



实验室生物安全 风险评估及 操作基本要求

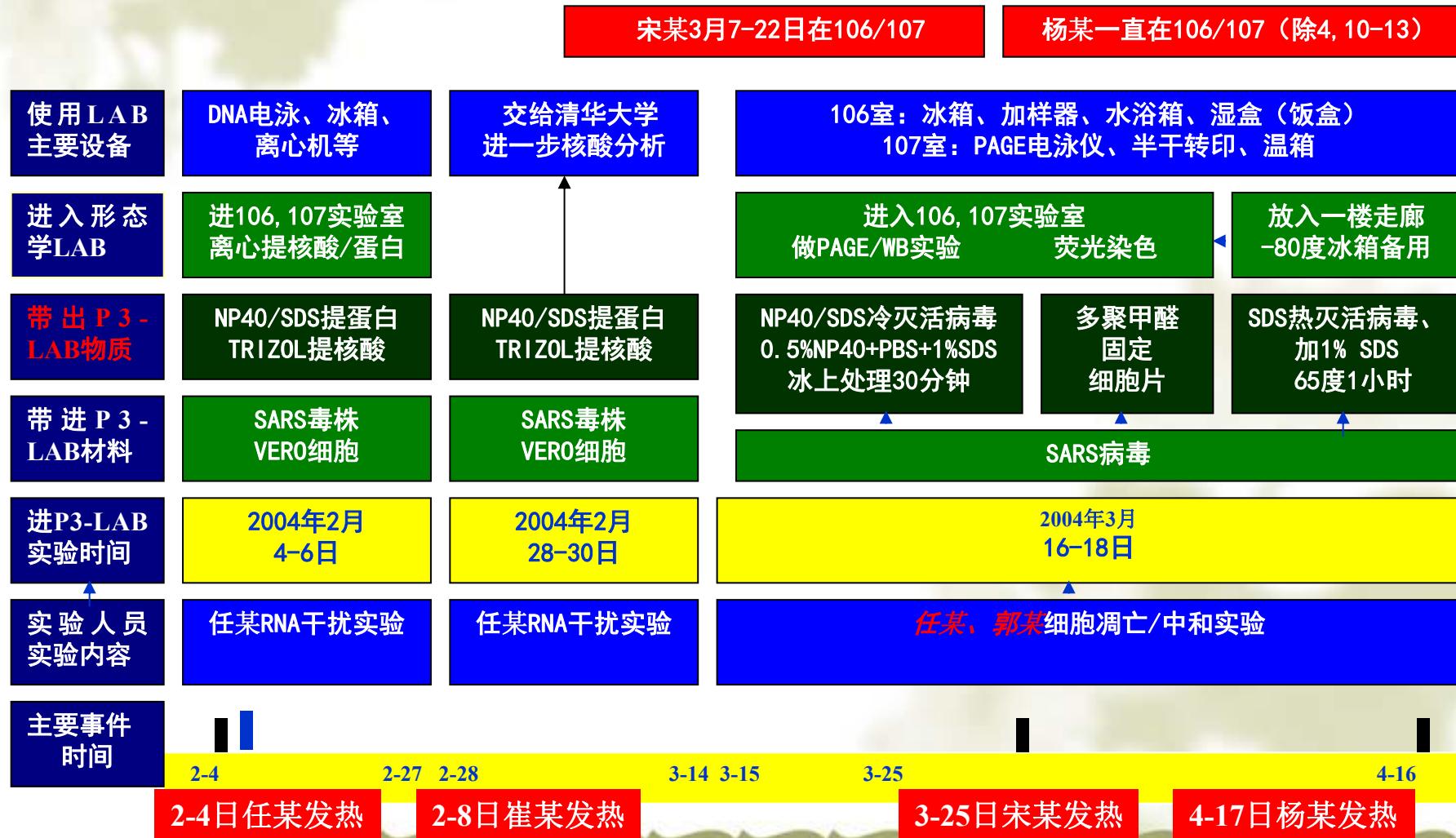
湖南省疾病预防控制中心
黄一伟

实验室相关感染

- ❖ **新加坡的实验室SARS感染事件**
- ❖ 2003年9月新加坡国立大学研究生在环境卫生研究院实验室中感染SARS病毒。
- ❖ **中国台湾地区的实验室感染事件**
- ❖ 2003年12月一名台湾的SARS研究职员在实验室感染SARS病毒。
- ❖ **中国大陆的实验室感染事件**
- ❖ 2004年4月安徽、北京先后发现新的SARS 病例，经证实分别来自于在中国疾病预防控制中心病毒病所某实验室受到SARS感染的两名工作职员。实验室安全治理不善，执行规章制度不严，技术职员违规操纵，安全防范措施不力，导致实验室污染和工作职员感染的重大责任事故。

北京实验室SARS感染概况

中国CDC病毒所发病人



实验室感染的证据分析

- ①宋、杨均在同一实验室工作，该室一直从事SARS-CoV工作
- ②封锁病毒所后，未再出现任何SARS病人
- ③第二代病例魏某胸水中分离到SARS-CoV，其全基因序列与实验SARS-CoV高度同源
- ④宋、杨从未接触过野生动物
- ⑤宋、杨潜伏期内北京没有任何其他SARS病例

主要原因：病毒灭活不彻底，灭活方法没有进行有效的评价，没有规定对每一批病毒的灭活效果进行监测和质控，发现异常情况未及时上报

责任追究：13名处级以上领导被免职

生物安全实验室操作基本要求

- ❖ 概述
- ❖ 生物安全实验室操作的危险因素
- ❖ 实验室生物安全风险评估
- ❖ 生物安全实验室运行的基本规范
- ❖ 生物安全柜的使用规范
- ❖ 实验室其他仪器设备的使用规范
- ❖ 感染性材料的操作与防护规范
- ❖ 危险化学品的使用与管理
- ❖ 放射性核素的使用与管理
- ❖ 其他实验室危害的控制
- ❖ 消毒和灭菌
- ❖ 意外事故处置

实验室生物安全概念

- ❖ 《病原微生物实验室生物安全》中的实验室，主要是指与病原微生物相关的实验室，即是具有传染性物质操作活动的实验室。
- ❖ 为了避免微生物和医学实验室中有害或有潜在危害的生物因子对人、环境和社会造成危害或潜在危害，而采取的防护措施（硬件）和管理措施（软件），达到对人、环境和社会的安全防护目的。

实验室生物安全要素



实验室生物安全的核心1

- ❖ 生物安全实验室的核心-----管理
- ❖ 管理的核心要素-----人
- ❖ 实验室领导及管理层必须保证满足实验室生物安全管理要求。
- ❖ 实验室的所有人员都必须遵守相关规程。
- ❖ 一、 明确职责
- ❖ 二、 确认能力
- ❖ 三、 人员培训
- ❖ 四、 健康监测与就医程序
- ❖ 五、 人员档案

实验室生物安全的核心2

❖ 六、实验室人员应做到：

- ❖ 应充分认识和理解所从事工作的风险。
- ❖ 应自觉遵守实验室的管理规定和要求。
- ❖ 在身体状态许可的情况下，应接受实验室的免疫计划和其他的健康管理规定。
- ❖ 应按规定正确使用设施、设备和个体防护装备。
- ❖ 应主动报告可能不适于从事特定任务的个人状态，如发热或外伤等。
- ❖ 不应因人事、经济等任何压力而违反管理规定。
- ❖ 有责任和义务避免因个人原因造成生物安全事件或事故。
- ❖ 如果怀疑个人受到感染，应立即报告。
- ❖ 应主动识别任何危险和不符合规定的工作，并立即报告。

我国实验室生物安全现行有效的法律法规

- ❖ 1. 2004年，国务院424号令《病原微生物实验室生物安全管理条例》
- ❖ 2. 2003年，国务院380号令《医疗废物管理条例》
- ❖ 3. GB19489—2004《实验室——生物安全通用要求》，已修订为2008版，并于2009年7月1日实施
- ❖ 4. GB50346—2004《生物安全实验室建筑技术规范》，已修订为2011版，并于2011年7月1日实施
- ❖ 5. 2005年，卫生部第45号令《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》
- ❖ 6. 2006年，卫生部第50号令《人间传染的高致病性病原微生物实验室和实验活动生物安全审批管理办法》
- ❖ 7. 2006年，卫生部《人间传染的病原微生物名录》
- ❖ 8. 2002年，卫生部WS233—2002《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》，已修订为2017版
- ❖ 9. WS589-2018病原微生物实验室生物安全标识

生物因子危害分级与实验室生物安全级别、操作及所用设备的关系

危害分级	生物安全防护水平	实验室操作	安全设备
I级 四类	BSL-1	标准的微生物操作技术	开放式工作台、洗手池
II级 三类	BSL-2	1、标准微生物操作技术以及防护服、手套，若需要则采取面部保护措施 2、限制进入、生物危险警告标志、“锐器”安全措施、生物安全手册等	开放式工作台、洗手池以及高压灭菌器、I级或II级生物安全柜、冲洗眼装置
III级 二类	BSL-3	同BSL-2，加： 1、专用的防护服，若需要则采取呼吸保护措施 2、受控的入口、定向的气流 3、出口淋浴室及专门的废弃物处理	II级或III级生物安全柜，不排蒸汽的高压蒸汽灭菌器、紧急消毒淋浴装置
IV级 一类	BSL-4	同BSL-3，加： 入口有专用的气闸室	III级生物安全柜或II级生物安全柜与正压防护服配合

