

实验室生物安全管理

杭州市疾病预防控制中心
倪晓平



硬件赶超，软件差距依旧

- 各国对实验室生物安全的管理要求是一致，我国与发达国家相比，大部分的实验室硬件比较好，但在人员素质与管理水平尚存差异；
- 从宏观上来讲，普及推广BSL-2实验室，适当建设BSL-3实验室，控制BSL-4实验室。
- 实验室相关性感染（LAI）防控意识淡薄。



三起 SARS 实验室感染

- 1、新加坡（2003年9月8日）：新加坡国立大学实验室，在P₃实验室同时开展西尼罗病毒与SARS病毒的研究，使一位27岁华人研究员感染；
- 2、台湾省（2003年12月6日）：国防大学预防医学研究所，一名47岁的中校研究员，在P₃实验室内清理SARS实验后的废弃废物时，未戴手套，因而感染；
- 3、北京市（2004年4月22日）：中国CDC病毒所，跨室开展SARS病毒研究，并引发三代、9例病例，1例死亡；另有两例“隐性”感染者。



生物安全防护的有关概念

- 生物安全防护（**bio-safety containment**）是指避免生物危险因子，特别是对生物体包括实验室工作者在内的人员的伤害和对环境的污染的意识 and 措施。实验室生物安全防护分为一级防护/屏障（**primary barriers**）和二级防护/屏障（**secondary barriers**）。



生物安全防护的有关概念

- 一级防护/屏障（**primary barriers**）包括两方面：①生物安全柜（**biological safety cabinet, BSC**）和类似的设备等；②个人防护装备（**personal protective equipment, PPE**）。
- 二级防护/屏障（**secondary barriers**）指实验室屏障设施，各种一级与二级组合成不同防护水平级别的实验室。



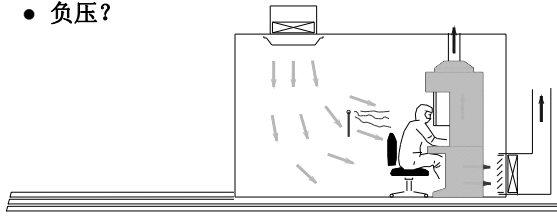
生物安全防护的有关概念

- 生物安全柜（**biological safety cabinet, BSC**）是直接操作危险微生物时所使用的设备；其功能是保护操作者、环境与样本；分 I、II（II A1、II A2、II B1、II B2）、III 级。



生物安全实验室的气流组织

- 推荐气流“上送下回”、“由洁到污”；
- 避免或关注“上送上回”；
- 气流“由外而内”；
- 负压？



生物安全实验室的送排风形式

- 实验室的送排风形式最好采用上送下排，也可采用上送上排方式，但应注意送风口和排风口的位置要合理，一般要求送风口应设在房间入口处上方，排风口宜设在房间最里侧，使风向形成对流气流。



生物安全柜 (Biological safety cabinets, BSCs)

- 是为操作原代培养物、菌毒株以及诊断性标本等具有感染性的实验材料时，用来保护操作者本人、实验环境以及实验材料，使其避免暴露于上述操作过程中可能产生的感染性气溶胶和溅出物而设计的



生物安全柜 (BSC) 分类

EN12469 - 标准分类

- Class I
- Class II
- Class III

NSF49 - 标准分类

- Class II Type A1
- Class II Type A2
- Class II Type B1
- Class II Type B2

- NSF49仅适用于 Class II 含所属类型
- EN12469 Class III 以及 NSF49 Class II Type A2 基本上是一样的
- Class II Type A1 & B1 在欧洲以及美国很少见
- Class II Type B2 并没有在欧洲被使用
- Class II BSC 是世界各地最普遍使用的

