实验室生物安全手册

第二版（修订本）2003

纽罗西敏

声明

杭州纽罗西敏生物科技有限公司享有此中文译本的完整的著作权。任何形式的复制、摘抄、转载必须取得杭州纽罗西敏生物科技有限公司的书面许可。

目录

前言 5
致谢 6
1.一般原则.....7
1.总则 9
第一部分 总纲.....9
2.危险评估.....9
信息不足时的危险评估范例.....10
危险评估和遗传变异的微生物.....10
3.基本的实验室生物安全水平 1 和 2.....11
实验编号.....12
实验室设计和设施.....13
实验室设备.....14
卫生和医疗监督.....15
培训 16
废物处理.....16
化学、火、电和辐射安全.....18
4.封闭实验室－生物安全 3 级水平.....18
实验编号.....19
实验室设计和设施.....19
实验室设备.....20
健康和医疗监督.....20
5.最大封闭实验室－生物安全 4 级水平.....21
实验室设计和设施.....21
实验室生物安全手册.....23
6.实验室动物设施.....23
动物设施－生物安全 1 级水平.....24
动物设施－生物安全 2 级水平.....24
动物设施－生物安全 3 级水平.....25
动物设施－生物安全 4 级水平.....25
节肢动物.....26
第二部分 实验室设备.....27
7.生物安全橱.....27
I 级生物安全橱.....28
II 级生物安全橱.....28
III 级 BSC.....31
BSC 空气连接系统.....32
BSC 的选择.....32
实验室中使用 BSC.....33
8.设备相关性危险.....35
产生危险的设备.....35
9.减小生物危险的设备设计方法.....36
负压薄片隔离器.....38

吸液管助管.....38
均质器、摇晃器、混合器和超声降解机.....39
可移动性传输线圈.....39
微焚化炉.....39
个人防护服和设备.....39
第三部分：优良的微生物技术.....41
10.安全的实验室技术.....41
实验室中对被实验物的安全操作.....41
吸液管和吸液管助管的使用.....41
避免传染性物质的扩散.....42
生物安全橱的使用.....42
避免传染性物质的注射以及其和皮肤、眼睛的接触.....43
避免传染性物质的注射.....43
血清的分离.....43
离心机的使用.....44
均质器、摇晃器、搅拌机和超声降解机.....44
组织研磨机的使用.....45
冰箱和冷藏库的使用和维护.....45
含有冻干了物质的安剖的打开.....45
操作血液、体液、组织和排泄物时要特别小心.....45
要警惕包含朊病毒的物质.....47
11.生物安全和重组 DNA 技术.....48
生物表达系统.....48
原来生物和克隆 DNA 的特征.....48
基因转导的病毒携带者.....49
转基因的或破坏了的动物.....49
转基因植物.....49
结论.....50
12.传染性物质的运输.....50
13.处理意外事故和紧急情况的计划和步骤.....50
意外事故处理计划.....51
微生物实验室的急症处理步骤.....51
14.消毒和灭菌.....53
定义.....53
实验室物质的预清洗和清洗.....54
化学杀菌剂.....54
局部环境的净化.....57
BSC 的净化.....57
手的清洗和净化.....58
加热消毒和灭菌.....58
焚化.....59
处理.....60
朊病毒污染物质的净化.....60
总结.....60

第四部分 化学、火和电安全.....61
15.危险的化学物质.....61
定义和分类.....61
暴露于危险性物质的途径.....61
化学物质的存储.....61
一般规则.....63
化学物质的毒性.....63
易爆炸的化学物质.....65
压缩气和液化气.....65
16.实验室中的火.....66
17.电危险.....67
第五部分 安全组织和安全培训.....67
18.生物安全长官和安全委员会.....67
生物安全官员.....68
安全委员会.....69
总部组织.....69
19.辅助操作人员的安全规则.....69
设计和建造维修设施.....70
清洁设施.....70
内部和外部清洁人员的安全规则.....70
20.培训计划.....71
基本课程：良好的实验室操作（GLP）.....72
模块 1（中心模块）：良好的微生物技术（GMT）.....73
模块 2：安全的实验室环境.....73
模块 3：辅助人员的 GLP.....74
模块 4：安全人员的 GLP.....75
模块 5：操作 3 级和 4 级危险的微生物的专家的 GLP.....75
第六部分 安全检查清单.....76
21.安全检查.....76
实验室假设.....76
存储设施.....77
卫生和人员设施.....77
加热和通风.....77
照明.....77
服务设施.....78
安全.....78
火灾预防.....78
易燃性液体的存储.....79
电危险.....79
压缩气和液化气.....79
人员保护.....79
人员的健康和安全.....80
实验室设备.....80
传染性物质.....81

纽约西敏

化学物质和放射性物质.....81
附录 1 81
附录 2 82

前言

世界卫生组织长期以来就认识到，安全性尤其是生物安全性日益上升为国际组织的话题。联合国专门机构在 1983 年首次出版了第一本《实验室生物安全手册》。当时该手册要求各个国家对它们边境上的实验室提高要求，注意病理微生物的操作，并为发展中国家提供专家指导。

