

# 中国疾病预防控制中心便函

---

中疾控实管便函〔2020〕117号

## 中国疾病预防控制中心关于下发 新型冠状病毒实验室荧光定量 PCR 方法检测 标准操作程序等技术方案的通知

各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团疾控中心：

按照国家卫生健康委肺炎领导小组部署和前方指挥部指示，以及疫情防控组统筹安排，我中心协调各有关省份和我中心有关单位组成疾控工作队，分赴湖北省各地疾控中心对口支援开展实验室检测工作。为确保对口支援实验室检测工作规范、有序、高质、高效、安全的开展，我中心在前期防控方案的基础上，组织制定了新型冠状病毒实验室荧光定量 PCR 方法检测标准操作程序、新型冠状病毒 PCR 检测实验室规范和新型冠状病毒 PCR 实验室生物安全要求等三个技术方案，现下发给你们，请参照执行。

执行过程中发现任何问题，请及时反馈我中心。

联系人：国原源、张必科

联系电话：010-58900339，010-58900335

手机：13693233017，13522016786

---

- 附件：1. 2019 新型冠状病毒实验室荧光定量 PCR 方法检测标准操作程序
2. 新型冠状病毒 PCR 检测实验室规范
3. 新型冠状病毒 PCR 实验室生物安全要求

中国疾病预防控制中心

2020 年 2 月 3 日

抄送：国家卫健委疾控局、疫情防控组，高福、李新华、刘剑君、冯子健。

## 附件 1

# 2019 新型冠状病毒实验室荧光定量 PCR 方法检测标准操作程序

### 一、目的

用于定性定量检测临床样本中的武汉新型冠状病毒核酸。

### 二、适用范围

适用于需要进行武汉新型冠状病毒核酸检测的检验人员。

适用仪器：ABI7500 及相似性能荧光检测仪器。

样本要求：血清、鼻咽拭子、痰样本、肺部灌洗液等。

### 三、样本核酸提取

采用 QIAamp Viral RNA MiNi Kit (QIAGEN, 52906) 提取核酸 (按照试剂盒标准操作说明书进行)。

### 四、引物和探针

引物探针名称	序列 (5'—3')	基因位置
lab-F	5'-CCCTGTGGGTTTTACTTAA-3'	
lab-R	5'-ACGATTGTGCATCAGCTGA-3'	lab
lab-P	5'-FAM-CCGTCTGCGGTATGTGGAAAGGTTATGG-BHQ1-3'	
N-F	5'-GGGGAACCTTCTCCTGCTAGAAT-3'	
N-R	5'-CAGACATTTGCTCTCAAGCTG-3'	N
N-P	5'-FAM-TTGCTGCTGCTTGACAGATT-TAMRA-3'	

### 五、荧光定量 PCR 试剂盒

(一) One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit (TaKaRaCode No. RR064A)

2×One Step RT-PCR Buffer III	840 μl ×1 支
TaKaRa Ex Taq HS (5 U/μl)	50 μl
PrimeScript RT Enzyme Mix II	50 μl
RNase Free dH2O	1.25 ml ×2 支
ROX Reference Dye	100 μl

## 1. PCR 扩增体系制备

使用 **One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit** 中的反应液及引物盒中的试剂,室温融化后震荡混匀,离心数秒后置于冰上操作,按照以下方法配置体系,反应管中加入待测样本核酸、阳性对照核酸、阴性对照各 **5 μl**。完成后保存在 **4℃** 避光环境中。

	1ab	N
2×One Step RT-PCR Buffer III	12.5 μl	12.5 μl
TaKaRa Ex Taq HS (5 U/μl)	0.5 μl	0.5 μl
PrimeScript RT Enzyme Mix II	0.5 μl	0.5 μl
RNase Free dH2O	3.5μl	3.5μl
引物+探针(F10μM/R10μM/P10μM):	1μl +1μl +1μl	1μl +1μl +1μl
RNA Tamplate:	5 μl	5 μl
	25 μl	25 μl