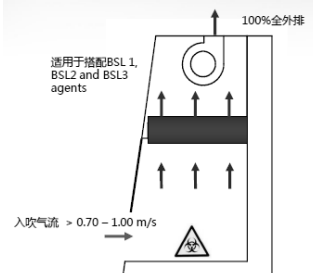
I 级BSC

- 房间空气从前面的开口处以0.38m/s ~ 0.70m/s进入安全柜，空气经过工作台面，并经排风管排出安全柜
- I 级BSC能够为人员和环境提供保护，也可用于操作放射性核素和挥发性有毒化学品。



I Class BSC

Class I (EN12469)



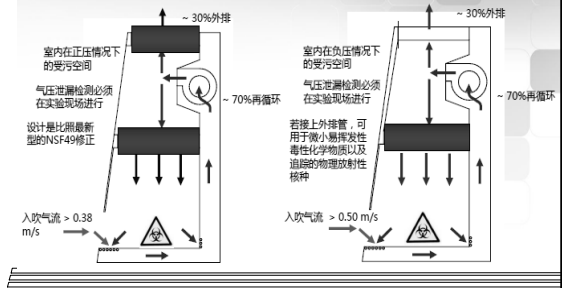
II 级BSC

- II级BSC操作窗口风速在0.40m/s以上，不但提供个体防护，而且能保护工作台面的物品和房间空气的污染。II级BSC有四个型号(A1、A2、B1、B2型)，应根据操作标本特点选择型号
- II级BSC可操作危险度2级、3级的感染性物质。A型BSC适用于非气溶胶传播的病原体；B型BSC适用于气溶胶。



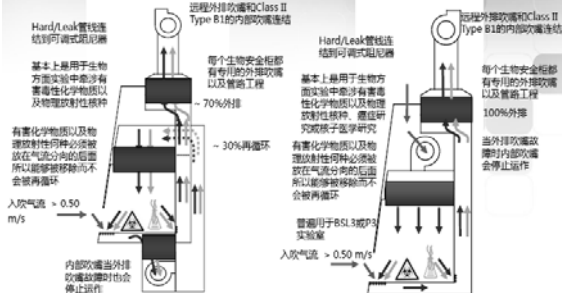
A Class BSC

Class II Type A1 (NSF49) Class II Type A2 (NSF49)



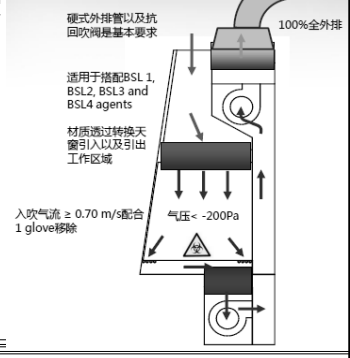
B Class BSC

Class II Type B1 (NSF49) Class II Type B2 (NSF49)



III Class BSC

Class III (EN12469)



III级生物安全柜

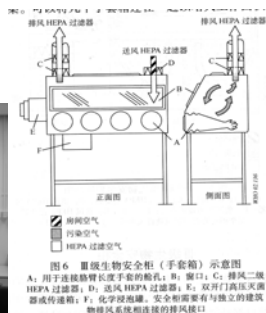


图6 III级生物安全柜(手套箱)示意图
A: 用于连接操作者手套的袖套; B: 窗口; C: 排风二级HEPA过滤器; D: 送风HEPA过滤器; E: 双开门高压灭菌器或传递箱; F: 化学浸透层。安全柜需要有与独立的建筑物排风系统相连接的排风接口。