第二版的电子版是为第三版在 2003 年的出版迈出了第一步。新版手册将会结合第二版《实验室生物安全手册》（修订本），并参考《实验室健康防护安全》中的内容。

第二版修订本的作者和编者继续坚持 WHO 新建立的在国际范围内促进微生物实验室人员的健康和安全的宗旨。尽管在技术内容上强调要以以前版本为指导，在文章的组织上也有了进步性的变化，内容上也包含了很多有价值的新材料。通篇文章强调了个人的责任在安全的实验室活动中的重要性。一个安全卫生的实验室环境是靠工作人员的训练有素和技术精湛获得的，他们不光维护自身的安全，也有责任维护同事们的安全以及团体和环境的安全。个人的责任也包括，在采用新的草案和指导方针进行新的实验活动时，首先要评估可能产生的危险。新的两章描述了危险评估和重组 DNA 技术。这些内容的附加为当代微生物实验室进行危险评估提思想上的简明指导。

一个安全卫生的实验室也需要一个负责任的机构领导。国家培养了生物安全方面优秀的机构领导。象以前的版本一样，WHO《实验室生物安全手册》第二版修订本，对于那些接受挑战并致力于发展实验室的国家将提供有益的参考。

W. Emmett Barkley,博士
实验室安全所所长
Howard Hughes 医疗机构
美国 Chevy Chase 医学博士

致谢

《实验室生物安全手册》第二版（修订本）的发行，下列专家们作出了很大的贡献，我们在此表示深深的感谢：

Dr Ingegerd Kallings 瑞典传染病控制中心，Srockholm，瑞典

Mary Ellen Kennedy 女士，生物安全顾问，Ashton,Ontario, 加拿大（技术编辑）

Richard Knudsen 博士，卫生和安全部，疾病控制和预防中心，亚特兰大，GA，美国

Nicoletta Previsani 博士，生物安全工程，世界卫生组织，瑞士 Geneva

Jonathan Richmond 博士，疾病预防和控制中心卫生和安全部，美国 GA 亚特兰大

Syed A. Sattar 博士，加拿大渥太华大学医学教师

Deborah E. Wilson 博士，美国华盛顿地区卫生安全国家机构分支部门

Riccardo Wittek 博士，瑞士 Lausanne，Lausanne 大学动物生理部门

红岩下载

1.一般原则

在这篇手册中，通篇文章都有关于传染性微生物危险分级相应的参考书（WHO 危险分级 1,2,3,4）。这种危险分级仅仅适用于实验室工作。根据实验室的设计特点、建筑结构、内部设施而分为：基本实验室－生物安全 1 级、基本实验室－生物安全 2 级、封闭实验室－生物安全 3 级、最大封闭实验室－生物安全 4 级。表 1 描述了这种危险分级，表 2 把它们和实验室指标结合起来，表 3 概括了这 4 种生物安全水平的具体要求。

表 1.传染性微生物的危险分级

一级危险（没有或者较低的个人和团体危险）

微生物不能引起人类和动物的疾病

二级危险（适度的个人危险，较低的团体危险）

病原体可以引起任何动物的疾病，但不会对实验室工作者、实验室团体工作人员、牲畜以及实验室环境带来严重的威胁。

三级危险（较高的个人危险，较低的团体危险）

病原体通常引起严重的人和动物的疾病，但通常不会从一个人传染到另一个人，有效的预防和治疗措施是必要的

四级危险（较高的个体和团体危险）

病原体可引起严重的人和动物疾病，并且易于传播，我们通常没有办法对其进行有效的预防和治疗。

表 2.生物安全水平、实验和设备之前的相关性

危险级别	生物安全水平	实验室类型	实验室实践	安全设备
1.	基础实验室－生物安全 1 级水平	基础教学研究	GMT	无，开放长椅
2.	基础实验室－生物安全 2 级水平	初步卫生设施、诊断和研究	GMT 加上保护性衣服，生物危险标志	开放的长椅以及潜在的气溶胶生物安全分级
3.	封闭实验室－生物安全 3 级水平	专门的诊断、研究	2 级加上专门的衣服、可控通道，固定方向的流气道	BSC 基础设施或者其他基础设施
4.	最大封闭实验室－生物安全 4 级水平	危险病原体单位	3 级中加上密封过渡仓、多个出口、专门的废物处理设备	III 级 BSC，或者是和 II 级 BSC 相结合的高压衣服、双端高压锅，过

				滤了空气的设施

BSC，生物安全橱；GMT，优良的微生物技术

国家或地区应该根据以下因素制订一个微生物的危险分级标准，包括国家标准和地区标准。

－生物体的病原性

－生物病原体的传播方式和带菌者范围。这些会受当地人口现有的免疫水平、人口密度和带菌者流动性、带菌者的出现、当地环境卫生标准的影响。

－当地有效的预防措施实施的可能性。这些包括：通过免疫接种或抗血清进行预防；卫生措施，水和食物的卫生，控制动物水库和节肢动物带菌者。

－当地进行有效治疗的可能性。这包括被动免疫，接种疫苗，使用抗菌剂、抗滤过性病原体的药物和化学药物，但同时也要考虑到耐药菌株的出现。

表 3.生物安全水平要求总结

	生物安全水平			
	1	2	3	4
实验室隔离	否	否	预期的隔离	是
进行净化的房间的密封情况	否	否	是	是
通风（1）向内的气流	否	预期的隔离	是	是
（2）机械空气流动	否	预期的隔离	是	否
（3）机械的独立的气流	否	预期的隔离	是	是
（4）HEPA 过滤排气系统	否	否	预期的隔离	是
双层门入口	否	否	是	是
密封过渡仓	否	否	否	是
有淋浴的密封过渡仓	否	否	否	是
前厅	否	否	是	否
有淋浴的前厅	否	否	预期的隔离	否
流出去处理	否	否	预期的隔离	是
高压灭菌锅				
（1）当场的	是	是	是	是
（2）实验室房间的	否	否	预期的隔离	是
（3）双端的	否	否	预期的隔离	是
BSC				
I 级	否	随意	是	否