## 2. PCR 扩增条件

PCR 扩增过程适用在 **ABI7500** 及相似性能荧光检测仪器上进行,操作方法按照以下条件设置。

逆转录	42 °C	5 min	1 个循环
预变性	95 °C	10 s	1 个循环
PCR	95°C	10 s	40 个循环
	60°C (收集荧光)	45 s	

探针检测通道设置为：FAM

## (二) AgPath-IDTM One-Step RT-PCR Kit (AB, AM1005)

2×RT-PCR Buffer	1375μl
25×RT-PCR enzyme mix	110μl
Nuclease-Free Water	1.75 ml
Detection Enhancer	190 μl

### 1. PCR 扩增体系制备

使用 AgPath-IDTM One-Step RT-PCR Kit 中的反应液及引物盒中的试剂,室温融化后震荡混匀,离心数秒后置于冰上操作,按照以下方法配置体系,反应管中加入待测样本核酸、阳性对照核酸、阴性对照各 5 μl。完成后保存在 4℃避光环境中。

	1ab	N
2×RT-PCR Buffer	12.5 μl	12.5 μl
25×RT-PCR enzyme mix	1 μl	1μl
Nuclease-Free Water	4μl	4μl
引物+探针(F10μM/R10μM/P10μM):	1μl +1μl +0.5μl	1μl +1μl +0.5μl
RNA Tamplate:	5 μl	5 μl
	25 μl	25 μl

### 2. PCR 扩增条件

PCR 扩增过程适用在 ABI7500 及相似性能荧光检测仪器上进行,操作方法按照以下条件设置。

逆转录	45℃	10 min	1 个循环
预变性	95 °C	10 min	1 个循环
PCR	95℃	15 s	40 个循环

探针检测通道设置为：FAM

## 六、结果判断分析

### （一）阴性

FAM 检测通道无 Ct 值或 Ct 值为 40。

### （二）阳性

FAM 检测通道 Ct 值<37, 可报告为阳性。

### （三）FAM 检测通道 Ct 值在 37-40 之间的样本

建议重做，若重做结果 Ct 值< 37, 该样本判断为阳性，  
否则为阴性。

## 新型冠状病毒 PCR 检测实验室规范

### 一、PCR 基因扩增实验室功能分区

#### (一) 基因扩增检验实验室区域设计原则

原则上基因扩增检验实验室应当设置以下区域：试剂储存和准备区、标本制备区、扩增区、扩增产物分析区。这 4 个区域在物理空间上必须是完全相互独立的，各区域无论是在空间上还是在使用中，应当始终处于完全的分隔状态，不能有空气的直接相通。根据使用仪器的功能，区域可适当合并。例如使用实时荧光 PCR 仪，扩增区、扩增产物分析区可合并；采用样本处理、核酸提取及扩增检测为一体的自动化分析仪，则标本制备区、扩增区、扩增产物分析区可合并。各区的功能：

##### 1. 试剂储存和准备区。

贮存试剂的制备、试剂的分装和扩增反应混合液的准备，以及离心管、吸头等消耗品的贮存和准备。

##### 2. 标本制备区。

核酸（RNA、DNA）提取、贮存及其加入至扩增反应管。对于涉及临床样本的操作，应符合生物安全二级实验室防护设备、个人防护和操作规范的要求。

##### 3. 扩增区。

cDNA 合成、DNA 扩增及检测。

#### 4. 扩增产物分析区。

扩增片段的进一步分析测定，如杂交、酶切电泳、变性高效液相分析、测序等。

### **(二) 基因扩增检验实验室的空气流向**

基因扩增检验实验室的空气流向可按照试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区进行，防止扩增产物顺空气气流进入扩增前的区域。可按照从试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区方向空气压力递减的方式进行。可通过安装排风扇、负压排风装置或其他可行的方式实现。

