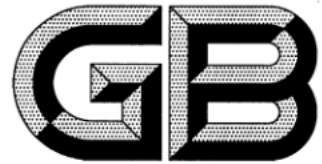


ICS 07.080
CCS C 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 41908—2022

人类粪便样本采集与处理

Collection and processing of human feces biomaterial

2022-10-12 发布

2022-10-12 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 通用要求	2
5 采集前的准备	2
5.1 样本采集方案制定	2
5.2 知情同意	2
5.3 采集前沟通	2
6 样本和数据采集	3
6.1 通则	3
6.2 样本采集步骤	3
6.3 数据采集方法和内容	4
7 样本和数据处理	4
7.1 样本处理过程	4
7.2 数据处理过程	4
7.3 样本处理方法的确认和验证	4
7.4 质量控制	5
附录 A (规范性) 粪便样本保藏方法选择	6
附录 B (资料性) 方法学确认示例	7
参考文献	8

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国生物样本标准化技术委员会(SAC/TC 559)提出并归口。

本文件起草单位：广东省中医院(广州中医药大学第二附属医院)、上海生物芯片有限公司、四川大学华西医院、中国计量科学研究院、中国合格评定国家认可委员会、佛山复星禅城医院、康美华大基因技术有限公司、广州医科大学附属第一医院、上海芯超生物科技有限公司、中国人民解放军总医院、中国医学科学院北京协和医院、广州市妇女儿童医疗中心、首都医科大学附属北京安贞医院、深圳华大生命科学研究院、上海交通大学医学院附属仁济医院、首都医科大学附属北京友谊医院、中山大学肿瘤防治中心、中山大学附属第一医院、南方医科大学珠江医院、中山大学孙逸仙纪念医院、中山大学第三附属医院、复旦大学附属中山医院、复旦大学、上海交通大学医学院附属新华医院、复旦大学附属肿瘤医院、天津医科大学肿瘤医院、同济大学附属上海市第四人民医院、浙江省肿瘤医院、中国科技大学附属第一医院、浙江省台州医院、华中科技大学协和深圳医院。

本文件主要起草人：陈曲波、郜恒骏、黄伟、卢欣沂、王晶、张小燕、李军燕、曾赤佳、江烜霆、曾璇、张勇、孙宝清、赵秀梅、郭丹、顾晓琼、曾小莉、李启沅、康晓楠、张允、贾卫华、柯尊富、孙海涛、杨淞然、韩晓燕、李卡、杨亚军、王伟业、孙孟红、李海欣、满秋红、郑智国、叶庆、林爱芬、王楚杨、黄小亭。

引 言

人类生物样本是人类疾病临床与基础转化医学研究的重要桥梁,是精准医学研究不可再生性资源。生物样本保藏活动包含着生物样本和相关数据的采集/收集、获取与接收、记录、登记、编目/分类、检查、制备、保藏、储存、数据管理、销毁、包装以及安全防护、分发和运输等过程,通过标准化的方式进行样本采集、处理、运输、储存及检索与查询,是正确使用和共享生物样本资源的根本保证。而作为生物样本保藏活动起始的两个关键节点,生物样本及其相关数据的采集与处理规范化非常重要。

与临床医疗机构采集粪便(肛拭子)用于疾病诊断和疗效观察相比,生物样本库的粪便样本及其相关数据的采集和处理过程有显著不同。生物样本库在进行粪便样本采集前,需要通过严格的伦理审查,与提供者签订知情同意书;在粪便样本及其相关数据采集后,样本库对它们的暂存、运(传)输、处理和储存等过程有一系列的质量控制程序。基于此,建立生物样本库人类粪便样本采集与处理规范,为医学科学研究提供高质量粪便样本和标准化相关数据,十分必要。

人类粪便样本采集与处理

1 范围

本文件规定了人类粪便样本采集与处理的通用要求,以及采集前的准备、样本和数据采集、样本和数据处理的要求和方法。

本文件适用于生物样本库涉及的临床与基础医学研究用人类粪便样本的采集与处理,可供从事人类粪便采集和保藏的机构(生物样本库)、生物样本库用户、生物样本库监管机构、同行评估组织、生物样本库质量和能力认可机构等参考使用。

