

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 900—2026

病原微生物菌（毒）种保藏质量控制
通用标准

General standard for quality control of pathogenic microorganisms preservation

2026 - 06 - 10 发布

2026 - 12 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准为您推荐性标准。

本标准由国家卫生健康标准委员会科技与生物安全标准专业委员会负责技术审查和技术咨询,由国家卫生健康委医疗管理服务指导中心负责协调性和格式审查,由国家卫生健康委科技教育司负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心(中国预防医学科学院)、中国食品药品检定研究院、中国疾病预防控制中心传染病预防控制所、中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心、中国医学科学院病原生物学研究所、中国科学院武汉病毒研究所、中国医学科学院皮肤病医院(中国医学科学院皮肤病研究所)、中国医学科学院医药生物技术研究所、济宁市第一人民医院。

本标准主要起草人:魏强、姜孟楠、徐潇、王多春、马春涛、任丽丽、邓菲、刘维达、杨信怡、史冬梅。

病原微生物菌（毒）种保藏质量控制 通用标准

1 范围

本标准规定了人间传染的病原微生物菌（毒）种接收、鉴定、编目、制备、保存、复苏、对外提供、销毁等保藏过程中的质量控制要求。

本标准适用于人间传染的病原微生物菌（毒）种保藏机构，涉及病原微生物菌（毒）种保管和使用的单位参考使用。

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标准必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB/T 43429 人感染病原微生物与样本保藏通用要求
- GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范
- WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则
- WS 315 人间传染的病原微生物菌（毒）种保藏机构设置技术标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

质量控制 quality control

满足保藏质量标准要求而开展的技术和管理活动。

3.2

鉴定 identification

通过各类方法确定菌（毒）种生物学特性，并明确其分类学地位的过程。

3.3

编目 catalog

按照一定规则对菌（毒）种及其相关数据进行著录、汇编以及维护的过程。

3.4

制备 preparation

通过传代、培养、分装等方法，制成可供保藏或使用的菌（毒）种的过程。

3.5

保存 storage

保管与储存菌（毒）种或样本，维持其活性和生物学特性的活动。

3.6

复苏 revival

将菌（毒）种从代谢活动停止或趋于停止的状态恢复至正常代谢活动状态的过程。

3.7

销毁 destruction

对存在污染、活力异常或无保藏价值等的菌（毒）种进行完全消除或灭活的过程。

3.8

冷藏保藏 refrigerated preservation

在2℃~8℃条件下保存菌（毒）种的方法。

3.9

超低温保藏 ultra-low temperature preservation

在-60℃~-80℃条件下保存菌（毒）种的方法。

3.10

深低温保藏 deep cryogenic preservation

在-150℃~-196℃条件下保存菌（毒）种的方法。

3.11

冷冻干燥保藏 freeze-drying preservation

将菌（毒）种悬浮于适宜的冻干保护剂中，经预冻后在高真空状态下以升华方式除去水分，熔封管口或轧盖密封后，在冷藏保藏条件下（2℃~8℃）或-20℃及以下环境中保存菌（毒）种的方法。