国内外病原微生物危害程度分类比较

《病原微生物实验室生物安全管理条例》		《实验室生物安全通用要求》 (GB19489-2008)	WHO《生物安全手册》 (第三版, 2004)
一类	能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物, 以及我国尚未发现或者已经宣布消灭的微生物。 比如: 黄热病毒, 天花病毒, 猴痘病毒, 拉沙热病毒, 类天花病毒, 克里米亚—刚果出血热病毒(新疆出血热病毒)等(无细菌)。	IV 级 (高个体危害, 高群体危害)能引起人类或动物非常严重的疾病, 一般不能治愈, 容易直接或间接或因偶然接触在人与人, 或动物与人, 或人与动物, 或动物与动物间传播的病原微生物。	IV 级 (个体和群体的危险均高) 病原微生物通常能引起人或动物的严重疾病, 并且很容易发生个体之间的直接或间接传播, 对感染一般没有有效的预防和治疗措施。

国内外病原微生物危害程度分类比较

二类	能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。比如：SARS冠状病毒，狂犬病毒(街毒)，乙型脑炎病毒，艾滋病毒(I型和II型)，高致病性禽流感病毒，引起肾综合征出血热的汉坦病毒，炭疽芽孢杆菌，布鲁氏菌属，结核分枝杆菌，立克次体属，鼠疫耶尔森菌，霍乱弧菌，等	III 级	(高个体危害，低群体危害) 能引起人类或动物严重疾病，或造成严重经济损失，但通常不能因偶然接触而在个体间传播，或能使用抗生素、抗寄生虫药治疗的病原微生物。	III 级	(个体危险高，群体危险低) 病原微生物通常能引起人或动物的严重疾病，但一般不会发生感染个体向其他个体的传播，并且对感染有有效的预防和治疗措施。
----	---	-------	--	-------	--

根据目前掌握的新型冠状病毒生物学特点、流行病学特征、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

国内外病原微生物危害程度分类比较

管理条例	通用要求	WHO安全手册
<p>三类</p> <p>能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的微生物。比如：水痘一带状疱疹病毒，麻疹、风疹病毒，轮状病毒，狂犬病毒(固定毒)，流感病毒，致病性大肠埃希菌，单核细胞增生李斯特菌，肠杆菌属，嗜肺军团菌，铜绿假单胞菌，伤寒沙门菌，志贺菌属等等</p>	<p>II 级</p> <p>(中等个体危害，有限群体危害)动物或一般工作人员引起原室严重危害。导致具备有效措施，能有效预防和控制，传播风险有限。</p>	<p>II 级</p> <p>中等个体原对实验室、动物或一般工作人员引起原室严重危害。导致具备有效措施，能有效预防和控制，传播风险有限。</p>

国内外病原微生物危害程度分类比较

《病原微生物实验室生物安全管理条例》		《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)		WHO《生物安全手册》(第三版, 2004)	
四类	在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物。比如：豚鼠疱疹病毒，金黄地鼠白血病病毒，小鼠白血病病毒等	I 级	(低个体危害，低群体危害) 不会导致健康工作者和动物致病的细菌、真菌、病毒和寄生虫等生物因子。	I 级	(无或极低的个体和群体危险) 不太可能引起人或动物致病的微生物。

人间传染的病原微生物名录

卫科教发2006 15号

表 1. 病毒分类名录

序号	病毒名称			危害程度分类	实验活动所需生物安全实验室级别					运输包装分类 ^f		备注
	英文名	中文名	分类学地位		病毒培养 ^a	动物感染实验 ^b	未经培养的感染材料的操作 ^c	灭活材料的操作 ^d	无感染性材料的操作 ^e	A/B	UN 编号	
1	<i>Alastrim virus</i>	类天花病毒	痘病毒科	第一类	BSL-4	ABSL-4	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	
2	<i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang hemorrhagic fever virus)</i>	克里米亚—刚果出血热病毒(新疆出血热病毒)	布尼亞病毒科	第一类	BSL-3	ABSL-3	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	
3	<i>Eastern equine encephalitis virus</i>	东方马脑炎病毒	披膜病毒科	第一类	BSL-3	ABSL-3	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	仅培养物A类
4	<i>Ebola virus</i>	埃博拉病毒	丝状病毒科	第一类	BSL-4	ABSL-4	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	
5	<i>Flexal virus</i>	Flexal 病毒	沙粒病毒科	第一类	BSL-4	ABSL-4	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	
6	<i>Guanarito virus</i>	瓜纳瑞托病毒	沙粒病毒科	第一类	BSL-4	ABSL-4	BSL-3	BSL-2	BSL-1	A	UN2814	

新冠：病毒培养，动物感染实验，P3；标本核酸检测、抗体检测P2（三级防护）；灭活标本核酸检测、抗体检测P2。A类包装，环境样本属于B类

病原微生物的风险评估

- ❖ 病原微生物的风险评估，是实验室生物安全的核心内容。
- ❖ 病原微生物的风险评估应开始于实验室设计建造之前，并实时进行于实验室活动之中，定期阶段性再评估于实验室使用之后。
- ❖ 风险评估时应包括不同专业背景和不同职责的人参加，如单位领导、实验室主任、研究人员、高级微生物生物学专家、生物安全委员会成员等。评估者应对实验活动、病原微生物、相关程序、仪器设备和人员要求等非常熟悉。

生物风险评估主要法规及标准

- 病原微生物实验室生物安全管理条例（2018. 04修订）
- 实验室生物安全通用要求（GB19489—2008）
- 病原微生物实验室生物安全通用准则（WS233—2017）
- 病原微生物实验室生物安全标识（WS589—2018）
- WHO实验室生物安全手册
- 人间传染的病原微生物名录（正在修订）
- NIH微生物和生物医学实验室生物安全手册