生物安全等级	病原体	操作	一级屏障及安全设备	二级屏障(设施)
1	不引起健康成人发病	微生物标准操作规程	无要求	实验工作台和洗手池
2	<ul style="list-style-type: none"> 与人类疾病相关的病原体 以皮肤伤口、消化道、粘膜接触为传播途径的病原体。 	BSL-1 另加: <ul style="list-style-type: none"> 限制进入; 生物危害警示; “锐器”预防措施; 生物安全手册中详细规定废弃物控制或健康监护政策。 	一级屏障: <ul style="list-style-type: none"> 所有可能引起飞溅或产生传染性气溶胶的病原体, 均在 I 级或 II 级 BSC 或其它物理控制装置中进行; PPE: <ul style="list-style-type: none"> 实验室防护服: 手套; 必要时进行呼吸防护 	BSL-1 另加: <ul style="list-style-type: none"> 压力灭菌器
3	<ul style="list-style-type: none"> 可能通过气溶胶传播的本土或外来病原体; 可引起严重或致命性后果的病原体。 	BSL-2 另加: <ul style="list-style-type: none"> 控制进入; 所有废弃物均应消毒; 实验服在洗涤前应先消毒; 留取工作人员基线血清。 	一级屏障: <ul style="list-style-type: none"> 所有病原体操作, 均在 I 级或 II 级 BSC 或其它物理控制装置中进行; PPE: <ul style="list-style-type: none"> 实验室防护服: 手套; 必要时进行呼吸防护。 	BSL-2 另加: <ul style="list-style-type: none"> 与入口通道物理隔离; 自动闭合门, 双门禁; 空气外排, 不循环使用; 实验室内负压气流。

感染性气溶胶

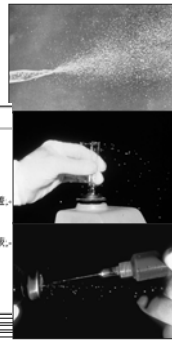
多数实验室操作可产生感染性气溶胶，例如：

- 琼脂培养皿上划线接种
- 用吸管接种细胞培养瓶
- 采用多道加样器转移感染性的混悬液
- 室内感染性物质进行匀浆及漩涡振荡
- 感染性液体进行离心
- 实验动物的各类操作
- 酒精灯上消毒接种环
-



可产生微生物气溶胶的实验室操作

轻度(<10个颗粒)	中度(11~100个颗粒)	重度(>100个颗粒)
玻片凝集试验	腹腔接种动物，局部不涂消毒剂	离心时离心管破裂
颠倒培养	实验动物尸体解剖	打开干燥菌种安瓿
火焰上灼热接种环	用乳钵研磨动物组织	打开干燥菌种安瓿
瓶内接种	离心沉淀后注入、倾倒、混悬菌液	搅拌后立即打开接种器皿
接种鸡胚或抽取鸡胚培养	菌液滴落在不同表面上	小白鼠鼻内接种
	用注射器从安瓿中抽取菌液	注射器针尖脱落喷出菌液
	接种环接种平皿、试管或三角烧瓶等	刷衣服、拍打衣服
	打开培养容器的螺旋瓶盖	
	摔碎带有培养物的平皿	



感染性气溶胶

- 实践证明，正确使用BSC可以有效减少由于气溶胶暴露所造成的实验室人员的感染性物质的暴露以及实验标本交叉污染，同时也能保护实验室环境；
- 超净工作台（水平、垂直）只对实验标本的保护，故不能用于生物安全操作。



