

团体标准

T/JSMA 001 — 2018

肾脏疾病生物样本库的管理及操作规范

The Management and Technical Specification for Biospecimen in Renal Biobank

2018-10-17 发布

2018-10-17 实施

江苏省医学会 发布

前 言

本标准针对肾脏疾病生物样本管理和操作制定的规范。

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准以2011年发表的中国医药生物技术协会生物样本库标准（试行）和国际生物和环境样本库协会于2012年发布的“2012最佳实践：研究用生物资源的采集、保存、检索及分发”为基础，结合美国国家癌症研究所2007年发表的“生物样本资源最佳实践”、罕见疾病研究办公室和国家糖尿病、消化系统疾病和肾脏疾病研究所2010年发布的“肾病综合征研究协作组操作手册”以及英国生物样本库协调中心2007年发布的“大规模前瞻性流行病学资源操作协议”制定而成。

本标准由江苏省医学会肾脏病学分会提出。

本标准由江苏省医学会归口。

本标准主要起草单位：国家肾脏疾病临床医学研究中心（南京总医院）。

本标准主要起草人：郑春霞，贺贝，朱玲，尹茹，朱萍，唐蓉，刘志红。

专家委员会委员（按姓氏拼音排序）：

付平（成都），关天俊（厦门），郝传明（上海），

蒋松（南京），李贵森（成都），刘虹（长沙），

刘健（乌鲁木齐），刘章锁（郑州），秦卫松（南京）

万建新（福州），王伟铭（上海），张爱华（南京），

张宏（北京），赵景宏（重庆），庄永泽（福州）

引 言

慢性肾脏病是严重威胁人类健康的慢性非传染性疾病之一。根据我国卫生与健康事业发展的需求，规范化、标准化、高质量的大样本生物样本和临床数据已成为开展大规模组学研究、前瞻性队列研究、新药研发等临床和基础研究的重要基础，是肾脏疾病领域研究体系的新方向。加强临床科研资源整合共享，促进生物样本、临床研究大数据等资源的高效整合利用，推动我国肾脏疾病临床和基础研究发展，从而全面提高我国肾脏疾病的诊治水平。

标准化的生物样本库建设为发现新的生物标志物、揭示疾病分子机制奠定了坚实的基础，为提高疾病防治水平提供了强有力的支撑。结合国内外大型生物样本库的管理、操作规范（指导或实践）和肾脏疾病生物样本采集处理的实际情况，我们制定了“肾脏疾病生物样本库的管理及操作规范”，旨在帮助国内肾脏病单位生物样本库人员实现规范化管理和标准化操作，并为将来生物样本共享提供统一的标准。

