

# 丙型肝炎病毒实验活动风险评估报告

## 一、生物学特性

### （一）种类和病毒分型

丙型肝炎病毒（Hepatitis C virus, HCV）引起丙型肝炎曾被称为肠道外传播非甲非乙型肝炎（PT-NANB）。病毒颗粒呈球形，有包膜，直径约 55~65nm。基因组为单正链线状 RNA，长度约为 9.5kb。基因组由 5'端非编码区（5' UTR）、编码区和 3'端非编码区（3' UTR）构成。5'端非编码区是 HCV 基因组中最保守序列，是设计诊断用 PCR 引用首选部位。编码区仅含一种长开放阅读框（ORF），编码一种大分子多聚蛋白前体。该前体蛋白在病毒蛋白酶和宿主信号肽酶作用下切割产生病毒构造蛋白和非构造蛋白。病毒构造蛋白涉及核心蛋白 C 和包膜蛋白 E1、E2。非构造蛋白涉及 NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a 和 NS5b。对于 3'端非编码区功能尚不清晰，也许与病毒复制有一定关系。

依照 HCV NS5 区基因序列同源性，可将 HCV 分为 6 个基因型，11 个亚型，即 1a、1b、1c、2a、2b、2c、3a、3b、4a、5a、6a。其中，欧美流行株多为 1a、1b、2a、2b 和 3a；中东地区以 4a 为主；亚洲涉及国内以 1b、2a 和 2b 亚型较为多见。

### （二）来源

1989 年，美国学者 Choo 等应用了分子克隆技术在实验室感染 PT-NANB 黑猩猩血浆中初次获得了病毒 cDNA 克隆，测定了约 70% HCV 基因序列，并运用这些基因表达蛋白质为抗原，检测到 PT-NANB 病人血清中特异性抗体。此后，又获得了来自 PT-NANB 患者血清病毒全基因组序列，从而拟定了 PT-NANB 病原体，并将命名为丙型肝炎病毒。1991 年，国际命名委员会将其归类为黄病毒科丙型肝炎病毒属。

### （三）传染源

重要传染源为急、慢性患者和无症状 HCV 携带者。慢性患者和病毒携带者有更重要传染源

意义。

#### （四）传播途径

传播途径重要为输血及血制品传播。此外，亦可通过非输血隐性途径微小创伤、性接触、家庭密切接触及母婴接触进行传播。

#### （五）易感性

人群对 HCV 普遍易感染，同性恋、静脉注射者及接受血液透析患者为高危人群。

#### （六）潜伏期

急性感染丙型肝炎病毒 1~3 周，在外周血可检测到 HCV RNA。普通，潜伏期为 2~26 周，平均 50d；输血感染者潜伏期较短，约为 7~33d，平均 19d。浮现临床症状时，仅 50%~70% 患者抗-HCV 阳性，3 个月后约 90% 患者抗-HCV 阳转。

#### （七）剂量一效应关系

当前，尚未见有 HCV 对人体精确感染剂量报道。HCV 感染重要与暴露途径和感染方式密切相关。

#### （八）致病性

HCV 感染引起临床过程轻重不一，可体现为急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带。HCV 感染极易慢性化，40%~50% 丙肝患者可转变成慢性肝炎，某些可发展成肝硬化肝癌。肝癌患者血中抗-HCV 阳性率高。

当前以为，HCV 致病机制与病毒直接致病作用和免疫病理损伤关于。实验证明，丙型肝炎患者血清 HCV-RNA 含量与血清丙氨酸转移酶水平呈正有关，提示 HCV 复制与肝细胞损伤关于，病毒在复制过程中也许直接损伤肝细胞。异常细胞免疫反映是 HCV 另一重要致病机制。

HCV 感染后不能诱导有效免疫保护反映。实验感染黑猩猩恢复后，在用同一种病毒株袭击黑猩猩，黑猩猩几乎无力保护。

#### （九）变异性

HCV 构造蛋白涉及核心蛋白 C 和胞膜蛋白 E1 及 E2。其中，胞膜蛋白 E1 和 E2 是两种高度糖基化蛋白。编码这两种蛋白基因具备高度变异性，导致胞膜蛋白抗原性发生迅速变异。这种变异引起免疫逃逸作用是病毒在体内持续存在而感染易于慢性化重要因素，也是 HCV 疫苗研制一大障碍。

