

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 895—2026

脐带血造血干细胞制备与冻存标准

Standard for umbilical cord blood hematopoietic stem cell processing and
cryopreservation

2026 - 04 - 10 发布

2026 - 09 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准为您推荐性标准。

本标准由国家卫生健康标准委员会血液标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由国家卫生健康委医疗管理服务指导中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委员会医疗应急司负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：中国妇幼保健协会、北京市脐带血造血干细胞库、浙江省血液中心、浙江省脐带血造血干细胞库、国家卫生健康委临床检验中心、北京大学人民医院、广东省脐带血造血干细胞库、天津市血液中心、天津市脐带血造血干细胞库、山东省脐带血造血干细胞库、四川省脐带血造血干细胞库。

本标准主要起草人：刘开彦、魏晓飞、朱发明、王露楠、侯瑞琴、魏伟、高洁、李天君、雒猛、赖真阳。

脐带血造血干细胞制备与冻存标准

1 范围

本标准规定了脐带血造血干细胞制备、冻存和检测的技术内容。

本标准适用于脐带血造血干细胞库的非血缘供者脐带血造血干细胞制备、冻存和检测。

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标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

WS/T 203 输血医学术语

3 术语和定义

WS/T 203 界定的以及下列术语和定义适用于本标准。

3.1

脐带血造血干细胞库 umbilical cord blood hematopoietic stem cell bank

以人体造血干细胞移植为目的，具有采集、处理、保存和提供造血干细胞的能力，并具有相当研究实力的特殊血站。

3.2

脐带血供者 umbilical cord blood donor

提供脐带血的新生儿。

3.3

脐带血造血干细胞 umbilical cord blood hematopoietic stem cell

去除大部分红细胞和血浆的富含造血干细胞的脐带血制剂。

3.4

脐带血标本 umbilical cord blood specimen

从脐带血或者脐带血造血干细胞中留取的血液标本。

3.5

母血标本 maternal blood specimen

从脐带血供者母亲的外周血采集的血液标本。

4 脐带血造血干细胞制备

4.1 环境

4.1.1 宜以密闭系统进行脐带血造血干细胞制备。无菌接驳过程视作密闭系统操作。

4.1.2 若采用开放系统制备脐带血造血干细胞，制备环境动态标准应至少达到C级洁净区（表1）的要求，操作台局部应达到A级洁净区（表1）的要求。

4.1.3 制备环境温度宜控制在15℃~25℃。

表 1 洁净区空气洁净度等级

洁净度级别	悬浮粒子最大允许数/m ³				微生物监测的动态标准			
	静态		动态		浮游菌 CFU/m ³	沉降菌 (ϕ 90mm) CFU/4h	表面微生物	
	$\geq 0.5 \mu\text{m}$	$\geq 5.0 \mu\text{m}$	$\geq 0.5 \mu\text{m}$	$\geq 5.0 \mu\text{m}$			接触(ϕ 55mm) CFU/碟	5指手套 CFU/手套
A级	3520	20	3520	20	<1	<1	<1	<1
B级	3520	29	352000	2900	10	5	5	5
C级	352000	2900	3520000	29000	100	50	25	—

4.2 制备前验收

4.2.1 制备前脐带血的保存和运输温度为 4℃~25℃。

4.2.2 母血标本的保存温度为 2℃~8℃，运输温度为 2℃~10℃。

4.2.3 接收脐带血和母血标本时，应核对数量，检查外观、标签或标识和资料信息。脐带血全血体积应 $\geq 40\text{mL}$ 。

4.3 制备方法

4.3.1 应使用无菌操作方法进行脐带血造血干细胞制备。应对制备方法进行验证和评估，在去除大部分红细胞和血浆的同时，保持适当的有核细胞活性和有核细胞回收率。

4.3.2 制备后有核细胞回收率宜 $\geq 60\%$ 。当回收率低于标准时，应分析原因并确定是否重新制备或者终止制备。

4.3.3 宜使用无菌接驳技术对制备过程中的脐带血成分进行转移。

4.4 标本留取

4.4.1 应保存至少两段与脐带血冷冻袋相连的管路标本，每段至少 100 μL 。

4.4.2 应保存至少 2 管非肝素化脐带血血浆标本，至少 2 管非肝素化母亲外周血血浆标本。每管容量应至少 1.8 mL，储存在-18℃以下。

4.4.3 应保存适合制备至少 20 μg 基因组 DNA 的脐带血和母亲外周血标本，可以为提纯的 DNA、冷冻细胞或印迹。

5 脐带血造血干细胞冻存

5.1 环境

5.1.1 应卫生整洁，具备防火、防水、防震、防液氮泄漏的安全措施。

5.1.2 应配备门禁系统，未经授权人员不应进入。

5.1.3 冻存区域的温度和湿度应符合设备厂家的规定，并进行记录。必要时配备强排风和除湿机等设备。

5.1.4 使用液氮的区域应连续监测空气中的氧含量。若氧含量低于 19.5%时，应有声/光报警，并采取通风措施；非紧急情况下，应待氧含量恢复正常后，工作人员才能进入。