肾脏疾病生物样本库的管理及操作规范

1 范围

本标准包括肾脏疾病生物样本库的管理，以及生物样本（血液、尿液、肾活检组织和指甲样本）的采集、处理、保存、运输、使用和销毁等全流程的技术规范。

本标准适用于国内肾脏病单位生物样本库人员。

2 术语和定义

GB/T 20000.1 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

2.1 质量管理体系 quality management system

为实现质量管理的方针目标、有效地开展各项质量管理活动，建立相应的管理体系，这个体系即为质量管理体系。文件包括：质量手册、程序文件、标准操作规程和记录。

2.2 血 RNA 管 RNA tube

一种采血管，预先放有稳定细胞内 RNA 的试剂。

2.3 RNA 保护液 RNA protect reagent

一种溶液，能快速渗透到细胞或组织的内部，抑制样本中 RNA 酶的活性。

2.4 样本分析前代码 sample preanalytical code

根据国际生物和环境样本库协会发布的标准化样本分析前代码表，针对样本采集和实验分析之间的操作过程所形成的标准化代码。

2.5 样本管理系统 sample management system

一套电子化库存管理系统，用来追踪样本库内保存的每一份样本所处的位置和相关注释。

2.6 材料转移协议 material transfer agreement

一种合同，用于两个组织之间研究材料、生物材料 and 数据等的转移文件。

2.7 质量控制 quality control

简称质控，为达到规范或规定对数据质量要求而采取的作业技术和措施。

3 伦理审批、行政许可报批和人员配备

生物样本库的建立和运行应经过伦理审批和国家科技部的行政审批。

3.1 研究方案、样本采集方案及知情同意书等材料应经本单位伦理委员会的批准

同意后使用。此外，任何研究方案等文件的修改必须再次获得伦理委员会批准后实施，同时按照我国相关法规和伦理委员会要求及时递交其他跟踪审查文件。

3.2 根据科技部《人类遗传资源采集、收集、买卖、出口、出境审批》的要求，样本库对于准备长期保存的样本在获得伦理批件后应向国家人类遗传资源管理办公室报批。

3.3 样本库工作人员应具备医学（或检验，或生物学）相关知识。

3.4 样本库工作人员应接受专业化培训后上岗。

3.5 样本库工作人员应签署保密协议。

4 样本采集前准备

4.1 医务人员在样本采集前对样本捐献者进行宣教，并告知注意事项。

4.2 护士按照样本采集方案准备物品，包括采血管、尿杯、标签等。

4.3 核对样本采集所有的相关信息。

4.4 采血物品和尿杯是一次性且在有效期内。

5 样本采集

根据样本采集方案选择应遵循的要求。样本量应不小于研究者提交的研究方案中要求的最小量。

5.1 确认样本捐献者已签署知情同意书。

5.2 采集样本时应佩戴口罩、手套等防护用品。

5.3 血液样本采集

血液样本的采集应遵循无菌原则及本单位操作规程。血液样本的采集选择外周静脉血，空腹采血。如果非空腹采血，应标注说明。

应采取防止溶血的措施：

- a) 不应用力拍打患者血管。
- b) 扎止血带的时间及松紧应合适，不宜过长或过紧。
- c) 应待消毒液干燥后再进行穿刺。
- d) 血液采集后应及时颠倒混匀采血管内试剂和血液，但不要剧烈摇晃。
- e) 采集后的血液样本不应突然冷却或受热。

特殊血液样本采集的注意事项：

- a) 血 RNA 管和单个核细胞分离管的血液采集应放在第二管或以后。
- b) 采集后应上下颠倒摇匀试剂和血液 8~10 次，然后垂直放入样本架。

c) 采集后室温放置，直至下一步处理。

5.4 尿液样本采集

尿液样本包括晨尿或随机尿液、24h 尿液。样本采集具体注意事项如下：

a) 护士交给样本捐赠者的收集容器应贴有标签，并核对姓名。

b) 指导捐赠者留取样本时注意避免污染，留取样本前应洗手，和（或）实施其他必要的清洁措施。

c) 指导捐赠者样本留取后将容器盖好，防止尿液溢出。

d) 指导女性捐赠者应避免月经期留取尿液样本。

e) 指导捐赠者留取 24h 尿液时，建议添加防腐剂（甲苯或叠氮钠），或按照样本采集方案要求确定是否加入防腐剂。

5.5 肾组织样本采集

建议由病理技术人员收集肾穿刺组织，单独留取一条肾组织。肾组织体积不小于 1mm×5mm×1mm。组织处理方法推荐如下：

a) 浸入 RNA 保护液：

组织一旦取出，迅速（≤5min）放入装有 RNA 保护液的冻存管（提前贴好标签）中，RNA 保护液与组织的体积比至少为 10:1，组织应全部浸入，然后暂存于 4℃冰箱，但不超过 24h。

