

浙江省疾病预防控制中心  
Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention

# 新常态下实验室 生物安全实践

陆烨

和谐 | 安定 | 创新 | 勇毅



### 了解敌人，有利于我们战胜它们

**被脂质（脂肪）保护层覆盖的蛋白分子（“割伤”脂肪—溶解脂肪层）**

蛋白质分子（不会被杀死）但会降解和变性，取决于 **温度、湿度、化学剂作用**。

提示有机物的干扰

### 了解下化学消毒剂抗力，让我们更从容！

一般微生物对消毒因子的敏感性从高到低的顺序：

- ①亲脂病毒，例如乙型肝炎病毒、流感病毒、冠状病毒等。
- ②细菌繁殖体。（低水平消毒标志）（包括氯己定、苯扎溴铵）  
通风换气、冲洗等机械除菌法  
---原卫生部《消毒技术规范》（2002）
- ③真菌。
- ④亲水病毒，如手足口、脊灰病毒等。
- ⑤分枝杆菌，如结核分枝杆菌等。（中水平消毒标志，常见碘、醇、双链季铵盐）
- ⑥细菌芽孢，例如炭疽杆菌芽孢等。（高水平消毒标志，常见含氯消毒剂）

### SARS-CoV-2对消毒剂敏感 (ICTV)

病毒对紫外线和热敏感，56°C 30分钟、乙醚、75%乙醇、含氯消毒剂、过氧乙酸和脂肪等脂溶剂均可有效灭活病毒。氯己定不能有效灭活病毒。

---新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案（试行第四版）

异丙醇（70%~100%）、戊二醛（0.5%~2.5%）、甲醛（0.7%~1%）、聚维酮碘（0.2%~7.5%）可以下降冠状病毒4个对数值；62%~71%乙醇、0.5%过氧化氢、0.1%次氯酸钠，1min内可有效灭活物体表面冠状病毒；0.05%~0.2%的苯扎氯铵，或0.02%的氯己定葡萄糖酸盐灭活病毒效果欠佳。

----- Kampf G, et al. J. Hosp. Infect. 2020

---人卫版教科书对病毒的灭活认识

### 衣服、被褥纺织品清洁消毒

$A_0$ 值是表示微生物失活的物理参数

$$A_0 = t^{\alpha} (T - T_0) / 10$$

$t$  — 消毒时间，以分钟计；  
 $T$  — 消毒温度，以°C计

可计算出56°C下煮沸30min,  $A_0$ 值约为7。

推算  
56°C下30min  
66°C下3min  
76°C下0.3min (18秒)  
86°C下1.8秒  
96°C下0.18秒

《医院医用织物洗涤消毒技术规范》(WST508-2016)  $A_0$ 至少大于600

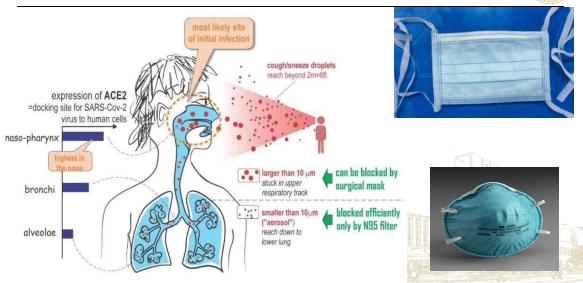
在56°C时，病毒的生存时间不超过30min

非必要浸泡消毒？

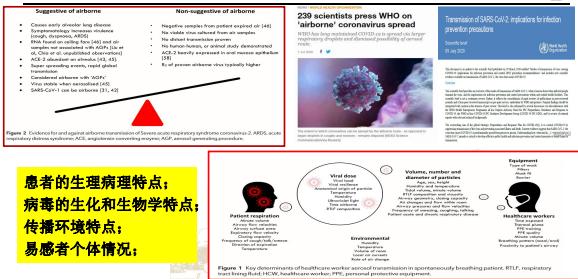
## 来自武汉一线的认识



## 传播模型来看



不能简单的以距离为准（多因素、多途径分析）



传染源主要是感染的患者，人群普遍易感

主要传播途径为经呼吸道飞沫和接触传播，接触病毒污染的物品也可造成感染。在相对封闭的环境中长时  
间暴露于高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能。由于粪便和尿液中可分离到新型冠状病毒，应注意粪便和尿液对环境污染造成气溶胶或接触传播。

