

实验室活动中甲型H1N1流感病毒的风险评估

吴斌^{1*}, 万雪¹, 王琦², 宋慧君², 秦朝秋²

¹中国检验认证集团辽宁有限公司, 辽宁 大连

²大连海关技术中心, 辽宁 大连

收稿日期: 2023年6月2日; 录用日期: 2023年7月21日; 发布日期: 2023年7月31日

摘要

本文介绍了甲型H1N1的感染因子、致病性、流行病学、传播途径、潜伏期、物理失活、敏感性和预防治疗, 研究了甲型H1N1的风险识别、风险分析、风险控制和风险评价等方法, 分析了实验样本、实验内容、设施设备、被误用/恶意使用及意外事件/事故、外部活动等对甲型H1N1带来的风险, 提出建议将H1N1列为进境重要动物传染病等结论。

关键词

实验室活动, 甲型H1N1病毒, 风险识别, 风险分析, 风险控制, 风险评价

Risk Assessment of Influenza A H1N1 Virus in Laboratory Activities

Bin Wu^{1*}, Xue Wan¹, Qi Wang², Huijun Song², Chaoqiu Qin²

¹China Certification & Inspection Group Liaoning Co., Ltd., Dalian Liaoning

²Dalian Customs Technology Center, Dalian Liaoning

Received: Jun. 2nd, 2023; accepted: Jul. 21st, 2023; published: Jul. 31st, 2023

Abstract

This article describes the infection factors, pathogenicity, epidemiology, transmission routes, incubation period, physical inactivation, susceptibility and preventive treatment of H1N1, studied the methods of risk identification, risk analysis, risk control and risk evaluation of H1N1. The risks posed by experimental samples, experimental contents, facilities and equipment, misused/malicious use and accidents/incidents, and external activities to H1N1 were analyzed, presented conclusions such as the recommendation to classify H1N1 as an important animal infectious disease in import.

*通讯作者。

文章引用: 吴斌, 万雪, 王琦, 宋慧君, 秦朝秋. 实验室活动中甲型 H1N1 流感病毒的风险评估[J]. 生物过程, 2023, 13(3): 129-134. DOI: 10.12677/bp.2023.133018

Keywords

Laboratory Activities, A H1N1 Virus, Risk Identification, Risk Analysis, Risk Control, Risk Evaluation

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 风险识别

1.1. 感染因子

试验样本中潜在的甲型 H1N1 流感病毒。甲型 H1N1 流感病毒是一种新型的来源于猪、人和禽类流感病毒的重组变异流感病毒。甲型 H1N1 流感病毒属于正粘病毒科(Orthomyxoviridae), 甲型流感病毒属(Influenza virus A)。典型病毒颗粒呈球状, 直径为 80~120 nm, 有囊膜。病毒颗粒内为核衣壳, 呈螺旋状对称, 直径为 10 nm [1]。

1.2. 致病性

甲型 H1N1 是一种全新病毒, 人类对其缺乏抵抗力, 人群对甲型 H1N1 流感病毒普遍易感, 并可以人传染人, 人感染甲流后的早期症状与普通流感相似, 包括发热、咳嗽、喉痛、身体疼痛、头痛、发冷和疲劳等, 有些还会出现腹泻或呕吐、肌肉痛或疲倦、眼睛发红等。部分患者病情可迅速发展, 来势凶猛、突然高热、体温超过 38℃, 甚至继发严重肺炎、急性呼吸窘迫综合症、肺出血、胸腔积液、全身血细胞减少、肾功能衰竭、败血症、休克及 Reye 综合症、呼吸衰竭及多器官损伤, 导致死亡。

1.3. 流行病学

甲型 H1N1 流感最初发现于 2009 年 3 月, 在墨西哥暴发的“人感染猪流感”疫情, 并迅速在全球范围内蔓延。世界卫生组织(WHO)初始将此型流感称为“人感染猪流感”, 后将其更名为“甲型 H1N1 流感”。6 月 11 日, WHO 宣布将甲型 H1N1 流感大流行警告级别提升为 6 级, 全球进入流感大流行阶段。迄今为止尚未见到甲型 H1N1 流感病毒在实验室内造成人员感染或因病原泄漏而污染环境的报道。