生物风险评估特征

- 缺乏成熟的规律
- 缺乏量化指标
- 可变性
- 偶然性和随机性
- 持续性和动态的过程

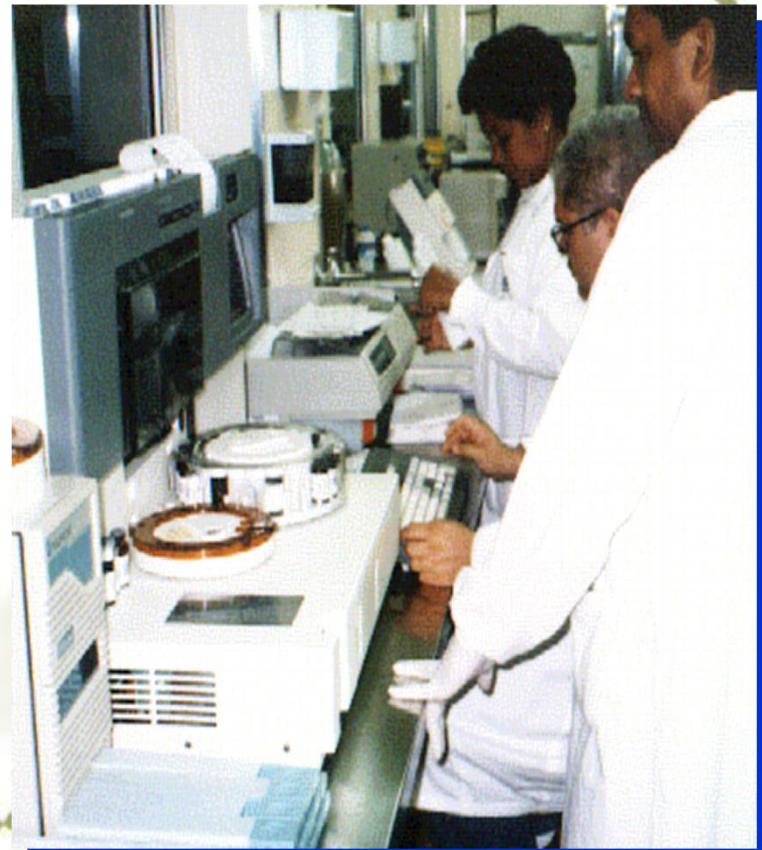
评估过程



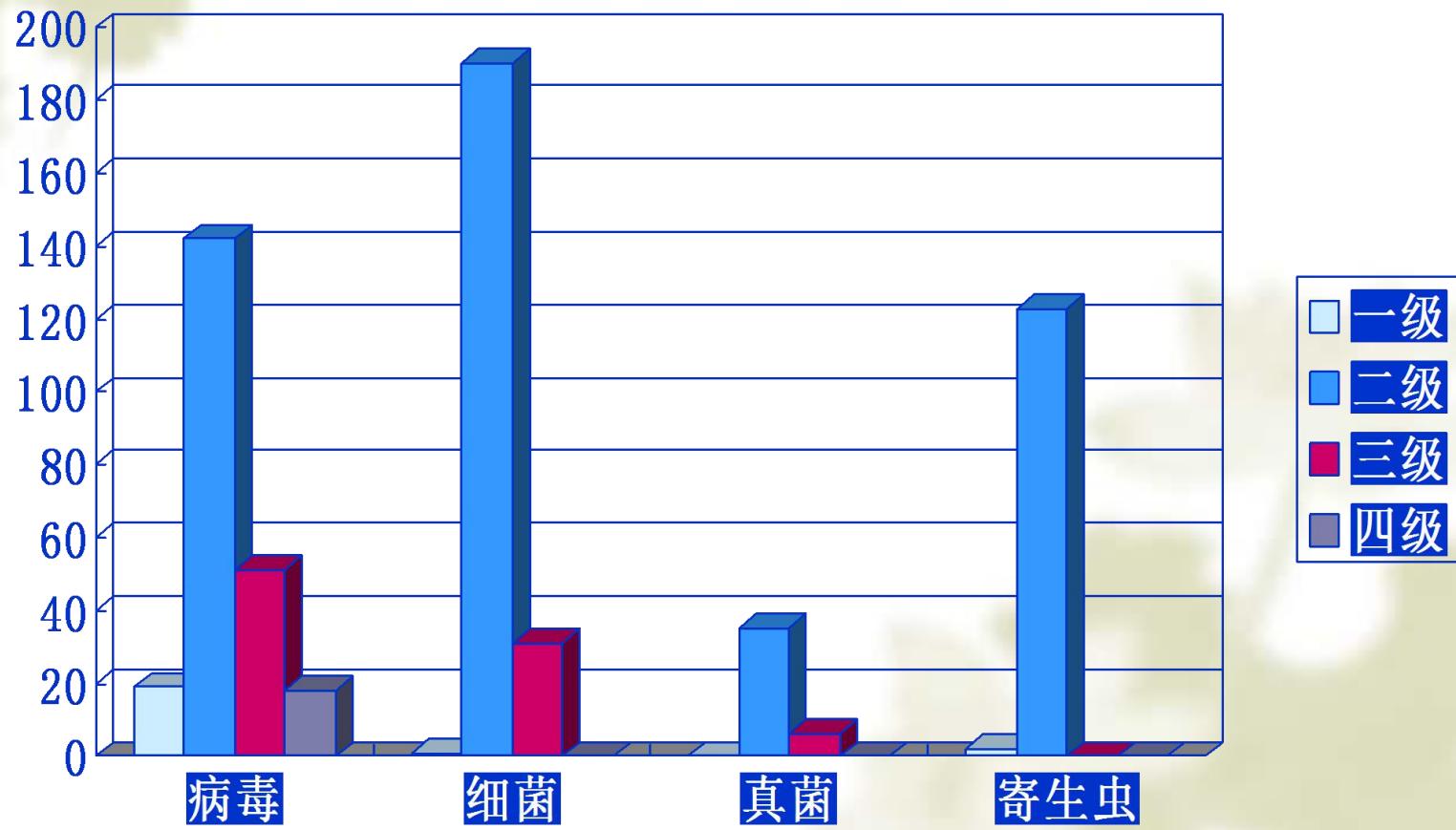
评估过程：1 风险识别

Where is the hazard/contamination?

- ☒ 病原致病性及特征
- ☒ 相关实验活动
- ☒ 人员因素
- ☒ 设施设备和环境因素
- ☒ 实验活动安全管理
- ☒ 实验室安保措施



临床检验中涉及的病原生物危险等级分布



病原特征

- 病原微生物来源
- 形态和培养特征
- 变异性
- 在环境中的稳定性
- 毒力及感染剂量
- 感染途径及潜在暴露结果
- 所操作微生物的浓度和剂量的影响
- 实验室感染或院内感染信息
- 预防、诊断和治疗措施

病原微生物的背景资料以及将要进行的实验活动是进行风险评估的主要依据。

待检样品信息不足时怎么办？

临床检验或疾病监测实验室，在日常工作中常常无法判断样本中有何种病原微生物。当待检样品信息不足时怎么办？

- 处理此类标本时至少需要二级生物安全防护水平；
- 标本的运送应当遵循国家和 / 或国际相关的规定；
- 在疾病流行季节，特别是发生了不明原因的疾病流行或有高致病性微生物导致的疾病流行时，应考虑加强或提高防护水平。
- 对现有的流行病学资料进行分析
- 可疑的传播途径是什么
- 根据发病率和病死率资料评估其风险级别
- 利用病人的医学资料初步判断
- 对以上信息综合分析后，确定处理这些样本的防护要求。但是，在信息有限的情况下，应当谨慎地采取保守方法
- 对于取自病人的标本，均应当遵循SOP操作，并采用隔离防护措施

风险识别

- 病原致病性及特征
- 相关实验活动
- 人员因素
- 设施设备和环境因素
- 实验活动安全管理
- 实验室安保措施

相关实验活动

实验室事故多在实验活动中产生，识别实验活动环节中的风险，是风险评估中最为重要的环节。

如何进行风险识别：

- 拟进行的实验活动，由几个实验项目组成
- 该实验有哪些实验步骤可能产生气溶胶或对操作者造成危害

相关实验活动

标本采集处理

病原分离培养

血清学分析

常规实验
活动内容

样本浓缩纯化

蛋白制备和分析

核酸提取及分析

相关实验活动-风险影响因素

研究表明，已知原因的实验室感染只占全部感染的18%，不明原因的实验室感染却高达**82%**。对不明原因的实验室感染的研究发现，临床检验实验室的许多操作可以产生**气溶胶**。

病原产生的气溶胶在空气中扩散，其无色无味，不易发现，工作人员吸入气溶胶后，便可以引发实验室感染。与其自然感染的疾病相比，有些微生物气溶胶感染的症状不典型，病程复杂，难以及时诊治，影响预后。

相关实验活动-风险影响因素

哪些实验操作易产生气溶胶？

- 打开感染性样品容器
- 收集鸡胚培养液
- 划分平板及生化反应管接种
- 离心、烧接种、剧烈震荡或混匀
- 用移液管时，用力吹出最后一滴液体
- 倾倒上清液时
- 排出注射器中的空气
- 超声粉碎感染性材料
- 接种、解剖动物

研究表明，对276种操作进行测试，其中239种操作可以产生气溶胶，占全部操作的86. 6%。特别指出的是，有些工作需要反复多次操作，即使一次产生的气溶胶并不多，但由于多次操作同样可以在短时间内产生大量气溶胶。

风险识别

- 病原致病性及特征
- 相关实验活动
- 人员因素
- 设施设备和环境因素
- 实验活动安全管理
- 实验室安保措施

人员因素

- 健康状况和健康历史、耐药和过敏
- 人员资质和人员素质
- 生物安全知识培训和操作技能
- 微生物学专业知识和操作技能
- 设施设备了解和操作技能
- 各类标准操作程序执行状况和能力
- 个人防护装备及选择
- 相关疫苗免疫状况
- 相关的健康监测和医疗控制手段
- 事故和其他应急处理能力



风险识别

- 病原致病性及特征
- 相关实验活动
- 人员因素
- 设施设备和环境因素
- 实验活动安全管理
- 实验室安保措施

设施设备和环境因素

- 生物安全实验室相应等级的设施要求
- 实验室整体环境、工作区域的整洁有序
- 污染因子的监测力度
- 实验室进出控制设施
- 应急设施
- 废物、废水处理设备设施
- 实验活动相关设备
- 个人防护装备
- 设施设备管理、维护、校准和检验

风险识别

- 病原致病性和特征
- 相关实验活动
- 人员因素
- 设施设备和环境因素
- 实验活动安全管理
- 实验室安保措施

实验活动安全管理

- 采取措施后残余风险或带来的新风险
- 管理程序、SOP、维护保养程序的潜在风险
- 实施应急措施时可能引入的新风险

风险识别

- 病原致病性和特征
- 相关实验活动
- 人员因素
- 设施设备和环境因素
- 实验活动安全管理
- 实验室安保措施

实验室安保措施

重点识别所保藏或使用的致病性生物因子被盗、滥用和恶意释放的风险

- ✓ 标本和参比品系
- ✓ 病原体和毒素
- ✓ 疫苗和其他医药制品
- ✓ 微生物因子食品
- ✓ 遗传修饰生物体
- ✓ 非病原体微生物
- ✓ 地球外样品
- ✓ 细胞成分和遗传物质
- ✓ 放射性元素标记的生物学化合物

评估过程：2 风险分析

对上述危害源的风险进行预估，应考虑实验室内人员和外环境中人群和动物直接暴露于病原微生物的方式、强度、频率，分析每个风险发生的可能性。

等 级	发生可能	发生的可能性描述
1	少发生	仅在异常情况下可能发生
2	不大可能	有时可能会发生
3	可能	有时很可能发生
4	很可能	在大多数情况下可能会发生
5	几乎是确定发生的	在大多数情况下预计要发生

表1 风险产生的可能性

评估过程：3 风险评价

将识别和分析的风险进行评价，评估在未采取任何控制措施时固有风险发生事故的危害程度。如果数据充分可进行定量分析。

等级	危害程度	后果描述
1	轻微	不引起伤害，经济损失轻
2	轻度	急救处理，危险因子的逃逸能在现场立即得到限制
3	中度	需要医疗救护，危险因子的逃逸能在外部协助下得到控制，经济损失高
4	高度	伤害范围大，丧失生产能力，危险因子逃逸扩散但不具有有害后果，经济损失严重
5	灾难性	死亡，有毒害物质逃逸扩散且具有有害后果，经济损失非常严重

表2 事故发生的严重程度

评估过程：3 风险评价

对风险进行综合评价。后果的严重程度是重要指标，对可能产生灾难性后果的，无论发生频率多低，均视为高度风险。对高度风险，需要立即采取行动；对中度风险，必须明确后续处理；对低度风险，采用常规程序进行处理。