传染源主要是新型冠状病毒感染的患者和无症状感染者，在潜伏期即有传染性，发病后5天内传染性较强。



- 1 接触传播：转移的过程可以是直接的（皮肤-皮肤）或间接的（通过污染的物体表面）。
- 2 飞沫传播：通过直径 $>5\mu\text{m}$ 的飞沫传播，通常其不能在空气中漂浮很长时间，传播的距离短 $<1\text{米}$ 。
- 3 空气传播：粒子粒径 $<5\mu\text{m}$ ，能够在空气中长时间漂浮，因此传播距离远，能够感染离传染源几米之外的人群。

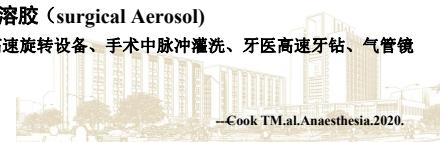
## 不同感染途径对感染效率的影响

- 流感病毒的感染途径，是空气传播，还是飞沫传播的问题；或者说哪个途径贡献大一直存在争议；
  - 志愿者的实验接种流感病毒，结果显示雾化接种（aerosolized）的传染剂量远低于鼻腔滴种（instillation）。
  - Teunis等实验研究表明，甲流病毒以气溶胶方式吸入的感染效率是鼻腔内点滴接种感染的20倍，但是，涉及到每个个体，哪条途径在发挥主导作用，不同的场合或许会有不同的传播方式，是单一，亦或是组合途径。



## 气溶胶产生程序的分类（机会性获得）

- 气溶胶产生程序 (aerosol-generating procedure,AGP)
  - 1、呼吸道气溶胶 (respiratory Aerosol)  
气管插管、拔管及相关程序、气管造口术和颈前气道、面罩加压通气、正压机械通气、无创通气、开放式气管吸痰、支气管肺泡灌洗、诱导性咳痰、高通量给氧
  - 2、外科气溶胶 (surgical Aerosol)  
外科手术中高速旋转设备、手术中脉冲灌洗、牙医高速牙钻、气管镜检查

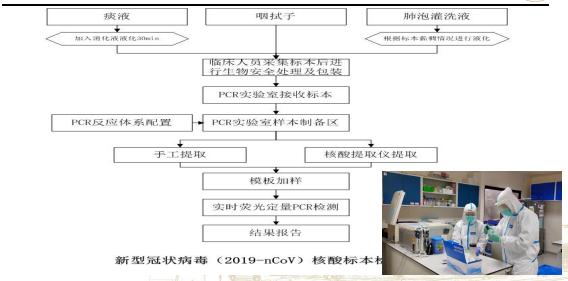


## 实验室的气溶胶

- 离心，振荡，拔盖都有可能产生气溶胶



## 新冠核酸提取流程



## 环境标本中的检出

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2271-3>

- 有报道, COVID-19患者的病房在常规清洁后采集环境样本, 结果显示, 87% (13/15) 环境表面 (包括出风口风口机)、60% (3/5) 卫生间 (马桶、水槽、门把手) 的样本 SARS-CoV-2 呈核酸阳性。但病房外缓冲间和走廊样本为阴性。患者上呼吸道受累, 无肺炎, 无腹泻, 但每次粪便核酸阳性。
  - 有1份来自 **HCoV-穿鞋的表面标本, 病毒RNA核酸阳性**。
  - 该研究所有空气样本均为阴性

Xiang QSM et JAMA 2020 undefined



作为防护屏障将暴露于气溶胶、溅洒和意外接种的风险降至最低。

**PPE 不能替代良好操作技术!**

专业技术人员必须经过培训，才能开展工作

《医疗机构临床基因扩增检验管理办法》

## 环境标本中的检出

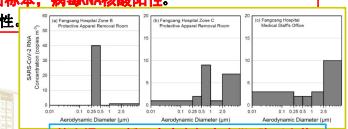
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2271-3>