3.12

种子批系统 seed lot system

特定病原微生物菌（毒）种的贮存物。

注：通常包括原始种子、主种子批和工作种子批。建立种子批系统旨在保证菌（毒）种制备的一致性。

3.13

原始种子 original seed

由保藏机构实验室自主分离或从外部接收，经生物学特性和遗传稳定性等特性研究鉴定，用于菌（毒）种制备的菌（毒）种。

3.14

主种子 master seed

从原始种子库传代扩增至特定代次，经一次制备获得同质均一的悬液，分装于容器后制成的菌（毒）种。

3.15

工作种子 working seed

从主种子批传代扩增至特定代次，经一次制备获得同质均一的悬液，分装于容器后制成的菌（毒）种。

4 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

CFU：菌落形成单位（Colony-Forming Unit）

PFU：空斑形成单位（Plaque-Forming Unit）

TCID₅₀：半数组织培养感染剂量（组织细胞感染量）（Fifty-percent Tissue Culture Infective Dose）

5 基本要求

5.1 人员

5.1.1 应配备安全管理、技术操作、设施设备维护、信息管理等人员，相关人员应具有菌（毒）种保藏相关专业知识、技能等教育经历或工作背景。

5.1.2 应明确规定人员的岗位职责和工作权限。

5.1.3 人员应根据工作岗位接受相关培训，如生物安全、病原微生物相关试验操作技能、特种设备操作、菌（毒）种运输、应急处置等内容，并获得相应证书。

5.1.4 人员应定期接受能力评估和考核。应建立人员技术档案，保存相应的评估记录和考核结果。

5.1.5 人员应健康状况良好，应定期接受健康监测并建立档案，必要时应接受免疫接种。

5.1.6 人员要求还应符合 WS 315 的相关规定。

5.2 设施设备

- 5.2.1 适用时，应符合 GB 19489、GB 50346、WS 233 和 WS 315 等标准对设施设备的相关要求。
- 5.2.2 应配备足量的保藏设施设备、实验室设施设备、个人防护装备、消毒设备，以及菌（毒）种流转所需的运输容器和包装材料。
- 5.2.3 冰箱、离心机等设施设备应定期且在安装后和使用前进行验证或核查，确认其符合相关要求。
- 5.2.4 应对冰箱、离心机等设施设备的运行和使用进行标识、监测、控制、定期校准或检测，并保留文件记录。
- 5.2.5 应配备冷藏保藏、超低温及深低温保藏方式下设施设备的温度、供电等异常报警装置。若使用含液氮的深低温保存设备，应配置氧浓度监测、液氮水平监测和应急排风系统。
- 5.2.6 若配备自动化、智能化保藏设施设备，应确保信息管理系统内信息的保密性和安全性，并按照相关要求监测、控制和定期校验。

5.3 材料

- 5.3.1 应建立试验或保藏相关材料的选择、采购、接收、查验、使用、保存、处置等管理制度和操作规程，确保试验及保藏相关材料符合质量要求。
- 5.3.2 应使用来源可靠、质量合格的细胞、培养基、冷冻保护剂等试验材料，并确保其稳定性、均匀度满足工作需要。
- 5.3.3 低温保藏所用材料应具有耐低温、防破裂、防外溢等特性。若采用液氮保藏方式，材料应能在 -196°C 及以下的低温环境中稳定使用。
- 5.3.4 应定期对试验及保藏相关材料进行核查，确保其有效性，并建立过期或不合格材料的处理程序。

5.4 保存方法

- 5.4.1 应制定与保存方法相适应的质量控制程序，并保持现行有效。应及时对保存方法进行查新和验证。
- 5.4.2 应选择经验证和确认有效的保存方法进行菌（毒）种保存。
- 5.4.3 应根据菌（毒）种类别及特性，选择适宜的保存方法，如冷冻干燥法、超低温冷冻保存法和深低温保存法等，并符合 GB/T 43429 的要求。
- 5.4.4 对于有多种方法保存的菌（毒）种，同一菌（毒）种应选用两种或两种以上方法进行保存。
- 5.4.5 对于只能采用一种方法保存的菌（毒）种，应在两个独立的设备中备份保存；必要时，宜采用异地备份形式进行保存。

5.5 文件管理

- 5.5.1 应建立保藏质量管理体系文件，包括质量手册、程序文件、作业指导书、记录表格等，对保藏过程进行全流程质量控制。体系文件应定期修订，并至少每年进行一次审核，确保符合相关法律法规及标准规范要求。
- 5.5.2 应记录与菌（毒）种保藏有关的所有活动，并确保菌（毒）种保藏活动可追溯。记录应准确、清晰，并保留备份，保存时间不少于 20 年。
- 5.5.3 使用信息系统进行文件管理时，应制定信息系统的管理制度，规范信息系统的开发、安装、人员权限、数据完整性的监控、系统维护、数据备份等工作。
- 5.5.4 应建立完善的技术资料档案，包括但不限于：菌（毒）种的名称、编号、数量、来源、危害程度等级分类、主要特征、主要检测指标、保存方法、出入库、使用、保存和销毁等信息。