b) 液氮速冻：

组织一旦取出，迅速（≤5min）放入冻存管（提前贴好标签）中，然后将冻存管投入液氮中冷冻直至转入-80℃超低温冰箱。

5.6 指/趾甲样本采集

a) 采集前确认捐赠者指/趾甲清洁、干燥。

b) 指导捐赠者如涂有指/趾甲油应在留取样本前去除。

c) 指/趾甲样本的采集应使用不锈钢材质剪，防止金属碎屑污染。

d) 采集的指/趾甲样本长度宜大于 1mm。

e) 样本采集后放入冻存管或纸袋（提前贴好标签），旋紧盖子或封住纸袋口。

6 样本运送与交接

6.1 样本运送

- a) 样本建议由门诊或病房护士负责运送。
- b) 采集好的样本宜在 2h 内送至样本库处理。
- c) 血液、尿液样本如 2h 内不能运送，应放置 2℃~8℃冰箱暂存。
- d) 样本的运送建议使用冷藏包或同类物品。
- e) 样本冷藏包内放置的冰袋不应直接接触样本采集容器。
- f) 特殊采血管应按说明书要求进行运送。

6.2 样本质量检查

样本库技术人员应进行样本质量检查、并记录，定期汇总，形成质量检查报告表。

- a) 样本库技术人员应检查送来的血液样本有无溶血现象、样本量是否合适。
- b) 样本库技术人员应检查尿液样本有无污染、样本量是否足够，核实是否加入合适的防腐剂。
- c) 样本库技术人员应检查采血管、尿液容器是否有裂痕或盖子是否旋紧。
- d) 样本库技术人员应检查肾组织样本是否全部浸泡在 RNA 保护液中。
- e) 样本库技术人员应检查指/趾甲样本是否符合要求。
- f) 样本库技术人员应核对样本交接单上的采集时间、是否空腹采血、运送时间是否完整和准确。
- g) 上述检查结果反馈给样本采集人员。
- h) 样本运送人员和样本库技术人员双方在样本交接单上签字。

6.3 样本交接记录材料妥善保存，归入记录文档。

6.4 建立不合格样本的处理程序

依据样本库质量管理体系，对不合格样本的处理步骤参照以下：

- a) 样本库技术人员如发现样本质量有问题，拒绝接收，并记录样本相关信息。
- b) 采集人员在获得捐赠者的同意后重新采集样本。
- c) 分析样本不合格原因，如有必要，通知相关人员再次进行培训及学习。

7 样本处理和分装

- 7.1 样本库技术人员应注意自身防护，佩戴手套、口罩，必要时佩戴护目镜。
- 7.2 样本分装的类型、样本量及管数应按照样本采集方案执行。
- 7.3 离心机参数应按照样本采集方案设置。

7.4 血单个核细胞分离管应在采血后 2 h 内进行离心和分离, 然后按照单个核细胞的处理方法进行洗涤和冻存。

7.5 用于分离血清、血浆、白膜层细胞和抽提 DNA 的血液样本宜在样本接收后 2h 内处理完毕, 如 2h 内无法完成, 提前暂放 4℃冰箱保存。

7.6 血 RNA 管采集血液后应在常温下放置 2h 以上 (但不超过 3 天), 然后存放在 -20℃冰箱至少 24h, 再转入 -80℃超低温冰箱保存。

7.7 血液 DNA 提取后应及时检测 DNA 浓度和纯度, 如不合格应及时查找原因并记录。

7.8 尿液样本中是否添加防腐剂和 (或) 蛋白酶抑制剂, 参照研究方案或样本检测目的执行。

7.9 尿液样本宜在样本接收后 2h 内处理完毕, 如 2h 内无法完成, 提前暂放 4℃冰箱保存。

7.10 尿液样本宜经离心分离为尿液上清和尿液沉淀, 分别保存。

7.11 尿液沉淀根据研究方案进行处理。

7.12 RNA 保护液中的肾组织样本应在 24h 内置 -80℃超低温冰箱保存。

7.13 液氮速冻肾组织样本应在速冻完毕后尽快转移至液氮罐中保存。

7.14 装有样本的冻存管盖应拧紧, 防止冻存后出现液体溢出和避免样本之间污染。

7.15 操作过程中应注意核对, 以免错贴标签。

7.16 冻存管上贴的标签或直接附带的二维码应遵循以下要求:

