

广东省疾病预防控制中心

新型冠状病毒标本采集、 检测和运输生物安全防护

广东省疾病预防控制中心

病原微生物检验所

武婕



Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention



1、法律法规

《中华人民共和国刑法修正案》（六）

中华人民共和国主席令（第51号）2006. 6. 29

《中华人民共和国传染病防治法》

中华人民共和国主席令（第17号）
2013. 6. 29修订

《中华人民共和国职业病防治法》

中华人民共和国主席令（第60号） 2001. 10. 27

《中华人民共和国环境保护法》

中华人民共和国主席令（第22号）1989. 12. 26

《中华人民共和国安全生产法》

中华人民共和国主席令（第70号）2002. 6. 29

《中华人民共和国国家安全法》

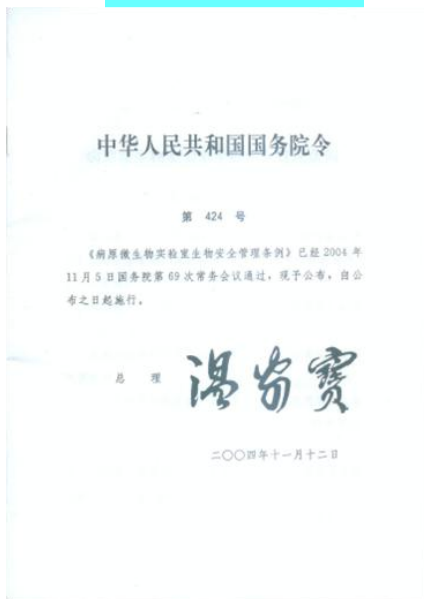
中华人民共和国主席令（第29号）2015. 7. 1

《中华人民共和国生物安全法》

2019年列入制定计划

1、立法建标

(1) 法律法规



法律法规1

2004年8月，我国修订了《中华人民共和国传染病防治法》，其中第二十二條規定：“疾病預防控制機構、醫療機構的實驗室和從事病原微生物實驗的單位，應當符合國家規定的條件和技術標準，建立嚴格的監督管理制度，對傳染病病原體樣本按照規定的措施實行嚴格監督管理，嚴防傳染病病原體的實驗室感染和病原微生物的擴散。”

法律法规2

2004年11月，温家宝总理签发了中华人民共和国国务院第424号令，公布施行《病原微生物实验室生物安全管理条例》，其目的是为了加强病原微生物实验室的生物安全管理，保护实验室工作人员和公众的健康，适用于中华人民共和国境内从事能够使人或者动物致病的微生物实验室及其相关实验活动的生物安全管理。《条例》对病原微生物的分类和管理、实验室的设立与管理、实验室感染控制、监督管理以及法律责任等作出了总体规定。国家各相关部门根据《条例》陆续出台了相关规章和标准。



2、部门规章

3) 卫生主管部门规章

- 人间传染的病原微生物名录，2006年
对人间传染的病毒类（160）、细菌类（155）、真菌类（59）和朊病毒（6种）危害程度进行了分类，规定了不同实验活动所需生物安全实验室的级别和运输包装分类。
- 人间传染的高致病性病原微生物实验室和实验活动生物安全审批管理办法，2006年
资格证书、实验活动的审批；实验活动的监督管理。
- 可感染人类的高致病性病原微生物（毒）种或样本运输管理规定，2006年
审批权限；运输要求。
- 人间传染的病原微生物菌（毒）种保藏机构管理办法，2009年
保藏机构的职责、指定、保藏活动、监督管理与处罚等。

1) 环境保护主管部门规章

- 病原微生物实验室生物安全环境管理办法，2006
规定了实验室污染控制标准、环境管理技术规范和环境监督检查。

2) 科技主管规章

- 高等级病原微生物实验室建设审查办法，2011，2018
目的：为了规范三级、四级病原微生物实验室建设审查。要求：新建、改建、扩建高等级病原微生物实验室或者生产、进口移动式高等级病原微生物实验室应当报科学技术部审查同意。内容：申请和审查的程序和要求。

