ICS 07.100.01
CCS C 04

团 体 标 准

T/BPMA 0004—2023
代替 T/BPMA 0004—2020

新型冠状病毒感染样本采集包装运输及检测规范

The technical guide of coronavirus disease 2019 sample collection, packaging, transportation and testing

XXXX-XX-XX 发布 XXXX-XX -XX 实施

北京预防医学会 发布

目 次

前言 II
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语与定义 1
4 新型冠状病毒样本采集 3
5 样本的包装和运送 5
6 样本的交接及辅助容器开启 5
7 样本的灭活及分装 6
8 样本检测 7
9 样本保存 8
10 生物安全柜内清场及感染性废物处理 8
11 安全防护 8
参考文献 9

前　言

本标准依据GB/1.1—2009所规定的规则起草。

本标准由北京预防医学会提出并归口。

本标准起草单位：北京市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：张代涛、李洁、穆效群、赵榕、陈萌、张晓媛、潘阳、崔淑娟、高志勇、李夫、赵素娟、刘玉竹。

新型冠状病毒感染样本采集包装运输及检测规范

1 范围

本标准规定了新型冠状病毒感染样本采集、包装运输及检测操作过程。适用于为开展新型冠状病毒检测进行的样本采集、包装、运输等过程以及在二级生物安全实验室佩戴三级防护装备时进行的样本处理、核酸检测、抗体检测及结果判读等内容，保障实验室检测质量，确保实验室生物安全。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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。

《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本运输管理规定》（中华人民共和国卫生部令第45号）

《新型冠状病毒肺炎防控方案》 中华人民共和国国家卫生健康委员会

《危险品航空安全运输技术细则》（国际民用航空组织Doc9284号文件）

3 术语与定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

新型冠状病毒 SARS-CoV-2

是引发新型冠状病毒感染（Coronavirus Disease 2019，COVID-19）的病原体，按照病原微生物危害程度分类中的第二类病原微生物进行管理。属于冠状病毒科β属的新型冠状病毒，有包膜，颗粒呈圆形或椭圆形，常为多形性，直径60 nm～140 nm。主要通过呼吸道飞沫和密切接触传播，导致发热、乏力、干咳甚至肺炎等症状。

3.2

实验室生物安全 laboratory biosafety

实验室的生物安全条件和状态不低于容许水平，可避免实验室人员、来访人员、社区及环境受到不可接受的损害，符合相关法规、标准等对实验室生物安全责任的要求。

3.3

风险评估 risk assessment

评估新型冠状病毒样本采集、包装、运输及检测过程风险大小以及确定是否可接受的全过程。

3.4

三层包装系统 three-layer packaging system

高致病性病原微生物菌（毒）种或者样本包装由内到外分别为主容器、辅助容器和外包装三层包装。主容器要求无菌、不透水、防泄漏，可以采用玻璃、金属或塑料等材料，应采用可靠的防漏封口。辅助容器是在主容器之外的结实、防水和防泄漏的第二层容器，作用是包装及保护主容器。外包装是在辅助容器外面的一层保护层，具有足够的强度。

3.5

气溶胶 airosol

悬浮于气体介质中的粒径一般为0.001 μm～100 μm的固态或液态微小粒子形成的相对稳定的分散体系。

3.6

临床样本 clinical sample

通常被定义为来源于人类或动物，包括但不限于血液，唾液，排泄物，身体组织和组织液等。是用于诊断检查或评估的标本。

3.7

灭活 inactivation

灭活是指用物理或化学手段杀死病毒、细菌。

3.8

实时定量荧光聚合酶链式反应 real-time PCR

用于新型冠状病毒的核酸检测。是指在聚合酶链式反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个PCR进程，最后通过标准曲线对未知模板进行总量分析或通过Ct值对模板进行相对定量。

3.9

空白对照 blank control

用样本采集的本底试剂作为一份样本参与实验检测，检测结果为阴性。

3.10

阳性对照 positive control

在实验过程中对明确结果为阳性的样本进行检测，检测结果为阳性，该样本为阳性对照。

3.11

阴性对照 negtive control

在实验过程中对明确结果为阴性的样本进行检测，检测结果为阴性，该样本为阴性对照。

3.12

准运证 proof of permitted transportation

可感染人类的高致病性病原微生物菌(毒)种和样本的运输需由运输单位在运输前向卫生健康行政部门提供运输单位和接收单位的证明材料提出运输申请，在确认运输单位和接收单位都符合条件要求后，由卫生健康行政部门颁发可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本准运证书。