II 级	否	预期的隔离	是	是和防护服实验室相连
III 级	否	否	预期的隔离	是，和安全橱的实验室相连

在评价各种分级标准时，考虑到各个地理区域内，人民处理微生物的环境条件不同是很重要的。

在预备进行分级列表时，关于使用个人防护设备和初级密封装置（比如，生物安全橱），有人提出了很好的信息。我们必须考虑如何改善生物安全实践以及具有多种耐药性的病原体的密封情况，以及那些可能使用大体积和高浓度物质的情况。

关于分级列表的例子可以从疾病预防与控制中心（CDC）和国家卫生机构（NIH，美国（1）；欧共体（2））获得。

1.总则

第一部分 总纲

2.危险评估

生物安全的核心就是危险评估。有很多种方法可以对给定的步骤和实验进行危险评估，其中最重要的就是要进行专业性的判断。进行危险评估的人，应该对微生物的特点、所用的设备和步骤、所用的动物模型以及密封设备和设施非常熟悉。实验室主要负责人有责任确保在实验前进行充足的及时的评估。最好和安全委员会（如果存在的话）以及生物安全人员的工作紧密结合起来，以确保实验室有足够的设备。一旦施行，必要的时候应该经常对危险评估进行再评价和修改，要尽量获得关于危险程度的新信息以及其他相关的新信息。进行微生物危险评估的一个最有用的工具就是危险分级（见第一章）。但是在进行一项具体的危险评估时仅仅有简单的参考是不够的。还有其他的因素要考虑，包括：

－传染性病原体的致病性
－暴露于传染性病原体微生物后的结果
－传染的自然途径
－传染的其他途径，由实验室操作（注射、空气、摄入食物）引起的
－环境中微生物的稳定性
－微生物的浓度和浓缩以后的体积
－合适的带菌者的出现（人或动物）

－从临床报道的实验室动物获得性传染的研究和报告中获得的信息
－实验室活动计划（浓缩、超声降解、离心等）
－任何可以扩大微生物带菌者范围或改变机体敏感性的遗传性的操作，有效的治疗措施（见危险评估和遗传变异的微生物，下面）
－传染性的有效预防和治疗

根据危险评估中已证实的信息，生物安全分级可以用于已定工作和员工们的预防。

信息不足时的危险评估范例

在信息充足时，上述的危险评估会工作得很好。然而，也会有信息不充分的时候，也要进行危险评估，例如此领域内搜集的一些临床病人和流行病病人。在这些情况下，对这些样本的操作应该采取谨慎的保守态度。

－3 级预防是应该遵守的，一些屏蔽保护也是应该的（手套，隔离衣，眼睛保护装置），不管物品来源如何，这些都应该注意。
－遵守基础密封实验室-生物安全 2 级水平的准则，这是是对样本进行操作的最低要求
－样本的运输应该遵从国家或国际准则和规定。

一些信息可能有助于判断样本操作时的危险水平。

(1)病人的医疗数据
(2)流行病学数据（发病率和死亡率数据，可疑的传播途径，其他疾病爆发的调查数据）
(3)不同地区样本的数据。

危险评估和遗传变异的微生物

对遗传变异的微生物（GMMOs）的危险评估必须包括：对可能出现的潜在的损害程度的估计，结果的严重性，损害出现的几率。评估必须是合适的充足的，但不一定非常详细。例如，提出明确的、充分的控制措施，这时候估计出来的危险较低，这样就太简单了。对一个低危险、众所周知且易理解的微生物进行操作，那么一眼就能知道估计的结果。然而，对一个包含更多危险因素且具有某种不确定性的微生物进行操作，这种估计将必须广泛而深刻，也许会需要获得新的数据。

包含 GMMOs 的潜在危险（有害效应）可能和最初的受感者或带菌者、环境中其他潜在的易感者、或原微生物有关。在很多情况下，比起原微生物而言，带菌者与危险评估更相关。在危险鉴定中要考虑的因素应包括病原体致病性、生物体活性或异质基因的毒性、胞质的流动性或病毒携带者。作为一般原子，如果一个病原微生物仅仅用于表征 DNA 作为选择显形（例如卡纳卡那徽素抗体或牛乳糖）或促进者或其他的控制序列，可能不必考虑病原微生物的特征。然而，如果插入的基因能够对生物活性分子、毒素和毒力因素进行编码，此时就应该考虑病原体的相关信息。

与带菌者相关的危险

应当考虑一下因素：
－受体的易感性
－菌株的致病性，包括毒力、传染性、毒素产物和扩大受体范围的特性
－受体的免疫程度和免疫系统状态
－暴露结果的严重性

由插入基因导致的危险

当插入的基因具有可以产生损害的生物活性时进行评估就是必要的，例如：
－毒素
－细胞浆
－激素
－基因表达调整
－毒素因子或促进因子
－抗生素抗体
－过敏原
对这些因素的考虑应包括为实现生物活性而对基因表达水平的评估。