1.4. 传播途径

主要通过飞沫经呼吸道传播, 也可通过口腔、鼻腔、眼睛等处黏膜直接或间接接触传播。接触患者的呼吸道分泌物、体液和被病毒污染的物品也可能引起感染。通过气溶胶经呼吸道传播有待进一步确证。

1.5. 潜伏期

甲型 H1N1 的潜伏期为 1~7 d, 无症状感染者也具有一定的传染性, 目前尚无动物传染人类的证据。

1.6. 物理失活

病毒可在加热、极端的 pH、紫外光照射、非等渗和干燥的条件下失活。

1.7. 敏感性

动物和人感染甲型 H1N1 目前尚无特异性药物治疗方法。

病毒对乙醇、碘伏、碘酊等常用消毒剂敏感；对热敏感，56℃条件下 30 min 可灭活。常选用 1% 有效氯的次氯酸钠溶液或 75% 酒精进行消毒。

1.8. 预防和治疗

人员感染甲型 H1N1 流感病毒时，应采取早发现、早报告、早隔离、早治疗以控制管理传染源为主的综合性防治措施。一旦出现或怀疑出现实验室感染时，应及时报告相关部门，采取相应措施。目前对人感染甲型 H1N1 流感病毒，尚无特效治疗药物，人员感染甲型 H1N1 流感病毒时可按普通感冒进行对症治疗，接种甲型 H1N1 流感疫苗可有效预防感染[2]。

2. 风险分析

2.1. 实验样本的风险

实验样本主要包括口/鼻/肛棉拭子、畜禽肉类等，一般保存期为 1 年。实验室检测所涉及的生物危害，主要是实验样本中潜在的甲型 H1N1 流感病毒，生物危害风险较高，一旦发生感染性材料泄漏，可能引起人类或者动物严重疾病。当检出甲型 H1N1 流感病毒阳性样本时，按相关规定及时送交上级主管部门有资质的专业实验室，不得保留样本。实验样本中潜在的甲型 H1N1 流感病毒，存在于样本接受、传递、储存、试验操作(包括样本移液、分装和离心等)和废弃物处理等过程中，如果控制不当、意外溢出，可能直接或间接感染操作人员、样本和污染环境，造成生物安全危害[3]。

2.2. 实验内容的风险

甲型 H1N1 流感病毒临床诊断、扩繁、血清学、分子生物学等试验[4] [5]。

2.3. 设施设备的风险

设施设备的风险来源于实验室的生物安全设施、生物安全柜、高压蒸汽灭菌器和离心机等，如果上述设施设备的工作状态异常，可能导致气溶胶泄漏或灭菌效果不确实等潜在的生物安全风险。为保证生物安全设施设备的正常运行，每年必须定期检查和校准/检定，并由经过培训的人员负责运维。

在实验操作前，操作人员应密切观察并及时调整负压工作间的压力，使之保持相对稳定；生物安全柜应定期检查和验证，根据需要及时更换高效过滤装置；对高压蒸汽灭菌器除定期检查和校验外，定期采用质控测试条进行使用效果监测。所有生物安全设备应建立相关记录和使用状态标识。由于提取核酸的实验样本进入离心操作之前，潜在病毒已经裂解灭活，在严格执行实验操作规程的情况下，离心机带来的设备风险很小。

在实验操作中，根据实验室操作内容和流程，残余风险与有害气溶胶和废弃物的最后流向有关。有害气溶胶中的生物因子可在生物安全柜内被其高效过滤器阻滞，并阶段性留存或被紫外照射、熏蒸消毒等杀灭。