### **(三) 工作区域仪器设备配置标准**

#### 1. 试剂储存和准备区。

(1) 2~8℃和-20℃以下冰箱。

(2) 混匀器。

(3) 微量加样器（覆盖 0.2-1000μl）。

(4) 可移动紫外灯（近工作台面）。

(5) 消耗品：一次性手套、耐高压处理的离心管和加样器吸头。

(6) 专用工作服和工作鞋(套)。

(7) 专用办公用品。

#### 2. 标本制备区。



- (1) 2-8℃冰箱、-20℃或-80℃冰箱。
- (2) 高速离心机。
- (3) 混匀器。
- (4) 水浴箱或加热模块。
- (5) 微量加样器（覆盖 0.2-1000 $\mu$ l）。
- (6) 可移动紫外灯（近工作台面）。
- (7) 生物安全柜。
- (8) 消耗品：一次性手套、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤芯）。
- (9) 专用工作服和工作鞋(套)。
- (10) 专用办公用品。
- (11) 如需处理大分子 DNA，应当具有超声波水浴仪。

### 3. 扩增区。

- (1) 核酸扩增仪。
- (2) 微量加样器（覆盖 0.2-1000 $\mu$ l）。
- (3) 可移动紫外灯（近工作台面）。
- (4) 消耗品：一次性手套、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤芯）。
- (5) 专用工作服和工作鞋。
- (6) 专用办公用品。

### 4. 扩增产物分析区。

视检验方法不同而定，基本配置如下：

- (1) 微量加样器（覆盖 0.2-1000 $\mu$ l）。
- (2) 可移动紫外灯（近工作台面）。
- (3) 消耗品：一次性手套、加样器吸头（带滤芯）。
- (4) 专用工作服和工作鞋。
- (5) 专用办公用品。