BSC选择原则

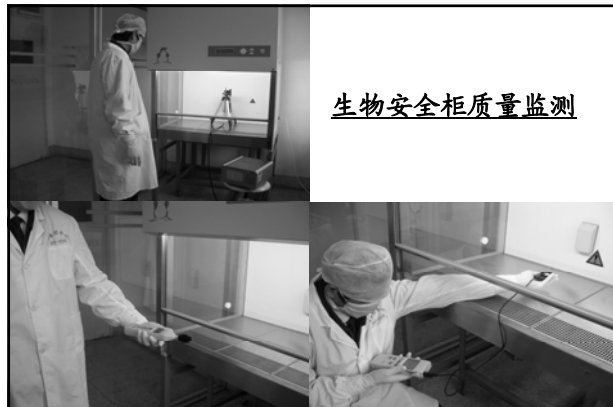
- 根据病原体传播途径
- 根据标本性质
- 根据财力

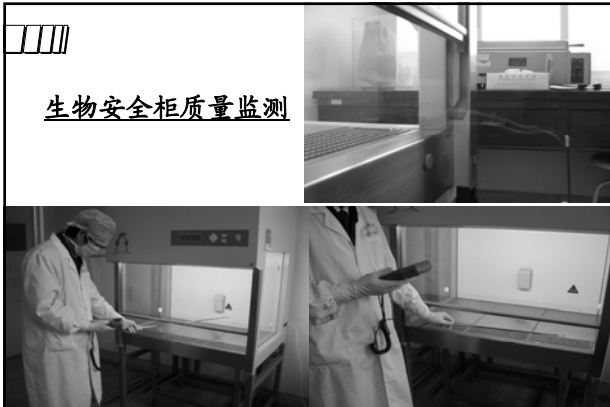


《生物安全实验室建筑技术规范》 GB50346-2004

序号	项 目	工 况	适 用
1	垂直气流平均速度	正常	II级
2	工作窗口气流流向	正常	I、II级
3	工作窗口气流平均速度	正常	I、II级
4	工作区洁净度	正常	II级
5	噪声	正常	I、II、III级
6	照度	正常	I、II、III级

生物安全柜质量监测





BSC的测漏试验

UDC
 中华人民共和国国家标准 GB
 P 65 98-002 GB 50346-2011
 2012.5.2

生物安全实验室建筑技术规范
 Architectural and technical code for biosafety laboratories

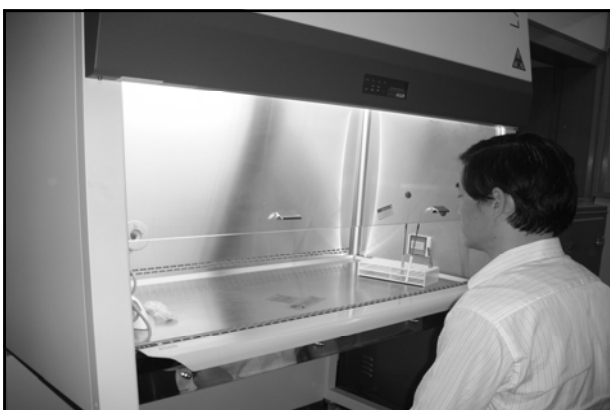
2011-12-05 发布 2012-05-01 实施
 中华人民共和国住房和城乡建设部 联合发布
 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局

项目	工况	执行条款	适用范围
垂直气流平均速度		本规范第 10.2.4 条	Ⅱ级生物安全柜、单向流罩
工作窗口气流流向		本规范第 10.2.5 条	Ⅰ、Ⅱ级生物安全柜、开敞式解剖台
工作窗口气流平均速度		本规范第 10.2.6 条	Ⅱ级和Ⅲ级生物安全柜、动物隔离设备、解剖台
气流过滤器效率		本规范第 10.2.10 条	Ⅲ级和Ⅳ级生物安全柜内使用的各级生物安全柜、动物隔离设备等核心、风柜双检测
噪声	正常	本规范第 10.2.9 条	各类生物安全柜、动物隔离设备
照度		本规范第 10.2.9 条	各类生物安全柜、动物隔离设备
箱体送风量		本规范第 10.2.11 条	Ⅱ级生物安全柜、动物隔离设备、TVC、手套柜式解剖台
箱体静压差		本规范第 10.2.12 条	Ⅱ级生物安全柜和动物隔离设备
箱体严密性		本规范第 10.2.13 条	Ⅱ级生物安全柜、动物隔离设备、手套柜式解剖台
手套口风速	人为操作	本规范第 10.2.14 条	