4) 兽医主管部门规章

- 兽医实验室生物安全管理规范，2003年
规定了兽医实验室生物安全防护的基本原则、实验室的分级、各级实验室的基本要求和管理的。
- 动物病原微生物分类名录，2005年
对动物病原微生物进行了分类。动物病原微生物实验活动生物安全要求细则，2008年；对第一类病原体（10）、第二类病原体（8）、第三类病原体（105）不同实验活动所需的生物安全级别以及运输包装要求进行了规定。
- 高致病性动物病原微生物实验室生物安全管理审批办法，2005年
农业部关于进一步规范高致病性动物病原微生物实验活动审批工作的通知，2008年；动物病原微生物实验活动生物安全要求细则、高致病性动物病原微生物实验室资格审批实施细则、高致病性动物病原微生物实验活动审批实施细则。
- 动物病原微生物菌（毒）种保藏管理办法，2008年
农业部主管全国菌（毒）种和样本保藏管理工作；国家对实验活动用菌（毒）种和样本实行集中保藏，保藏机构以外的任何单位和个人不得保藏菌（毒）种或者样本。

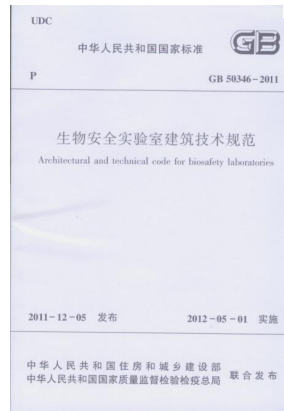
3、标准规范

国家标准1：《实验室 生物安全通用要求》 (GB19489, 2004版, 2008版)

GB19489—2004规定了生物安全实验室建设和管理的原则，规定了生物安全分级、实验室布局、实验室设施设备的配置、个人防护和实验室安全行为的要求；

GB19489—2008修订了2004版的部分要求，增加了风险评估和风险控制的要求，补充完成了对管理的要求。

GB19489是我国首个关于实验室生物安全的国家标准，是强制标准，也是我国实验室生物安全认可的主要依据。



国家标准2：《生物安全实验室建设技术规范》 (GB50346, 2004版, 2011版)