#### （十）环境中稳定性

HCV 对理化因素抵抗力不强，对氯仿、甲醛、乙醚、三氯甲烷等有机溶剂敏感，加热 100℃ 5min、紫外线照射、甲醛（1：6000）、20% 次氯酸等均可使之灭活。血液或血制品经 60℃ 解决 30h 可使 HCV 传染性消失。

#### （十一）药物敏感性

对丙型肝炎尚缺少特效药，已证明 IFN- $\alpha$  对初期 HCV 有较高效率。当前，HCV 感染首选治疗方案是 IFN- $\alpha$  和利巴韦林（RBV）联合治疗。

#### （十二）消毒剂敏感性

HCV 对氯仿、甲醛、乙醚、三氯甲烷等有机溶剂敏感，甲醛（1：6000）、20% 次氯酸等也均可使之灭活。

#### （十三）物理灭活

HCV 对理化因素抵抗力不强，加热 100℃ 5min、紫外线照射等均可使之灭活。血液或血制品经 60℃ 解决 30h 后，HCV 传染性消失。

#### （十四）在宿主体外存活

普通，病毒离开宿主会在很短时间内死亡。HCV 也是如此，普通在 10min 左右就会死亡。

#### （十五）与其他生物和环境交互作用

国内外研究已证明丙型肝炎和乙型肝炎是肝癌重要病因。国外资料 Meta 分析成果显示 HCV 感染对肝癌危险比值比（OR）达 11.5，并且与 HCV 混合感染体现出协同作用。HCV 在外环境中较易死亡，但在血液或血制品中易于成活。

## （十六）防止和治疗方案

### 1.防止办法

国内已规定，必要对献血员进行抗-HCV 检测，以减少 HCV 感染和传播。对血制品亦需进行 HCV 检测以防污染。

### 2.治疗办法

由于 HCV 免疫原性不强，且毒株易于变异，因而疫苗研制较为困难。当前尚无疫苗用于特异性防止。对丙型肝炎尚缺少特效药，已证明 IFN- $\alpha$  对初期 HCV 有较高效率。当前 HCV 感染首选治疗方案是 IFN- $\alpha$  和利巴韦林（RBV）联合治疗。

## 二、实验室有关活动风险评估与控制

### （一）实验室感染性因子种类、来源和危害

#### 1.感染性因子种类

本实验室也许感染因子为 HCV 自身。

#### 2.感染性因子来源

- (1)用于 HCV 一抗体检测血液样本。
- (2)样本采集与检测过程中涉及所有实验场合。
- (3)实验室操作中也许产生含病毒气溶胶。

#### 3.感染性因子也许导致危害

- (1)被污染实验器材、器皿等对实验室环境导致污染。
- (2)实验室废弃物对环境导致污染。
- (3)实验人员暴露后感染。
- (4)实验室含病毒气溶胶实验室环境导致污染。

### （二）实验室常规活动过程中风险评估与控制

#### 1.实验办法

(1)风险点辨认 若采用国标、行业原则之外其他未经拟定实验办法，或在使用国标、行业原则之前未进行技术确认，操作时也许存在安全风险。

(2)风险控制办法 尽量采用国标、行业原则或通过充分验证明验办法；在使用新或变更过国标、行业原则之前，必要通过严格技术确认。

## 2.样本采集

(1)所用器材 一次性采血针、真空采血管、消毒棉签及一次性利器盒。

(2)风险点辨认

①采血过程中若被急性或者慢性丙肝患者血液污染皮肤、黏膜，或者被具有 HCV 血液污染了针头刺破皮肤，则被感染也许性很大。

②血液标本溅洒也许导致人员或环境污染。

(3)风险控制办法 采血前做好个人防护，穿戴防护服、口罩、帽子、手套；抽血前检查针管密闭性，用过针头直接放入利器盒内，禁止用手直接接触使用后针头或将使用后针头重新套上针头套；采血管用真空抗凝管，采好血后直立于试管架中，防止倒翻；消毒棉签等污染物放入医疗废弃物专用袋中，统一进行消毒解决。