发生的可能性	后果的严重性				
	1轻微	2低度	3中度	4高度	5灾难性
5 几乎确定发生	中度	中度	高度	高度	高度
4 很可能	中度	中度	中度	高度	高度
3 可能	低度	中度	中度	高度	高度
2 不大可能	低度	低度	中度	中度	高度
1 少发生	低度	低度	中度	中度	高度

表3 对风险进行综合评价

评估过程：4 风险评估结论

对风险进行总体回顾，得出风险评估报告

- 病原微生物致病性和特征
- 实验相关活动
- 设施设备和环境要求
- 人员素质和专业技术资质要求
- 菌（毒）种和实验活动等风险管理要求
- 安保措施和应急预案

评估过程：5 风险控制措施

针对风险评估中的风险进行改进，并降低风险。在可能的前提时，宜首先考虑消除危险源，然后再考虑降低风险（降低潜在伤害发生的可能性或严重程度），最后考虑采用个体防护装备。

评估过程： 6 生物风险再评估

病原微生物相关信息不断更新和生物安全实验室活动的变更等因素，风险评估应是动态的。在下列情况下应进行风险再评估：

- 在生物安全实验室建造之前的风险评估，主要用于帮助生物安全实验室设计者与使用者确定实验室的规模、设施与合理布局，其评估结果可能针对性不够强或不够详细，与实际使用有差距。因此，在生物安全实验室正式启用前，应根据实际工作进行再评估。
- 当收集到资料表明所从事病原微生物的致病性、毒力或传染方式发生变化时，应对其背景资料及时变更，并对其实验操作的安全性进行重新评估。
- 增加新的研究项目，应对该项目的实验活动进行评估。
 - 在实验活动中分离到原评估报告中未涉及的致病性病原微生物。
 - 操作人员在进行实验活动中，发现存在原评估报告中未发现的隐患或者在检查过程中发现存在生物安全问题。
 - 在实验活动中发生微生物泄露或人员感染等意外情况时，应立即进行再评估。
 - 相关政策、法规、标准等变化时，需要风险再评估。
 - 生物安全实验室在运行过程中，每年应至少进行1-2次系统的定期再评估。

生物安全实验室的运行规范

生物安全2级 (BSL-2)

实验室的进入1

2.1 适用时，应符合BSL-1的要求。

- 未经批准，任何人不得进入实验室工作区域。儿童不得进入实验室工作区域。可能增加感染的危险性或感染后可能引起严重后果的人员不允许进入实验室或动物房。



实验室的进入2

- ❖ 实验室的门应保持关闭。
- ❖ 工作人员进入动物房应当经过特别批准。
- ❖ 与实验室工作无关的动物不得带入实验室。
- ❖ 参观人员需经过实验室负责人批准后方可进入，并进行登记。



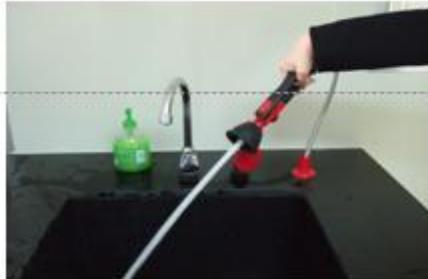
实验室的进入3

- ❖ BSL-2实验室门上应标有国际通用的生物危害警告标志，包括通用的生物危险性标志，生物安全的级别、实验室负责人姓名、紧急联系电话、以及进入实验室的特殊要求。



实验室的设备

- ❖ 2.4 应在实验室工作区配备洗眼装置。
- ❖ 2.5 应在实验室或其所在的建筑内配备高压蒸汽灭菌器或其他适当的消毒灭菌设备，所配备的消毒灭菌设备应以风险评估为依据。
- ❖ 2.6 应在操作病原微生物样本的实验间内配备生物安全柜。



工作人员的防护要求1

1. 在实验室工作时，必须穿着合适的工作服或防护服。

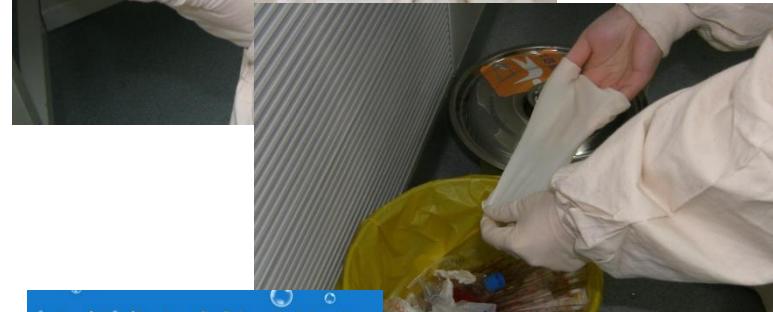
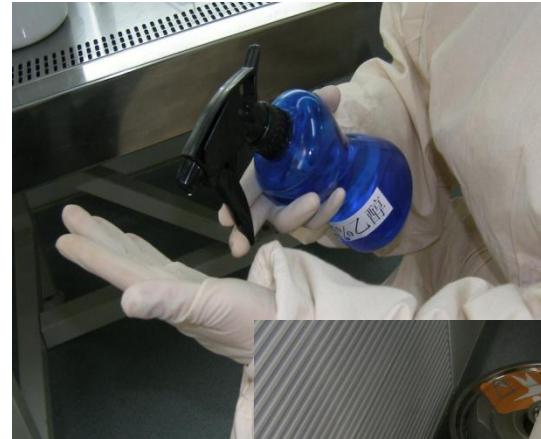


三级防护

- ❖ 一级生物安全防护：医用外科口罩、乳胶手套、工作服，加手卫生，可戴医用防护帽。
- ❖ 二级生物安全防护：医用防护口罩或N95口罩、乳胶手套、工作服外隔离衣、医用防护帽，加手卫生。必要时（比如有喷溅风险）可加护目镜。
- ❖ 三级生物安全防护：医用防护口罩或N95、单或双层医用防护帽、面屏、护目镜、双层乳胶手套（条件许可，可以不同颜色）、工作服外防护服、鞋套，加手卫生。必要时双层口罩（外医用外科口罩，内N95或医用防护口罩）。
- ❖ 特殊防护：比如患者剧烈咳嗽且没有呼吸道屏障时，在三级防护的基础上，可以双层防护服或防护服外加隔离衣、双层口罩（外医用外科口罩，内N95或医用防护口罩）、全面型呼吸防护器、三层乳胶手套、双层医用防护帽等。
- ❖ **防护底线：必须要有医用口罩、工作服、手套。**

工作人员的防护要求2

2. 在进行可能接触到血液、体液以及其他具有潜在感染性的材料或感染性动物的操作时，应戴上合适的手套。手套用完后，应先消毒再摘除，随后必须洗手。



3. 在处理完感染性实验材料和动物后，以及在离开实验室工作区域前，都必须洗手。

工作人员的防护要求3

4. 为了防止眼睛或面部受到喷溅物的污染、碰撞或人工紫外线辐射的伤害, 必须戴合适的安全眼镜、面罩(面具)或其他防护设备。



工作人员的防护要求4

5. 严禁穿着实验室防护服离开实验室工作区域。
6. 不得在实验室内穿露脚趾的鞋。
7. 禁止在实验室工作区域进食、饮水、吸烟、化妆和处理隐形眼镜。



工作人员的防护要求5

7. 禁止在实验室工作区域储存食品和饮料。
8. 在实验室内用过的防护服不得和日常服装放在同一柜子内。



有关操作的指导原则1

- ❖ 严禁用口吸移液管，严禁将实验材料置于口内。严禁舔标签、咬笔头等。
- ❖ 所有的实验操作要按尽量减少气溶胶和微小液滴形成的方式来进行。
- ❖ 气溶胶 (aerosol) 由固体或液体小质点分散并悬浮在气体介质中形成的胶体分散体系，又称气体分散体系。其大小为0.001~100微米，分散介质为气体。



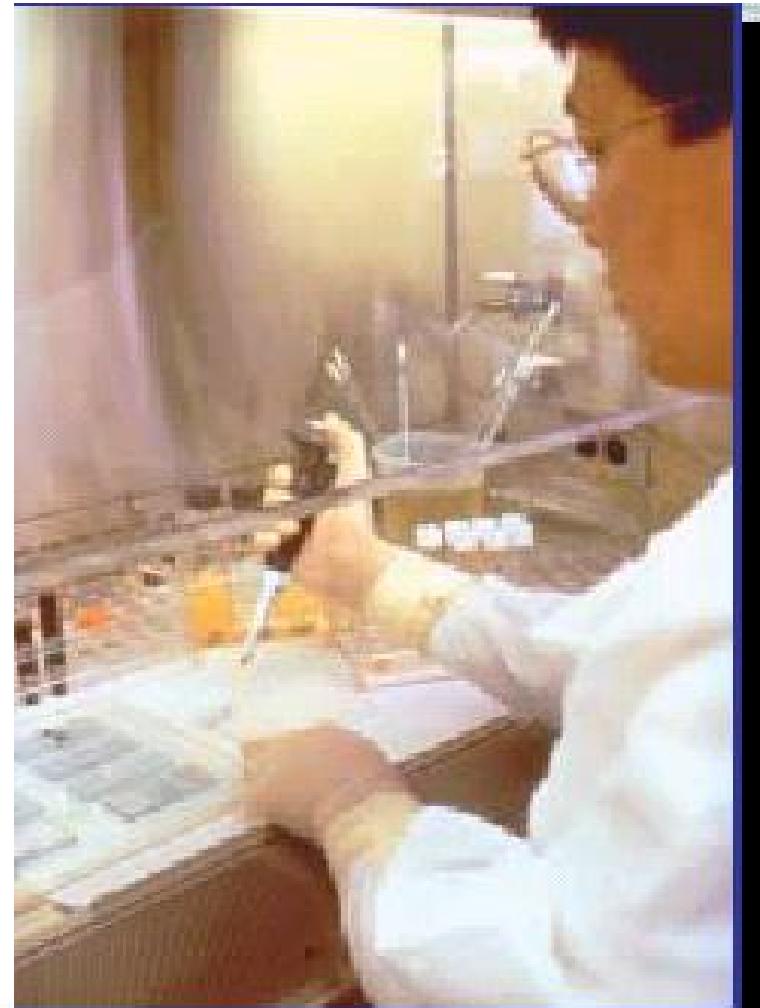
有关操作的指导原则2

- ❖ 应限制使用注射针头和注射器；不要打碎注射器、弯曲注射针头、用后装上针头套、重复使用针管或针头；
- ❖ 不要把针头或利器放在办公室的垃圾收集处，可使用利器收集器收集；
- ❖ 不要用手直接接触破碎的玻璃；