5.1.5 在使用液氮的区域入口外应有应急氧气面罩，以供工作人员在氧气含量低的紧急情况下进入使用。

5.2 冷冻

5.2.1 应在采集后 48 h 内开始脐带血造血干细胞的冷冻。

5.2.2 制备后的脐带血造血干细胞应在无菌条件下或采用密闭系统，缓慢添加冷冻保护剂，边加边振荡，使细胞和冷冻保护剂充分混匀。宜采用微量注射泵控制冷冻保护剂的添加速度。若冷冻保护剂含二甲基亚砜 (DMSO)，使用前应预冷至 2℃~8℃。DMSO 的终浓度为 5%~10%。

5.2.3 应将脐带血冷冻袋放入保护盒后进行冷冻。

5.2.4 程控降温仪的降温程序应经过确认。不使用程控降温仪时，冷冻方法应经验证和评估。

5.2.5 应记录冷冻保护剂输注开始时间和程控降温开始时间。从添加冷冻保护剂到开始程控降温的持

续时间应尽量缩短并经过验证。

5.3 隔离

5.3.1 应对脐带血造血干细胞制备和冷冻过程中发现的疑似不合格品进行标识和隔离，以进一步调查和判断。

5.3.2 应将待检测脐带血造血干细胞和不合格脐带血造血干细胞进行隔离储存，防止库存脐带血造血干细胞的交叉污染和误放行。

5.3.3 母血标本输血相关传染病标志物检测结果呈反应性或检测结果未明确时，脐带血造血干细胞应一直隔离储存。

5.3.4 对于应隔离储存的脐带血造血干细胞，宜将其储存在有明确标识的物理隔离区域，或是通过其他程序进行识别，包括信息管理系统状态指定。

5.4 入库放行

5.4.1 入库放行人员应为脐带血造血干细胞库主任或其指定人员，质量管理人员应监控脐带血造血干细胞的放行，并有监控记录。

5.4.2 入库放行人员应正确识别每份合格入库放行的脐带血造血干细胞。脐带血采集、制备、冷冻和检测环节应符合入库放行标准，并审核相关记录。

5.4.3 入库放行人员应正确识别每份不合格脐带血造血干细胞。审核脐带血采集、制备、冷冻和检测环节不符合入库标准的相关记录，应对不合格脐带血造血干细胞进行有效处置。

5.5 储存

5.5.1 库存管理

5.5.1.1 应准确记录脐带血造血干细胞和相关标本的储存位置，储存位置信息至少应包括储存设备编号、冻存架编号及位置编号。

5.5.1.2 应采用电子信息系统对脐带血造血干细胞库存进行动态管理。

5.5.2 储存温度与监测

5.5.2.1 冷冻处理后脐带血造血干细胞的储存温度应不高于 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.5.2.2 储存设备应具备实时监控和报警装置。储存脐带血造血干细胞的液相液氮罐，应对液氮液位进行连续监测，至少每24 h记录1次。储存脐带血造血干细胞的气相液氮罐，应对罐内温度进行连续监测，至少每4 h记录1次。每周应至少测量液氮罐的液氮液位1次，若测量值和液氮罐显示值差异超过设备厂家允许误差，应进行校准。

5.5.2.3 储存设备发生报警时应及时处理，采取措施避免储存脐带血造血干细胞的升温；解除报警后，应对报警原因进行分析和记录。

5.5.2.4 若脐带血造血干细胞在转罐及提取时发生升温事件导致冷冻袋表面温度 $>-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，则应记录该升温事件的持续时间，并评估对脐带血造血干细胞质量的潜在影响。