在实验操作后，按程序文件规定操作人员开启紫外杀菌灯对生物安全柜及实验工作区进行消毒，减少生物安全设施设备关停期间的生物安全风险[6]。

2.4. 被误用/恶意使用及意外事件/事故带来的风险

1) 当潜在甲型 H1N1 流感病毒的包装破碎时，立即打开处理盒，取出纱布覆盖破损物品，然后在上面喷洒含 1% 有效氯的次氯酸钠溶液或 75% 酒精，作用 30 min 后将纱布及破碎物品放入指定密封塑料袋中，再用镊子夹住纱布，喷洒 1% 次氯酸钠或 75% 酒精，擦拭污染区域，用过的纱布也放入指定密封塑料

袋中,镊子等可回收器具在 75%酒精中浸泡 24 h 后高压灭菌处理。一旦感染性材料溅到或沾到手、脸等,应立即用 75%酒精消毒,然后用清水充分清洗皮肤。如果感染性材料溅到眼里,则应立即用洗眼器冲洗眼睛,在操作感染性材料时要事先做好防护,尽可能避免生物安全事故的发生。

2) 当生物安全柜故障导致感染性气溶胶泄漏时,实验人员立即停止工作,报告安全负责人,按《实验室个人防护装备及进入、退出程序》迅速撤离,打开紫外灯 30 min 消毒处理,同时通风系统继续运行 1 h 以上。

3) 当潜在甲型 H1N1 流感病毒样本在储存过程中发生被盗、被抢、丢失时,样本管理员应立即向实验室主任报告,并由主任在 2 h 内向农村农业部门报告,同时向所辖公安部门报案。对于恶意破坏性事故,发现人员应立即制止,并向实验室主任报告,必要时报警。

4) 当发生断电时监控人员应立即通知操作人员停止实验,清理工作区,并在 60 min 内按《实验室个人防护装备及进入、退出程序》迅速撤离,同时报告安全负责人。

当通风系统发生故障时、送排风系统同时发生故障或排风系统发生故障时,操作人员应立即停止实验,迅速按下报警装置,并按《实验室个人防护装备及进入、退出程序》迅速撤离(其他区域的操作人员由监控人员通知撤离)。同时报告安全负责人和实验室主任,采取防感染性材料扩散措施,并组织人员排除设备机械故障。

当仪器设备电气部位起火,立即切断仪器设备电源,无明火或能扑灭的初期明火火险,首先要采取有效措施扑灭明火,消灭火源,以防复燃,然后按规定和要求撤离。遇无法扑灭的火险时,迅速关闭室内各房间的门,按下报警按钮,时间允许时立即切断电源,按规定和要求撤离。值班人员立即拨打 119 报警,并酌情封锁现场。

当发生供水管道、下水管道破裂或下水管道堵塞时,立即关闭水源总阀门或立即停止排放污水。立即向实验室主任报告,组织有关人员尽快维修,并制定和采取有效的预防和生物安全控制措施。

当发生地震时,应迅速脱卸个人防护用品,按规定从最短撤离路线迅速撤离。撤离时遇通道门变形不易开启时,酌情采取破坏性的开启方法。当室内人员撤离后,立即封闭实验室门,并撤离。当震情解除后,安全负责人立即提请生物安全委员会组织专业人员对实验室采取消毒措施。

2.5. 外部活动带来的风险

对来访者和合同方人员的准入,按照《人员准入程序》规定,由安全负责人对来访者(包括评审、检定/校准、进修生、研究生和实习生等人员)和合同方人员,进行生物安全和实验室安全方面知识的培训,并告知其可能面临的风险。同时,来访者和合同方人员只有经培训并签署已知可能面临风险的申明后,经实验室主任批准后方可进入实验室。通过培训和适当的控制,减少外来人员活动带来的风险。

采购实验室所用物品时应从合格供应商处购买,材料管理岗位人员需对物品进行验收,并将验收和使用中发现的不符合情况反馈给综合管理部门,综合管理部门根据提供的情况记录在供应商档案中。按照《实验室材料管理程序》规定,对提供服务和实验室物品的供应商每年进行评价和年审,评估不合格的取消供应商资格。特殊情况下由未列入合格的供应商供应重要易耗品时,需经技术负责人批准,经试用合格后,按新增合格供应商的评审程序进行评估,尽量减少使用外部提供的物品等带来的风险。