- 有报道，COVID-19患者的病房在常规清洁前采集环境样本，结果显示，87% (13/15) 环境表面（包括出口风机）、60% (3/5) 房间内（马桶、水槽、门把手）的标本SARS-CoV-2呈核酸阳性。但是病房外缓冲间和走廊样本为阴性。患者上呼吸道带菌，无肺炎，无腹泻，但次粪便核酸阳性。
  - 有1份来自**ICU**所穿鞋的表面标本，**病毒RNA核酸阳性**。
  - 该研究所有空气样本均为阴性。

Xiang OSW, et. JAMA, 2020, undefined



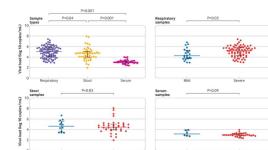
省CDC2014年培训EQBI要求对鞋底消毒



首次揭示了新冠病毒气溶胶“沉降（衣物/地面）—人员携带—空中扬起”的传播模型  
Yuan Liu, et.“Aerodynamic Analysis of SARS-CoV-2 in two

## 粪便中的危险程度

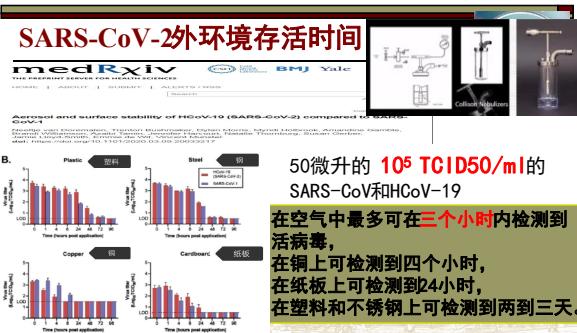
不同样本的**病毒载量**存在显著差异, **呼吸道**样本载量最高, 其次是**粪便样本**, 血清样本最低



粪便样本的病毒持续时间（22天，IQR 17-31）显著长于呼吸道样本（18天，IQR 13-29； $P=0.02$ ）和血清样本（16天，IQR 11-21； $P<0.001$ ）

96例实验室确诊的SARS-CoV-2感染患者

## SARS-CoV-2外环境存活时间



## 眼部暴露的感染途径

- 部分患者结膜拭子检测到 SARS-CoV-2核酸阳性，但未发生结膜炎。
  - ACE2主要表达于眼后组织，如视网膜和视网膜色素上皮，而非人结膜和角膜上皮。因此，可以推测病毒通过液滴进入泪点，再通过鼻泪管进入呼吸道。



## 窗口单位怎么保护

## 静脉采血

(住院儿科、呼气)



## SARS-CoV-2与血液安全



- SARS患者发热1d,50%(6/12)患者血浆中可检测到病毒RNA,但14d下降至25% (3/12)。
  - 有研究表明, SARS患者血浆中可检到病毒的RNA。首份报道是2003年4月10日,患者发病第9d处于急性期中,但血浆中RNA浓度较低, 190拷贝/ml。
  - 该病例唾液中病毒载量高达 $6.3 \times 10^4$ 拷贝/ml。
  - 据报道, 首批41例COVID-19患者中, 有15% (6/41) 有病毒血症, 且与患者轻症轻重无关。

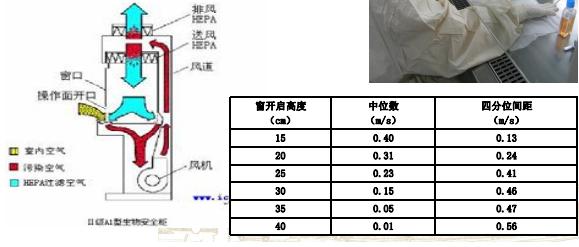
---- Chang L, et al. Transfus Med Rev, 2020, undefined