规定了生物安全实验室建筑平面、装修和结构的技术要求；

规定了实验室的基本技术指标要求；

对作为规范核心内容的空气调节与空气净化部分提出了详尽的技术要求；

规定了生物安全实验室的给水排水、气体供应、配电、自动控制和消防设施设置的原则；

对施工、检测和验收的原则、方法作了必要的规定。

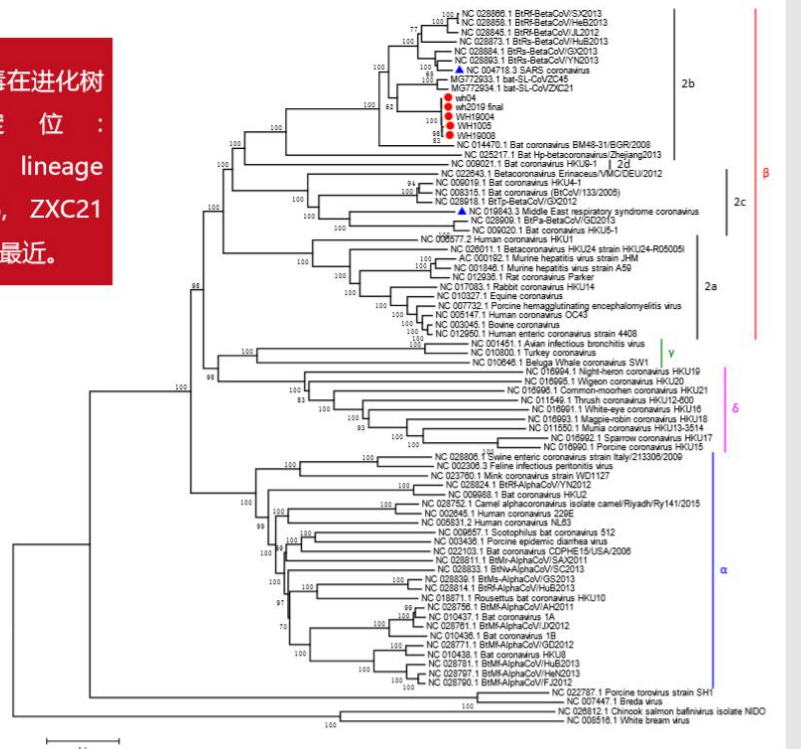
冠状病毒病原学简介

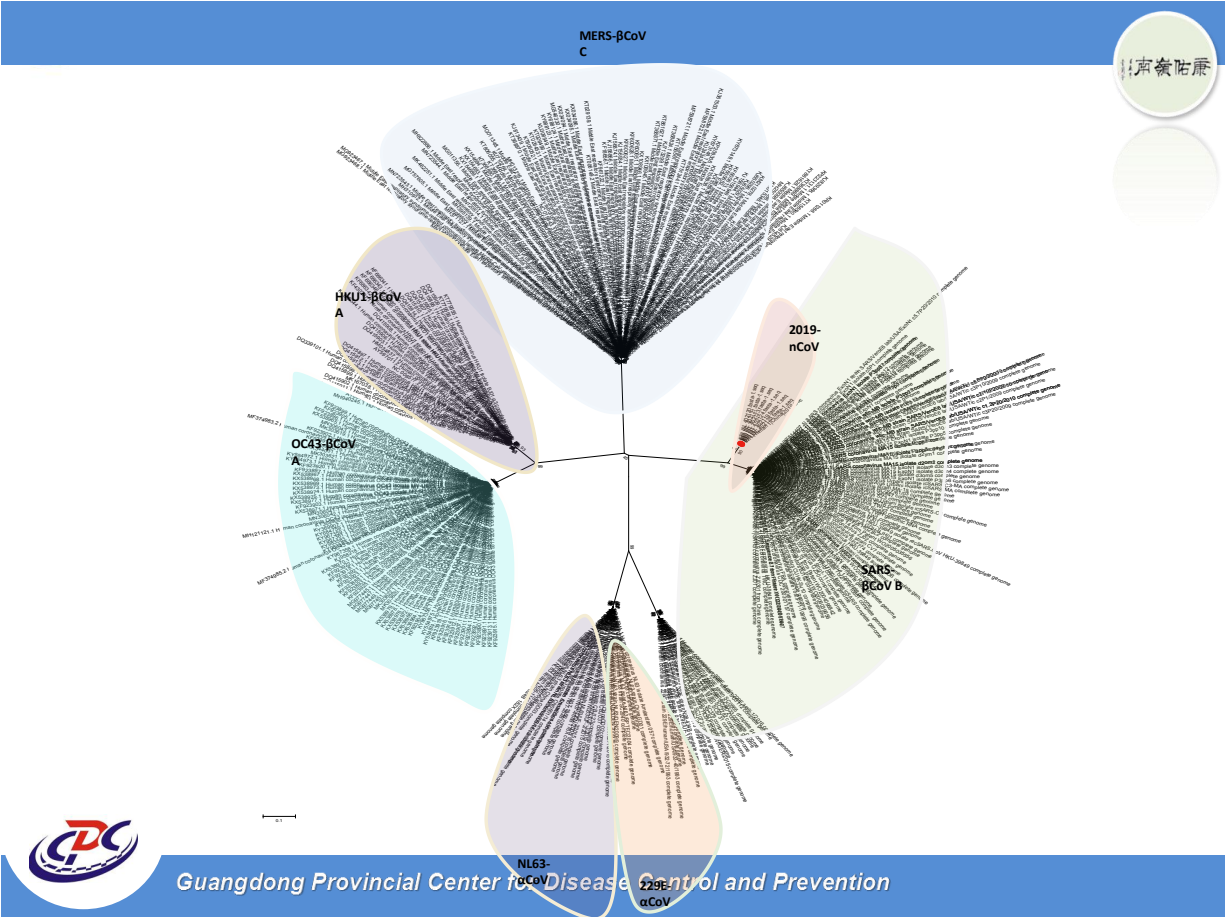
- ❖ 冠状病毒属于套式病毒目、冠状病毒科、冠状病毒亚科，是自然界广泛存在的一大类病毒家族；
- ❖ 冠状病毒分为 α 、 β 、 γ 、 δ 四属；
- ❖ 人冠状病毒，目前发现7种可感染人类的冠状病毒，HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV和新型冠状病毒；
- ❖ 哺乳动物冠状病毒：可感染猪、犬、猫、鼠、牛、马等多种动物；
- ❖ 禽冠状病毒：可引起鸡、火鸡、麻雀、鸭、鹅、鸽子等；
- ❖ 传播途径：污染物、空气和/或粪-口途径传播；