上述各区域仪器设备配备为基本配备，实验室应当根据自己使用的扩增检测技术或试剂的特点，对仪器设备进行必要的增减。

## **二、PCR 实验室的设置及管理**

### **（一）目的**

建立实验室的合理设置和科学管理，防止实验污染，保证检测结果的可靠性。

### **（二）适用范围**

本程序适用于 PCR 诊断室的设置、工作流程和日常管理等。

### **（三）细则**

1. 从事临床标本的基因扩增检测等。
2. 本实验室采用实时荧光定量（定性）PCR 技术作为病毒基因诊断的主要手段。

实验室分为三个区：试剂准备区（第一区）、标本处理区（第二区）、扩增分析区（第三区）。

每一工作区配备专用的设备、仪器、辅助设施、耗材、清洁用品、办公用品、专用工作服，并有明显的区分标识。标本

的接收则在检验科标本接收处进行。

3. 各工作区专用的仪器设备、办公用品、工作服、实验耗材和清洁用具等，不可混用。

4. 严格遵守从“试剂准备区→标本处理区→扩增分析区”的单一流向制度，不得逆向进入前一工作区。

5. 非本实验室工作人员，未经许可不得入内。

6. 实验完毕后做好清洁消毒工作。

### **三、PCR 实验室内务管理制度**

#### **（一）目的**

保证实验室日常内务管理及清洁工作顺利进行。

#### **（二）适用范围**

实验室相关人员及相关清洁工人。

#### **（三）细则**

1. 非本室工作人员未经允许不得进入实验室。

2. 各区的用品不得混用。

3. 实验人员要有强烈的时间观念，按时上下班，不迟到、早退。

4. 进入实验室的工作人员必须遵守实验室的单一流向的规定，禁止逆向走动。

5. 所有仪器（如 PCR 扩增仪）须有专人负责，并有使用维护记录；实验人员必须熟悉仪器性能后方允许操作，并严格遵守操作规程。

6. 所有试剂订购、配制、质检、使用均要有记录，未经允许不得随意带出本实验室。

7. 每天了解仪器运转情况及试剂使用情况，确保仪器整洁安全，试剂合格使用。

8. 各区的各种清洁消毒均应有记录，工作衣消毒时注意各区应分开进行处理。

9. 注意保持实验室卫生整洁，严禁在室内抽烟、吃零食，非实验操作人员应尽量少入。

10. 下班前检查门、窗、水、电，节假日应指定人员负责检查实验室的仪器、设备。

#### **四、PCR 实验室清洁程序**

##### **(一) 目的**

保证实验室环境的整洁，防止污染。

##### **(二) 适用范围**

适于实验室工作环境、实验台面、工作服、移液器等的清洁消毒工作。

##### **(三) 细则**

1. 实验室地面必须平整、干净。

2. 合理规划实验室内物品，做到摆放整齐、有序，无用的或使用效率低的物品放置到储存处，常用的物品要容易寻找到。

3. 抽屉、柜子、文件类物品要作好标记，以方便识别。

4. 实验结束后用 2%戊二醛对台面进行清洁，并用移动紫

外灯进行消毒。

5. 每天对使用过的移液器用 75%酒精进行擦拭。每周 1 次对移液器咀进行 75%酒精浸泡 15 分钟左右，若使用过程中发生污染应随时浸泡处理。

6. 实验过程中如发生标本或试剂外溅，应立即用 2%戊二醛滴上，滤纸盖上半小时，然后用酒精擦洗，并用移动紫外灯消毒。

7. 每天实验前开启各区的通风系统，各区实验结束后，分别打开传递窗紫外灯、移动紫外灯（对实验台面消毒）、天花板紫外灯消毒实验室，每次开启 30~60 分钟。

8. 待紫外灯消毒时间足够后，依次关闭各区紫外灯并记录。

9. 依次清洁三个区的实验台面和地面，各区清洁消毒工具均专用，不可混用，注意按照单一方向流程的原则来进行清洁。

10. 处理好各区废弃物。

11. 每周将工作服洗涤消毒，不同实验区的工作服隔开洗涤。

## **五、临床标本的采集、运送、接收程序**

### **（一）目的**

规范临床待检标本的正确采集、送检和处理。

### **（二）适用范围**

分子诊断室的所有临床检测标本。

### **（三）程序**

## 1. 标本的采集

(1) 标本由临床各科室接受过基因扩增检测有关标本采集、保存、运输知识培训的医护人员采集并送至实验室。

(2) 标本采集要求：

①血液标本：用 2ml 真空采集管或 1.5ml 高压灭菌离心管采集血液标本，血标本采集后在 2 小时内送达实验室。离心（检验单与标本一道）后用一次性吸管吸取血清或血浆加入经消毒的 1.5ml 的离心管中，编号。

②痰标本：用带盖的无菌一次性塑料瓶收集清晨第一口痰标本送检。（对于无痰或少痰的患者，可用 45℃加温的 100g/L NaCl 水溶液雾化吸入或改变体位以使痰液易于咳出；对于小儿可以轻压胸骨柄上方以诱导咳痰，用消毒棉拭子刺激喉部引起咳嗽反射，用棉拭子采集标本。）标本在室温下保存不能超过 24 小时。