建设核酸检测实验室，对实验室生物安全也是一个挑战



那么如何做好PCR实验室消毒工作，保障医务人员职业安全以及生物安全呢？

标本处理尽量在生物安全柜内



## 一、什么是生物安全实验室消毒



## 二、实验室消毒处置我们要准备什么？

- 个人防护用品：口罩、帽子、防护服、手套、鞋套、长筒靴；
- 手消毒剂：快速手消毒剂；
- 环境、物品消毒剂：根据消毒对象确定，如含氯消毒剂、消毒湿巾；
- 喷雾器、消毒剂配制用具和浓度测试卡等；
- 微生物采样设施：消毒效果考核；
- 污物袋、污物箱；
- 工作记录表和效果检测记录表。



疫源地消毒剂通用要求  
GB27953(2011)(2020)

## WHO的指南

- 尽管对这种新型冠状病毒知之甚少，但根据与非典病毒SARS-CoV和中东呼吸综合征冠状病毒MERS-CoV相似的遗传特征，表明2019-nCoV可能对证实具有抗冠状病毒活性的消毒剂的敏感。如果按照制造商的使用建议，包括**次氯酸钠(漂白剂)**（例如，一般表面消毒为1,000ppm (0.1%)，血液溢出消毒为10,000ppm (1%)，62-71%乙醇，0.5%过氧化氢，季铵化合物和酚类化合物）其他杀生物剂，如0.05-0.2%杀藻胶或0.02%二氯己定可能效果较差。
- 不仅要特别注意消毒剂的选择，还要注意配制后的，**消毒剂的接触时间(如10分钟)、稀释度(即活性成分的浓度)和有效期**。
- 众所周知，人类冠状病毒一般会在金属、玻璃或塑料等无生命物质表面上，存活长达9天。

## 三、常用消毒方式



## 武汉的经验（消毒设施随手可及）



## 消毒湿巾的大量应用解决了擦拭消毒实际问题

少量(<10mL) 溅污可先清洁再消毒；  
或使用**消毒湿巾**直接擦拭。

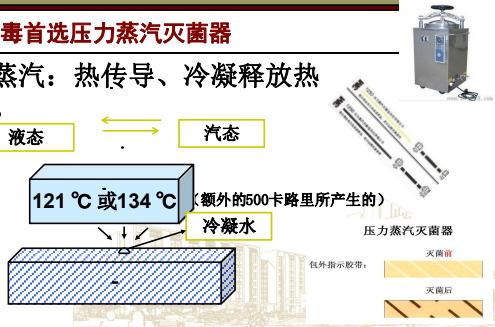
**清洁消毒一步完成！**

**提高环境物体表面消毒的依从性**



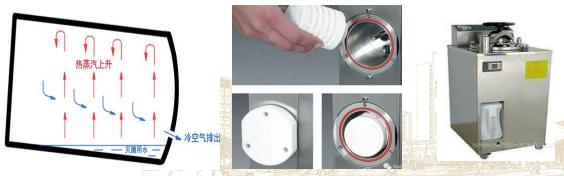
## 物理消毒首选压力蒸汽灭菌器

- 水蒸汽：热传导、冷凝释放热能。



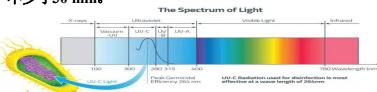
## 什么是生物安全型灭菌器

- 排气通道是经过一加热容器后再排出锅外，以避免微生物气溶胶未经高温消毒直接排放，又称内循环式。主要用于医疗废物、实验室感染废弃物（液体、固体）的消毒。



## 紫外线灯消毒（常用）

符合行业标准紫外线杀菌灯GB 19258-2012。定期检测性能、完整记录、累积使用不超过规定时限。消毒时间不少于30 min。



要求用于消毒的紫外线灯在电压为220V、环境相对湿度为60%、温度为20°C时，辐射的 253.7nm 紫外线强度（使用中的强度）不得低于 70  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