改变现存病原体特点导致的危险

很多变异不包括基因，这些变异本身是有害的，但是将会由于现有的非致病性和致病性特点的改变而产生相反的作用。正常基因的变异将会改变致病性。在试图识别这些潜在危险的时候，下列几点应当考虑（表格内部的并不是很详细）：
－传染性或致病性有没有增加？
－插入外来基因是否能够克服受体的基因突变？
－外来基因对来自另一种微生物（细菌毒素、侵袭素、integrins 和表面结构如：膜蛋白和脂多糖）的致病性是否起决定作用？
－如果外来基因包含致病因子，那么是否可以预见这些基因对 GMMO 的致病性有没有促进作用那？
－得到治疗的可能性多大？
－基因改变是否会影响 GMMO 对抗生素和其他治疗的易感性？
－可以做到 GMMO 的根除吗？
在 GMMO 危险评估中还要考虑的其他因素有：任何潜在的致瘤基因的出现和与细胞排列有关的潜在的危险的出现。例如一些外来因素。用整个动物或植物做实验也需要仔细的考虑。调查者必须熟悉并遵守他所在机构内的 GMMOs 制订的规章，要求等。
要得到进一步的信息见 11 章，和参考书 4 和 5。

3.基本的实验室生物安全水平 1 和 2

为本手册提出的指导和建议给出了关于实验室安全水平的最低要求，这些建议和要求在微生物危险分级 1～4 中起着指导作用。

尽管在 1 级危险中对某些微生物而言，很多警告是不必要的，但为了培养良好的微生物技术对员工进行培训时还是必要的。诊断和卫生保护实验室（公众卫生，诊所和医院卫生）要达到生物安全水平 2 级或以上。因为没有一个实验室能够对它获得的样本进行完全的控制，实验室工作人员就会无意中被暴露在具有较高危险性的微生物环境中。在发展安全计划，和制订政策时必须认识到这些可能性。在一些国家，临床实验室是必须有合格证的。我们应该经常提出警告（3）。

这里提出的基础实验室生物安全水平 1 和 2 的总纲是全面的、详细的，也因为它们对整个实验室的安全水平而言是基础性的。封闭实验室的生物安全水平 3 和最大封闭实验室生物安全水平 4（第四章和第五章）是这些总纲的修改和补充，是为人们接触更加危险的病原体制订的。

实验编号

这个编号是优秀的微生物技术所要求的必须的实验室实践和步骤的列表。在很多实验室和国家实验室计划中，这些编码可用于为了安全的实验室操作制订书面的实验范本。

每个实验室都应该遵从安全手册中描述的对明显的和潜在的危险的识别，并且将实验和步骤列入清单以消除或使这些危险最小化。良好的微生物技术对实验室安全是基础的。专门的实验室设备是一个补充，但不能代替合适的操作步骤。重要的概念有下面列出.

途径

1. 国际通用的生物危险警告符号和标志（图 1）必须被贴到门上，尤其是 2 级危险或更高级危险的微生物实验室。
2. 仅仅被授权的人才有资格进入实验室工作区域
3. 实验室的门应当关起来
4. 低于 16 岁的小孩不应进入实验室工作区域。
5. 进入动物房之前必须经过授权。
6. 暂时不做实验的动物不应该放在实验室
7. “禁止吸烟”、“禁止喝酒”等标志应该在实验室里外都张贴。

个人防护

1. 在实验室工作时，必须时刻穿着隔离衣、工作服。
2. 当直接或偶尔有可能接触到血液、传染性物质和感染动物时，必须带有合适的手套。用完后，手套必须进行无菌处理，并洗手。
3. 在操作人员离开实验室工作区之前以及接触过传染性物质和动物之后必须洗手。
4. 当有必要保护眼睛和面部免受飞溅、压缩性物体和人工紫外线辐射影响时，必须带上安全玻璃、防护面罩或其他保护装置。
5. 禁止穿实验室防护服走出实验室，比如去小卖部，咖啡馆，办公室、图书馆会议室和厕所。
6. 实验室中不能穿露有脚趾的鞋。
7. 实验室禁止吃、喝、化妆和接触透镜。

8. 禁止存放人类食物和饮料。
9. 防护服不应该放于同一个壁橱里面。

步骤

1. 经口吸液管必须严格禁止使用
2. 任何东西不能放在嘴里，不能用舔标签
3. 所有技术步骤必须保证尽量减小气溶胶的形成和滴出。任何时候只要气溶胶产生的危险性增加，实验就应该在生物安全橱中进行。
4. 应限制皮下注射针的使用。不能将它们作为吸液管的替代物，除了可以进行注射和从动物身上吸取液体外不能有其他用途。
5. 所有的溅出液，意外事故、暴露于传染性物质的潜在的或明显的危险都应该被报告到实验室监督员那里。应该维持这些事故的书面记录。
6. 必须制订并遵从一个书面的清理溅出液的步骤

实验室工作区域

1. 实验室必须整洁、干净且没有与当时实验无关的物质。
2. 在有危险物质溅出后以及工作天结束时要对工作台进行净化。
3. 在除去或净化后再使用时，所有被污染的物质、标本和培养液必须被净化。
4. 打包和运输必须遵从国家或国际标准。
5. 窗户可以打开的时候，必须有防节肢动物进入的屏障。

生物安全管理

1. 实验室主任（对实验室负直接责任的人）有责任制订一个生物安全管理计划或操作手册。
2. 实验室监督员（向主任报告的人）必须确保定期的培训。
3. 应当要求操作人员了解这些具体的危险，阅读安全和操作手册并遵从这些标准和步骤、监督员应当确保所有的人都理解这些东西。实验室应当有安全和操作手册的副本。
4. 必要的时候，实验室应当有节肢动物和啮齿动物控制计划。
5. 一旦需要，必须对操作人员提供合适的医疗评价、监督和治疗，且必须保持充足的医疗记录。
6. 必须从实验室员工和其他危险人群中搜集基线血清样本。这些应该根据国家的和当地的指导方法保存下来。根据微生物和实验室的允许可以搜集额外的样本。