3.13

生物安全二级实验室 biosafety level 2 laboratory

生物安全防护水平为二级的实验室适用于操作能够引起人类或者动物疾病，但通常对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的微生物。按照实验室是否具备机械通风系统，将 BSL-2 实验室分为普通型 BSL-2 实验室、加强型 BSL-2 实验室。

4 新型冠状病毒感染样本采集

4.1 样本采集

样本采集人员个人防护装备为N95及以上防护口罩、护目镜、连体防护服、双层乳胶手套、防水靴套；如接触了患者血液、体液、分泌物或排泄物，应及时更换外层乳胶手套。

样本采集对象：疑似病例、聚集病例、其他需要进行新型冠状病毒感染诊断或鉴别诊断者，或其他需要进一步筛查检测的环境或生物材料（如溯源分析）。

4.2 样本种类

4.2.1 上呼吸道样本：包括咽拭子、鼻拭子、鼻咽抽取物等。下呼吸道样本：包括深咳痰液、呼吸道抽取物、支气管灌洗液、肺泡灌洗液、肺组织活检标本。

4.2.2 血液样本:应采集发病后 7 d 内的急性期抗凝血。采集量 5 ml,以空腹血为佳,建议使用含有 EDTA 抗凝剂的真空采血管采集血液。

4.2.3 血清样本：主要用于抗体的测定，尽量采集急性期、恢复期双份血清。第一份血清应尽早（最好在发病后 7 d 内）采集，第二份血清应在发病后第 3 w～4 w 采集。采集量 5 ml，建议使用无抗凝剂的真空采血管。

4.2.4 眼结膜样本：出现眼部感染症状的病例需采集眼结膜拭子标本。

4.2.5 便样本：初次检测患者出现腹泻症状时可以采集粪便标本；呼吸道样本初次检测为阴性且流行病学史或临床表现符合病例标准的患者可加采便标本。

4.3 样本采集方法

4.3.1 咽拭子的采集

用2根聚丙烯纤维头的塑料杆拭子同时擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁，将拭子头浸入含3 ml病毒保存液（也可使用等渗盐溶液、组织培养液或磷酸盐缓冲液）的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

4.3.2 鼻拭子的采集

将1根聚丙烯纤维头的塑料杆拭子轻轻插入鼻道内鼻腭处，停留片刻后缓慢转动退出。取另一根聚丙烯纤维头的塑料杆拭子以同样的方法采集另一侧鼻孔。上述两根拭子浸入同一含3 ml采样液的管中，尾部弃去，旋紧管盖。

4.3.3 鼻咽抽取物或呼吸道抽取物的采集

用与负压泵相连的收集器从鼻咽部抽取粘液或从气管抽取呼吸道分泌物。将收集器头部插入鼻腔或气管，接通负压，旋转收集器头部并缓慢退出，收集抽取的粘液，并用3 ml采样液冲洗收集器1次（亦可用小儿导尿管接在50 ml注射器上来替代收集器）。

4.3.4 深咳痰液的采集

要求病人深咳后，将咳出的痰液收集于含3 ml痰消化液的50 ml螺口塑料管中。如果痰液未收集于采样液中，可在检测前，加入2 ml～3 ml采样液，或加入适量体积的痰消化液。

4.3.5 支气管灌洗液的采集

将收集器头部从鼻孔或气管插口处插入气管（约30 cm深处），注入5 ml生理盐水，接通负压，旋转收集器头部并缓慢退出。收集抽取的粘液，并用采样液冲洗收集器1次（亦可用小儿导尿管接在50 ml注射器上来替代收集器）。

4.3.6 肺泡灌洗液的采集

局部麻醉后将纤维支气管镜通过口或鼻经过咽部插入右肺中叶或左肺舌段的支管，将其顶端契入支气管分支开口，经气管活检孔缓缓加入灭菌生理盐水，每次30 ml～50 ml，总量100ml～250 ml，不应超过300 ml，再将加入的冲洗液进行回收。

4.3.7 血清样本的采集

用真空负压采血管采集血液标本5 ml，室温静置30 min，将采血管放置于50 ml离心管内，1500 r/min～2000 r/min离心10 min，收集血清于无菌螺口塑料管中。