紫外线消毒灯的使用寿命，应不低于 1000h。  
紫外灯生产单位应提供实际使用寿命。



## 需要进行压力蒸汽灭菌的废弃物

- (1) 固体废物分类收集，固体废物的收集容器应当具有不易破裂、防渗漏、耐湿耐热、可密封等特性。实验室内的感染性垃圾不允许堆积存放，**应当及时压力蒸汽灭菌处理**。废物处置之前，应当存放在实验室指定的安全地方。
- (2) 小型固体废物如组织**标本、耗材、个人防护**装备等均需经过**压力蒸汽灭菌处理**再沿废弃物通道移出实验室。
- (3) 实验过程如使用**锐器（包括针头、小刀、金属和玻璃等）**要直接弃置于**锐器盒内**，高压灭菌后，再做统一处理。



## 空气消毒的特殊性（人在、人不在的空间）

- 空气消毒目的：实现**无害化**。

- 实现方式：

- 1、**明确污染的空气**：经空气传播传染病；消毒或过滤后排出



- 2、**维持空气清洁度**：把清洁空气送进来，把污染空气**交换出去**；动态空气消毒方法（微生物实验室慎用）



- 3、**维持空气洁净度**：空气洁净技术（微生物实验室慎用）



## 化学性空气消毒

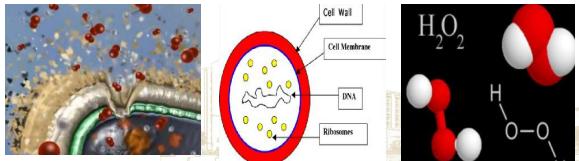


- **空气消毒** 用于密闭空间内空气中悬浮的微生物，用于空气消毒的消毒剂叫**空气消毒剂**
- **气溶胶喷雾** 可发生雾粒直径范围在50  $\mu\text{m}$ 以下，其中雾粒直径小于20  $\mu\text{m}$ 的粒子占90%以上，喷雾流量100mL/min以上的喷雾方法。
- **熏蒸消毒** 利用加热方法使消毒液汽化进行空气消毒的方法。
- **气体消毒** 化学因子以气体状态进行空气消毒的方法。

- 8.3 消毒时，应关闭门窗，消毒操作完成或后，操作人员应尽快离开，消毒结束后应待室内消毒剂降低至对人无影响时，方可进入。情况允许时可开窗通风。
- 8.4 过氧化氢、过氧化钠和二氧化氯等消毒剂对金属物品有腐蚀性，对织物有漂白作用，臭氧对橡胶有损坏作用，消毒时应尽量避免消毒剂的直接作用于物体表面。

## 过氧化氢发生器

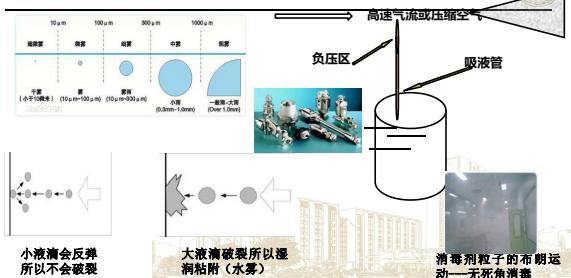
- 氧化作用：直接氧化细菌外层结构，使细胞通透性屏障遭到破坏
- 分解产物作用：羟基 $[\text{OH}]$ 和活性氧 $[\text{O}]$ 等自由基团直接与微生物蛋白质和核酸发生反应。
- 过氧化氢进入细胞内作用于DNA链中磷酸二酯键并使其断裂。