实验室设计和设施

在设计实验室并决定它适合进行哪些方面的工作的时候，我们必须严格注意那些可能造成安全问题的条件。这些条件包括：

－气溶胶的形成

－对大体积和高浓度的微生物进行操作

－拥挤和过多的设备

－节肢动物和啮齿动物的出没
－未经许可进入实验室
－特殊样品和实际的流程使用

设计特征

1. 实验室工作的安全进行、清洁和保持都要求有足够大的空间。
2. 墙壁、天花板和门应当光滑，易于清洗、不能渗透液体且能抵抗实验室中经常使用的化学物质和消毒剂。地板应当防滑、且应当避免某些导管暴露在外面。
3. 长椅应当密封好，不收水的渗透和消毒剂、酸、碱和有机溶剂以及适当热量的影响。
4. 要求照明充分。避免不需要的反射和闪光。
5. 实验室家具应当坚固。长椅、壁橱和设备之间或下面应该可以擦拭。
6. 存储空间必须足够大以保证使用的方便和阻止长椅和走廊的混乱。在实验室外面应当有额外的长期存储空间。
7. 应当为溶剂、辐射物质和压缩及液化气体的安全操作提供空间和设施。
8. 在实验室工作区外部应该有设施以存储隔离衣以及个人物品。
9. 实验室工作区外部应该有休息时吃喝的设施。
10. 在每个实验室里最好在门出口处有洗手盆，最好是流动的水。
11. 门上应该有视觉挡板，能自动关闭且有合适的放火功能。
12. 在实验室的同一个楼中应该有高压锅。
13. 安全系统应该包括火、电紧急处理设施，紧急事件以及洗眼设施。
14. 应当有一流的装备合适的易于进入的区域或房间。
15. 在实验室微生物 1 级和 2 级危险中没有要求特殊的通风设施。然而，在新的设施的计划中，应当考虑使用通风系统，使得在没有再循环的情况下，提供空气向内流动。如果没有机械通风系统，窗户要求能够打开，且装有防节肢动物进入的屏蔽罩。
16. 保证优质的水供应是必要的。在实验室和饮水设施之间不应该有交叉连接的设施。一个抗逆流设施应当能够保护公共饮水系统。
17. 必须保证充足的电供应，以及急症情况下的照明以保证人员退出。
18. 必须有充足可靠的气供应。必须强制性安装和维修这些设施。
19. 要关照三方面的废物处理以控制污染满足实验室操作要求：
    －必须注意处理废物需要的高压锅，应该是专门设计的具有特定容量的
    －焚化炉也应当专门设计，且配有燃烧室和排烟设备。
    －污染的废水应当净化。
20. 实验室和动物房偶尔会遭到破坏。必须考虑物理的和火的安全。坚固的门、有屏蔽的窗户，以及严格限制的钥匙等，这些都是强制性应该有的。其他合适的可以提高安全性的措施也应该考虑。

实验室设备

在处理生物危险时，伴随着好的步骤和实验，安全设备的使用也有助于降低危险事故的发生。本章讲述各个生物安全级别的设备使用的基本原则。具有较高

生物安全水平的实验室设备的使用将在下面相关的几章中讲述。

在询问过生物安全官员以及安全委员会（如果有的话）后，实验室主任应当确保充足的设备供应，且保证这些设备得到正确合理的应用。考虑某些普遍的原则，设备应当选择使用，如，这些设备应当满足一下要求：

－设备的设计应当尽量避免操作者和传染性物质的联系

－设备应当防液体渗透，抗腐蚀并满足结构要求

－应当光滑，免摩擦，没有锋利的边缘以及无防备的移动部位。

－设备的设计和安装应当便利于简单的操作，且利于维修、清洗、净化和级别测验，在尽可能的情况下，应当避免使用玻璃器皿和易碎物质。

必须询问专门的机构后进行详细的操作和设备的建造，以确保设备拥有必要的安全特点。

重要的生物安全设备

1. 吸量管助器以避免口用吸量管。很多特殊设计是需要的。
2. 生物安全橱，在下列任何一种情况下都应使用：

－操作传染性物质；这些物质有可能被放在离心机安全杯中，在开放实验室中离心，在生物安全橱中拿进拿出。

－空气感染危险性增加

－实验过程中产生气溶胶的危险性较大；这些可能包括：离心、研磨、混合、用力摇动和混合、超音速分裂，传染性物质的容器的开放就会使得内部的压力和空气压力不同，动物的鼻内接种，动物和鸡蛋传染性物质的获得。

3. 可随意移动的塑料制品。或者在生物安全橱内可能使用电线圈焚化炉以减少气溶胶的产生
4. 有罗丝帽的管和瓶子。
5. 净化传染性物质的高压锅
6. 只要能够买到巴塞德吸液管就应当尽量使用以避免玻璃。
7. 在投入使用之前，类似高压锅和生物安全橱之类的东西必须采取合适的方法使之有效。应当定期进行检查鉴定是否符合制造商设定的标准。

卫生和医疗监督

通过实验室主任，雇佣的权威人士有责任确保对实验室的操作人员有充分的监督。这种监督的目的是为了避免职业病的发生。实现这些目的的活动有：

－提供主动和被动免疫

－实验室获得性传染的早起探测

－高易感人群（如孕妇）应当避免进入高危险性实验室工作

－提供有效的个人防护设备

1 级危险中对操作微生物的实验室工作者的监督指导方针

历史证据表明这些微生物不一定引起人类和动物的疾病。然而，理想情况下，所有的实验室工作者都必须进行健康检查。应当迅速报告疾病和实验室事故，所有员工必须清楚维持良好的微生物技术的重要性。