本文件不适用于临床医疗机构为疾病临床诊断、疗效观察和用于治疗用途而进行的粪便(肛拭子)样本的采集与处理。

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 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求

WS/T 313 医务人员手卫生规范

3 术语和定义

GB/T 37864 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

粪便 feces

食物由消化道通过大肠,从肛门以固体、半流体或流体形式排出体外的,未被人体吸收所产生的残渣。

注 1: 为临床诊断用途而采集的粪便/肛拭子样本,主要用于常规检验、寄生虫检验、化学检验和细菌检验。

注 2: 为临床治疗用途而采集的健康人群捐赠的,经过标准化处理后的粪便样本,主要用于粪菌移植。

注 3: 为临床科研及基础医学研究用途而采集的粪便样本,主要用于消化道微生态研究(如肠道菌群)、非靶向代谢组学研究(如短链脂肪酸)、粪便人体细胞研究(如肿瘤早筛)等。

3.2

保存液 stabilizer

稳定剂

能保持粪便微生物固相或核酸物质稳定的化学试剂。

注: 保存液的主要作用:

- a) 固定微生物,使微生物不能继续生长变化,相关蛋白酶等失去活性;
- b) 保护脱氧核糖核酸(DNA),稳定 DNA 使其不易发生降解和变异。

4 通用要求

- 4.1 人类粪便样本采集与处理所在的生物样本库应符合 GB/T 37864 的规定。
- 4.2 生物样本库应制定成文并实施适宜的粪便样本采集和处理的程序。该程序应可供负责粪便样本采集者使用,不论其是否为生物样本库人员。
- 4.3 生物样本库应建立适当的质量管理体系,确保符合用户需求并持续改进。
- 4.4 生物样本库应具备相关的人员资质条件、设备和设施环境。
- 4.5 应通过伦理审查并履行知情同意程序。
- 4.6 应提供足够的隐私保护,确保为用户/提供者保密。

5 采集前的准备

5.1 样本采集方案制定

在样本采集前,应根据研究的内容,制定详细的样本采集方案,以确定以下内容:

- a) 粪便样本采集的目的,包含研究计划、研究意义、技术路线和预期研究目标等内容;
- b) 提供者入组和排除的标准;
- c) 粪便样本采集管的类型(如无菌干燥管、含特定保存液管等);
- d) 粪便样本采集例数;
- e) 每例样本的采样量或分装管数/份数;
- f) 粪便样本采集时间、周期的制定,如:术前术后、治疗前后、不同孕期、不同疾病阶段等;
- g) 粪便样本采集过程及后续处理的安全性预案。

5.2 知情同意

生物样本库应使用提供者能够理解的简明的语言传达信息,使他们在签订知情同意书前,了解采集程序的风险、益处和可能产生的后果。应提供包括对需要执行程序的解释等信息,以确保知情同意。

注:由于建立粪便样本库带给提供者的风险较小,一般粪便采集采用广泛同意模式,无需在未来研究中征求二次同意。

5.3 采集前沟通

5.3.1 生物样本库应与提供者和/或用户进行粪便样本采集前的信息沟通。这些信息应包括以下内容:

- a) 生物样本库地址;
- b) 生物样本库提供的服务项目;
- c) 生物样本库开放时间;
- d) 生物样本库评估提供者及用户实际情况后提供的采集管类型;
- e) 用户申请出入库流程及各类申请表格填写说明;
- f) 提供者准备说明;
- g) 提供者知情同意要求;
- h) 生物样本库接收标准;
- i) 生物样本库拒收标准(如未按要求在 30 min 内冷冻预处理并在 2 h 内送至生物样本库的新鲜粪便样本、混合或可能污染的粪便样本、不适合容器采集的粪便样本等);
- j) 已知对样本性能有重要影响的因素的清单;