## 3.样本包装和运送

(1)所用器材 真空采血管、95 千帕样品运送罐、B 类标本运送箱（UN3373 冷藏箱）、运送车辆。

(2)风险点辨认 若是用不合格包装进行运送、容器密封不严，则将不能安全有效防止运送过程中包装容器意外破损，从而产生污染扩散也许。

(3)风险控制办法 严格按照生物安全规定，采用三层容器包装。第一层采用真空采血管装样本，应密闭防渗漏；95 千帕样品运送罐，可容纳并保护第一层容器，密封不易破碎、耐压力房渗漏且易消毒；第三层采用 B 类标本运送箱，要容纳并保护、固定第二层容器，且易于消毒。样本应由中心专车运回实验室。

#### 4.样本接受

(1)风险点辨认 如果在运送途中意外发生样本破裂、血液溢漏，也也许对样本接受人员导致污染。

(2)风险控制措 样本直接送至实验室，由专业检查人员接受，接受样本前做好个人防护，穿戴防护服、帽子、口罩、双层乳胶手套。若有样本管意外破裂，则及时在生物安全柜内将尚存留样本移出，废弃物放入带盖防刺破塑料罐中，被污染容器用 20% 次氯酸溶液等消毒液浸泡后再清洗。

#### 5.样品检测

(1)所用材料 离心机、生物安全柜、移液器、洗板板及酶标仪等设备。

(2)风险点辨认

①离心过程中离心管破裂导致离心机污染。

②实验操作过程中血液样本溅洒，从而导致人员或台面、地面等环境污染。

③洗板、读板时液体溅出从而污染设备表面或工作台面。

(3)风险控制办法 所有检测操作均在 BSL-2 实验室中进行，检测人员在实验前按照二级生物安全防护规定做好个人防护；加样移液操作在生物安全柜内进行，动作轻缓；判读成果时酶标板轻拿轻放，避免液体溅出；待实验完毕，先消毒手部，再脱去手套并及时洗手；若故意外状况发生，应及时采用有效办法。

①离心过程中离心管破裂 应立即关闭电源，让离心机停止工作，静止 30min。然后缓慢打开离心机盖，将离心机平稳地拿到生物安全柜中。如果发生泄漏，则将配制好 1% 次氯酸钠消毒液灌入离心杯腔体中消毒 30min，然后弃去消毒液和离心管碎片，将离心杯清洗后擦干。

②样本溅洒污染设备表面 可用 24% 次氯酸溶液或 75% 酒精擦拭消毒。

③台面、地面及人员暴露于污染物解决办法同“采样某些”。

④在任何也许导致潜在传染性物质溅出操作过程中，应保护好面部、眼睛和嘴；发生液体

溅出、溢出等事故，明显暴露于传染源时，应及时向科室负责人报告，及时解决并对事故发生与解决作记录，必要时进行恰当医学评估、观测、治疗，保存书面记录。

#### 6.阳性样本保存

(1)所用器材 生物安全柜、移液器、带螺旋盖塑料管一种密封塑料冻存盒。

(2)风险点辨认 HCV 阳性标本若保存不当，则易导致人员和环境污染。

(3)风险控制办法 按照二级生物安全防护规定做好个人防护；样本保存在生物安全柜内，进行动作要轻缓；所有样本血清或血浆都保存在带螺旋盖塑料管内，在装入可密封塑料冻存盒中，置于-20℃如下冰箱内保存，严格实行双人双锁管理。

#### 7.实验室清洁和消毒

(1)风险点辨认 工作完毕后若不及时对工作台面、生物安全柜等进行消毒，则有也许会会导致实验室环境污染或人员感染。

(2)风险控制办法 工作完毕后，及时对检测所涉及工作台面积地面用 100 倍稀释施康清洗消毒液 I 擦拭。用消毒液擦拭后要干燥 20min 以上；生物安全柜用 70%~75% 酒精擦拭消毒。待实验和消毒完毕，先脱去手套，再脱去防护服，并对的使用肥皂和流水洗手。