有关操作的指导原则3

- ❖ 可能产生致病微生物气溶胶或出现溅出的操作均应在生物安全柜或其他物理抑制设备中进行
- ❖ 处理高浓度或大容量感染性材料均必须在生物安全柜或其他物理抑制设备中进行



实验室工作区的管理原则1

- ❖ 实验室应保持清洁整齐，严禁摆放和实验无关的物品。
- ❖ 每天工作结束后应清除工作台面的污染。若发生具有潜在危害性的材料溢出应立即清除污染。
- ❖ 所有受到污染的材料、标本和培养物在废弃或清洁再利用之前，必须先清除污染，比如高压。
- ❖ 需要运出实验室的灭活物品
- ❖ 必须放在密闭容器内。



实验室工作区的管理原则2

- ❖ 感染性材料的包装和运输应遵循国家和 / 或国际的相关规定。
- ❖ 如果窗户可以打开，则应安装防止节肢动物进入的纱窗。



实验室工作区的管理原则3

- ❖ 污染的液体在排放到生活污水管道以前必须清除污染（采用化学或物理学方法）。根据所处理的微生物因子的危险度评估结果准备专门的污水处理系统。
- ❖ 只有保证在实验室内没有受到污染的文件纸张才能带出实验室。
- ❖ 实验室应制订并执行处理溢出物的标准操作程序。出现溢出、事故以及明显或可能暴露于感染性物质时，必须向实验室负责人报告。实验室应如实记录有关暴露和处理的情况，保存相关记录。

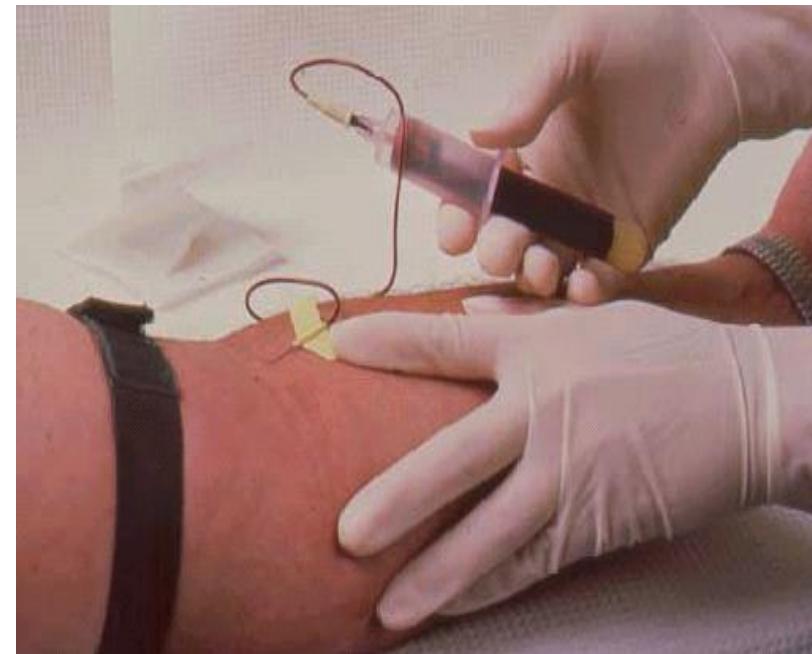
生物安全管理的指导原则1

- ❖ 实验室负责人负责制订和采用生物安全管理计划以及实验室安全或/和操作手册。
- ❖ 实验室应能提供常规的实验室安全培训（每年都要进行相关培训），并且建立制度。
- ❖ 实验室负责人（或生物安全负责人）要将生物安全实验室的特殊危害告知实验室人员，同时要求他们阅读生物安全或/和操作手册，并遵循标准的操作程序。实验室应备有可供取阅的安全或/或操作手册。所有实验室人员必须经过培训，了解所从事工作的危险、掌握有关的管理规定和操作程序，通过考核后方可从事相关实验室工作。



生物安全管理的指导原则2

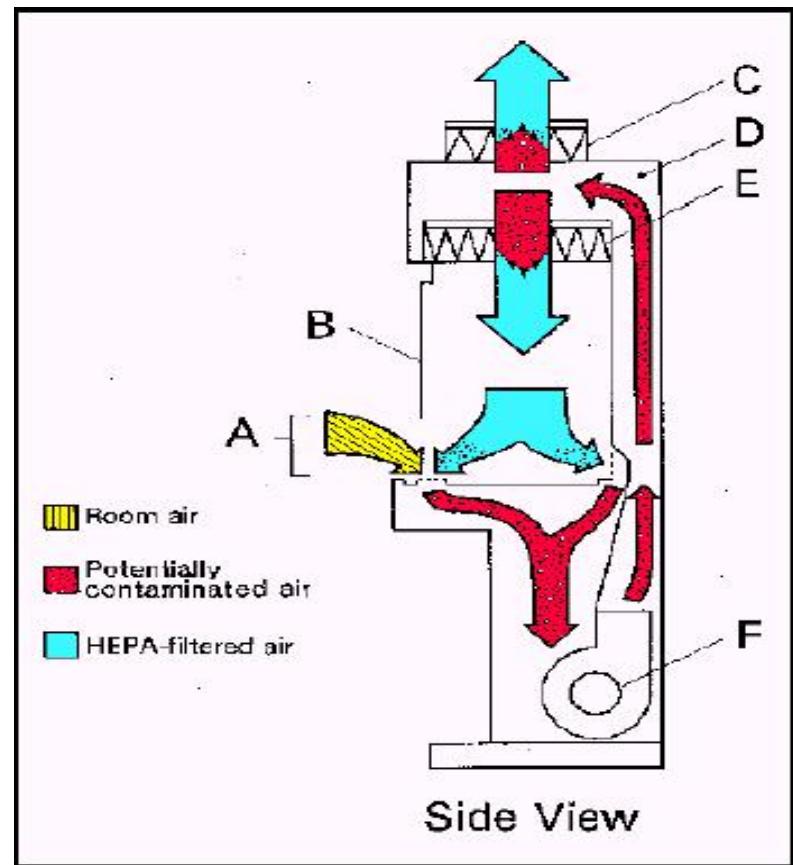
- ❖ 如有必要，应为所有实验室人员提供适宜的医学评估、监测和治疗，并建立健康档案（保留基线血清样品和必要的预防接种）。



生物安全柜的使用规范

生物安全柜的作用

- ① 产品的保护；
- ② 操作者保护；
- ③ 环境保护。



高效空气过滤器(HEPA 过滤器) high efficiency particulate air filter

通常以 $0.3 \mu\text{m}$ 微粒为测试物, 在规定的条件下滤除效率高于 99.97% 的空气过滤器。

安全柜的分类与比较

	前窗气流 (m/s)	气流组分 (%)		排气连接
		循环气流	排出气流	
I 级	>0.4	0	100	硬管式连接
A1型	>0.4	70	30	排入室内或套管（罩）式连接
A2型	>0.5	70	30	排入室内或套管（罩）式连接
B1型	>0.5	30	70	硬管式连接
B2型	>0.5	0	100	硬管式连接
III级	>0.7*	0	100	硬管式连接