- k) 生物样本库保护个人信息的政策；
- l) 生物样本库处理投诉的程序；
- m) 样本运送说明,包括特殊处理要求。

5.3.2 生物样本库应向提供者和用户提供包括将要进行的操作的解释等信息,使其知情并征得其同意。

6 样本和数据采集

6.1 通则

6.1.1 生物安全的管理应符合 GB 19489 的规定。

6.1.2 粪便原始样本的采集者(提供者或其他非生物样本库人员),应接受规范化的采集指导和培训。

6.1.3 在满足临床常规检验基础上进行单次采集多个粪便样本时,应符合所在机构相关规定和采集管制造商提供的操作说明,避免粪便样本的污染和管间添加剂的交叉污染。

6.1.4 粪便样本采集时应使用一次性无菌耗材,所需耗材应清洁并维护良好。应为采集与处理样本的人员配备个人防护装备(如实验工作服或隔离衣,手套,外科口罩或医用防护口罩,帽子等),必要时提供低致敏个人防护设备,如非乳胶手套。防护服应每隔适当时间更换,以确保清洁,并在受到危险物质污染时立即更换。如处理具有传染性疾病患者粪便样本或操作有可能溅出高致病性粪便样本等危险情况下,应提高防护级别,配备相应级别的设施设备(如生物安全柜)和个人防护装备,包括佩戴 N95 口罩、护目镜或防护面罩、连体式防护服、防护帽、乳胶手套、防护鞋加鞋套。

6.1.5 手卫生应符合 WS/T 313 规定。至少应在接触粪便样本前后以及摘除手套后进行。当手部有肉眼可见的污染以及可能接触艰难梭菌、肠道病毒等对速干手消毒剂不敏感的病原微生物时,应用洗手液或肥皂洗手;手部没有肉眼可见污染时,宜使用手消毒剂进行手消毒。

6.1.6 参照《医疗废物管理条例》处理样本采集和处理过程中产生的医疗废物。

6.1.7 样本处理所用的台面,每次处理结束后应及时清理并消毒。样本处理室的其他桌面、柜面和地板等表面应每天清洁,有污渍应及时清洁消毒。

6.2 样本采集步骤

6.2.1 根据粪便样本采集后运送至样本库时限长短不同,选择合适的采集管(新鲜粪便能直接送至样本库或能 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件送至样本库时选择普通无菌采样盒,新鲜粪便没有 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件运输且超过 2 h 才能送至样本库时选择含特定保存液的商品粪便采样盒)。

6.2.2 粪便样本的留取、收集与采集。嘱咐捐赠者排便前先排尽尿液,尽可能使用洁净的蹲式便器。事先在便器底部垫上纸张,再将一张干净的保鲜膜放在铺好的纸上,粪便留于保鲜膜上。粪便样本采集时,应选择肉眼可见病理成分(如脓血黏液部分)的样本,若无可见病理成分,应挑取中心部位粪便,对于不成形、水状的粪便,宜用滴管吸取。粪便样本应收集于灭菌有盖容器(无菌干燥管或含特定保存液采集管)内,不应混入尿液(尤其是当婴幼儿粪便使用尿不湿时)、污水、植物、泥土、消毒剂等。

6.2.3 粪便采集量应依据研究目的而定。宏基因组研究时,新鲜粪便分装成 1 g/管~2 g/管,不能新鲜冻存时粪便采集量应按含特定保存液采集管要求采集;非靶向代谢组学研究时,应采集新鲜粪便直接冻存,分装成 200 mg/管~1 g/管;人体脱落细胞研究(如表观组学、microRNA 等)时,新鲜粪便分装成 1 g/管~2 g/管,不能新鲜冻存时粪便采集量应按含特定保存液采集管要求采集。

6.2.4 粪便样本采集后,新鲜粪便样本应在 30 min 内冷冻预处理并在 2 h 内低温运送至生物样本库 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存,防止粪便在室温条件下放置过久而导致菌群结构比例变化和/或粪便中 DNA 酶致使裂解后的粪菌 DNA 降解等;当粪便采集后不能立即送至生物样本库,又无低温运输条件时,应采用含特定保存液采集管按附录 A 方法进行操作。

6.2.5 应对样本采集、保藏和运输等活动过程实时记录。

6.3 数据采集方法和内容

粪便样本相关数据的采集,可通过生物样本库信息管理系统与医院信息系统(HIS)/实验室信息管理系统(LIS)等信息系统链接后自动采集,但应按照相关伦理要求执行(如相关伦理审批、提供者的知情同意或放弃同意)。样本相关数据信息包括但不限于:一般个人信息、临床诊治相关资料、随访信息及样本附加信息等数据。