#### 8.废弃物处置

(1)所用器材 医疗废弃物专用袋、硬质耐高压且防渗漏垃圾桶、高压灭菌器。

(2)风险点辨认 剩余阳性标本很大污染源，若采血过针头解决不当，则存在人员被刺伤，甚至感染 HCV 存在风险。

(3)风险控制办法 实验过程中产生所有感染性废弃物，涉及不再需要剩余样本、酶标反映板、移液头等所有实验过程涉及用品，需置于装有医疗废弃物专用袋硬质耐高温且防渗漏垃圾桶中，经 121℃ 高压灭菌 15~20min 后才可运出实验室；针头、破碎玻璃等损伤性废弃物必要放入利器盒，利器盒禁止再次打开。装满针头等利器一次性利器盒禁止再次打开，须密封好后，同上述垃圾一起解决。所有解决完毕废弃物集中存储，由有资质医疗废弃物解决单位上门收集、

集中解决。同步，做好交易记录，所有有关记录定期整顿归档。

### （三）实验室常规活动中其他风险评估与防止控制办法

#### 1.电力

(1)风险点辨认 若实验室没有布置双路供电，或电力供电不稳定，存在实验活动突然中断、实验设备停止工作等所带来有关安全风险。

(2)防止控制办法 实验室尽量要布置双路供电，没有布置双路供电应配备备用电源，以保证高压灭菌器、生物安全柜等重要设备安全运营。

#### 2.电气操作

(1)风险点辨认 实验室活动涉及电气操作，涉及实验室工作区内电气设备启动、关闭、安装和维修；设备层内 UPS、空调机组等电气设备启动、关闭和维修等。这些电气操作过程也许产生触电、电击、电气故障等风险。

#### (2)防止控制办法

①电气设备设计及制造符合有关安全原则规定。实验室工作区内若有 380V 电源插座，则需明确标记，并由有资质人进行专业操作。

②新、改装过或修理过电气设备在未经专业人员（如有资质电工）完毕电气安全测试和设备符合规定安全使用规定之前，不容许使用。

③电气设备使用人员接受对的操作培训，操作方式不减少电气安全性。电气设备使用人员要定期检测设备也许引起电气故障破损。只有专业人员才可从事电气设备和电路工作。禁止未经授权工作。

④采用办法对设备去污染，以减少维护人员感染风险。

#### 3.实验室给排水设施设备

(1)风险点辨认 实验室具有给排水设施设备，涉及位于工作区和洗消区高压灭菌器和洗涤池。当管道意外破裂、排水管道阻塞时，感染性材料也许溢出，有污染实验人员和环境污染风



险。

(2)防止控制办法 实验室所产生所有染菌物及器具，必要先经高压灭菌或含氯消毒剂浸泡消毒后洗涤，产生污水集中排入中心污水池进行消毒解决，禁止直接排放。至少每月监测粪大肠菌群，定期检查实验室给排水管道各接口密封性，及时发现安全隐患。

#### 4.实验室设施设备管道

(1)风险点辨认 设施设备 实验室设施设备管道穿越维护构造部位也许存在密封不严问题，当感染性材料溢出时，有污染环境风险。

(2)防止控制办法 所有管道穿越维护构造部位应严格密封，定期进行检查，避免感染性材料外溢从而污染环境。

#### 5.重要检测仪器设备

##### (1)离心机

①风险辨认点 在分离血清过程中，若没有做好平衡，则也许会发生离心管破裂、离心盖脱落、离心转子和离心腔被污染。

②防止控制办法 离心时配备耐离心压力且带螺旋管盖离心管，离心前做好平衡，选取对的离心速度和离心力；规范对的操作，定期维护，保证离心机性能正常；每次使用后做好清洁消毒和使用记录，定期进行功能检查。