康佑安

2019新型冠状病毒在进化树上初步定位：
冠状病毒β属， lineage B(2b)， 与 ZC45， ZXC21 strains进化树关系最近。







南嶺佑康

新型冠状病毒生物安全实验活动要求

疾病预防控制局



2019新型冠状病毒生物安全实验活动要求

根据目前掌握的2019新型冠状病毒的生物学性状、传播特性、致病性、临床资料等信息，考虑到2019新型冠状病毒感染聚集性发病且有重症病例，并有死亡病例的特点，实验活动暂按照病原微生物危害程度分类中**第二类病原微生物**进行管理。

第一类、第二类病原微生物统称为高致病性病原微生物。

1、第一类病原微生物，能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物，以及尚未发现或者已经宣布消灭的微生物。

2、**第二类病原微生物，能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。**

3、第三类病原微生物，能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、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。

4、第四类病原微生物，在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物。

❖ 引自《人间传染的病原微生物名录》2006年版

表2 与微生物危险度等级相对应的生物安全水平、操作和设备

危险度等级	生物安全水平	实验室类型	实验室操作	安全设施
1级	基础实验室——一级生物安全水平	基础的教学、研究	GMT	不需要；开放实验台
2级	基础实验室——二级生物安全水平	初级卫生服务；诊断、研究	GMT 加防护服、生物危害标志	开放实验台，此外需 BSC 用于防护可能生成的气溶胶
3级	防护实验室——三级生物安全水平	特殊的诊断、研究	在二级生物安全防护水平上增加特殊防护服、进入制度、定向气流	BSC 和 / 或其他所有实验室工作所需要的基本设备
4级	最高防护实验室——四级生物安全水平	危险病原体研究	在三级生物安全防护水平上增加气锁入口、出口淋浴、污染物品的特殊处理	III级 BSC 或 II级 BSC 并穿着正压服、双开门高压灭菌器（穿过墙体）、经过滤的空气

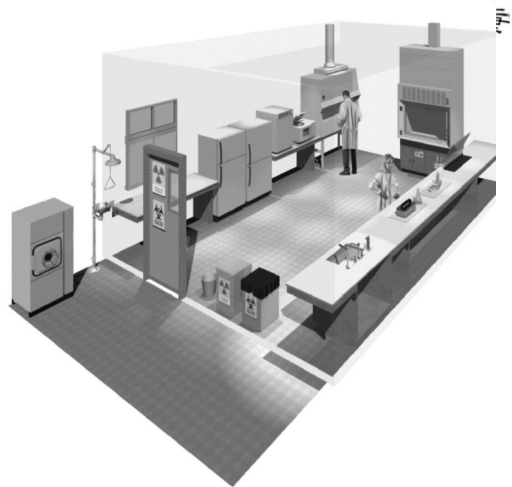
BSC：生物安全柜；GMT：微生物学操作技术规范（见本手册第4部分）。



二级生物安全实验室

- 1、移液辅助器
- 2、生物安全柜
- 3、一次性塑料接种环
- 4、螺口盖试管及瓶子。
- 5、用于清除感染性材料污染的高压灭菌器或其他适当工具。
- 6、在投入使用前，像高压灭菌器和生物安全柜等设备必须用正确方法进行验收。应参照生产商的说明书定期检测。

保护样品
操作人员
环境



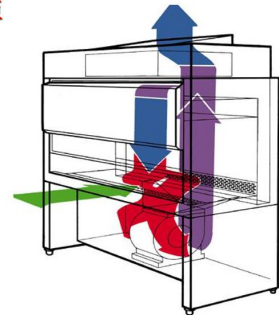
A2型生物安全柜

75 fpm吸风量

70% 气体循环利用

30% 气体外排

- 环境空气
- 污染的空气
- HEPA 过滤的空气
- 负压的污染空气



三级生物安全实验室

- 1、实验室应与同一建筑内自由活动区域分隔开，如设与邻近空间保持压差的缓冲间。
- 2、实验室的墙面、地面和天花板必须防水，并易于清洁。所有表面的开口(如管道通过处)必须密封以便于清除房间污染。
- 3、实验室应密封。需建造空气管道通风系统以进行气体消毒。
- 4、在每个出口附近安装不需用手控制的洗手池。
- 6、必须建立可使空气定向流动的可控通风系统。应安装直观的监测系统。
- 7、在构建通风系统时，应保证从三级生物安全实验室内所排出的空气不会逆流至该建筑物内的其他区域。空气经高效空气过滤器(high-efficiency particulate air filters, HEPA 过滤器)过滤、更新后，可在实验室内再循环使用。
- 8、所有的 HEPA 过滤器必须安装成可以进行气体消毒和检测的方式。
- 9、生物安全柜的安装位置应远离人员活动区，且避开门和通风系统的交叉区。
- 10、从I级和II级生物安全柜(见第 10 章)排出的空气，在通过 HEPA 过滤器后排出时，必须避免干扰安全柜的空气平衡以及建筑物排风系统。
- 11、防护实验室中应配置用于污染废弃物消毒的高压灭菌器。
- 12、供水管必须安装防逆流装置。