## 2. 标本的运送

标本采集后，密闭、标（贴）姓名，应尽可能快的送至检测实验室，如运送时间需 2 小时以上，必须用冰盒送至实验室。

## 3. 接收

严格对各类样本的查对和双签制度，对病房各样本及时进行验收，查对，不符合要求的样本一律退回，并有书面记录。

## 六、PCR 标本唯一标识编号规则

## （一）目的

保证标本编号的唯一性，也是准确发放报告的基础。

## （二）适用范围

使用核酸扩增荧光检测实验室所开展的新型冠状病毒基因检测项目。

## （三）程序

1. 按检测日期分类标记。

根据标本送检的日期，每天的标本对应标记一种唯一的代号。

2. 按检测类型分类标记。

根据检测项目的不同，每种检测项目对应标记一种唯一的代号。

3. 按验单接收顺序编号。

在同种检测类型的验单中，按验单顺序编号。

4. 特殊标本的编号。

如有特殊情况，应在标记前面增加特异字母区别开。

5. 编号步骤。

（1）对当天送来的标本，根据编号的基本原则编号，每个样本的每个检测项目对应一个唯一的编号。

（2）用笔在每张检验申请单和对应的样品管上作好相同的标记。

（3）做好标本的接收记录，每个样本的记录都应包括以

下信息：接收时间、医院、科室、送检医生、患者姓名、性别、年龄、标本类别、标本状态、送标本者、接收人、检验单号、标本唯一统编号等。

(4) 处理好样品、点样后，将反应管放入扩增仪上开始扩增。

(5) 扩增得到结果后，先在统计簿上填入结果，作好记录，再一一把实验结果填入相应申请单。

(6) 发放检验报告单。

## **七、基因扩增检验实验室工作基本原则**

(一) 进入各工作区域应当严格按照单一方向进行。即试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区（荧光定量 PCR 检测不需此区）。

(二) 各工作区域必须有明确的标记，不同工作区域内的设备、物品不得混用。

(三) 不同的工作区域使用不同的工作服（例如不同的颜色）。工作人员离开各工作区域时，不得将工作服带出。

(四) 实验室的清洁应当按试剂贮存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区（荧光定量 PCR 检测不需此区）的方向进行。不同的实验区域应当有其各自的清洁用具以防止交叉污染。

(五) 工作结束后，必须立即对工作区进行清洁。工作区的实验台表面应当可耐受诸如次氯酸钠的化学物质的消毒清



洁作用。实验台表面的紫外照射应当方便有效。由于紫外照射的距离和能量对去污染的效果非常关键，因此可使用可移动紫外灯（254nm 波长），在工作完成后调至实验台上 60~90cm 内照射。由于扩增产物仅几百或几十碱基对（bp），对紫外线损伤不敏感，因此紫外照射扩增片段必须延长照射时间，最好是照射过夜。

## **八、基因扩增检验实验室各区域工作注意事项**

### **（一）试剂储存和准备区**

贮存试剂和用于标本制备的消耗品等材料应当直接运送至试剂贮存和准备区，不能经过扩增检测区，试剂盒中的阳性对照品及质控品不应当保存在该区，应当保存在标本处理区。

### **（二）标本制备区**

由于在样本混合、核酸纯化过程中可能会发生气溶胶所致的污染，可通过在本区内设立正压条件，避免从邻近区进入本区的气溶胶污染。为避免样本间的交叉污染，加入待测核酸后，必须盖好含反应混合液的反应管。对具有潜在传染危险性的材料，必须在生物安全柜内开盖，并有明确的样本处理和灭活程序。

### **（三）扩增区**

为避免气溶胶所致的污染，应当尽量减少在本区内的走动。必须注意的是，所有经过检测的反应管不得在此区域打开。

### **（四）扩增产物分析区**

本区是最主要的扩增产物污染来源，因此必须注意避免通过本区的物品及工作服将扩增产物带出。废液必须收集至 1 mol/L HCl 中，并且不能在实验室内倾倒，而应当至远离 PCR 实验室的地方弃掉。用过的吸头也必须放至 1 mol/L HCl 中浸泡后再放到垃圾袋中按程序处理，如焚烧。

## **九、基因扩增检测实验及结果分析**

### **(一) 目的**

保证扩增及结果分析的标准化、规范化。

### **(二) 适用范围**

适用于本室使用的普通离心机。

### **(三) 发放报告**

及时登记检测结果记录，发放报告。

### **(四) 实验结果无效的判断标准**

出现下述四种情况中的任何一种或多种，当次实验结果不可发，查找原因，重做实验。

1. 阴性对照出现扩增。
2. 阳性对照无扩增。
3. 大批甚至所有的标本都扩增了。
4. 室内质控血清检测结果出现失控情况，实验失控的具体标准详见室内质控标准操作程序。