生物安全柜的操作要点

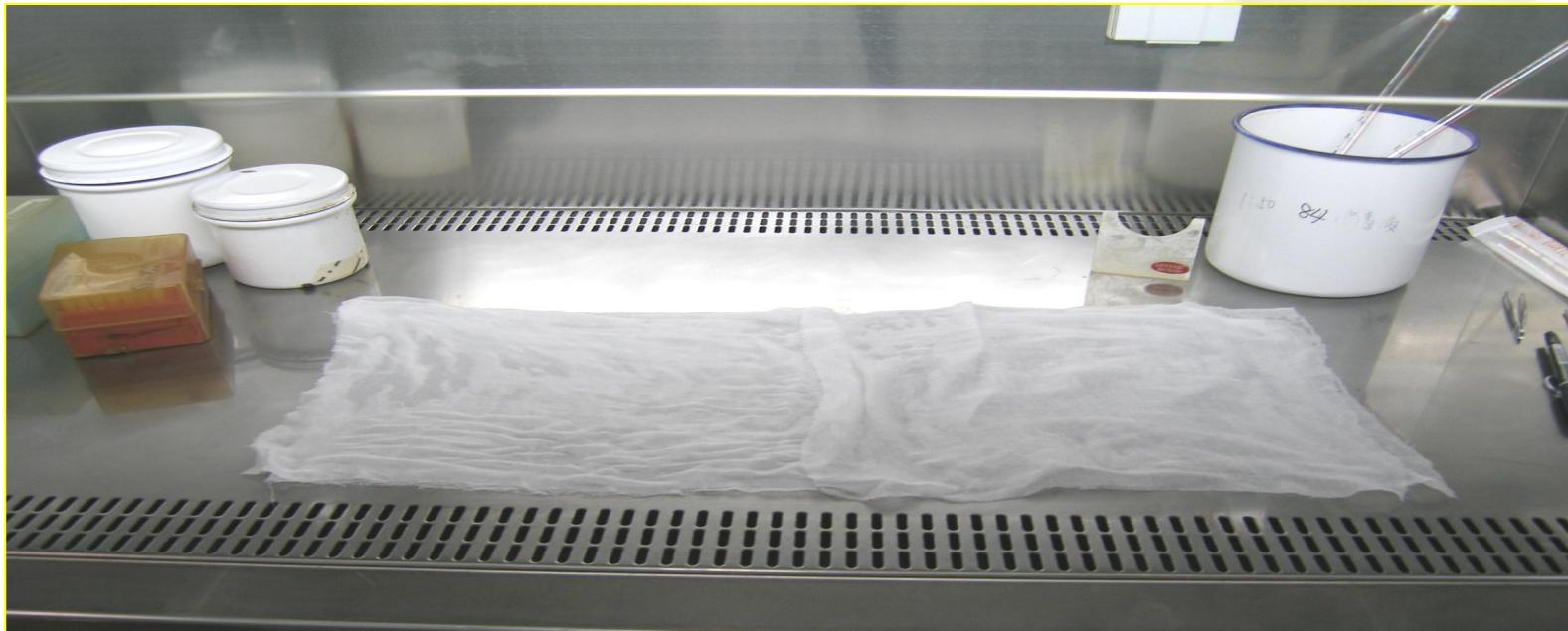
紫外灯消毒

1. 在开始工作前把本次工作所有器材放入BSC；
 2. 打开BSC，让气体流动5-10分钟；
 3. 检查操作口的气流方向是否向内；
 4. 直线方向进入BSC，其内的操作要缓慢而规则；
 5. 操作完成后对移出BSC的器材进行必要消毒；
 6. 对BSC内部进行消毒处理；
 7. 让BSC再运转5-10分钟；
 8. 关机。
- 禁止在BSC内使用酒精灯

紫外灯消毒

物品摆放与污染预防措施

1. 生物安全柜内应尽量少放仪器和物品，只摆放本次工作所需的物品；
2. 器材预先放入BSC，不要放在前排的气道网架上，也不要阻塞后面气口处的空气流通。

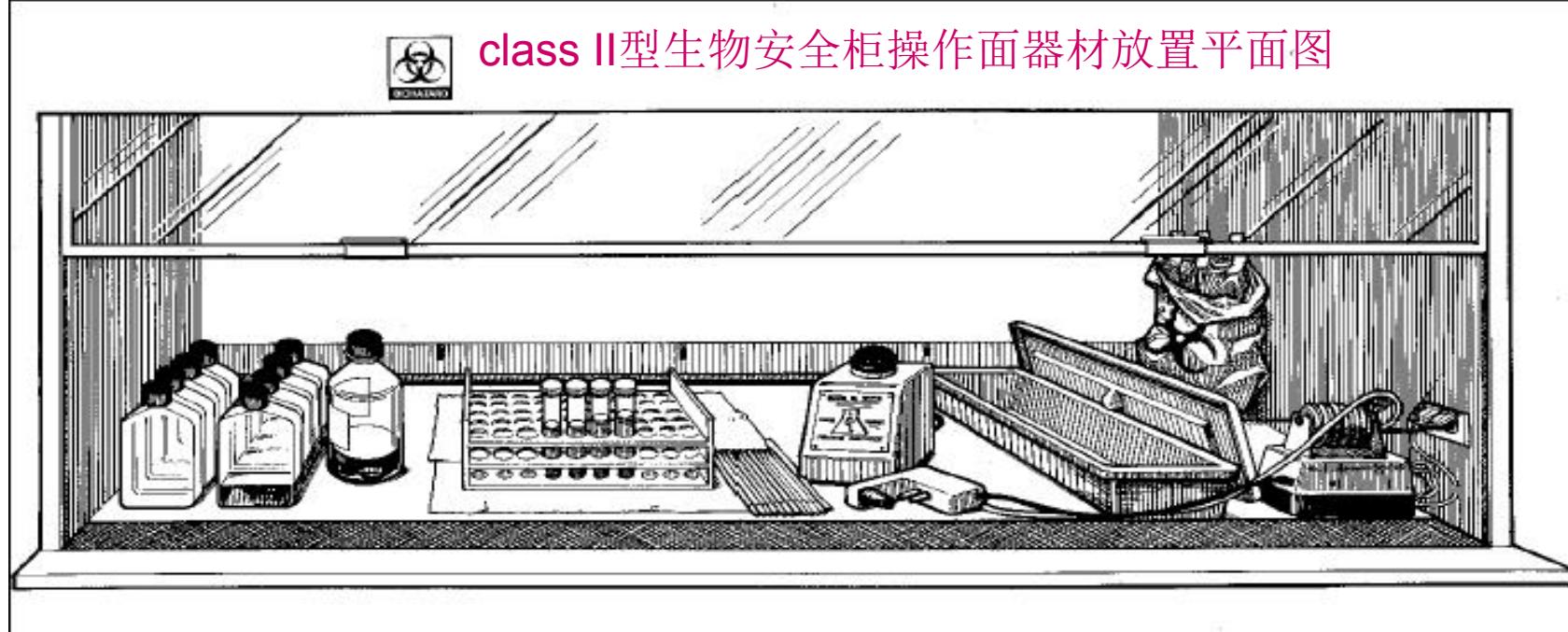


物品摆放与污染预防措施

3. 操作时废物袋或废物盘应放置在BSC内；污染的吸管、器材在移出BSC前要消毒；
4. 洁净物品和使用过的污染物品要分开放在不同区域，操作应从清洁区到污染区的方向进行，以免交叉污染；