- a) 标签或二维码携带的信息可包含样本编号、疾病及样本类型、采样部位、采样日期等。

- b) 样本应有唯一的编号, 但不能透露捐赠者的信息。

- c) 样本的储存信息、研究数据等都能通过唯一的样本编号关联到同一个样本上。

7.17 样本入库前建议将每一份样本的样本分析前代码记录在样本管理系统中。

8 样本入库

8.1 同一捐赠者同一类型样本的不同份数宜存入不同的冰箱或液氮罐。

8.2 装有样本的冻存盒宜放入装有干冰的运输箱中运送到样本库库房。

8.3 -80℃超低温冰箱宜提前根据冻存盒的体积放置好相应冻存架，以防止冰箱温度升高过快。

8.4 向超低温冰箱放置冻存盒时应先核对样本管理系统中冻存盒的位置。

8.5 入库过程中，-80℃超低温冰箱温度应保证在-60℃以下。

9 样本的使用与共享

9.1 样本使用申请材料（至少应包括研究方案、申请使用样本的类型、数量和体积）应递交学术委员会及本单位伦理委员会审批。

9.2 若使用样本库样本和数据用于国际合作研究课题，必须以该研究课题为主体获得国家人类遗传资源管理办公室的审批。

9.3 经学术委员会和伦理委员会审批，获得书面签字同意后，样本方可出库。

9.4 如有外单位申请样本使用，样本出库前还应签署材料转移协议。

9.5 调取样本过程中应保证-80℃超低温冰箱温度在-60℃以下。

9.6 出库的样本如需短暂保存或运输，应按照申请者要求进行保存和运输。

9.7 样本管理系统中应有样本出库和冻融次数记录。

9.8 最后一管样本被调取之前，样本管理系统应对其做出预警。

9.9 样本出库后，由样本库负责人和技术人员双签字确认。

9.10 样本出库后应在冰箱实时温度监控系统中记录调取样本的时间段。

9.11 样本出库后，样本的质控和检测数据应返回样本库，统一管理。

9.12 出库的样本不得转给第三方使用。

9.13 样本的研究结果公开发表时，应注意保护捐赠者的隐私。

10 样本库巡检和应急预案

样本库应建立所有冰箱巡检和实时温度监控系统报警响应机制，并制订突发事件的应急预案。包括（但不限于）以下内容：

- a. 样本库技术人员应每日巡检样本库库房和所有冰箱一次。
- b. 样本库技术人员和负责人均应接收实时温度监控系统报警。
- c. 样本库技术人员巡检发现异常和接收到报警信息后，应立即进行处理，如无法处理应立即向样本库负责人汇报。
- d. 样本库应具备容灾计划（应急照明灯、双电路供电系统、备用冰箱）来应对

各种紧急事故。

- e. 应急预案应至少包含：断电的处理、水 / 火灾的处理、化学灼伤的处理、触电的急救。

11 样本运输

11.1 针对不同温度要求和不同体积的生物样本配备合适的运输容器。对温度要求严格的样本应配备实时温度监控装置，确保整个运输过程样本的温度。

11.2 样本交给快递公司时，双方应核对样本数量，在样本清单上签字。

11.3 样本应置于冷冻剂中间，空余位置用塑料泡沫填充。

11.4 样本应在指定时间内到达，如因客观原因延迟，应及时补充冷冻剂。

11.5 样本接收时应同时获得实时温度记录单。

12 样本销毁

12.1 申请销毁的样本必须符合以下两种情况之一，方可进行销毁：

a) 样本的质量出现问题，已证实无法保证其应用价值。提起申请的同时应提供样本的质量检测报告，并由第三方随机抽取一部分样本进行检测，确定该样本确实不再具备应用价值后，样本库方可销毁样本。

b) 样本捐赠者提出反悔意见，撤销知情同意书并要求销毁所捐赠的未使用样本。由样本捐赠者本人向样本库递交撤销申请。应充分尊重样本捐赠者的权利，委托第三方监督样本的销毁。