### **(五) 实验结果有效的判断标准**

达到下列要求后，当次实验有效，可以发放结果。

1. 阴性对照没有扩增，阳性对照扩增。
2. 阳性标准品梯度曲线平滑均匀，斜率、截距和相关系数三个参数的数值均在范围内。
3. 室内质控血清检测结果处于在控状态。

## 十、临床标本的保存操作程序

### （一）目的

临床标本正确保存，以便必要时复查。

### （二）适用范围

PCR 诊断室的所有临床检测标本。

### （三）程序

1. 处理前的标本保存。

（1）全血标本可 4℃ 下短期（24h 内）保存，长期保存则需分离出血清（血浆），保存于-20℃ 下。

（2）咽拭子、痰或胸腹水、脑脊液、脓液标本短保存于-70℃ 下。

2. 报告发出后的标本保存。

（1）提取的核酸标本当天检测可置 4℃ 保存，如当天不检测应置-20℃ 保存。报告发出后第二天丢弃。

（2）原始血清/血浆样本在报告发出后放入低温冰箱-20℃ 保存 1 个星期，以备复查。超过 1 个星期保存期的标本由室负责人酌情处理，一般按生物传染性物品统一处理。

（3）血清/血浆标本放置低温冰箱保存时须有记录，按编

号顺序存放，并由专人负责管理。

### 3. 特殊标本的处理。

对暂不检测的项目和规定时间外收到的零散样本，要随时登记和交班，以免漏检，遗失和延误检验。对特殊样本或特殊病人的样本，实行“首接”负责制，所谓特殊样本是指难于采集的样本，以及特殊病人的样本一律实行“首接”负责制，无论那位工作人员，一旦收到样本后，均须负其责任，不得以任何借口推托，及时和正确保管和转送样本到有关实验室或有关人员，同时作交班记录和双签名。

## 十一、PCR 废弃物的处理程序

### （一）目的

保证实验室、实验人员和外部环境的安全。

### （二）适用范围

核酸扩增荧光检测实验室常用化学试剂（NaOH、EDTA、乙醇、生理盐水等）、实验室废弃物的处理。

### （三）细则

1. 科室职责应对本室工作人员讲明本程序在预防交叉、实验室污染及切断传播途径中的重要性，并要求严格执行。

2. 实验室所有垃圾，装入专用污物袋内，各区备有：生活垃圾袋（黑色）及生物污染垃圾袋（黄色）。使用过的一次性消耗品（如试管、吸头、离心管、等），先放入 10%次氯酸钠溶液中浸泡 2~4 小时后，再放入黄色垃圾袋内，使用过的手套、

鞋套等直接放入黄色垃圾袋内集中处理。

3. 夹取标本的工具，如钳、镊、接种环、吸管等，用后均应消毒清洁，进行微生物检验时，应重新灭菌，金属工具可烧灼灭菌或消毒液浸泡；玻璃制品干热或压力蒸汽灭菌。

4. 废弃标本如血、尿、胸水、腹水、脑脊液、唾液、胃液、肠液、关节腔液等用 10% 的 84 液浸泡 2~4 小时后，集中处理。

5. 盛标本的容器，若为一次性使用的纸质容器及其外面包被的废纸，放入污物袋里处理；对可再次使用的玻璃、塑料或搪瓷容器，煮沸 15 分钟或加入 10% 次氯酸钠溶液浸泡 2~4 小时，消毒液每日更换，消毒后用洗涤剂及流水刷洗，沥干，用于微生物培养采样者，用压力蒸汽灭菌后备用。

6. 废弃标本及其容器装入黄色垃圾袋内、封闭，污物处理中心处理。

#### **参考文件：**

1. 卫生部办公厅关于印发《医疗机构临床基因扩增管理办法》的通知。

2. 卫生部检验中心《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》。

3. 《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)。

4. ISO15189 质量管理体系范本文件（第六册）。

## 新型冠状病毒 PCR 实验室生物安全要求

根据目前掌握的新型冠状病毒生物学特点、流行病学特性、致病性、临床表现等信息，该病原体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。