5.6 应急处置

- 5.6.1 应制定针对低温设施设备温度异常、液氮供应不足或泄漏、通风系统故障等突发情况的应急处置制度和程序。
- 5.6.2 应制定针对菌（毒）种意外溅洒或泄漏、人员暴露等突发情况的应急处置制度和程序。
- 5.6.3 应建立菌（毒）种丢失、被盗、被抢等生物安保相关意外事件的报告制度及处置程序。
- 5.6.4 在应急情况下，低温保藏设备应能持续工作至少 30 min，且/或在断电情况下 30 min 内温度上升不超过 10°C 。

5.6.5 应配备一定数量的备用低温保藏设备、耗材等应急物资。

6 菌（毒）种接收要求

6.1 应制定不同危害程度等级的菌（毒）种运输程序，对菌（毒）种从发送点到接收点关键环节进行监管并记录。若运输过程可能改变菌（毒）种质量（或保藏机构认为有必要），应对运输持续时间、温度、湿度和光照等影响因素进行跟踪和监控，确保菌（毒）种运输全流程记录的完整性。记录应详细说明任何偏离指定参数的情况。

6.2 接收时，应检查菌（毒）种外包装材料的完整性，确认有无破损、泄漏等情况。

6.3 菌（毒）种提供方应在申请保藏前，对提交保藏的菌（毒）种进行生物学特性、活性及稳定性鉴定，并将相关鉴定结果提供给保藏机构。

6.4 菌（毒）种描述信息应完整、真实、准确、规范，符合 GB/T 43429 的要求。

6.5 提供方提供的菌（毒）种应不少于 2 份。

6.6 保藏机构在完成菌（毒）种信息核对、复核鉴定后，应对接收保藏的菌（毒）种进行编号入库，并向提供方提供接收证明。

7 菌（毒）种鉴定要求

7.1 针对不同的菌（毒）种，应通过形态学、生理生化、分子生物学、基因组学等方法，开展种及其亚种、型的多样性和典型特征的生物学鉴定，并有完整记录。

7.2 应明确菌（毒）种分类学地位。若为疑似新种，应检测其形态特征、染色特性、生理生化特性、细胞脂肪酸构成、靶基因序列与近缘物种的相似性，以及基因组序列与近缘物种模式株的平均核酸一致性等。

7.3 应通过生长试验、生化试验、空斑试验或 TCID₅₀测定等方法，开展菌（毒）种活性鉴定，并记录菌（毒）种代次、批次、传代时间、培养基及培养条件等信息。

7.4 应开展菌（毒）种纯度鉴定。若鉴定结果不一致，不应入库，并告知提供方。

7.5 开展菌（毒）种鉴定时，应选择相应国家标准株[或参考菌（毒）株]对鉴定结果进行质量控制。

8 菌（毒）种编目要求

8.1 应建立菌（毒）种编目制度与质量控制程序，并定期对编目信息进行修订。

8.2 菌（毒）种编目信息应包括但不限于：编号、中文名称、外文名称、危害程度分类、致病对象、致病名称、类型、共享方式、主要用途、培养基、培养温度、保藏方法、保藏条件、保藏时间、编目时间、鉴定人、原始编号、来源、来源历史、提供者（单位）、提供形式、分离基物、基物采集时间、采集地点、分离时间、分离人（单位）、分离地址等。

8.3 菌（毒）种编目信息应具有完整性、唯一性和可扩展性。

8.4 菌（毒）种编目的纸质版和电子版信息应保持一致。

8.5 应制定防止编目信息被篡改、误改、误删等程序与措施。

9 菌（毒）种制备要求

9.1 传代要求

9.1.1 应清晰、准确记录菌（毒）种的传代历史，包括但不限于：传代次数、传代日期、操作人员等。

9.1.2 建立种子批系统时，应严格按照种子批系统规定进行传代操作，如原始种子→主种子批→工作种子批。

9.1.3 应根据不同菌（毒）种的特性，规定其最大允许传代次数或用于制备菌（毒）种的最大起始代次。如从原始种子传代建立主种子批，传代次数不应超过 5 代；从主种子批传代建立工作种子批，传代次数不应超过 5 代。