12.2 因撤销知情同意书而被销毁的样本，其所有相关信息和数据应从信息系统中删除，相关的文本记录也应销毁，仅保留撤销申请和样本销毁的记录。

13 样本处理室环境消毒

a) 操作台消毒：用 75%乙醇擦拭，每日两次。当受到明显污染时，先用吸湿材料去除可见的污染物，再进行消毒处理。

b) 空气消毒：紫外线灯照射，每日两次，每次 30min。

c) 地面消毒：用 2000mg/L 有效氯消毒液浸泡拖把后拖地，每日一次。

14 医疗垃圾的处理

14.1 样本采集、分装和处理后的一次性废弃物如采血管、塑料滴管、尿杯等应按要求放置在医院指定的医疗垃圾袋中。

- 14.2 医疗垃圾应包装严实、没有滴漏，并有交接手续、相关记录和签名。
- 14.3 医院专人运输至医院统一处理或送至指定地点进行无害化处理。
- 14.4 各种仪器和试剂盒的废液应直接排入废液管道或集中在污水处理中心处理。
- 14.5 医疗垃圾的处理要求：
- a) 化学废物不应混入生物或放射性废物。
 - b) 为了避免爆炸、火灾或泄漏，不相容的化学物质不应组合混合在一个容器中。
 - c) 易燃、有毒的有机废物应与其他废物隔离。
 - d) 用于贮存化学废物的容器应具有密封性和完整性。
 - e) 不对废物自行处理，废物应由具有许可证的废物处理公司定期回收或安全处理。

15 样本库质控

样本库质控是样本库质量管理体系中的重要部分（附录 A）。样本库质控应涉及样本库运行中的每一个环节。

15.1 制订样本库流程质控清单，每个季度按照清单条目逐项进行评分，生成质控报告。质控清单包括（但不限于）：样本库设备和环境巡检和检修、实时温度监控、样本库应急预案实施、样本库人员培训情况、样本操作全过程、样本管理系统的数据安全、样本的保密性、样本使用 / 转移 / 销毁记录、样本库耗材 / 试剂出入库管理等。