class II型生物安全柜操作面器材放置平面图



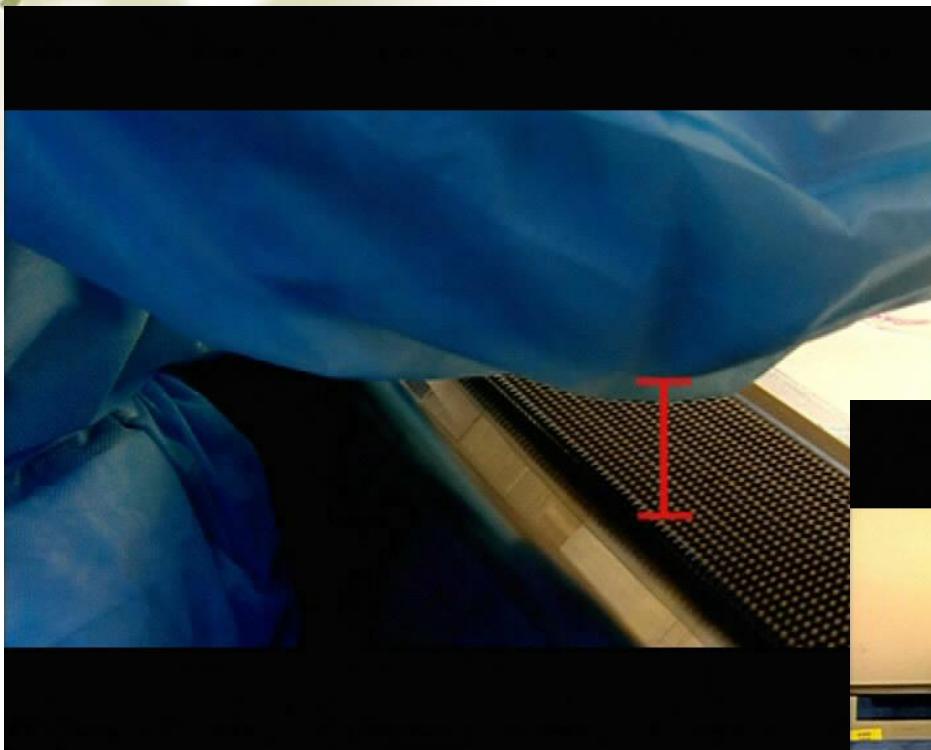
物品摆放与污染预防措施

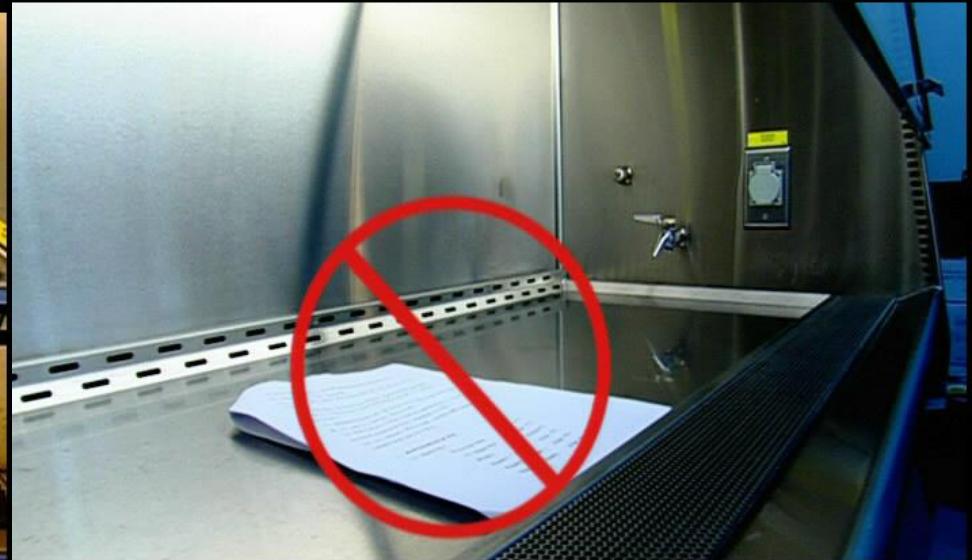
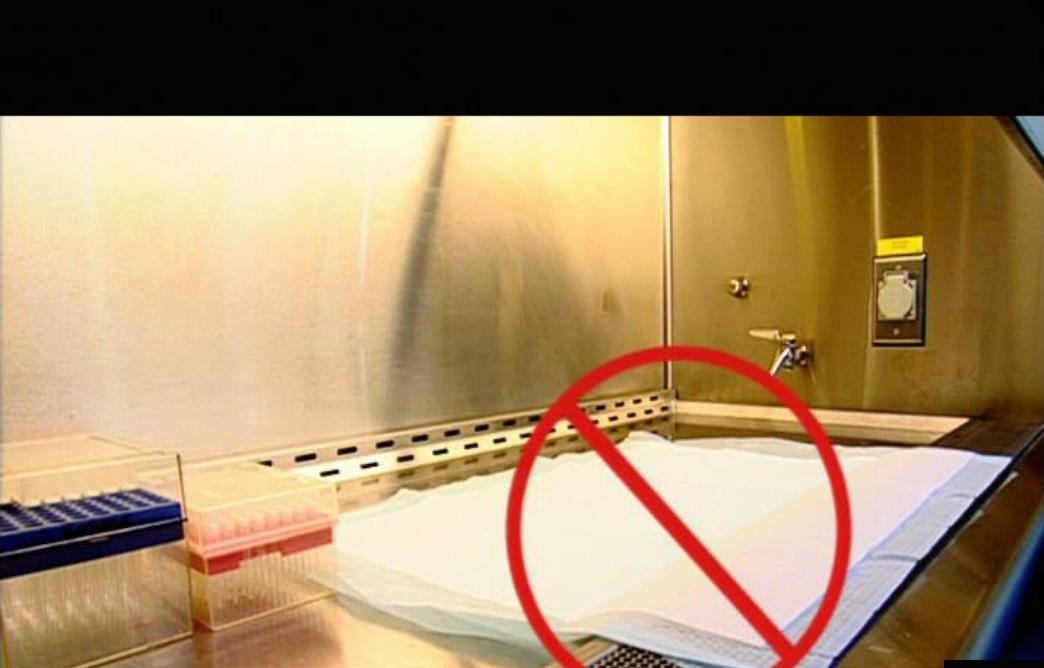
5. 在安全柜内的操作都要在工作台中央或后部进行，操作者不要频繁移动及挥动手臂以免破坏定向气流；
6. 尽量减少操作者背后人员的走动以及快速开关房间的门，以防对生物安全柜的气流造成影响；
7. 禁止将工作用纸放在生物安全柜内。

生物安全柜内感染性材料溢洒的处理

1. 当发生少量溢洒时，应用吸水纸巾立即处理，并立即用浸满消毒液的毛巾或纱布对生物安全柜及其内部的所有物品进行擦洗。工作面消毒后应更换手套，不论是摘下手套还是更换手套都要洗手。
2. 若发生大量溢洒，液体会通过生物安全柜前面或后面的格栅流到下面去，生物安全柜内所有的物品都应该进行表面消毒并拿出生物安全柜，在确保生物安全柜的排水阀被关闭后，可将消毒液倒在工作台面上，使液体通过格栅流到排水盘上。所有接触溢出物品的材料都要进行消毒和/或高压灭菌处理。

生物安全柜的操作要点





生物安全柜的维护

❖ 检测项目：

- ❖ 垂直气流平均速度
- ❖ 气流模式
- ❖ 工作窗口气流平均速度
- ❖ 送风高效过滤器检漏
- ❖ 排风高效过滤器检漏
- ❖ 工作区洁净度
- ❖ 柜体内外的压差（适用于 III 级生物安全柜）
- ❖ 工作区气密性（适用于 III 级生物安全柜）

❖ 检测时机：

- ❖ 安装后，投入使用前（包括 生物安全柜被移动位置后）；
- ❖ 更换高效空气过滤器或内部 部件维修后；
- ❖ 年度的维护检测。



■ 风险

- (1) 安全柜内气流外逸：垂直风速高，窗口风速低，可能造成安全柜内气体外逸，安全柜内气体直接吹向操作人员，风险极大。
- (2) 送风高效破损（或窗口风速过大）：会造成安全柜内样品的污染。
- (3) 排风高效过滤器破损：污染物直接排向了实验室或大气。



实验室其他仪器设备的使用规范

压力蒸汽灭菌器的种类

- ❖ 按冷空气排放方式：下排气 预真空
- ❖ 按蒸汽来源

 外来：集中供汽 随灭菌器的电蒸汽锅炉供气

 自身：加热灭菌锅内的水产生蒸汽

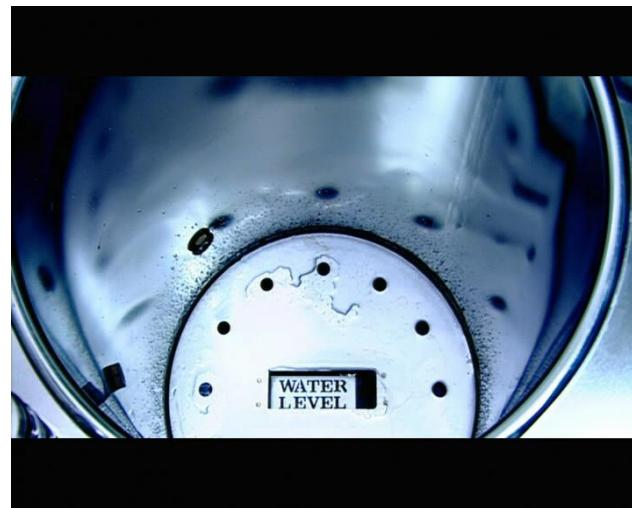
- ❖ 按门的种类： 单侧开门 双侧开门
- ❖ 按灭菌器的形状大小

 大型、小型

 立式、卧式、台式、移动式、快速

 普通压力蒸汽灭菌器在设计时一般不考虑排出的冷空气对环境的污染，但处理有传染性的物品时需要对冷空气进行消毒处理，特别是生物安全实验室处理试验废物的压力蒸汽灭菌器在排气管道上都应该有冷空气消毒处理装置。

高压灭菌器的使用



高压灭菌器使用注意事项

下列规定能够减少操作压力容器时可能发生的危害：

1. 应由受过良好培训的人员负责高压灭菌器的操作和日常维护。
2. 预防性的维护程序应包括：由有资质人员定期检查灭菌器柜腔、门的密封性以及所有的仪表和控制器。
3. 应使用不含腐蚀性抑制剂或其他化学品饱和蒸汽，否则可能污染灭菌的物品。
4. 所有需要高压灭菌的物品都应放在空气能够排出并具有良好热渗透性的容器中；灭菌器柜腔装载要松散，以便蒸汽可以均匀作用于装载物。

仪器相关危险

皮下注射针头

意外接种

离心机

产生气溶胶或感染性物质溢出

产生气溶胶、溅出和管子破裂

超速离心机

管子破裂

水浴

微生物生长, 叠氮化钠和一些金属
形成爆炸复合物

干燥器

爆裂、瓶子碎片和感染性物质飞出

高速搅拌器, 组织匀浆器

飞沫、渗漏和容器破裂

超声波破碎机、超声波清洁器

产生气溶胶、听力受损、皮炎

培养物搅拌器, 混合器, 搅拌器

产生气溶胶、喷溅和溢出

冻干机 (冷冻干燥机)

产生气溶胶、直接接触污染

离心机的使用

- 所有的离心机应处于正常的工作状态并具有合格的机械性能，要根据厂家的说明书进行操作。
- 离心机应放到适宜的位置和高度，以使工作人员能看见离心桶并便于进行各项操作。
- 用于离心的离心管和标本容器应该根据厂家要求选用，最好使用塑料制品，而且在使用前应检查有无破损。必须在安全柜内打开盖子。



离心机的使用

- 对于高致病性病原微生物，必须要高度警惕离心过程中产生的气溶胶风险。
 - 大型离心机上应加装负压罩，以及时吸出离心机排出的气体，并排至实验室的过滤通风系统，在BSL-3及以上级别实验室尤其要注意。
 - 微型离心机则可放在安全柜内离心
 - 如果不能在安全柜内离心也无负压罩，则必须将密封的转头在安全柜内打开。
 - 所有的离心管必须带盖密封，其开启应在安全柜内进行。