2 级危险中对操作微生物的实验室工作者的监督指导方针

1. 雇佣前健康检查是必要的。他们的医疗历史也应当记录下来，并建议他们进行诊所检查和基线血清样本搜集。
2. 疾病的记录和缺乏应当由实验室保管；实验室工作者和他的医生有责任向实验室主任报告他因疾病而缺席的情况。
3. 育龄期妇女应当意识到暴露于微生物环境（如风疹病毒）中对未出生的婴儿的危险。保护婴儿的具体的措施根据母亲所处的不同微生物环境而有所不同。

培训

人为的错误和技术的不过关会降低实验室工作者的安全保护措施的有效性。因而一个有安全意识的员工，能够清楚的知道实验室危险和控制方法，在预防实验室获得性传染病方面是非常重要的。由于这个原因，必须进行连续的培训。有效的安全计划起始于实验室管理者，他应当确保安全的实验室操作和雇员的基本的培训结合在一起。安全措施的训练对雇员而言应当是实验室介绍中一个全新的部分。雇员应当指导实验编号和当时的指导方针。应当采取措施如签名以保证雇员看了并理解了总则。实验室监督员在直接训练员工维持良好的实验室技术方面起着关键作用。生物安全官员有助于培训的进行和文献的制订。

员工的训练应当包括：所有实验室操作人员通常会遇到的高危险性情况下的操作时的安全措施。包括：

－吸入性危险（如：气溶胶），如使用线圈，使用琼脂板、使用吸量管、制涂片、开放的培养液、取血或血清样本、离心
－注射危险，如处理样本、涂片和培养液
－做动物实验时，可能会被咬伤或被抓伤
－处理血液和其他具有潜在危险性的病原体物质
－净化并除去传染性物质

废物处理

废物就是任何将被丢弃的东西。

在实验室里，废物的净化和它们最终的处理是紧密相关的。根据日常的使用情况，只有很少的物质需要从实验室中彻底除去或毁灭。大部分玻璃器具、一起和实验室衣物将会被再次利用。最高原则是所有传染性物质都应当被净化、高压灭菌并消灭。

在处理实验室和微生物和动物组织有关的具有潜在传染性的物体和材料之前有几个主要的问题：

1. 这些物体和材料是否经证实已经被有效的净化且没有感染？
2. 当有些东西没有在当时当地焚化的话，是不是要经过正确的打包并转移到另一个地方去焚化？

3. 除去净化了的物体和材料是否会引起潜在的危险，生物危险或者对那些直接接触这些东西的人和外部可能与这些废弃物接触的人产生危险？

净化

在所有净化过程中，蒸气高压锅是首选的净化方法。净化或除去的物质应当放于容器中，比如耐压性塑料袋，这些塑料袋根据所有焚化或高压灭菌的对象不同而有不同的颜色编码。只有在杀死微生物时才可以考虑其他方法。（详细介绍见 14 章）

消毒剂和化学制品

安全操作手册应当包括一个书面的措施，陈述哪种消毒剂用于什么用途，以及制造商对消毒剂稀释的建议。制造商应当提供相关的文献。确保每种消毒剂都能够在实验室有效的使用。

次氯酸钠和酚复合物是实验室常用的消毒剂。

为了某种特定的用途，各种各样的表面活性因子和脂破坏因子，包括乙醇、碘、碘载体和其他氧化物，也包括极低和极高的 pH，都是有效的。假定将要被破坏的物质对这些程序没有抗药性。

其他方法

干热锅由于它的不可预知的变化而被放弃使用了。简而言之，微波、紫外线和粒子辐射都是不合适的。

新的技术，包括碱水解，将被用于传染性废物的最终处理，进而代替焚化炉。

废物操作和除去步骤

必须采用一种识别和分离系统来处理传染性物质和它们所在的容器。

分类应当包括一下几类：

1. 未污染（未感染）废物，可以重新利用或象一般物质（如家里普通的垃圾）那样除去。
2. 污染的（感染的）锋利物品－皮下注射针、解剖刀、刀子和碎玻璃；这些东西应当经常被搜集到不容易被刺破的容器中，且有盖，并把它们当作传染性物质处理。
3. 污染的物质，通过焚化炉净化然后清洗，再利用。
4. 污染物质，焚化除去
5. 污染物质直接焚化。

锋利的物品

注射针在用完之后，就不能再重新使用。完整的包装应当被放于利器容器中。利器容器应当是不容易被刺破的，且不能放满。当它们有四分之三的部分放满了利器时就应当放入“传染性废物”容器中进行焚化。如果需要的话就进行高压灭菌。利器容器不能放于垃圾中。

可移动性耳咽管，单独使用或和针头一起用的话，用完都应当放入容器中进行焚化，需要时进行高压灭菌。

污染（感染）的物质经过高压灭菌进而再利用

对于任何已污染（感染）且要进行高压灭菌再利用的物质，不需要进行预清洗。但在高压灭菌和消毒后，必要的清洗和修补还是要做的。

要除去的已污染（已感染）物质

除了上面讨论的利器，所有的已污染（潜在感染性）物质在除去之前都必须在防漏容器中进行高压灭菌，比如高压锅、彩色编码过的塑料袋。高压灭菌后，这些物质可以放于传输容器中被运输到焚化炉。如果可能的话，从卫生健康活动中留下的物质在即使经过净化后也不应该丢入垃圾桶中。如果在实验室周围有焚化炉，高压灭菌可以省略：污染废物应当放入指定容器中（如彩色编码袋）并直接运到高压锅或焚化炉。可再利用的传输容器必须防漏且有很紧的盖。在它们返还实验室进一步使用前应当进行消毒和清洗。