15.2 制定样本库质量目标和计划，定期进行样本随机抽检质控，生成质控报告。核酸样本的质控包括：浓度、纯度和完整性检测。蛋白样本的质控包括：浓度和完整性检测。

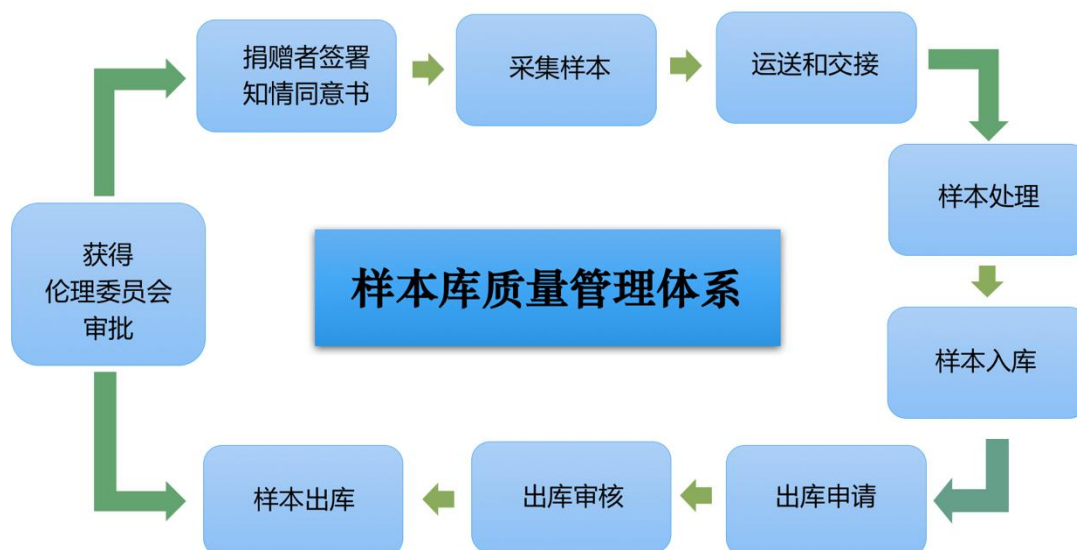
15.3 定期组织召开样本库质控分析会议，分析原因，提出持续改进措施。

15.4 所有质控报告表、质控会议总结均形成记录文档保存。

附录 A

(规范性附录)

生物样本库操作和管理



参考文献

- [1] 2012 best practices for repositories collection, storage, retrieval, and distribution of biological materials for research international society for biological and environmental repositories. Biopreserv Biobank, 2012;10(2): 79-161.
- [2] 中国医药生物技术协会生物样本库标准（试行）.中国医药生物技术, 2011; 6(1): 71-79.
- [3] Elliott P, Peakman TC; UK Biobank. The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. Int J Epidemiol, 2008; 37(2): 234-244.
- [4] Tuck MK, Chan DW, Chia D, et al. Standard operating procedures for serum and plasma collection: early detection research network consensus statement standard operating procedure integration working group. J Proteome Res, 2009; 8(1):113-117.
- [5] World Medical Association. Declaration of Helsinki, 2008.
- [6] WS/T 225-2002 临床化学检验血液标本的收集与处理.
- [7] Lehmann S, Guadagni F, International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) Working Group on Biospecimen Science. Standard preanalytical coding for biospecimens: review and implementation of the Sample PREanalytical Code (SPREC). BiopreservBiobank, 2012;10(4):366-374.
- [8] Rotter M, Brandmaier S, Prehn C, et al. Stability of targeted metabolite profiles of urine samples

under different storage conditions. *Metabolomics*, 2017; 13(1): 4.

[9] Wu W, Yang D, Tiselius HG, et al. Collection and storage of urine specimens for measurement of urolithiasis risk factors. *Urology*, 2015; 85(2): 299-303.

[10] Thongboonkerd V, Saetun P. Bacterial overgrowth affects urinary proteome analysis: recommendation for centrifugation, temperature, duration, and the use of preservatives during sample collection. *J Proteome Res*, 2007; 6(11):4173-4181.

[11] Mager SR, Oomen MH, Morente MM, et al. Standard operating procedure for the collection of fresh frozen tissue samples. *Eur J Cancer (Oxford)*, 2007; 43(5):828-834.

[12] Bennike TB, Kastaniegaard K, Padurariu S, Gaihede M, Birkelund S, Andersen V, Stensballe A. Comparing the proteome of snap frozen, RNAlater preserved, and formalin-fixed paraffin-embedded human tissue samples. *EuPA Open Proteomics*, 2016; 10: 9-18.

[13] Betsou F, Gunter E, Clements J, et al. Identification of evidence-based biospecimen quality-control tools: a report of the International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) Biospecimen Science Working Group. *J Mol Diagn*, 2013; 15: 3-16.

[14] Hsu CY, Ballard S, Battle D, et al. Cross-Disciplinary Biomarkers Research: Lessons Learned by the CKD Biomarkers Consortium. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015; 10(5):894-902.

[15] Grizzle WE, Fredenburgh J. Avoiding biohazards in medical, veterinary and research laboratories. *Biotech Histochem*, 2001; 76(4):183-206.

[16] Grizzle WE, Bell WC, Fredenburgh J. General considerations concerning safety in biomedical research laboratories. *Mol Diagn*, 2010; 39:563-572.