注:样本附加信息是指生物样本保藏过程中产生的数据信息,如采集管类型、样本量、样本采集时间、样本采集者、样本处理过程、存储过程信息等。

7 样本和数据处理

7.1 样本处理过程

7.1.1 粪便样本处理应由培训合格的生物样本库技术人员执行。

7.1.2 原始粪便样本初步处理方法包括但不限于以下内容:

a) 分装:采用称重法将 1 g~2 g 粪便分成若干个小样本置于冻存管中,含特定保存液的粪便采样管一般直接冷冻保藏;

b) 标识:样本唯一性标识,样本处理过程相关联的信息注释,样本处理过程发现的不符合识别。

7.1.3 粪便加工处理。原始粪便样本可进一步处理以获得相关衍生物,如 DNA。应针对影响粪便 DNA 质量的关键步骤,建立、成文并执行质量控制(Quality Control, QC)程序,评估 DNA 的重要质量特性,包括稳定性及满足预期研究用途等特性。

注 1:使用含特定保存液的采集管采得的粪便样本提取 DNA 时,样本处理流程为相关采集管及配套说明流程。

注 2:使用普通无菌干燥采集管采得的粪便样本提取 DNA 时,样本处理程序为文件化的标准操作程序。

7.1.4 记录处理方法、质量控制程序所产生的中间结果等内容,便于未来对准确度/精密度进行评估。

7.2 数据处理过程

7.2.1 生物样本库应建立、成文并实施粪便样本相关数据的传输和接收程序,数据传输应确保其完整性并防止侵犯数据隐私。数据传输前,应就数据的采集和接收与有关各方达成工作协议。

7.2.2 生物样本库应对粪便样本保藏过程中产生的所有数据信息做好记录,包括处理时间、处理方法、处理样本类型、存储时间、存储温度等。

7.3 样本处理方法的确认和验证

7.3.1 样本处理方法的验证

生物样本库应选用经过验证的处理方法来处理粪便样本,宜选用来自于科学文献、样本终端用户的反馈或者实验室质量控制的结果进行评估和验证样本处理方法。在应用前,样本库至少应对选用的未加修改厂商已确认的处理方法进行独立验证,如验证含 DNA 稳定剂的粪便采集管是否满足特定用途。

7.3.2 样本处理方法的确认

生物样本库如采用非标准方法(无法从制造商或开发者获得合格证书)或使用自己设计/制定的方法(自配粪便 DNA 保存液)时,应对粪便处理方法进行确认。方法确认应尽可能全面,并通过客观证据(以性能特征形式)证实其满足研究预期用途的特定要求。示例见附录 B。

7.4 质量控制

7.4.1 每一批次样本均应对其样本的采集、运输、原始样本质量、生物样本库分割的样本均质性等执行 QC 程序。对不合格生物样本及相关数据应进行有效标识,并采取措施控制其报告和分发范围。

7.4.2 使用生物样本库制定的方法验证/确认程序文件,并记录验证/确认结果;执行生物样本库制定的 QC 程序文件,并记录质量控制活动和结果。

7.4.3 生物样本库独立验证/确认试验的原始数据,所有结果应由适当的授权人员审核并记录审核过程。生物样本库 QC 结果原始数据的总结分析记录,应设定专人分析 QC 数据,还应定期分析 QC 结果的趋势,以证明样本及相关数据能满足预期要求。

附录 A

(规范性)

粪便样本保藏方法选择

粪便样本广泛用于消化道微生态宏基因组和非靶向代谢组学研究,通常要求采样后立即(30 min内)储存于-20℃或更低温度的条件中,2 h内送到生物样本库。样本收集后的实际操作,却很难实现低温冷冻存储和运输,尤其在偏远地区的采样。目前国际上采用含有N-溴代正辛烷基吡啶(NOPB)、硫氰酸胍、螯合剂等特定保存溶液的粪便采集管,可以在室温条件下稳定粪便中的核酸质量。生物样本库粪便样本采集可依据在不同实际情况下,选择不同的保藏方法,见表A.1。