扔掉罐子、平板，尤其是不易碎的物品（如塑料），并且内含一种合适的消毒剂，每天都应准备好放于每一个工作站中。废物应当立即根据消毒剂的使用进行消毒处理（例如没有空气管保护的）（见 14 章）。这些消毒剂应当倒入一个容器中进行高压灭菌或焚化。废弃的罐子要想再利用的话必须进行高压灭菌和清洗。焚化是处理污染废物的一种方法，包括处理实验室动物的尸体（见 14 章焚化部分）。焚化污染废物必须满足公众健康的要求和污染要求。也要满足实验室生物安全官员的要求。

化学、火、电和辐射安全

病原体微生物的容器的破碎就会间接导致化学、火、电和辐射事故。因此在任何微生物实验室维持较高水平的安全是非常重要的。国家和地区当局应当制订法律的规章制度，在必要的时候有助于实验室安全措施的实施。本手册第五部分中详细介绍了化学、火、和电事故。

4.封闭实验室－生物安全 3 级水平

封闭实验室－生物安全水平 3 的制订，是因为对三级危险微生物的操作、以及对大体积高浓度的 2 级危险的微生物操作、且有可能造成气溶胶的扩散等情况下工作时是必要的。生物安全 3 级水平要求在基本的实验室－生物安全 1 级和 2 级水平基础上加强安全操作（3 章展开论述）。

本章的总则以基础实验室－生物安全 1 和 2 级水平的附加补充形式给出的。对封闭实验室－生物安全 3 级水平，当没有专门要求时，安全水平 1 级和 2 级中的一些措施都应该应用。主要的变化如下：

－实验编号

－实验室设计和设施

－健康和医疗监督

这种实验室应当经过国家和其他权威健康机构注册。

实验编号

基础实验室－生物安全 1 和 2 级水平中实验编号的要求，局部改变如下：

1. 应当遵从二人规则，尽管不可能只有一个人在实验室工作。
2. 国际生物危险警告符号和标志应当放在实验室入口处，必须能够识别处理的微生物和实验室监督员的名字，且表明可以进入这个区域的特殊条件，如：免疫接种。
3. 实验室防护衣物必须前面结实、长形大衣、奈刮擦、包住头、包住鞋等。前面有扣的标准实验室外套是不合适的。实验室保护衣服不能在外面穿，而且在拿去清洗之前必须进行净化。
4. 合适的时候，呼吸性装置必须在含有传染性动物的房间才能使用。

实验室设计和设施

封闭实验室－生物安全 3 级水平是为操作 3 级危险的微生物而设计的，但在操作 2 级危险的大体积、高浓度的微生物时，气溶胶扩散的危险性较大，由于感染而导致威胁性命的危险较大时，也会用到安全水平。

基础实验室－生物安全 1 级和 2 级水平的实验室设计和设施，经局部改动后如下：

1. 实验室应当和同一个建筑中人来人往的区域隔离。一般把实验室设在走廊的尽头，或者在基础实验室－生物安全 2 级水平后紧接着是封闭实验室，或者在前厅和封闭实验室之间设立一个门。
2. 操作人员进入实验室必须经过前厅（例如：双层门）
3. 实验室区域门的设计必须防止节肢动物和寄生虫的进入。
4. 门必须能自动关闭且能内部上锁。紧急情况下的退出时应当有一个可以打碎的面板。
5. 墙、地板和天花板的表面应当是防水的且易于清洗。这些表面的开口必须密封好便利于室内的净化。
6. 实验室房间必须密封好便于净化。必须建立导气系统允许气体净化。
7. 窗户必须关闭、密封且不易碎。
8. 在实验室出口的门处应当有自来水管和洗手盆。
9. 从进入的通道和实验室必须有通风系统保证直接的空气流通。员工必须确保有恒定的空气流入实验室中。
10. 封闭实验室的通风系统的设计必须保证实验室内的空气不会流入其他区域内。空气可以经过 HEPA 过滤、在实验室内再流通。从实验室中（除了生物安全橱）出来的其他气体必须放到整个建筑物的外面，使得这些空气可以消散。有人建议这种空气经过高效空气净化器（HEPA）进行。
11. 生物安全橱必须远离过道，和门以及通气系统也不能混合。（见 7 章）
12. 从 I 级和 II 生物安全橱中出来的废气，将会通过 HEPA 过滤，在排放的过程中必须保证不能干扰安全橱内以及整个建筑内的通气平衡。所

有的 HEPA 过滤系统的安装必须能够保证气体的净化和测试。

13. 封闭实验室中应当有对污染废物进行净化处理的高压锅。如果传染性废物必须运输到实验室外进行处理，则在运输过程中必须放在密封的、不可破损的、防漏的符合国家标准的容器内。
14. 抗逆流装置必须安装以保证水的供应。
15. 污水在排入下水道之前必须净化。

实验室设备

设备的选择原则，包括生物安全橱（见第七章），和基础试验室－生物安全 2 级水平的相同。除非在生物安全橱内有传染性物质和其他的物理密封装置，护着专门的个人保护装置。然而在封闭实验室－生物安全 3 级水平通常使用 I 级和 II 级生物安全橱，III 级生物安全橱在处理高危险性的微生物（3 级危险）时会用到。

