



团 体 标 准

T/CRHA 020—2023

老年髋部骨折生物样本的采集和处理规范

The technical specification for collection and processing of biospecimens of hip fractures for the elderly

2023- 07 - 28 发布

2023 - 08 - 01 实施

中国研究型医院学会 发 布

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 样本采集前准备 2

5 血液、骨骼和肌肉样本的采集和处理 4

6 样本储存 6

7 样本入库、出库和运输 7

附录 A（资料性） 老年髌部骨折样本采集病例报告表 8

附录 B（资料性） 生物样本库标签打印规则 9

附录 C（资料性） 老年髌部骨折生物样本库套装分类范例 10

附录 D（规范性） 血样本处理方法 11

附录 E（规范性） 骨骼、肌肉样本质量分类及处理方法 12

附录 F（规范性） 样本运输 15

参 考 文 献 16

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。

考虑到本文件中的某些条款可能涉及专利，中国研究型医院学会不负责对该类专利的鉴别。

本文件由中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会提出。

本文件由中国研究型医院学会归口。

本文件起草单位：中国人民解放军总医院第一医学中心、中国人民解放军总医院第四医学中心、中国人民解放军总医院医学创新研究部、中国人民解放军总医院第三医学中心、中国人民解放军总医院海南医院、中国科学院化学研究所、北京航空航天大学、陆军军医大学西南医院、西安交通大学第一附属医院、河北医科大学第三医院、东南大学附属中大医院、南方医科大学南方医院、天津市肿瘤医院、宁夏医科大学总医院、郑州大学第一附属医院。

本文件主要起草人：尹鹏滨、沈俊民、江婧婧、顾芳艳、黄骧、李毅、陈铭、吉栩、李志锐、赵喆、王健君、王晓刚、窦策、刘辉、秦瑾、李星儿、陈涛、郭燕、纳莉、王莉、吕厚辰、张里程、王艳、唐佩福。

引 言

随着人口老龄化的不断加剧，老年髋部骨折的发生率逐年上升。髋部骨折如股骨颈骨折、粗隆间骨折等是老年患者中最为常见的骨折类型之一，其具有高致死率、高致残率、高并发症发生率的特点，严重影响患者健康及生活质量。近年来，针对老年髋部骨折的研究呈现迅猛发展的态势，包括发生机制探索、危险因素挖掘、风险模型建立和临床疗效评估等。随着相关研究的深入，对于髋部骨折生物样本的需求也不断增长。

老年髋部骨折样本的采集具有多样性和复杂性。为了确保采样过程的严谨和同质化，保证样本间的可比性，有必要对老年髋部骨折样本的采集和处理进行规范，为后续科研产出奠定坚实的基础。

本文件旨在规范老年髋部骨折生物样本（血液、股骨头、股骨颈、髋部肌肉组织等）的采集前准备、采集、处理、储存和运输等流程。

本文件规范用于开展老年髋部骨折生物样本的采集、处理、储存和运输的生物样本库。为从事相关科学研究的单位提供完整的参考。

老年髋部骨折生物样本的采集和处理规范

1 范围

本文件规定了老年髋部骨折生物样本（血液、股骨头、股骨颈、髋部肌肉组织等）的采集前准备、采集、处理、储存和运输等全流程的技术规范。

本文件适用于开展老年髋部骨折生物样本的采集、处理、储存和运输的生物样本库。

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/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求