### 一、PCR 实验活动生物安全要求

#### （一）未经培养的感染性材料的操作

指未经培养的感染性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，以及临床样本的灭活等操作，应当在生物安全二级实验室进行，同时采用生物安全三级实验室的个人防护。

#### （二）灭活材料的操作

感染性材料或活病毒在采用可靠的方法灭活后进行的核酸检测、抗原检测、血清学检测、生化分析等操作，应当在生物安全二级实验室进行。

### 二、病原体及标本运输和管理

#### （一）国内运输

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；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。

新型冠状病毒毒株或其他潜在感染性材料运输应当按照《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》。

## **（二）样本管理**

新型冠状病毒样本应当由专人管理，准确记录毒株和样本的来源、种类、数量、编号登记，采取有效措施确保毒株和样本的安全，严防发生误用、恶意使用、被盗、被抢、丢失、泄露等事件。

## **三、废弃物管理**

（一）开展新型冠状病毒相关实验活动的实验室应当制定废弃物处置程序文件及污物、污水处理操作程序。

（二）所有的危险性废弃物必须依照统一规格化的容器和标示方式，完整并且合规地标示废弃物内容。

（三）应由经过适当培训的人员使用适当的个人防护装备和设备处理危险废弃物。

## **（四）废弃物的处理措施**

废弃物的处理是控制实验室生物安全的关键环节，切实安全地处理感染性废弃物，必须充分掌握生物安全废弃物的分类，

并严格执行相应的处理程序。

### 1. 废液的处理。

实验室产生的废液可分为普通污水和感染性废液。

(1) 普通污水产生于洗手池等设备，对此类污水应当单独收集，排入实验室水处理系统，经处理达标后方可排放。

(2) 感染性废液即在实验操作过程中产生的废水，采用化学消毒或物理消毒方式处理，并对消毒效果进行验证，确保彻底灭活。

(3) 工作人员应当及时处理废弃物，不得将废弃物带出实验区。

### 2. 固体废物的处理。

(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，应及时压力蒸汽灭菌处理。废物处置之前，应当存放在实验室内指定的安全地方。

(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) 体积较大的固体废物如HEPA过滤器，应当由专业人士进行原位消毒后，装入安全容器内进行消毒灭菌。不能进行压力蒸汽灭菌的物品如电子设备可以采用环氧乙烷熏蒸消毒处理。

(4) 经消毒灭菌处理后移出实验室的固体废物，集中交



由固体废物处理单元处置。

(5) 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。

#### **(五) 建立废弃物处理记录**

定期对实验室排风HEPA过滤器进行检漏和更换，定期对处理后的污水进行监测，采用生物指示剂监测压力蒸汽灭菌效果。

### **四、实验室生物安全操作失误或意外的处理**

(一) 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。

(二) 含病毒培养器皿碎裂或倾覆造成实验室污染

保持实验室空间密闭，避免污染物扩散，使用0.55%有效氯消毒液的毛巾覆盖污染区。必要时（大量溢撒时）可用过氧乙酸加热熏蒸实验室，剂量为 $2\text{g}/\text{m}^3$ ，熏蒸过夜；或 $20\text{g}/\text{L}$ 过氧乙酸消毒液用气溶胶喷雾器喷雾，用量 $8\text{mL}/\text{m}^3$ ，作用1~2小时；必要时或用高锰酸钾-甲醛熏蒸：高锰酸钾 $8\text{g}/\text{m}^3$ ，放入耐热耐腐蚀容器（陶罐或玻璃容器），后加入甲醛（40%） $10\text{mL}/\text{m}^3$ ，熏蒸4小时以上。熏蒸时室内湿度60-80%。

(三) 清理污染物严格遵循活病毒生物安全操作要求，采用压力蒸汽灭菌处理，并进行实验室换气等，防止次生危害。