4.3.8 便样本的采集

留取粪便标本约10 g（花生大小）或腹泻样本3 ml～5 ml，如果不便于留取便标本，可采集肛拭子。

4.3.9 眼结膜拭子的采集

眼结膜表面用拭子轻轻擦拭后，将拭子头进入采样管中，尾部弃去，旋紧管盖。

4.4 注意事项

4.4.1 优先采集深咳痰液和其他下呼吸道样本。

4.4.2 有流行病学史和典型临床表现的病例，单次检测结果为阴性，需重复采样，并加采粪便和血液样本。

4.4.3 每个送检样本均需编写唯一的送检编号，在样本管外标注送检编号，在送检单上记录送检编号，确保送检编号和样本一一对应、可追溯。

4.4.4 开放读码框 1ab（openreading frame 1ab ，ORF1ab ）和核壳蛋白（ nucleocapsidprotein，N）有基因扩增，但不满足《新型冠状病毒肺炎防控方案》的阳性判定标准时，需重复采样，并加采粪便和血液样本。

5 样本的包装和运送

5.1 新型冠状病毒相关感染性样本的运输应采取A类包装，符合《危险品航空安全运输技术细则》的分类包装要求，按照三层包装系统包装。

5.2 样本采集后用 75%酒精或 2000 mg/L 含氯制剂消毒擦拭样本管外表面，确保装有感染性样本的样本管外侧无污染。

5.3 逐一核对样本信息及样本数量。

5.4　在样本管上标记患者姓名、样本编号和采样日期等信息后，将其放入大小合适的塑料袋内密封，每袋装一份标本，直立放置在有吸附材料和衬垫材料的辅助容器内，将样本辅助容器直立放置于外包装箱内，外包装箱内有支撑物固定辅助容器。

5.5　填写送检单，写明标本来源的姓名、性别、年龄、采样时间、采样地点、样本类型、样本量、管数等信息。

5.6　样本应由经过培训的人员乘专车运送到检测机构，途中应携带应急处置物品。

5.7　运输途中要采用必要的人防技防措施，严防样本被抢、被盗、泄露、遗失和误用。

5.8　新冠病毒毒株或其他潜在感染性生物样本运输严格按照《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本运输管理规定》要求执行，在本市行政区域内的运输应经北京市卫生健康委员会审批并出具《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本准运证书》后方可进行，未经批准，不得运输。

5.9　因运输样本的外包装箱需经过公共区域，故应是经过消毒确保洁净无污染，且送样人员不应着连体防护服、戴手套运输样本。

5.10　新型冠状病毒检测标本送检表由送样人持有，不能放在转运箱内。

6　样本的交接及辅助容器开启

6.1　样本的交接

6.1.1　每个样本应有唯一的样本编号，样本编号应可追溯。为满足生物安全的需要，应将送检单复印并分别交给需要的工作人员。

6.1.2　由收样人员将样本运至实验区，佩戴手套、一次性罩衣和一次性医用口罩后，在收样室打开外包装箱，喷洒消毒后，将标本辅助容器取出，检查有无液体渗漏现象，确保无渗漏后，放置自封袋内，在自封袋内喷洒 75%酒精或 2000 mg/L 含氯消毒液后，封好自封袋，在自封袋上做好标识，放置于样本暂存实验室 4℃冰箱内暂存待检。如发现渗漏应立即用吸水纸覆盖后，喷洒有效氯含量为 5000 mg/L 的含氯消毒液进行消毒处理，不得继续检测操作。

6.2　辅助容器的开启

6.2.1　打开生物安全柜，待生物安全柜气流稳定后，在安全柜台面上铺吸水垫单。

6.2.2　将样本辅助容器放置于生物安全柜内适当位置。

6.2.3　打开辅助容器，使用 2000 mg/L 含氯消毒液对辅助容器内壁和样本管进行喷洒消毒。

6.2.4　取出样本管并检查样本管外壁表面是否有破损、管口泄漏或管壁残留物等，确认无渗漏后，用 2000 mg/L 含氯消毒液喷洒、擦拭消毒样本管外表面。如发现渗漏应立即用吸水纸覆盖后，喷洒有效氯含量为 5000 mg/L 的含氯消毒液进行消毒处理，不得继续检测操作。