GB/T 38576 人类血液样本采集与处理

GB/T 38736 人类生物样本保藏伦理要求

GB/T 39767 人类生物样本管理规范

GB/T 39768 人类生物样本分类与编码

GB/T 40364 人类生物样本库基础术语

WS/T 225 临床化学检验血液标本的收集与处理

WS/T 661 静脉血液标本采集指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

骨骼生物样本 bone biospecimens

为开展科学研究，从人体获得的骨骼组织生物样本材料，包括但不限于髋臼、股骨头、股骨颈、股骨转子间和股骨转子下部位的皮质骨和松质骨。

3.2

肌肉生物样本 muscle biospecimens

为开展科学研究，从人体获得的肌肉组织生物样本材料，包括但不限于臀大肌、臀中肌、臀小肌等。

3.3

血液生物样本 blood biospecimens

为开展科学研究，从人体获得的血液相关的生物样本材料，包括但不限于全血、血浆、血清、蛋白等。

3.4

髋部骨折 hip fractures

指髋关节周围发生的骨折，包括股骨颈骨折、髋臼骨折、转子间骨折、股骨头骨折等。

3.5

人工髋关节置换术 hip joint arthroplasty

指使用金属、陶瓷或聚乙烯等材料的假体取代整个或部分病变关节的手术。

3.6

临床研究骨干 clinical research fellow

负责老年髋部骨折收集对象的识别入组、捐赠者知情同意的获取、临床-实验室沟通的工作人员，可由相关临床科室的医师担任。

3.7

临床研究助理 clinical research assistant

负责血液样本的采集、运送以及填写血液样本流程单的工作人员，可由样本库的技术员或者相关临床科室的护士来担任。

3.8

样本库技术员 biobank technician

负责各类样本的采集，以及后续的处理、储存、出库，以及填写样本流程单的工作人员，可专职雇用或由培训合格的医师或护士担任。以下简称技术员。

3.9

样本流程单 sample workflow sheet

用来记录样本的采集、处理和储存过程的表单，按照采集的样本类型分为：血液样本流程单、手术切除骨骼组织样本流程单、手术切除肌肉组织样本流程单。

3.10

样本库管理系统 biobank management system

用来记录和追踪样本库内储存的样本所处的位置与样本所关联的所有信息的一套完善的信息化软件系统。

3.11

套装 kit

为了方便样本的采集，将样本采集或处理流程中所需的相关耗材集中包装在一起，并以标签标注，按照功能不同进行分类，包括血液样本采集套装、血液样本处理套装、骨骼样本采集套装、和肌肉样本采集套装。

4 样本采集前准备

4.1 伦理审批

人类生物样本保藏的伦理方面应符合GB/T 38736的要求。在本单位或上级单位伦理委员会对相关方案和文件材料批准同意后，再进行样本采集和保藏的相关工作。此外，任何相关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。

4.2 行政审批

根据《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（以下简称《条例》）的要求，在《条例》要求内的项目组需在获得伦理批件后向国务院科学技术行政部门报批。样本若需要保藏，则应保藏在有行政许可资质的机构。

4.3 人员配备

4.3.1 相关人员主要包括管理人员、临床研究骨干、临床研究助理、样本库技术员。

4.3.2 相关人员应具有临床医学、临床检验诊断学、护理学、生物学、病理学或管理学等相关专业背景，同时应接受生物样本库的专业培训后上岗。

4.3.3 相关人员应签署保密协议。

4.4 设备配备

4.4.1 信息管理系统：样本库应配备一套完整的信息管理系统，用于追踪样本的详细位置信息，该系统还应具备追踪样本的入库、出库、销毁等记录的功能。

4.4.2 超低温冰箱：可提供长期稳定的-80℃样本储存条件。

4.4.3 液氮罐：便携式液氮罐用于样本采集过程中的临时储存和运输，大型液氮罐用于样本的长期-196℃储存。

4.4.4 其余设备包括但不限于台式冷冻离心机、生物安全柜、水平摇床、电热干燥箱、高压消毒锅。

4.5 知情同意获取

4.5.1 临床研究骨干根据纳入标准和排除标准负责确定适合进行生物样本采集的病例，并通知技术员准备采集。

4.5.2 纳入标准：①对象年龄>50岁；②诊断为髌部骨折，包括但不限于股骨颈骨折、转子间骨折等（左/右/双侧）；③拟接受人工髌关节置换术或其他开放性髌部手术；④髌部骨折发生3个月之内。

4.5.3 排除标准：①患有各种严重传染性疾病的患者，包括但不限于：乙型肝炎、艾滋病、梅毒、新型冠状病毒等各种感染；②患有导致骨质明显发生变化的疾病的患者，包括但不限于骨肿瘤、各种原因导致的骨代谢异常、成骨不全、小儿麻痹后遗症等；③长期服用激素类药物的患者。