搅拌器、振荡器、混匀器 和超声波破碎仪的使用

- 当使用匀浆器、振荡器和超声波破碎仪时，应有防护装置，或在生物安全柜里操作。使用涡旋振荡器时，必须在生物安全柜内操作，并且操作的容器必须为密闭的，以避免产生气溶胶和发生液体溅洒。
- 在操作结束后，应在生物安全柜里开启容器。

冰箱和速冻器的使用和保养

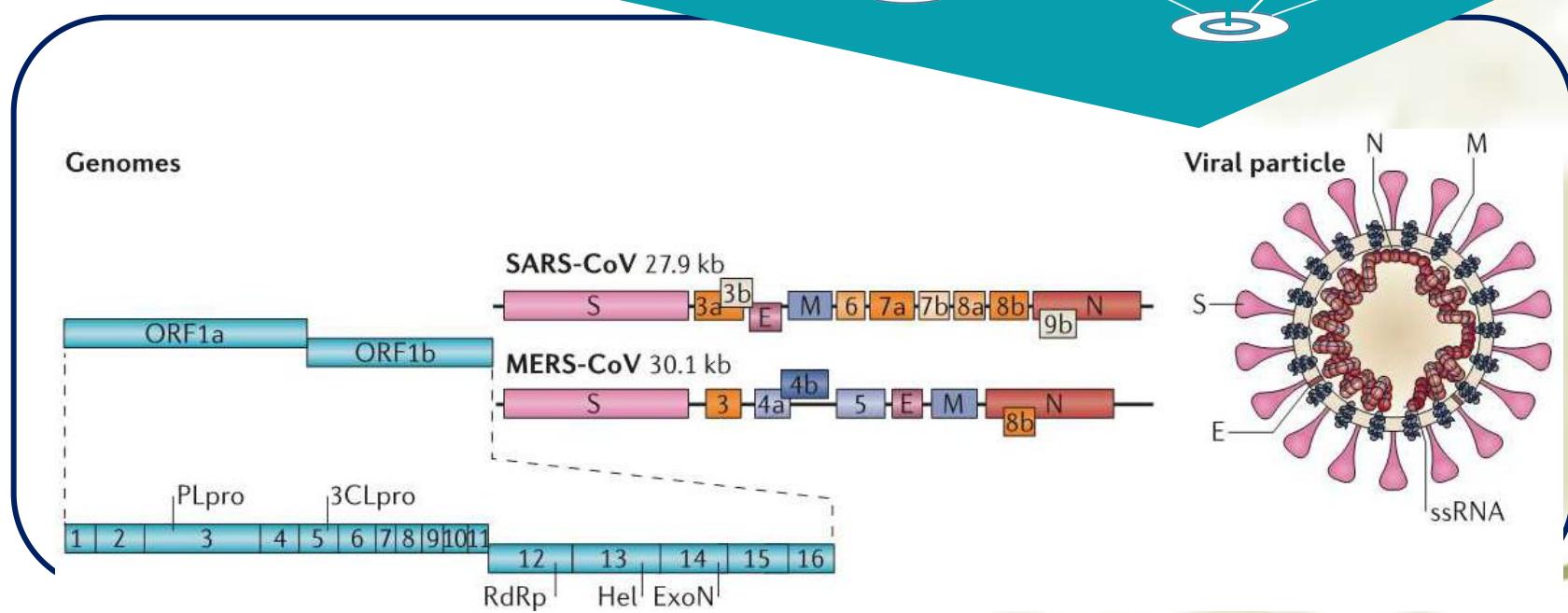
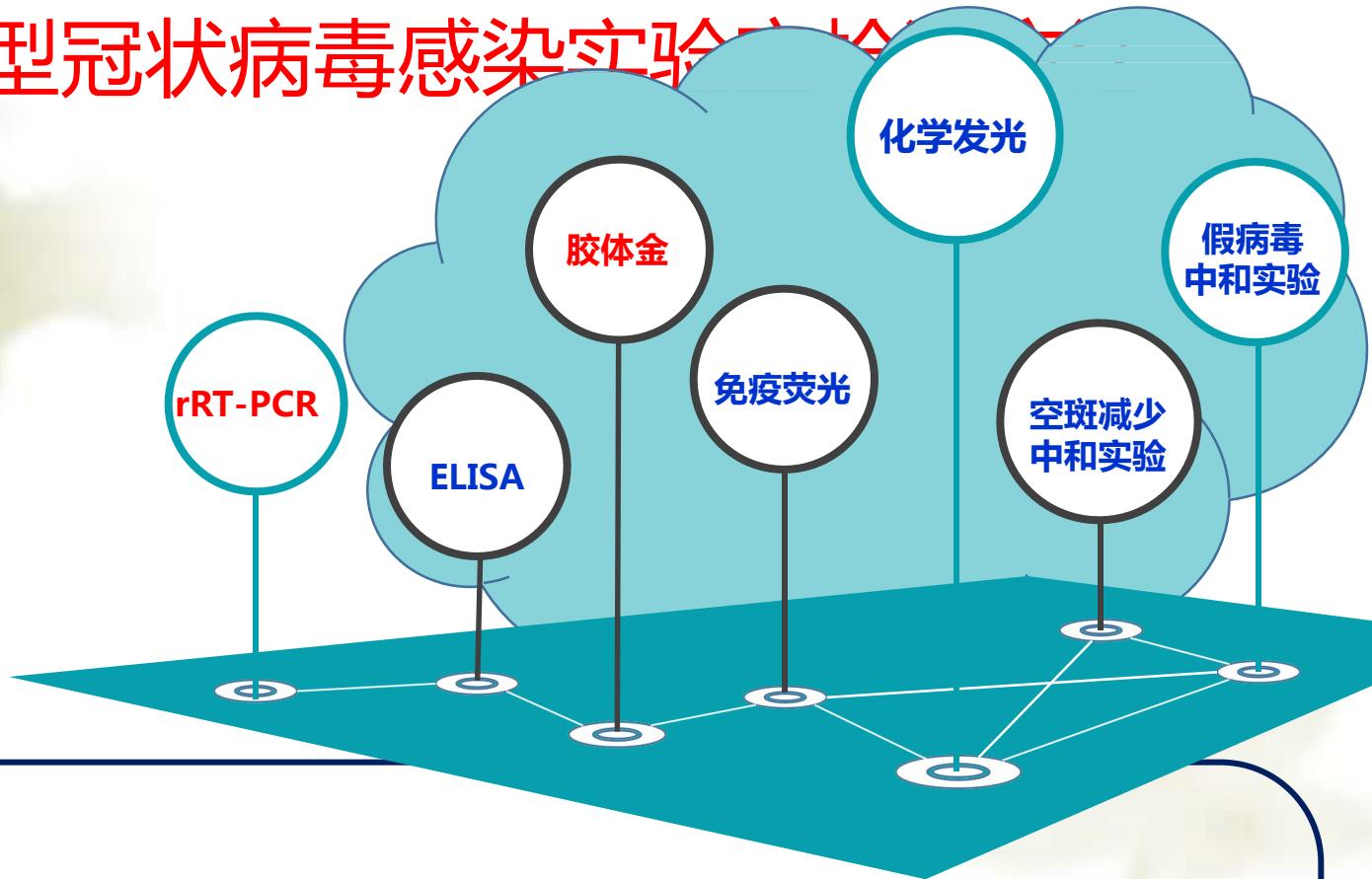
- 冰箱、低温冰箱和固体干冰盒要定期除霜和清扫。其中所有的安瓿、冻存管等在贮存过程中已破裂的要及时拿走。在清扫的过程中应配戴面部保护装置并戴手套，清扫后，抽屉内表面应消毒处理。
- 所有保存在冰箱里的容器等，都应该有清楚的标签，并且标签上有内容物的科学命名、贮存日期和贮存人姓名。无标签的和过期的材料应高压灭菌后丢弃。对于冰箱内的储存物应有详细的目录。
- 严禁将易燃液体保存在冰箱里，冰箱的门上应张贴这方面的注意事项。

新冠检测

- ❖ 采样生物安全
- ❖ 检测生物安全
- ❖ 消毒、废弃物处置、标本接收、转运、等

第二类病原微生物

新型冠状病毒感染实验室检测



病原生物安全实验活动要求

（一）病毒的培养：

指病毒的分离、培养、滴定、中和试验、活病毒及其蛋白纯化、病毒冻干以及产生活病毒的重组实验等操作。上述操作应当在生物安全三级实验室的生物安全柜内进行。使用病毒培养物提取核酸，裂解剂或灭活剂的加入必须在与病毒培养等同级别的实验室和防护条件下进行，裂解剂或灭活剂加入后可比照未经培养的感染性材料的防护等级进行操作。实验室开展相关活动前，应当报经国家卫生健康委批准，取得开展相应活动的资质。



（二）动物感染实验

指以活病毒感染动物、感染动物取样、感染性样本处理和检测、感染动物特殊检查、感染动物排泄物处理等实验操作，应当在生物安全三级实验室的生物安全柜内操作。实验室开展相关活动前，应当报经国家卫生健康委批准，取得开展相应活动的资质。

❖ **（三）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、核酸提取、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。

（四）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。分子克隆等不含致病性活病毒的其他操作，可以在生物安全一级实验室进行。

检测3

- ❖ 核酸检测
- ❖ 抗体检测
- ❖ 人员：室由经过相关技术安全培训的人员进行操作
- ❖ 场地：生物安全二级实验室
- ❖ 个人防护
- ❖ 试剂和设备

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。

谢谢聆听！