##### (2)酶标仪和洗板机

①风险点辨认 在使用酶标仪和洗板机过程中，也许会发生阳性对照或在测样品污染设备表面个工作台面风险。

②防止控制办法 酶标仪每年强检一次，半途再做一次期间核查；洗板机每年进行一次功能检查；在洗板、读板时，要做到动作轻缓，小心操作；倘若有液体溅出，要立即进行消毒解决。

#### 6.生物安全设施设备

### (1)生物安全柜

①风险点辨认 若不按照安全柜操作规程进行操作、维护与检测，则其防护屏障效果会明显减少，甚至消失，失去安全防护效果；若长时间使用或未及时更换 HEPA 过滤膜，则会使其功能丧失，导致工作窗口气流速度减少或流向紊乱；使用后若不进行彻底消毒解决，对清洁、维护人员将会产生污染。

②防止控制办法 对的选配生物安全柜，操作人员应接受有关操作、维护培训，寻常操作和维护严格按照设备操作规程或使用阐明进行；每年请有资质服务机构对生物安全柜进行风速、气流、尘埃粒子、紫外线强度等核心要素检查，保证其性能正常。一旦导致污染，应及时进行消毒解决。

### (2)高压灭菌器

①风险点辨认 若不按照高压灭菌器操作规程进行操作、维护，其效果会明显减少，甚至失效，失去污染与无害化作用；若长时间使用又不定期做检测灭菌效果，则对其灭菌效果无从考证，也许产生功能缺损，存在灭菌不彻底而引起污染隐患；在长期关停期间，若内部水分不及时排干，则将会使内部器件老化从而失去正常功能。

②防止控制办法 采用下排式高压灭菌，防止气溶胶污染；规范操作，定期维护，保证高压灭菌器性能正常；定期检定、核查，做好使用记录，持证上岗；进行寻常灭菌效果监测，以保证灭菌质量。

### (3)个人防护用品

①风险点辨认 个人防护用品若穿戴不规范、大小不适当或使用过期防护用品等，则将会导致防护效果减少，甚至失效。

②防止控制办法 进行 HCV 血清学有关操作时要按二级生物安全防护水平进行个人防护，必要选取大小适当、有效防护用品，穿戴时互相检查确认，避免使用有破损、缺陷和过期防护用品。

#### (4)应急救治设施和用品

①风险点辨认 实验室若没有配备洗眼器、应急药箱等必要应急设施和物品，或配备急救用品种类不全、不适合或过期，则导致急用时无法发挥作用。

②防止控制办法 在实验室内对的配备洗眼器,保证功能正常。配备 75 %乙醇、碘附或其他消毒剂、创可贴等急救物品与实验活动相适应，并在有效期内使用，由专人负责管理，定期维护、清理和更新。

#### (5)消毒灭菌剂

①风险点辨认 消毒产品无生产允许证、过期、配制办法或浓度不对的、种类选取不合理，都将会导致消毒效果减少、生物灭活能力减少、对物品腐蚀性增长、对皮肤导致刺激等问题。

②防止控制办法 选取符合国标正规厂家生产产品，选取合理消毒剂，按照规定消毒办法、消毒时间、消毒浓度（剂量）进行消毒，避免使用过期产品；消毒过程中消毒人员应做好必要个人防护，防止发生意外。依照 HCV 对不同消毒剂敏感性，本实验室选用施康消毒剂 I（重要成分为次氯酸钠）、碘附、75% 酒精、漂白粉等作为惯用消毒剂。

### 7.管理体系风险

(1)风险点辨认 管理体系（涉及应急预案）、程序文献、作业指引书和操作规程都是保证生物安全重要因素。如果组织构造不健全、设立不合理、体系文献与实际工作不匹配，以及部门职责不清或衔接不当等，则都也许带来安全风险。

(2)防止控制办法 定期开展对管理体系评审，发现问题及时修订、完善，以保证生物安全管理体系持续有效地运营。

#### （四）工作人员风险评估与防止控制办法

##### 1.风险点辨认

(1)人员数量 人员过少会因缺少互相提示或因工作量增大而导致操作过程中工作失误增长，风险增长。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/968132037044007004>