5.5.3 应配备液氮低温防护器具，至少应包括耐低温手套和防护面罩。

5.5.4 应制定液氮泄漏应急预案，每年对工作人员至少进行1次培训和演练。

5.5.5 应巡检液氮储槽。每天至少检查1次液氮储槽安全阀、压力表及各个阀门的状态，并记录液氮储槽压力与液位的数值。

6 血液检测

6.1 检测项目

6.1.1 血液学检测

6.1.1.1 血型鉴定，包括：

- ABO血型正定型；
- RhD血型定型。

6.1.1.2 有核细胞计数，包括：

- 白细胞计数；

- 有核红细胞计数。
- 6.1.1.3 细胞活性测定，包括：
 - 有核细胞活性测定；
 - CD34 阳性细胞活性测定。
- 6.1.1.4 CD34 阳性细胞计数。
- 6.1.1.5 CFU-GM 测定。
- 6.1.1.6 HLA 基因分型检测（包括 HLA-A、HLA-B、HLA-C 和 HLA-DRB1 位点）。
- 6.1.1.7 血红蛋白病检测（包括血红蛋白病基因检测或血红蛋白电泳检测）。
- 6.1.2 微生物学检测
 - 需氧菌、厌氧菌以及真菌培养。
- 6.1.3 输血相关传染病标志物检测
 - 6.1.3.1 人免疫缺陷病毒（HIV）感染标志物，包括：
 - 人免疫缺陷病毒核酸（HIV RNA）；
 - 人免疫缺陷病毒 1 型抗体和人免疫缺陷病毒 2 型抗体（抗 HIV-1+2），或者人免疫缺陷病毒抗原抗体（HIV Ag/Ab）。
 - 6.1.3.2 乙型肝炎病毒（HBV）感染标志物，包括：
 - 乙型肝炎病毒核酸（HBV DNA）；
 - 乙型肝炎病毒表面抗原（HBsAg）。
 - 6.1.3.3 丙型肝炎病毒（HCV）感染标志物，包括：
 - 丙型肝炎病毒核酸（HCV RNA）；
 - 丙型肝炎病毒抗体（抗 HCV），或者丙型肝炎病毒抗原抗体（HCV Ag/Ab）。
 - 6.1.3.4 梅毒螺旋体（TP）感染标志物：梅毒螺旋体特异性抗体（抗 TP）。
 - 6.1.3.5 巨细胞病毒（CMV）感染标志物：巨细胞病毒 IgM 抗体（CMV IgM），或者巨细胞病毒核酸（CMV DNA）。
 - 6.1.3.6 国家和省级卫生健康行政部门规定的地方性、时限性输血相关传染病标志物。

6.2 检测策略

- 6.2.1 根据流程环节选择不同标本类型进行项目检测（表 2）。

表 2 检测项目选择

检测项目	脐带血标本		母血标本
	入库检测	出库检测	入库检测
血型鉴定	√	—	—
有核细胞计数	√	√	—
有核细胞活性测定	√	√	—
CD34阳性细胞计数	√	√	—
CD34阳性细胞活性测定	—	√	—
CFU-GM测定	√ ^a	√	—
HLA基因分型检测	√	√	—
血红蛋白病检测	√ ^b	—	—
需氧菌、厌氧菌以及真菌培养	√	—	—
输血相关传染病标志物检测	√ ^c	—	√

^a 宜对制备后冷冻前脐带血造血干细胞进行 CFU-GM 测定。
^b 血红蛋白病检测仅限于脐带血供者有血红蛋白病家族史或属于血红蛋白病高发的种族人群。
^c 宜在脐带血造血干细胞可供对外查询之前，对脐带血标本进行输血相关传染病标志物检测。

- 6.2.2 应使用添加冷冻保护剂后的脐带血标本进行需氧菌、厌氧菌以及真菌培养。
- 6.2.3 脐带血标本输血相关传染病标志物检测仅进行血清学标志物检测。血清学标志物检测技术包括酶联免疫吸附试验（ELISA）、化学发光免疫分析试验（CLIA）。

6.3 血液检测合格判定标准

6.3.1 血液学检测

- 6.3.1.1 ABO 血型正定型和 RhD 血型定型试验结果正确。
- 6.3.1.2 冷冻前有核细胞总数 $\geq 4 \times 10^8$ 。
- 6.3.1.3 冷冻前有核细胞活性 $\geq 85\%$ 。
- 6.3.1.4 冷冻前活 CD34 阳性细胞总数 $\geq 1.25 \times 10^6$ 。
- 6.3.1.5 CFU-GM 测定有集落生长。
- 6.3.1.6 HLA 基因分型检测结果正确。
- 6.3.1.7 血红蛋白病基因检测无纯合子突变，或血红蛋白电泳检测无异常。

6.3.2 微生物学检测

需氧菌、厌氧菌以及真菌培养阴性。

6.3.3 输血相关传染病标志物检测

- 6.3.3.1 HIV、HBV、HCV、TP 感染标志物检测的最终结论均为无反应性。
- 6.3.3.2 如开展地方性、时限性输血相关传染病标志物检测，其最终检测结果均为无反应性。
- 6.3.3.3 针对巨细胞病毒的 IgM 抗体或核酸检测结果，不参与脐带血造血干细胞入库判定，仅供临床移植供者选择时作为参考。

参 考 文 献

- [1] GB 8958 缺氧危险作业安全规程
 - [2] 药品生产质量管理规范（2010年修订）（中华人民共和国卫生部令第79号）
 - [3] 血站技术操作规程（2019版）（国卫医函〔2019〕98号）
 - [4] Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy. NetCord-FACT international standards for cord blood collection, banking, and release for administration. 8th ed. Omaha: Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy, 2024.
 - [5] Association for the Advancement of Blood & Biotherapies. Standards for cellular therapy services. 11th ed. Bethesda: Association for the Advancement of Blood & Biotherapies, 2023.
-