35

杭州市生物安全柜质量监测

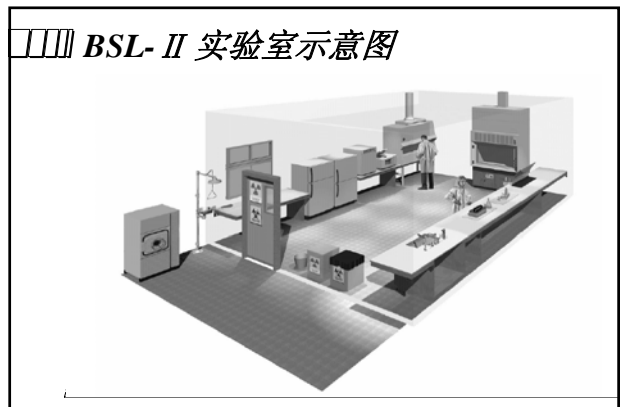
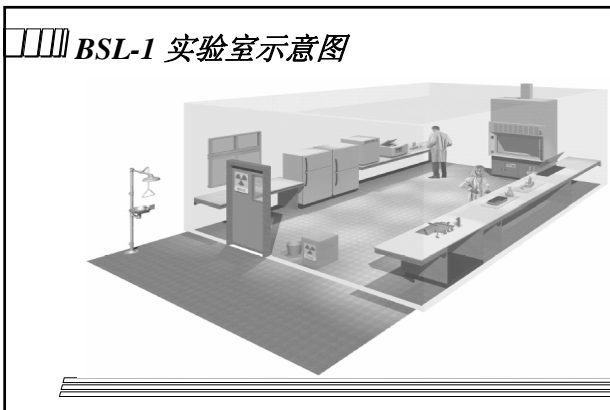
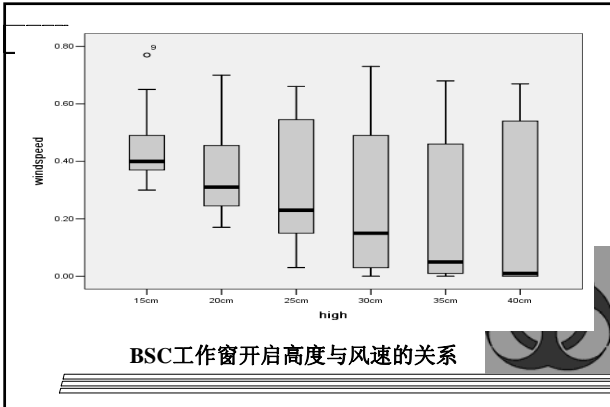
年份	监测数	合格数	合格率 (%)
2005	14	7	50.0
2006	34	23	67.6
2007	53	48	90.6
2008	41	35	85.4
2009	116	82	70.7



BSC工作窗开启高度与风速的关系

窗开启高度 (cm)	中位数 (m/s)	四分位间距 (m/s)
15	0.40	0.13
20	0.31	0.24
25	0.23	0.41
30	0.15	0.46
35	0.05	0.47
40	0.01	0.56