3. 风险控制

3.1. 实验室生物安全管理体系建立

加强生物安全管理,完善有关生物安全规章制度,配备必要的人员,使生物安全管理做到科学化、规范化、制度化。甲型 H1N1 流感病毒对乙醇、碘伏、碘酊等常用消毒剂敏感;对热敏感,56℃条件下

30 min 可灭活。按照《生物安全实验室建筑技术规范》(GB 50346)、《实验室生物安全通用要求》(GB 19489)、《兽医实验室生物安全管理规范》《出入境动物检疫实验室生物安全分级技术要求》(SN/T 2024)、《动物检疫实验室生物安全操作规程》(SN/T 2025)等要求,实验室建立健全生物安全管理体系文件,该体系的运行和实施,能够最大限度减少或控制甲型 H1N1 流感病毒检测所带来的风险范围和时限[7]。

3.2. 人员防护

所有进入实验室工作场所的人员和可能涉及的人员,必须按照生物安全二级防护要求,戴口罩、戴帽子、穿工作服、穿工作鞋(或鞋套)、戴手套。在生物安全柜内中要始终戴第二层一次性手套,如果第二层一次性手套发生了破裂,应消毒后脱掉,并彻底消毒手部,然后更换新的一次性手套。个人防护用品的穿脱顺序严格遵守《实验室个人防护装备及进入、退出程序》[8]。

实验室操作人员应具备动物医学或相关专业知识,应掌握国家生物安全相关规定,熟练微生物实验操作基本技术,参加过生物安全理论和相关生物安全体系文件的学习和培训,经生物安全理论与操作技能考核合格,具有生物安全等级实验室上岗证。经体检证明无传染性疾病,身体状态良好。人员出现下列情况者不应进入实验室从事生物安全相关工作,身体出现开放性损伤、患发热性疾病;感冒、上呼吸道感染或其他导致抵抗力下降的情况;怀孕妇女;免疫耐受或使用免疫抑制剂;在实验室控制区连续工作 4 h 以上或其他原因造成的疲劳状态。进入实验室的人员需体检合格,以后视情况每年体检 1~2 次或不定期进行体检,并留存工作人员进入实验室前血清样本,以后根据需要定期收集血清样本,保存检测报告,实验室应建立并保留人员健康医疗监督档案[9]。

3.3. 样本处理

在接受样本时,由实验室人员当面检查样本的状态、标示和包装等,确认适合检测时方可在样本检验委托单上签字验收,注明状态、标示和时间,直接送生物安全实验室检测或暂时放入指定冰箱冷冻保存。当处理样本时,严格按照实验室操作规程。当样本液体溢出时,用含有 1%有效氯的次氯酸钠或 75%酒精纱布,从溢出区域的外围开始,向中心进行消毒处理。处理样本时动作要轻柔勿剧烈操作,以防止产生气溶胶和液体溅出。在病毒核酸提取过程中,病毒样本被裂解灭活前必须在生物安全柜内操作,灭活后的病毒样本可经严格消毒后按实验操作规程移除生物安全柜,在实验室内完成后续操作[10]。

3.4. 废弃物处理

将具有潜在危害的实验废弃物,在生物安全柜内装入指定的密封塑料袋中,密封袋口后进行表面消毒,放入生物安全型灭菌器中高压灭菌后按实验室操作规程废弃。实验废弃物经过严格高压灭菌处理后不存在残余生物安全风险。用于洗手或洗眼的废水需经 1%有效氯的次氯酸钠消毒后排入下水道。

3.5. 设施设备的监控

为确保实验室设施设备的状态良好,满足检测工作需要,并能得到有效控制,设施设备管理岗位人员负责设施设备的安全去污染、巡检、定期维护和检定、校准、档案记录和管理,设施设备专管人负责对其管理的设备进行日常的维护。设施设备的使用执行培训、上机考核制度,由设施设备管理岗位人员负责组织相关技术人员或设备生产厂家进行培训[11]。