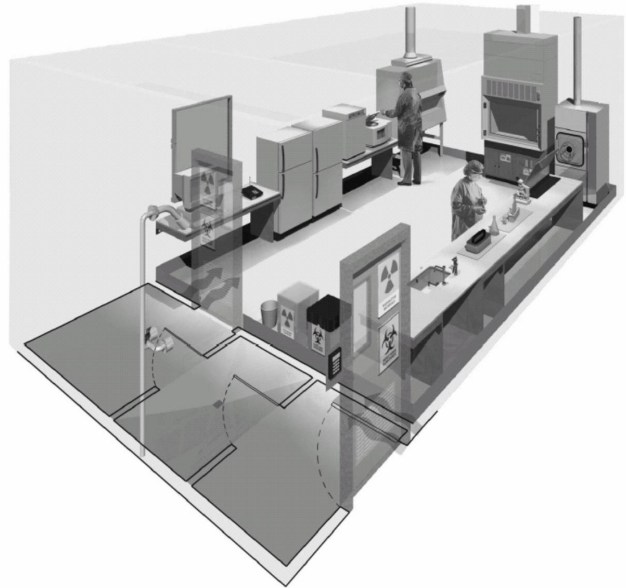


图4 典型的三级生物安全水平实验室(图片由CUH2A, Princeton, NJ, USA 提供)。实验室与公共通道分开并通过缓冲间(双门入口或二级生物安全水平的基础实验室)或气锁室进入。处理废弃物前,在实验室内先进行高压灭菌以清除污染。应有非手控的水槽。形成向内气流而且涉及感染性材料的全部工作应在生物安全柜中进行。

标本采集及防护

新型冠状病毒传播途径：呼吸道传播；
生物安全防护：操作人员、标本、环境；

❖ 标本采集及防护（新型冠状病毒肺炎防控方案（第四版）附件5）

- 从事新型冠状病毒检测标本采集的技术人员应经过生物安全培训（培训合格）和具备相应的实验技能。
- 在标本采集过程中，个人防护装备要求（PPE）：穿戴工作服、一次性工作帽、KN95/N95及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏、防护服、双层乳胶手套、工作鞋或胶靴、防水靴套。接触了患者血液、体液、分泌物和排泄物应及时更换外层乳胶手套。必要时可加穿防水围裙或防水隔离衣。
- 住院病例的标本由所在医院医护人员采集。
- 密切接触者标本由当地疾控机构、医疗机构负责采集
- 根据实验室检测工作的需要，可结合病程多次采样



标本采集种类

❖ 标本采集种类

- 采集的临床标本应尽量采集病例发病早期的呼吸道标本（尤其是下呼吸道标本）、和发病7天内急性血清以及发病后第3-4周的恢复血清：
 - 上呼吸道标本可采集咽拭子、鼻咽拭子等
 - **下呼吸道标本**包括深咳痰液、呼吸道吸取物、支气管或肺泡灌洗液、肺组织活检标本等
 - 眼结膜拭子、粪便标本、抗凝血和血清标本等
 - 死亡病例可按照规定采集尸体标本，或呼吸道灌洗液或经皮穿刺采集肺组织标本
 - 其他需要进一步筛查检测的环境或生物材料
- 所有标本采集后，必须装入**密封的螺口塑料离心管**中，拧紧瓶盖后再运到实验室，运输前尽可能**对容器外壁做好消毒**。

标本分装

➤ 标本采集后在**生物安全二级实验室的生物安全柜内**分装

➤ 分装注意事项

- 所有标本应放在大小适合的带螺旋盖内有垫圈、耐冷冻的样本采集管里，拧紧。容器外注明样本编号、种类、姓名及采样日期。
- 将密闭后的标本放入大小合适的塑料袋内密封，每袋装一份标本。
- 分装样本时应注意做好个人防护，戴双层手套和N95口罩。
- 分装完后使用0.5%-1%有效氯含氯消毒剂或75%酒精擦拭样品管外表面后，再拿出安全柜，放入4℃冰箱待运输。
- 标本处理如需震荡，应置于安全柜内处理，避免污染环境。