表 A.1 不同运输条件下粪便样本保藏方法

方法	保藏活动		
	运输条件	运送时间	保藏形式
方法 1	有-20℃冷链运输	2 h内能送达生物样本库	不分装或分装成1 g/管~2 g/管后直接置于-80℃或更低温度条件保藏。或将样本加工处理成DNA分装保藏
方法 2	无-20℃冷链运输,需用含特定保存液采集管	严格遵循商用厂家说明书要求	将含特定保存液的采集管直接置于-80℃或更低温度条件保藏;或将样本加工处理成DNA分装保藏

附录 B
(资料性)
方法学确认示例

表 B.1 给出了方法学确认示例。

表 B.1 方法学确认示例

<p>——粪便采集方法:新鲜粪便(标准参考方法);-20℃下不含防腐剂立即冷冻;粪便采样试剂盒。</p> <p>——目的:对粪便采样试剂盒进行粪便样本保藏能满足预期用途的方法确认。</p>
适用性
<p>——DNA 提取总量;</p> <p>——DNA 测序质控指标[重复读长(reads)的比例、低质量 reads 的比例];</p> <p>——样本菌群结构和比例;</p> <p>——相对物种丰度;</p> <p>——检查三种不同采集方法的以上属性是否满足预期用途。</p>
重复性
<p>——提供者数量:16 名提供者;</p> <p>——样本数量:16 份粪便样本,3 种处理方法,3 个时间点,1 小份(1 个时间点);</p> <p>——测试属性:相对物种丰度值;</p> <p>——验收标准:处理粪便,提取 DNA,测样本菌群结构和比例($R^2 = 1$)。</p>
稳定性
<p>——需比较的稳定性条件:不同采集方法三个时间点:第 0 天,第 1 天,第 28 天;</p> <p>——需比较测试的属性:16 份粪便样本,3 种保藏方式,每个时间点一份;提取 DNA 的总量、DNA 测序质控指标、样本菌群结构和比例;</p> <p>——稳定性的统计测试:生物信息分析软件;布雷-柯蒂斯相异度评分;线性回归分析;</p> <p>——验收标准:方法内比较样本时,样本在不同时间点的丰度和 SDI 评分相似。</p>

参 考 文 献

- [1] 医疗废物管理条例(中华人民共和国国务院令 第 380 号)
- [2] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].第 4 版.北京:人民卫生出版社.2017.
- [3] 史以超,王子恺,杨云生.消化道微生态标准化样本库共识[J].转化医学杂志,2018,7(04):198-203.
- [4] Nishimoto Y, Mizutani S, Nakajima T, et al. High stability of faecal microbiome composition in guanidine thiocyanate solution at room temperature and robustness during colonoscopy [J]. Gut, 2016, 65(9):1574-1575.
- [5] Jones J, Reinke S, Ali A, et al. Fecal sample collection methods and time of day impact microbiome composition and short chain fatty acid concentrations [J]. Scientific Reports. 2021, 11(1):13964.
- [6] Carroll I M, Ringel-Kulka T, Siddle J P, et al. Characterization of the Fecal Microbiota Using High-Throughput Sequencing Reveals a Stable Microbial Community during Storage [J]. Plos One. 2012, 7:e46953.
- [7] Song S J, Amir A, Metcalf J L, et al. Preservation Methods Differ in Fecal Microbiome Stability, Affecting Suitability for Field Studies [J]. mSystems, 2016, 1(3):e00021-16.
- [8] Shaw A G, Sim K, Powell E, et al. Latitude in sample handling and storage for infant faecal microbiota studies: the elephant in the room? [J]. Microbiome, 2016, 4(1):40.
- [9] Han M, Hao L, Lin Y, et al. A novel affordable reagent for room temperature storage and transport of fecal samples for metagenomic analyses [J]. Microbiome, 2018, 6(1):43.
- [10] Mathay C, Hamot G, Henry E, et al. Method optimization for fecal sample collection and fecal DNA extraction [J]. Biopreservation and biobanking, 2015, 13(2):79-93.
- [11] Anderson E L, Li W, Klitgord N, et al. A robust ambient temperature collection and stabilization strategy: Enabling worldwide functional studies of the human microbiome [J]. Scientific reports, 2016, 6(1):1-10.
- [12] Byrd D A, Sinha R, Hoffman K L, et al. Comparison of methods to collect fecal samples for microbiome studies using whole-genome shotgun metagenomic sequencing [J]. Msphere, 2020, 5(1):e00827-19.
-