4.5.4 临床研究骨干负责与样本捐赠者沟通，使用捐赠者可以理解的简明语言充分告知捐赠者采集的目的、程序、风险控制和补偿、隐私保护等，并获得捐赠者的书面知情同意。

4.6 临床信息采集

4.6.1 基本信息采集：将每一位样本捐赠者注册至信息管理系统，填写基本信息，包括但不限于姓名、住院号、性别、年龄、电话、身份证号等。

4.6.2 填写病例报告表，包括骨质疏松调查问卷、肌少症调查问卷、骨代谢及骨密度检查结果等（病例报告表详见附录A）。

4.7 标签准备

4.7.1 标签

使用一套可生成唯一识别号的编号系统对样本进行管理，样本编号由样本库管理系统进行自动分配并管理（样本编号规则参见附录A）。为确保样本长期具有可识别性，低温环境下（-196℃/-80℃）储存的样本，应使用耐低温标签。

4.7.2 标签内容

技术员负责打印套装中各物品所对应的粘性标签，标签所打印内容应包括样本编号和样本类型，也可包括样本库管理系统自动生成的条形码或二维码（标签打印范例参见附录B）。不适宜粘贴标签物品（例如石蜡标本盒）可使用手工标记。

4.8 套装准备

4.8.1 使用相同类型但不同颜色标识的容器储存不同类型样本，以方便管理及辨识内容物。并且按照不同的生物样本采集或处理的标准流程，将各耗材归类形成相应套装。

4.8.2 将粘性标签贴于所对应各物品的合适位置，不适宜粘贴标签物品使用手工标记，以达到套装内所有物品均有明确标记。

4.8.3 将标记的物品分别放入对应的套装中，同时在套装袋上贴标签标记。

4.8.4 套装分类：套装按照不同的样本采集或处理流程的应用场景，分为以下四种：血液样本采集套装、血液样本处理套装、骨骼样本采集套装、肌肉样本采集套装（具体套装内容范例参见附录C）。

5 血液、骨骼和肌肉样本的采集和处理

5.1 血液样本采集和处理

5.1.1 采集前应由临床研究助理确认知情同意书填写无误，并核对捐赠者身份信息（如：ID号、住院号、姓名等）与所使用血液样本采集套装及物品编号匹配，然后由临床护士负责抽血。

5.1.2 为满足后期科研用途选择不同的采血管，包括但不限于采用非抗凝管、EDTA 抗凝管。

5.1.3 抽血完成后，将采血管置于4℃的保温转运箱内，由临床研究助理将知情同意书连同所采集血液样本一起送至生物样本库交给技术员，建议血液样本自采集至送达样本库的时间少于2小时并全程置于4℃环境下。

5.1.4 技术员应对样本质量进行检查，确认样本质量完好（如：血液样本无溶血、采血管完整无破损、采血量足够等）和知情同意书签署符合要求（签字位置准确且完整、字迹清晰等），并做好相关记录并在样本交接单上签字确认。

5.1.5 技术员使用准备好的血液样本处理套装，按照WS/T 225、WS/T 661和GB/T 38576的要求进行样本处理，分离获得血清/血浆/血细胞等（血样本处理方法也可参照附录D）。

5.2 骨骼组织样本采集

5.2.1 手术开始前，由技术员确认需要采集骨骼组织的病例，准备骨骼样本采集套装，确认保温转运箱中有足量的干冰或者冰块维持温度或者便携式液氮罐中有适量的液氮。

5.2.2 技术员携带保温转运箱或便携式液氮罐和相应的套装前往手术室，等待手术标本离体，并在样本流程单上记录主要标本离体时间（精确到分），分别包括股骨头和股骨颈，若同一样本分多部分离体取出则记录多个时间。

5.2.3 骨骼组织样本从手术台上取下后，对样本进行检视，然后进行称重及长、宽、厚度的测量，及拍照留底大体情况，以确保收集的骨骼组织符合取样要求。

5.2.4 技术员用生理盐水纱布拭去表面过多的血液，后用吸水纸吸干表面水分，随后使用骨骼样本采集套装按需求进行分装，将分装好的样本置于保温转运箱或便携式液氮罐中，并在冷缺血半小时之内根据需要对样本进行下一步处理。