标本的保存

- 用于病毒分离和核酸检测的标本应尽快进行检测，24小时内能检测的标本可置于4℃保存；24小时内无法检测的标本则应置于-70℃或以下保存（如无-70℃保存条件，则于-20℃冰箱暂存）。血清可在4℃存放3天，可在-20℃以下长期保存。标本运送期间应避免反复冻融，并应设立专库或专柜单独保存标本。

标本运输

新型冠状病毒标本运输包装要求（国内运输）

1. 2019新型冠状病毒毒株或其他潜在感染性生物材料的运输包装分类属于A类，对应的联合国编号为UN2814，包装符合国际民航组织文件Doc9284《危险品航空安全运输技术细则》的PI602分类包装要求；
2. 环境样本属于B类，对应的联合国编号为UN3373，包装符合国际民航组织文件Doc9284《危险品航空安全运输技术细则》的PI650分类包装要求；通过其他交通工具运输的可参照以上标准包装。
3. 新型冠状病毒毒株或其他潜在感染性材料运输应按照《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》（原卫生部令第45号）办理《准运证书》。



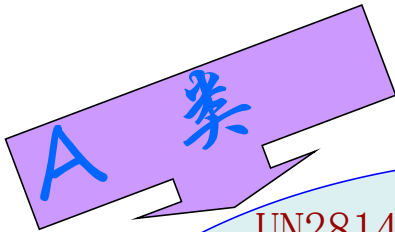
国际民航组织
《危险物品航空安全运输技术细则》
将感染性物质分为A、B 两类

A类 Category A

以某种形式运输的感染性物质，当与之发生接触时，能够导致健康人或动物永久性的残疾、构成生命威胁或致死疾病。

B类 Category B

不符合A类标准的感染性物质



UN2814

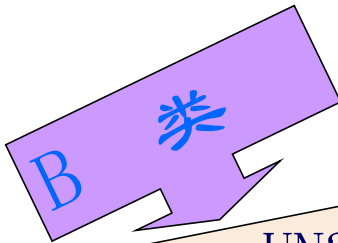
Infectious substance, affecting humans
(感染性物质, 对人感染)

UN2900

Infectious substance, affecting animals
(感染性物质。只对动物感染)

Company Logo

www.1ppt.
com



UN3373

Biological substance, Category B
生物制品, B类

B 类感染性物质必须划分为UN3373,
但有些感染性物质的培养物必须划分为
UN2814或UN2900



长途运输建议用干冰等制冷方式进行保藏

B类感染性物质的包装



运输箱在取出标本之后需要用含0.5%-1%有效氯的含氯消毒液均匀喷雾后擦拭，擦拭后废弃物需要高压灭菌处理。



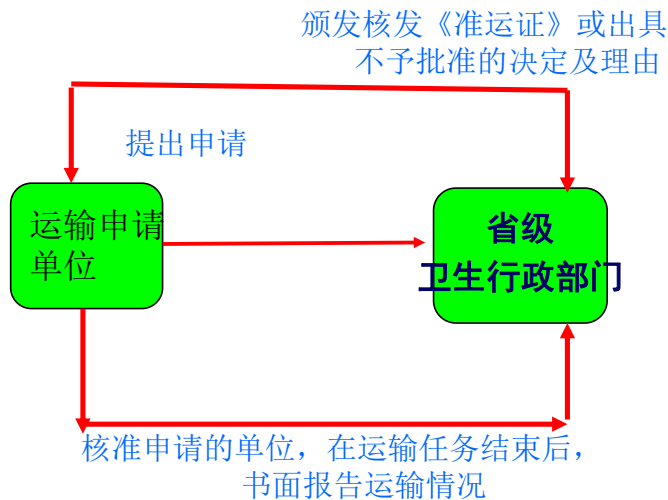
辅助容器 (吸收材料)



A类 防水, 防穿刺, 防泄漏

B类 防水, 防破损、防泄漏

标本运输流程



由各地市疾控中心运送标本到省疾控中心开展病原学检测时，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》要求确保样本运输安全。