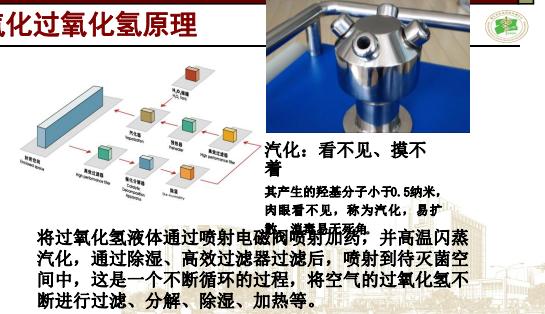
## 两种作用环境终末消毒的过氧化氢新技术



## 干雾技术（干雾是指直径在-10 μm的液体颗粒）



## 汽化过氧化氢原理



## 高效过滤器 high efficiency particulate air filter

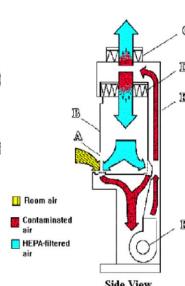
一种一次性的产品，具有低效/高效复合介质的干膜型过滤器，特征如下：

——坚硬的外表层滤带状物；

——对于直径为0.3 μm的微粒(如用加热方法产生的单分散聚二甲基二苯(DOP))或相当的微粒过滤效率不低 99.99%；

——清洁的过滤器在额定流量下工作时，其压降为 250 Pa；

——当用光散射中值尺寸 0.7 μm, 几何标准偏差 3.1 的多分散气溶胶进行扫描测试时，超过 0.01%；



气态水分子的直径约为0.004 μm，  
液态水分子的直径约为100 μm~6000 μm



## 四、现场常用的化学消毒剂



## 何谓合法有效的消毒产品?



20090023948

### 进口消毒产品

1、企业资质: 提供在华责任单位营业执照;

2、三新产品: 提供产品卫生许可批件批复;

其他产品: 提供产品卫生安全评价报告

以及卫生安全评价报告、检测报告、标签说明书等。

### 国产消毒产品

1、企业资质: 提供生产企业卫生许可证;

2、三新产品: 提供产品卫生许可批件批复;

其他产品: 提供产品卫生安全评价报告以及

卫生安全评价报告、检测报告、标签说明书等。



## 如何查询消毒产品卫生安全评价信息

- 1、新消毒产品以外的第一类、第二类消毒产品上市时实行省级告知性备案管理。
- 2、备案模式: 现在卫健委要求统一录入全国消毒产品网上备案信息服务平台 (<https://credit.jdzx.net.cn/xdcp/loginPage.d>); 方便查询备案信息、产品质量投诉举报、不良事件上报。



## 1、含氯消毒剂(很多人叫84)

次氯酸钙类: 漂白粉, 漂粉精 (漂精片难溶解)

次氯酸钠类: 有效氯5%。

二氯异氰尿酸钠类 (优氯净):

三氯异氰尿酸类:

(泡腾型) 每片含有效氯500mg。

泡腾型消毒片 (500mg/片) 放入1L水  
=500mg/L  
次氯酸钠消毒液含有效氯5% =  
5g/100ml=50000mg/L  
1: 100就是500mg/L

物体表面、织物等污染物喷洒和擦拭消毒  
消毒作用完毕后需要清水擦拭



- 新型冠状病毒毒株或其他潜在感染性材料污染生物安全柜的操作台造成局限污染: 使用有效氯含量为~~0.55%~~消毒液, 消毒液需要现用现配, 24小时内使用。此后内容中有效氯含量参照此浓度。  
——新型冠状病毒实验室生物安全指南(第二版)
- 消毒液: 每天试验前后使用~~500 mg/L~~ 有效氯的消毒液(84消毒液100倍稀释▲)进行桌面、台面及地面消毒。
- 消毒液新鲜配制, 不超过24 h。

《2019新型冠状病毒肺炎临床实验室检测的生物安全防护指南试行第一版》

## 2、分清楚乙醇消毒液还是含醇消毒液

■乙醇含量为70%~80% (v/v),

■手和皮肤消毒、体温计、血压计等医疗器具、精密仪器的表面消毒。

■不宜用于空气消毒和医疗器械的浸泡消毒。



含醇手消毒剂>60% (v/v),  
复配产品可依据产品说明书

### 3、含碘消毒剂

**碘伏：**碘和PVP有效碘2g/L~10g/L；适用于外科手及前臂消毒，黏膜冲洗消毒等。  
**碘酊：**碘和乙醇；有效碘18g/L~22g/L，乙醇40%~50%适用于手术部位、注射和穿刺部位皮肤及新生儿脐带部位皮肤消毒，不适用于黏膜和敏感部位皮肤消毒。