5.3 肌肉组织样本采集

5.3.1 手术开始前，由技术员确认需要采集肌肉组织的病例，准备肌肉样本采集套装，确认保温转运箱中有足量的干冰或者冰块维持温度或者便携式液氮罐中有适量的液氮。

5.3.2 技术员携带保温转运箱或便携式液氮罐和套装前往手术室，肌肉样本采集时应沿肌纤维走行方向进行分离，于两端垂直肌纤维方向切割。标本离体后在样本流程单上记录主要标本离体时间（精确到分），若同一样本分多部分离体取出则记录多个时间。

5.3.3 肌肉组织样本从手术台上取下后，对样本进行检视，然后进行称重及长、宽、厚度的测量，及拍照留底大体情况，以确保收集的肌肉组织符合取样要求。

5.3.4 技术员用生理盐水纱布拭去表面过多的血液，后用吸水纸吸干表面水分，剔除肌肉样本表面中可见的脂肪及多余的结缔组织，然后使用肌肉组织采集套装进行分装，应沿与肌纤维垂直方向分割，根据需求分装成适当大小，随后置于保温转运箱或便携式液氮罐中，并在冷缺血半小时之内对样本进行下一步处理。

5.4 骨骼和肌肉样本处理

5.4.1 根据骨骼和肌肉样本的后续用途需要进行不同的样本质量分类以及相对应的不同处理（详情见附录E），其中包括但不限于细胞提取冻存法、程序性降温法、RNAlater固定法、异戊烷速冻法、常规液氮速冻法和福尔马林固定法。

5.4.2 细胞提取冻存法：在取得样本后立刻对样本进行细胞提取，能够最大保证组织的活性及细胞培养的成功率。

5.4.3 程序性降温法：可保存样本生物活性，用于细胞培养、RNA测定、蛋白质测定、DNA测定。通过添加DMSO冻存液并逐步降温，可避免冰晶形成。

5.4.4 RNAlater固定法：能够迅速破坏组织中存在的RNA酶，对于RNA的保护效果最佳。

5.4.5 异戊烷速冻法：制作冰冻切片成片质量高。冻存的组织在冰冻切片检查中具有较好表现。

5.4.6 常规液氮速冻法：放入冻存管后直接置入液氮中，可以保证DNA、RNA、蛋白质的保存。

5.4.7 福尔马林固定法：福尔马林固定的骨骼、肌肉样本可以用于制作石蜡切片。

6 样本储存

6.1 储存环境

6.1.1 场地：生物样本库应明确规定其活动所需要的场地及环境要求，应设置专用场地。场地划分应包括但不限于接收/分发区域、储存区域、办公区域、污染区、清洁区等。

6.1.2 通风、温湿度：生物样本库储存空间，尤其是有多台产热设备（如：超低温冰箱）的房间，应配置环境温湿度控制设备，室内温度应控制在16℃-28℃，湿度应控制在30%-80%。建议在液氮罐储存区域内安装气体监测装置（如O₂监测器），在冰箱存储区域保证足够的空气流动。

6.1.3 供电保障：生物样本库应配备双电路供电系统和/或备用不间断供电电源。

6.1.4 储存环境包含但不限于上述内容，详情参考ISBER最佳实践。

6.2 储存方法

6.2.1 低温储存法

6.2.1.1 可选用液氮直接储存或组织保护液储存。

6.2.1.2 液氮直接储存法：组织分装至冻存管后，立即将冻存管置于液氮（-196℃）中储存。

6.2.1.3 组织保护液储存法：组织分装至装有组织保护液的冻存管内，组织保护液与样本的体积比应至少为10:1，应保证样本全部浸入保护液，然后将冻存管置于液氮中储存。

6.3 信息登记

完成上述储存程序后，技术员将样本基本信息、储存位置 and 标准分析前代码登记于各类文件和/或样本库管理系统中。

6.4 安全监控

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/617053164110010024>