6.2.5　将样本管放于样本架上保持直立，核对样本信息。

6.2.6　将辅助容器进行内外壁喷洒或擦拭消毒后从安全柜内移出，放置于移动紫外灯下，以备实验结束后进一步紫外照射消毒。

6.3 注意事项

6.3.1 样本辅助容器的开启应在生物安全二级实验室的生物安全柜内进行。

6.3.2 样本的消毒、样本信息核对至少需要 2 名工作人员配合完成。

7 样本的灭活及分装

7.1 基本要求

样本灭活及分装需在生物安全二级或以上级别实验室进行，需要至少2名工作人员进入实验室核心工作间配合操作。人员防护装备为N95及以上防护口罩、护目镜、连体防护服、双层乳胶手套、防水靴套。

7.2 样本热灭活

从消毒后的辅助容器中取出装在封口袋里的样本管，检查样本管和封口袋的密闭性，密闭性良好无泄漏，用 2000 mg/L 含氯消毒液进行外表面擦拭消毒，再进行 95℃，15 min 灭活。

7.3 痰液消化

对于较粘稠的痰液，将样本采集在含有 3 ml 痰消化液的 50 ml 螺纹管中，手动震荡或移液器轻轻吹打收集在痰液消化液中的样本，2 min～3 min 后观察。若仍存在团块状物质，再加入适量痰消化液进行处理，直至样本呈现均一液体，无团块状。对于特别粘稠的痰，整块消化有困难时，可以取小块痰单独进行消化，直至痰消化液不再成粘稠状态。

7.4 粪便样本处理

7.4.1 在二级生物安全实验室生物安全柜内处理粪便样本。

7.4.2 在 1.5 ml 带螺纹盖和垫圈的离心管中加入 1 ml 磷酸缓冲盐溶液或生理盐水,取黄豆粒大小或 100 ul～200 ul 的粪便样品，加入管内充分混匀制成便悬液，56℃，灭活 30 min。灭活后的便悬液在 5000 r/min，离心 5 min，分离上清，用 2 ml 冻存管分装保存。取适量上清，使用核酸提取试剂提取病毒 RNA，或采用核酸提取仪进行核酸提取。

7.5 血液样本处理

将采血管放置于 50 ml 离心管内，1500 r/min～2000 r/min 离心 10 min，收集血清于无菌螺口塑料管中。

7.6 样本分装

7.6.1 样本的分装操作需在生物安全二级或以上级别实验室生物安全柜内进行。

7.6.2 准备分装使用的冻存管。所有标本应放在大小适合的（2 ml）带螺旋盖、内有垫圈、耐冷冻的样本采集管里，拧紧。容器外注明必要信息。

7.6.3 咽拭子、消化后痰液、呼吸道灌洗液、粪便等样本每份原始样本建议分装体积每支 1 ml。

7.6.4 全血、血清样本每份原始样本建议分装体积每支 800 ul。

7.6.5 样本分装后，盖紧管盖，用 2000 mg/L 含氯消毒液进行外表面擦拭消毒。

7.7 注意事项

7.7.1 样本管外的封口袋应完全彻底消毒才可灭活。
7.7.2 分装后的样本管要进行擦拭消毒再进行暂存或保存。

8 样本检测

8.1 基因检测

8.1.1 核酸提取

灭活后样本的核酸提取需在生物安全二级实验室进行，需要至少2名工作人员进入实验室配合操作。人员防护装备为N95及以上防护口罩、护目镜、连体防护服、双层乳胶手套、防水靴套。按照商品化试剂盒说明书进行手工或仪器提取核酸。

a) 核酸提取过程需设空白对照，不可使用扩增试剂盒中的阴性对照替代空白对照。

b) 加样及加试剂均需在生物安全柜中进行，动作要轻柔，避免形成气溶胶。

c) 核酸提取与基因扩增需在两个独立的实验间完成。

8.1.2 试剂准备

核酸扩增体系的配置在洁净的试剂配制区进行，模板的加入需在单独的区域或独立的操作台进行，产物扩增区为独立区域。工作人员防护装备为：实验服、一次性医用口罩、帽子、乳胶手套。