Kruskal-Wallis Test: $X^2=14.294, P=0.014$



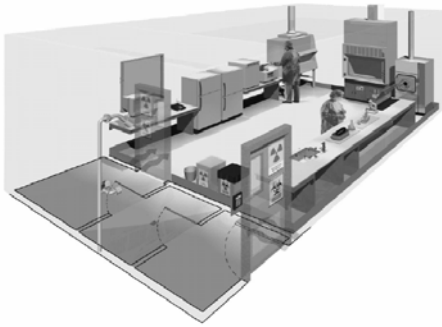
昆士兰大学: BSL-2实验室核心区



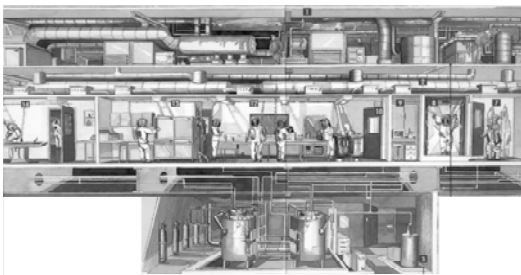
负压离心机罩



BSL-III 实验室示意图



BSL--4 实验室



BSL-III 实验室核心区



Researcher Working in a BSL-4



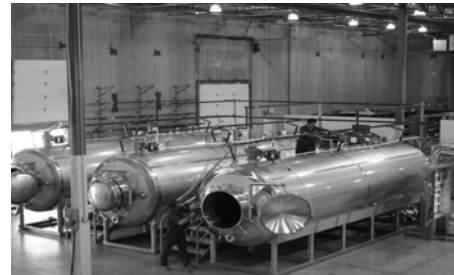
离开实验室前的洗消措施



热力消毒洗手废水的处理装置



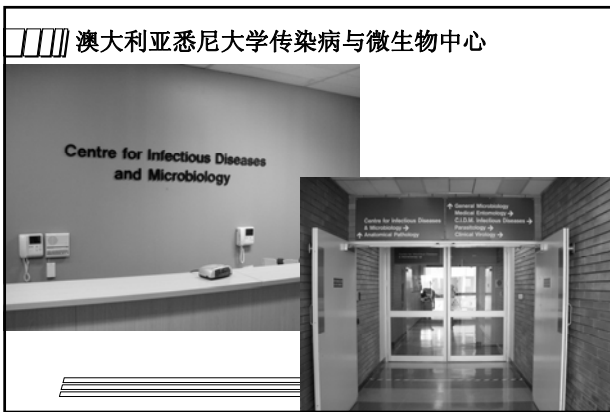
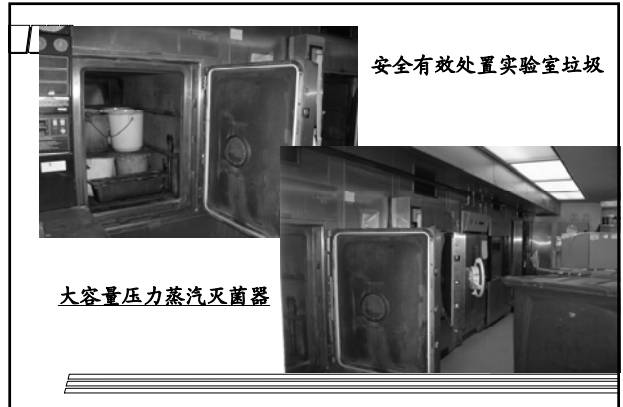
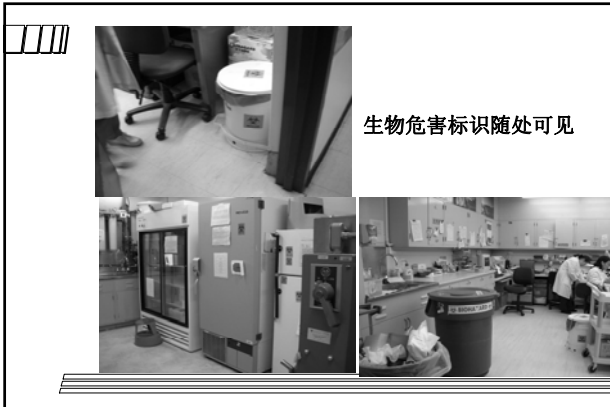
大型实验室污水处理系统