### 5、过氧化物类消毒剂



### 6氯己定的消毒剂能不能用

新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案（试行第五版）解读

发布时间：2020-02-05 来源：国家卫健委

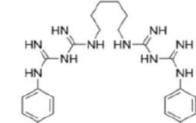
冠状病毒对紫外线和热敏感，大部分消毒剂可有效灭活病毒，但氯己定不能有效灭活病毒，应避免使用含有氯己定的手消毒剂。



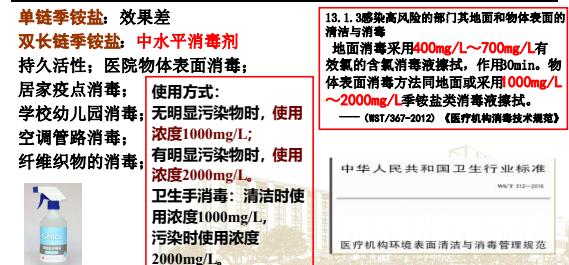
单方氯己定（多用于漱口水等抑菌类产品）杀菌能力有限

分子式决定了对黏膜蛋白有很好的亲和力

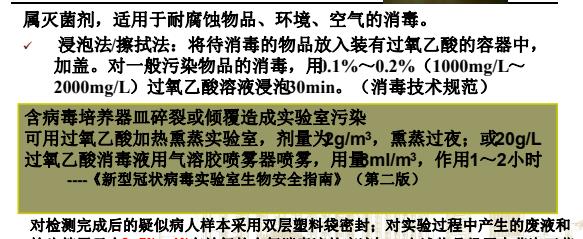
这个氨基有亚氨基的存在，偏碱性容不了水，就需要和酸形成稳定的盐了，所以为什么会有商品名醋酸氯己定，盐酸氯己定，葡萄糖酸氯己定。



### 4、季铵盐消毒剂



### 过氧乙酸



### 作为醇类手消毒剂的复配成份

2.1 75%的乙醇对新型冠状病毒有效，氯己定对其无效，某些手消毒剂含60%的乙醇，也含有氯己定，可以用吗？ 新型冠状病毒属于 $\beta$ 属的新型冠状病毒，有包膜，是对消毒剂抵抗力最低的一类病原微生物。冠状病毒对紫外线和热敏感，56℃ 30 min 分布，含氯消毒剂、过氧乙酸、75%乙醇、乙醚、氯仿等脂溶剂均可有效灭活病毒，但世界卫生组织介绍氯己定不能有效灭活病毒<sup>[2]</sup>。目前，已经上市的手消毒剂多数为复方成分，上市前均会对各类病原微生物的杀灭效果进行检测，所以，市场上有销售的、以乙醇为主要成分的手消毒剂对新型冠状病毒均能达到灭活效果。

（GB27950-2011）《手消毒剂卫生要求》

李六亿，中国感染控制杂志2020.2(19)



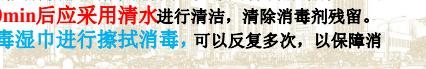
## 你该关注的风险并不只是你的防护用品等级

- 1.转运箱一般不进入隔离病房；
- 2.如果是从隔离病房内取出，需要外部清洁消毒；
- 3.从医院之外送回后，需要外部清洁消毒；
- 4.转运箱封闭前，**须紫外消毒(如果不紧急)、含氯消毒剂或乙醇等喷雾消毒**。



## 标本送达时环节泄漏

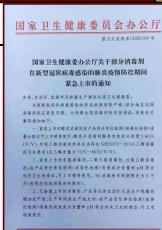
- 摆床、离心机、试管架或放入**密封采样系统、自动进样器、自动涂片系统**以及标本传输带时，或处理过程中发生溢洒和泄漏，应立即**终止操作**，寻找原因；
- **如标本容器破裂、盖子未拧紧或松开等**，检查其他标本或设备设施是否被污染，确定污染性质与范围，选择有效的清洁与消毒方法，如**采用2000mg/L~5000mg/L含氯消毒剂**或其他适合的消毒剂，对**标本试管外表和设备内外**进行擦拭消毒；
- 由于含氯消毒剂具有**较强的腐蚀**作用，凡采用含氯消毒剂处理的，通常**作用30min后**应采用**清水**进行清洁，清除消毒剂残留。**推荐使用消毒湿巾进行擦拭消毒**，可以反复多次，以保障消毒效果。