9.1.4 传代后，代次之间应进行生物学特性的检测，如形态、关键生化反应、血清型、毒力因子、基因型等，确保传代过程中遗传和表型稳定，并保留记录。

9.2 培养要求

- 9.2.1 培养过程应在相应生物安全防护水平的实验室内进行。
- 9.2.2 使用的培养基其适用性和促生长能力应经过验证，并记录批号。必要时，使用前应进行无菌试验和促生长试验。
- 9.2.3 应严格控制培养条件，如温度、湿度、气体环境（CO₂、O₂浓度）、光照等，确保符合菌（毒）种的最佳生长要求，并进行实时监控和记录。
- 9.2.4 应对培养物的生长状态进行观察和记录，如生长曲线关键点、浑浊度、细胞病变效应、空斑形态、凝集特性等，并作为判断收获时机的依据和过程质控点。
- 9.2.5 应在适宜的培养阶段（如对数生长期、特定感染滴度平台期）收获菌（毒）种。
- 9.2.6 应充分混匀制备的菌（毒）种悬液，以保证后续分装的均一性。对于定量制备，应采用经过校准的浓度测定方法，如CFU、TCID₅₀、PFU等。

9.3 分装要求

- 9.3.1 根据不同使用要求，选择适宜的分装容器，如安瓿管、西林瓶、冻存管或试管等，确保其材质、密封性与保存条件兼容。
- 9.3.2 应在生物安全柜内分装，分装操作环境的洁净度应符合要求，并进行定期监测。
- 9.3.3 应明确每管/瓶的分装容量或目标浓度范围。分装时应确保悬液充分混匀，并使用经过校准的设备和方法进行分装，以保证每份具有均一性。对于定量菌（毒）种，需严格控制其分装体积和/或浓度的准确性。
- 9.3.4 对于需要密封的容器，应进行密封性检查，如通过目视检查、染料侵入法等，并进行抽检，确保分装后容器的密封完好，防止泄漏、污染或水分渗入。

9.4 标识要求

- 9.4.1 分装后的菌（毒）种第一层包装应有牢固的标签。
- 9.4.2 标签内容应包括但不限于：菌（毒）种名称（中文和外文）、编号、批号、单位名称等。
- 9.4.3 标签材质和打印信息满足保存条件要求：
- 在超低温和深低温保存条件下：标签应耐低温、粘贴牢固、防水抗撕裂、打印信息清晰不褪色、抗刮、防水、防油和抗溶剂；
 - 在其他保存条件下：应确保标签在相应温湿度环境下信息清晰、持久、不脱落。

9.5 抽检要求

- 9.5.1 应对制备完成的每批次菌（毒）种进行抽检，抽检数量要求如下：
- 非定量菌（毒）种：每批次抽检数量不少于1份；
 - 定量菌（毒）种：每批次抽检数量不少于10%。
- 9.5.2 抽检项目应包括但不限于：
- 纯度检验：应无污染（如无菌检查、支原体检测等）；
 - 活性检验：应具有活性，且符合预期（如CFU、TCID₅₀、PFU等）；
 - 生物学特性鉴定：采用不少于2种方法检测关键特性，包括但不限于形态学、关键生化反应、血清学、分子生物学等，保证菌（毒）种制备前后质量一致；
 - 定量计数：应达到制备浓度或滴度的50%~150%。
- 9.5.3 抽检不合格的批次应及时销毁，不应用于保藏或分发。

9.6 真空冷冻干燥特殊要求

- 9.6.1 采用真空冷冻干燥方式制备的菌（毒）种，除满足本标准第9.1条~第9.5条要求外，还应进行真空度检测。
- 9.6.2 使用安瓿管制备的，应在不高于4 mbar（或400 Pa）的真空条件下进行熔封操作，并抽检熔封质量和真空度。如采用高频电火花真空测定仪测定真空度，若管内出现蓝紫色或蓝色光则符合要求，若无光说明尚未真空。

