用编码的唯一性，禁止编码重复使用，保障细胞追溯的有效性

9.4 生物安全

- 9.4.1 全血及血液成分在完成病原体检测前，应视为有生物危害的样品进行管理。
- 9.4.2 病原体检测呈阳性的全血及血液成分，应依照 GB 19489 的要求进行处理与销毁。

参 考 文 献

[1] 田亚平, 汪德清, 赵秀梅, 等. 无偿献血者免疫细胞资源库专家共识. 中国输血杂志[J], 2019, 32(6): 517-520.

[2] 中国医药生物技术协会. 人外周血单个核细胞的采集、分离和保存: T/CMBA 011-2020[S]. 北京: 中国医药生物技术协会, 2020.

[3] 中国研究型医院学会. 健康献血者的单个核细胞储存规范 第5部分: 单个核细胞产品质量评价与放行: T/CRHA 008-2022[S]. 北京: 中国研究型医院学会, 2022.

[4] 深圳市市场监督管理局. 人类血液来源免疫细胞库建设与管理规范: SZDB/Z 185-2016[S]. 深圳: 深圳市市场监督管理局, 2016.

[5] 中华人民共和国全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国生物安全法[Z]. 北京: 中国法制出版社, 2020.

[6] 中华人民共和国卫生与健康委员会. 药品生产质量管理规范[Z]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011.