## 总结一下消毒剂注意事项

- ✓ 使用消毒剂必须严格遵循相关标准、规范要求，按照批准的使用范围和使用**方法**合理应用，不能随意乱用；
- ✓ 使用前要了解具体消毒剂的**注意事项**，如安全性、现配现用、活化后使用等；
- ✓ 同时要关注使用中消毒液的**浓度监测、更换时间和污染问题**。
- ✓ 现场使用中消毒剂的杀菌能力受多种因素影响，应慎用化学灭菌方法。

实验室24H运转要考虑“消毒时间”需要预留。



紧急上市的只限四类，  
醇、二氧化氯、含氯、  
过氯乙酸

## 感染性物质溢洒场所的消毒(个人总结)

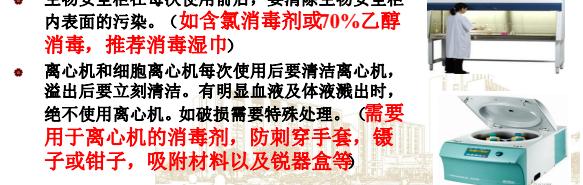
### ● 标本运送中环节

- 一旦发生溢洒或泄露，首先检查标本的**包装袋是否破损**，如未破损直接采取高水平的消毒方法对其进行消毒，并按感染性废物处置；
- 如包装袋有破损，则首先检查是否污染**同一运送箱的其他标本试管外表是否污染**，以及转运箱是否污染等。
- 应先取出其他标本，进行试管外表的擦拭消毒，在明确病原微生物时，可选择敏感的消毒剂；
- 不明病原微生物则选择**2000mg/L~5000mg/L含氯消毒剂**或其他适合的消毒剂进行擦拭消毒；
- 标本转运箱**内部**，首先清除感染性物质，再选择**2000mg/L~5000mg/L含氯消毒剂**或其他适合的消毒剂进行擦拭消毒。擦拭消毒中应注意对**标本的标识标签的损坏**。



## 污染设备的消毒

- 一次性垫料的使用可以减少设备设施清洁与消毒的频次，但**不能替代**对设备设施常规清洁与消毒；
- 生物安全柜在每次使用前后，要清除生物安全柜内表面的污染。**(如含氯消毒剂或70%乙醇消毒，推荐消毒湿巾)**
- 离心机和细胞离心机每次使用后要清洁离心机，溢出后要立刻清洁。有明显血液及体液溅出时，绝不使用离心机。如破损需要特殊处理。**(需要用于离心机的消毒剂，防刺穿手套，镊子或钳子，吸附材料以及锐器盒等)**



## 实验室废弃标本到底要不要灭菌？

一、卫生部、国家环保总局文件 卫医发[2003]287号

关于引发《医疗废物分类目录》的通知规定：**各种废弃的医学标本、血液、血清属于感染性废物**。

二、《医疗废物管理条例》第十九条第二款：**医疗废物中病原体的培养基、标本和菌种、毒种保存液等高危险废物** 在交医疗废物集中处置单位处置前应当**就地消毒**。

三、《医疗卫生机构医疗废物管理办法》第十条第七款：**医疗废物中病原体的培养基、标本和菌种、毒种保存液等高危险废物** 应当首先在产生地点进行压力蒸汽灭菌或者化学消毒处理，然后按感染性废物收集处理。

**不是生物安全实验室的医学标本、废弃的血液、血清无须消毒，放入双层黄色专用包装袋，有效封口，按感染性废物收集处理**



## 转运有效封口更靠谱(鹅颈结封口, 推荐)



## 现阶段COVID-19生物安全思考

- 工程控制(engineering controls)
- 行政管理(administrative controls)
- PPE的使用(use of ppe)



水平有限, 仅供大家参考

谢谢!  
向各位致敬

联系方式:  
E-mail: [ylu@cdc.zj.cn](mailto:ylu@cdc.zj.cn)