10 菌（毒）种保存要求

- 10.1 应建立保存过程中避免菌（毒）种污染的管理制度与相关措施。
- 10.2 应建立保存菌（毒）种所需的活性要求。用于保存的细菌菌种活性应 $\geq 10^4$ CFU/mL，病毒毒种活性应 $\geq 10^4$ TCID₅₀/mL 或 $\geq 10^4$ PFU/mL，真菌菌种活性应 $\geq 10^6$ CFU/mL。
- 10.3 保藏机构应根据需要建立种子批系统，如原始种子、主种子批、工作种子批三级种子库。应明确分区保存不同种子批的菌（毒）种，以及备份数量等要求。如原始种子保存数量不低于2份/株，主种子批不低于10份/株，工作种子批不低于20份/株。
- 10.4 超低温保藏的菌（毒）种，应按照每3年~5年1次频率进行抽检，抽检比例不低于保存数量的0.1%。
- 10.5 深低温保藏的菌（毒）种，应按照每5年~10年1次频率进行抽检，抽检比例不低于保存数量的0.1%。
- 10.6 冷冻干燥保藏的菌（毒）种，应按照每10年~15年1次频率进行抽检，抽检比例不低于保存数量的0.1%。
- 10.7 根据菌（毒）种生物学特性，抽检菌（毒）种的检测指标应不低于3项，包括但不限于：形态学、血清学、分子生物学等，并制定相应的检测技术操作程序。

11 菌（毒）种复苏要求

11.1 基本要求

- 11.1.1 应制定菌（毒）种复苏纯度、活性验证制度，并记录验证结果。
- 11.1.2 应根据不同菌（毒）种的生长特性和保存方法，建立相应的复苏方法。
- 11.1.3 应根据不同菌（毒）种的种类及保藏方式，确定复苏时间并建立复苏程序文件。
- 11.1.4 复苏时，应选用适宜的国家标准菌（毒）株[或参考菌（毒）株]对复苏过程进行质量控制。
- 11.1.5 应填写复苏记录表，包括但不限于：复苏日期、复苏操作者、菌（毒）种编号、名称、代次、批次、数量、复苏方法等信息。

11.2 对外提供用菌（毒）种复苏要求

- 11.2.1 应优先复苏工作种子批菌（毒）种。仅在特定情况下（如工作种子批耗尽或特定要求），经评估和审批后，方可复苏主种子批菌（毒）种。
- 11.2.2 复苏后用于对外提供的菌（毒）种，应进行活性检测，包括但不限于：生长试验、TCID₅₀、PFU等和纯度（如无菌检查、支原体检测、分子特异性检测等）检测，并确保结果符合对外提供要求。
- 11.2.3 必要时应对复苏后菌（毒）种的关键生物学特性进行快速核查，包括但不限于：血清型、关键毒力因子、耐药谱、基因型标记等，确保与保藏记录一致。
- 11.2.4 应明确记录并控制用于对外提供菌（毒）种的传代次数，确保其代次符合规定要求，通常不超过工作种子批规定代次。
- 11.2.5 应建立复苏后菌（毒）种用于对外提供的有效期限规定，如复苏后至分装发出的最长间隔时间，并严格执行。

11.3 定期复壮用菌（毒）种复苏要求

- 11.3.1 应根据保藏方式和菌（毒）种特性，制定明确的复苏检测周期：
- 超低温保藏的菌（毒）种，每3年~5年至少复苏1次并进行检测；
 - 深低温保藏的菌（毒）种，每5年~10年至少复苏1次并进行检测；
 - 冷冻干燥保藏的菌（毒）种，每10年~15年至少复苏1次并进行检测。
- 11.3.2 复苏后检测项目包括但不限于：
- 存活率：定量检测复苏成功率；
 - 纯度：确认无污染；
 - 活性：评估生长或感染能力；
 - 关键生物学特性检测指标应不低于3项，包括但不限于：检测形态、染色特性、生理生化特性、