8.1.3 PCR 检测

采用实时定量荧光聚合酶链式反应（Real-timePCR）法检测ORF1ab和N基因。检测过程中需设立空白对照（参加核酸提取）、阴性对照和阳性对照，呼吸道标本建议加做核糖核蛋白（RNP）基因内参。

a) 体系配制、加模板及扩增要分区进行，避免加样器及耗材混用形成交叉污染。

b) 加模板时应轻柔操作，避免反复吹吸产生气溶胶形成交叉污染。

c) 加模板后如果用 96 孔板进行 PCR 扩增，确保封口膜封闭严密，避免样本交叉污染。

d) PCR 扩增结束后不得打开扩增管，避免产物气溶胶污染实验室环境。

8.2 抗体检测

8.2.1 灭活后样本的操作在生物安全二级实验室进行。人员防护装备为N95及以上防护口罩、护目镜、连体防护服、双层乳胶手套、防水靴套。
8.2.2 采用免疫层析法、化学发光免疫法或其他血清学检测技术检测血液、血清或血浆中SARS-Cov-2的IgM、IgG抗体和/或总抗体。
8.2.3 严格按照要求做好质控，严格按照要求进行结果判读。

9 样本保存

9.1　用于核酸检测的标本应尽快进行检测，能在 24 h 内检测的标本可置于 4℃保存；24 h 内无法检测的标本则应置于-70℃或以下保存（或-20℃冰箱暂存）。

9.2　血清可在 4℃存放 3 d，-20℃以下可长期保存。

9.3　新型冠状病毒检测阳性样本需设立专库或专柜保存，应置于-70℃或以下保存，严格实施“双人双锁”管理，确保样本来源、使用、销毁等步骤记录明确、可追溯。

10　生物安全柜内清场及感染性废物处理

10.1　废弃的样本管、吸头等感染性物品置于加有消毒液的废物收集容器及利器盒中。

10.2　实验人员每一次生物安全柜内操作后需要进行柜外操作时，需对手套和手臂部位进行消毒或换戴外层手套进行下一步操作。

10.3　生物安全柜内操作结束后，将废物收集容器加盖，但不严密封死，消毒容器外表面后，移出生物安全柜后装入双层医疗废物收集袋中扎口，同时将与样本操作相关的医疗废物置于实验室内的高压灭菌器中进行 121℃，30 min 的高压灭菌，每次高压需要放置化学指示卡进行高压效果监测，在高压结束后将化学指示卡贴在使用记录本上并记录高压灭菌器的使用过程。每月进行一次高压灭菌效果的生物监测。

10.4　用 75%酒精或 2000 mg/L 含氯消毒液擦拭消毒生物安全柜台面及侧壁，在有连续新型冠状病毒样本核酸提取实验时，建议两次实验间隔期不关闭生物安全柜。

10.5　75%酒精或 2000 mg/L 含氯消毒液擦拭或喷洒消毒实验室台面及仪器外表面。

10.6　打开移动紫外灯，对生物安全柜及实验操作相关区域进行 30 min 照射消毒。

10.7　在缓冲区按顺序脱去防护装备，将防护装备置于医疗废物收集袋中（不超过包装容积的 3/4）进行包装，消毒外表面后准备高压灭菌。

10.8　打开移动紫外灯对缓冲间进行 30 min 照射消毒。

10.9　用于新型冠状病毒核酸提取的实验室，根据生物危害风险评估结果定期对实验室进行终末消毒，以消除潜在的污染风险。

11　安全防护

11.1　未经培养的感染性材料的操作是指未经培养的感染性材料在采用可靠的方法灭活前进行样本的灭活及病毒核酸提取等操作，应当在生物安全二级实验室进行。

11.2　新型冠状病毒的分离、培养、滴定、中和试验、活病毒及其蛋白纯化、病毒冻干以及产生活病毒的重组实验等操作应当在生物安全三级实验室内进行。

11.3　从事新型冠状病毒检测标本采集和核酸检测人员防护装备：N95及以上防护口罩、护目镜、连体防护服、双层乳胶手套、防水靴套；如接触了患者血液、体液、分泌物或排泄物，应及时更换外层乳胶手套。

参考文献

[1] GB 19489 实验室生物安全通用要求
[2] WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则
[3] 《医疗废物管理条例》（中华人民共和国国务院令第380号）
[4] 《病原微生物实验室生物安全管理条例》（国务院令第424号）
[5] 《医疗机构临床基因扩增管理办法》（卫办医政发〔2010〕194号）
[6] 《人间传染的病原微生物目录》（国卫科教发〔2023〕24号）
[7] 《新型冠状病毒肺炎防控方案》 中华人民共和国国家卫生健康委员会发布
[8] 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》中华人民共和国国家卫生健康委员会 中华人民共和国国家中医药管理局联合发布
[9] 《新型冠状病毒实验室生物安全指南》中华人民共和国国家卫生健康委员会发布