为保障重大突发传染病防控期间样本运输通畅，各地市疾控中心按照规定申请办理半年多次《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》，并提前做好准运证书办理和运输准备工作，省疾控中心和深圳市疾控中心每周向省卫生健康委科教处报送样本运输和接收情况。

多次运输申请

- ❖ 在固定的申请单位和接收单位之间多次运输相同品种高致病性病原微生物菌（毒）种或样本的，可以申请多次运输。
- ❖ 多次运输的有效期为6个月；期满后需要继续运输的，应当重新提出申请。
- ❖ 各地的新型冠状病毒观察病例样本运输由各市疾病预防控制中心组织，按照规定做好样本运输工作，确保样本运输安全。

运输要求

标本采集后，按照A类感染性物质的包装进行三层包装，并置于A类运输箱中，专人专车运送到当地疾控中心。标本运送过程中，运输人员应穿戴工作服、一次性工作帽、一次性外科口罩、手套和隔离衣。



实验室检测生物安全要求

- ❖ 任何新型冠状病毒的检测都必须在具备适当条件的实验室由经过相关技术安全培训的人员进行操作。
- ❖ （一）未经培养的感染性材料的操作
- ❖ 未经培养的感染性材料操作是指未经培养的感染材料在采用可靠的方法灭活前进行的病毒抗原检测、血清学检测、核酸检测、生化分析等操作，应在生物安全二级实验室操作，但个人防护装备参照生物安全三级实验室的防护要求。

❖ （二）病毒培养等感染材料操作

- ❖ 指病毒的分离、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试验等操作。利用活病毒或其感染细胞（或细胞提取物），不经灭活进行的生化分析、血清学检测、免疫学检测等操作视同病毒培养。上述操作应在BSL-3实验室进行。使用病毒培养物提取核酸，裂解剂或灭活剂的加入必须在与病毒培养等同级别的实验室和防护条件下进行，可靠方法灭活后的病毒培养物，可在BSL-2或BSL-1级实验室操作。BSL-3实验室应具有开展相应活动的资质。

- ❖ （三）灭活材料的操作，感染性材料或活病毒在采用的可靠的方法灭活后进行的核酸检测、血清学检测、核酸提取、生化分析等操作，应当在生物安全二级实验室进行。分子克隆等不含致病性病毒的其他操作，可在生物安全一级实验室进行。



穿戴工作服、一次性工作帽、防护面屏或护目镜、防护服、双层乳胶手套、KN95/N95及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、工作鞋或胶靴、防水靴套。接触了患者血液、体液、分泌物和排泄物应及时更换外层乳胶手套。必要时可加穿防水围裙或防水隔离衣。

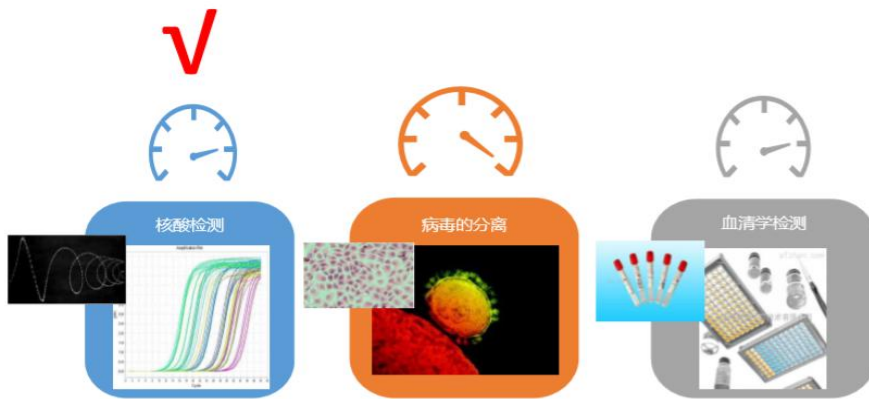
Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention

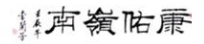
防护装备脱卸的注意事项

- ❖ 脱卸时尽量少接触污染面。
- ❖ 脱下的防护眼罩、长筒胶鞋等非一次性使用的物品应直接放入盛有消毒液的容器内浸泡；其余一次性使用的物品应放入黄色医疗废物收集袋中作为医疗废物集中处理。
- ❖ 脱卸防护装备的每一步均应进行手消毒，所有防护装备全部脱完后再次洗手、手消毒。

新型冠状病毒的实验室检测

2019-nCoV的实验室检测技术储备





谢谢!