保证高效过滤器的完整性是控制潜在残余风险的关键,应严格按照实验室程序文件对生物安全柜定期进行高效过滤器完整性测试。目前检测机构采用激光尘埃粒子计数器进行基本洁净度和过滤器泄漏扫描定点测试,如果检测数据异常必须及时更换高效过滤器,高效过滤器应由有资质的机构进行更换和合格测试,并按相关要求对废旧高效过滤器进行妥善处理。

3.6. 运行过程的控制

在实验室运行中验证硬件设施、生物安全管理体系文件及实验操作过程中所采取的风险控制措施互相的适应性。通过阶段性运行, 考验实验室对意外事件、事故带来风险的应急控制措施, 是否符合实验活动生物安全的要求, 而且措施是否有效[12]。

4. 风险评价

甲型 H1N1 流感尚未列入国家农业部“一二三类动物疫病病种名录”, 根据对人和动物的危害特点, 我们暂将其视同一类动物疫病。按“农业部关于进一步规范动物病原微生物实验活动审批工作的通知”(农医发[2008] 27 号)文件中“动物病原微生物实验活动生物安全要求细则”规定, 一类动物疫病的病原核酸检测所需实验室生物安全级别为二级。实验室活动涉及的生物因子为样本中潜在的甲型 H1N1 流感病毒, 如果病毒在样本接受、传递、储存、试验操作和废弃物处理等过程中意外溢出, 可能直接或间接感染操作人员和污染环境, 造成生物安全危害, 实验室必须按照相关规定采取严格的控制措施。

实验室的设施设备、生物安全管理体系文件以及拟的实验操作内容均符合《国家生物安全法》《病原微生物实验室生物安全管理条例》(中华人民共和国国务院令 424 号)、《实验室生物安全通用要求》(GB19489)和 CNAS-CL05《实验室生物安全认可准则》等有关实验室生物安全的规定和要求, 开展实验室检测工作。

参考文献

- [1] 张松, 乔自林, 王家敏, 等. 甲型 H1N1 流感病毒及其疫苗研究热点[J]. 甘肃畜牧兽医, 2019, 49(2): 11-15.
- [2] 马宁, 年悬悬, 刘京, 等. 甲型 H1N1 流感病毒 mRNA 疫苗的制备及其免疫原性评价[J]. 中国生物制品学杂志, 2022, 35(8): 907-911+917.
- [3] 胡薇薇, 戴舟艳, 刘诗川, 等. 基于风险控制的生物样本安全转运管理对策的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(6): 763-765.
- [4] 胡凯, 马宏, 王莉, 等. 基于甲型 H1N1 流感病毒聚合酶链反应检测的实验室生物安全风险点分析[J]. 河南医学研究, 2021, 30(19): 3570-3573.
- [5] 安柏霖, 郭悦, 刘丹丹, 等. 逆转录重组酶介导的等温扩增技术快速检测甲型 H1N1 流感病毒[J]. 病毒学报, 2023, 39(1): 45-51.
- [6] 王辉, 张全军, 罗季阳. 海关实验室的风险识别与控制对策研究[J]. 口岸卫生控制, 2022, 27(1): 48-50.
- [7] 丁小磊, 孙琴. 检验检测机构风险控制和管理的[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(1): 125-126.
- [8] 黄海斌. 检测实验室风险管理和控制[J]. 化工管理, 2020(1): 76-77.
- [9] 王明强, 芮晓庆, 陈顺浩, 等. 检验检测机构实验室的风险管理[J]. 化学分析计量, 2020, 29(4): 114-119.
- [10] 刘莉. 第三方检测实验室质量风险管理研究[J]. 质量与安全, 2020, 30(5): 94-96.
- [11] 卫芳, 王艳婷, 赵静雪, 等. 微生物实验室的风险评估及风险控制措施[J]. 食品安全导刊, 2021(14): 28-29.
- [12] 刘蕾. 新时期下对实验室风险管理的探讨[J]. 地下水, 2021, 43(5): 140-142.