血清学特性、遗传学特性（关键基因测序、指纹图谱等）、致病性/毒力等，与原始记录或参考数据进行比较，评估稳定性。

11.3.3 若检测结果符合要求，可根据需要使用复苏成功的菌（毒）种制备新的备份，替换原有备份或补充库存，并更新代次记录。新备份菌（毒）种的制备应符合本标准第9章要求。

11.3.4 结果评估与处置：复苏检测结果应详细记录并评估。若发现活力显著下降、特性改变或污染，应按照本标准第13章规定启动销毁程序，并及时补充新的合格备份菌（毒）种。

12 菌（毒）种对外提供要求

12.1 保藏机构应按照高致病性与非高致病性病原微生物菌（毒）种分类，分别建立对外提供菌（毒）种程序。

12.2 保藏机构应对申请单位提交的证明材料进行符合性审查，证明材料包括但不限于：

- a) 申请单位法人机构的法人资格证书及相关证明材料；
- b) 申请单位实验室备案证明材料，或实验室生物安全认可证书及实验活动批复文件等材料；
- c) 菌（毒）种使用目的和使用承诺书，后者应包括尊重知识产权、使用后不再保存及不得擅自转赠他人等内容。

12.3 保藏机构对外提供菌（毒）种时，应签订对外提供协议，并附菌（毒）种基本信息表。

12.4 应选择符合要求的包装材料和包装形式，高致病性病原微生物菌（毒）种应按国家相关要求进行审批、包装和运输。

13 菌（毒）种销毁要求

13.1 应按照菌（毒）种危害程度，设置销毁审批权限。

13.2 应建立可销毁菌（毒）种的范围，包括但不限于：

- a) 传代、复苏、抽检过程中产生的质量不合格菌（毒）种；
- b) 有证据表明存在污染、变异或活力异常的菌（毒）种；
- c) 保藏机构认为无保藏价值且经送保藏单位同意销毁的无继续保藏价值的菌（毒）种；
- d) 国家规定必须销毁的菌（毒）种等。

13.3 应使用经过验证、安全可靠的方法销毁菌（毒）种，并应对所用方法进行可靠性验证。

13.4 销毁应在与拟销毁菌（毒）种相适应的生物安全防护水平的实验室内进行，由具有操作资质且符合本标准第5.1条要求的两人共同操作，并应对销毁过程进行严格监督。

13.5 菌（毒）种销毁过程应有文件记录。

13.6 销毁后的菌（毒）种应按照感染性废物处理。

参 考 文 献

- [1] 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第797号）
 - [2] 人间传染的病原微生物菌（毒）种保藏机构管理办法（中华人民共和国卫生部令第68号）
 - [3] 人间传染的病原微生物目录（国卫科教发〔2023〕24号）
 - [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：三部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2025.
 - [5] 魏强, 姜孟楠. 病原微生物保藏管理与技术手册[M]. 2版. 北京:北京大学医学出版社, 2024.
 - [6] World Health Organization. Laboratory biosafety manual [M]. 4th ed. Geneva: World Health Organization, 2020.
 - [7] The World Federation for Culture Collections, United Kingdom. For The Establishment and Operation of Collection of Culture of Microorganisms. 3rd Edition, 2010.
 - [8] GB/T 27025 检测和校准实验室能力的通用要求
 - [9] GB/T 30690 小型压力蒸汽灭菌器灭菌效果监测方法和评价要求
 - [10] GB/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求
 - [11] GB 50348 安全防范工程技术标准
 - [12] T/CAS 714 (T/CAV 002) 预防性生物制品用病原微生物菌（毒）种低温保藏技术指南
 - [13] T/CPMA 011 病原微生物菌（毒）种保藏数据描述通则
 - [14] T/CPMA 019 新型冠状病毒样本保藏要求
 - [15] T/CPMA 029 病原微生物菌（毒）种保藏 编号规则
-