霍普金斯医院P3实验室



实验室门上的黄色警告
普通实验室+生物安全柜+个人防护



||||| P3实验室半污染区



||||| P3实验室污染区



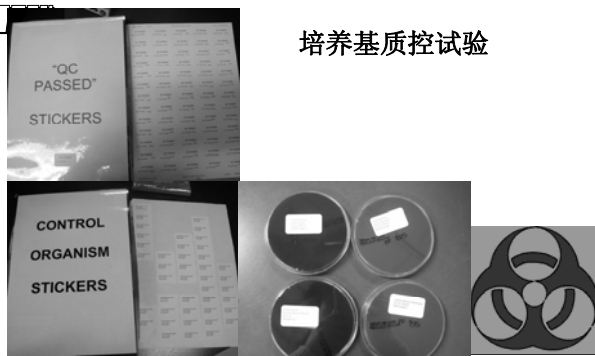
||||| 走廊中上锁的冰箱



||||| 菌(毒)株管理规范

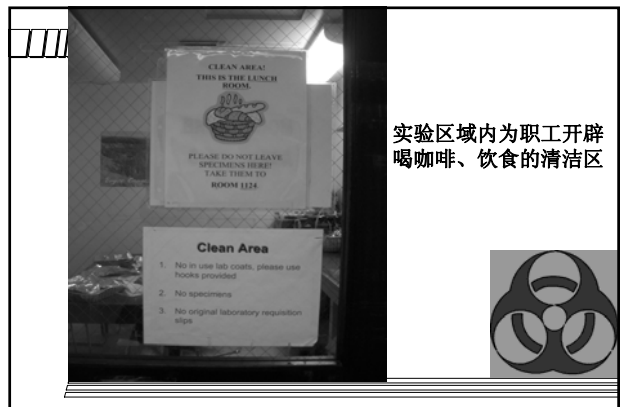


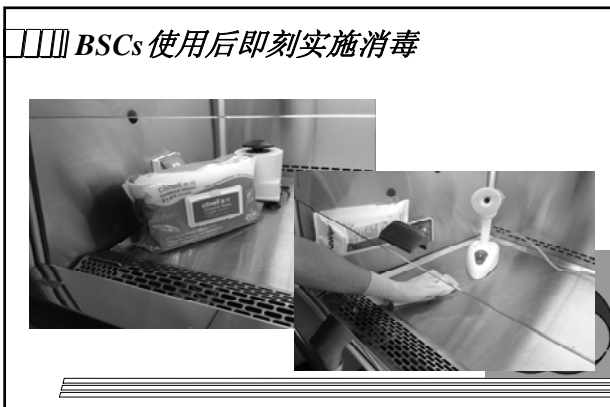
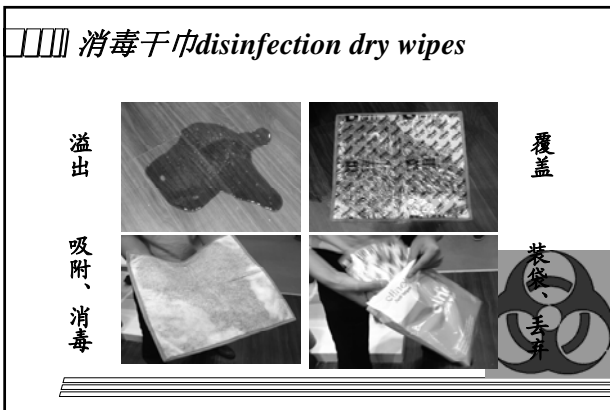
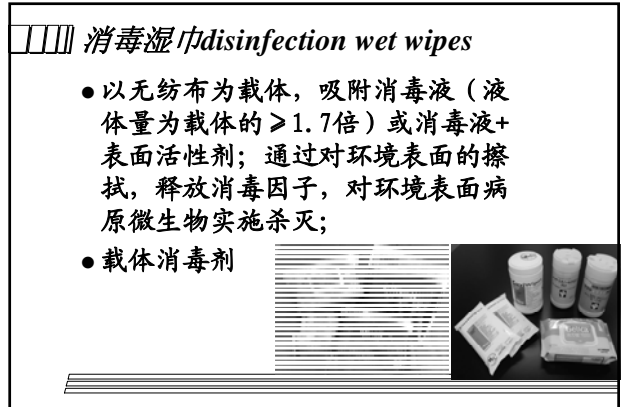
培养基质控试验



||||| 各类培养基集中配制/质控/存放







||||| 本实验室生物安全预防原则与目标

- 操作遵循预防原则：
标准预防 **Standard Precaution**
- 生物安全追求目标：
零宽容 **Zero Tolerance**