健康和医疗监督

基础实验室（生物安全 1 级和 2 级水平）的健康和医疗监督的对象也适用于密封实验室。生物安全 3 级水平的标准如下：

1. 在生物安全 3 级水平密封实验室中工作的人员必须进行医疗检查。这些应包括对医疗历史的详细记录以及仔细的体格检查。
2. 基线血清样本应当存储起来便于未来的参考。
3. 生物安全 3 级水平要求在里面工作的人员必须进行免疫接种。
4. 对孕妇要给予特殊考虑（见 3 章中 2 级文献微生物实验室操作的监督管理总则）。
5. 经过令人满意的临床评估以后，应当给被检查者一个医疗联系卡，表明他在封闭实验室－生物安全 3 级水平里工作。卡里最好有照片，尺寸如票夹大小且应当由持有者随身携带。

注意：要进入实验室的人的名字需要获得实验室主任、医疗顾问和生物安全长官的同意。

A，卡的前面

<table>
<tr><td colspan="3">身份证号</td></tr>
<tr><td>姓名</td><td>贴相片处</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="3">雇员
仔细保管本卡。当有不明原因的发烧时，向医生出示本卡，并将下</td></tr>
</table>

列列出的一个人告诉他。
医生（1）： 工作： 家庭：
医生（2）： 工作： 家庭：

B，卡的后面

内科医生 持卡人所在地区：
在此区域是否有下列病毒：伤寒、细菌、原生动物、寄生虫等。有不明原因的发烧时，应当通知雇主，并询问病人曾经接触过的毒物。
实验室名字：
地址：
电话：

5.最大封闭实验室－生物安全 4 级水平

具有生物安全 4 级水平的最大封闭实验室是为在 4 级危险中操作微生物的工作而设计的。但在这样的实验室建成投入使用前必须询问有关方面的专家。必须在国家和其他权威人士的指导下使用这样的实验室。

实验室设计和设施

生物安全 3 级水平的实验室规则也适用于 4 级水平，只是有所改动，如下所示：

1. 初步密封。一个基本的密封系统必须位置合适，且由下列一个或多个组

成。

－III 级安全橱实验室。进入具有 III 级生物安全橱的实验室之前要至少经过两道门。在这种实验室构造中，III 级安全橱就提供了基础的密封系统。对职员而言，在实验室的内部和外部必须有更衣室。不需要带到安全橱房间的物质应当放入具有双道门的高压灭菌锅的室内。当外层门关闭好的时候，实验室内的操作人员才可以打开内层门将物质接进去。内置高压锅的房间的门是从内部反锁的，只有当高压锅灭菌完毕时才可以打开门。（见第 7 章）

－防护服实验室。防护服实验室具有自己的一套密封系统，这与生物安全 4 级水平且具有 III 级生物安全橱的实验室设计和设施都有很大的差别。防护服实验室的设计是为了引导操作人员通过净化区域进入含有传染性物质的实验室。防护服实验室对操作者提供的保护与生物安全橱提供的保护相当。操作者离开密封实验室时必须进行淋浴净化。在密封实验室的内部和外部最好都有隔离的更衣室。进入更衣室的人要求必须进行加压、HEPA 过滤。必须有一套独立的系统为更衣室提供空气，尤其在出现紧急事故时。进入更衣室必须经过装有气塞的密封门。在机械系统和缺乏空气的地方必须有警告系统以提醒实验室工作人员。

2. 受控的入口。生物安全 4 级水平的最大封闭实验室必须位于大楼的隔离区域或者位于楼内的安全地带。人员和设备的进进出出都必须经过密封过渡门。进入时，人员必须全部换上工作服；离开时，必须进行淋浴。
3. 受控的空调系统。该设施内必须维持负压。供应气和废气都要经过 HEPA 过滤净化。III 级安全橱实验室和防护服实验室的通气系统有很大的区别：

－III 级安全橱实验室。进入 III 级生物安全橱的空气必须经过 HEPA 的净化，HEPA 安装在安全橱内或直接由供气系统提供。从 III 级安全橱出来的废气必须经过 HEPA 的净化才能排放到室外。在任何时候操作安全橱时，必须保证橱内的气压比周围其他实验室要低。安全橱实验室还需要一个单向的通气系统。

－防护服实验室。室内需要单向的供气和排气系统。供气和排气元件必须达到平衡，才能使空气从具有最低危险性的地方进入具有最高危险性的地方。为了保证该设施始终处于负压环境下，需要多个排气扇。必须动态监护防护服实验室和周围区域或周围实验室的压差。必须对供气和排气系统中的空气流动进行监护，应当有一套控制系统防止防护服实验室内压力增高。在防护服实验室区域必须装有 HEPA 过滤供气系统、净化淋浴和净化室。从防护服实验室出来的废气必须经过两套 HEPA 过滤系统才能排出室外。或者在经过双层 HEPA 过滤后，废气可以且仅在防护服实验室内再循环利用。在任何情况下，从生物安全 4 级水平的实验室出来的废气都不能在其他区域循环利用。如果出现再循环的情况必须给予严重警告。必须注意所从事的研究类型、设备、化学物质和其他防护服实验室用到的物质。也要注意所用动物的种类

所有的 HEPA 滤器每年都必须检查并校正。HEPA 系统的设计是为了废气排出前的净化。或者，滤器可以在密封不漏气的容器中撤去，以便进行后来的净化或焚化。

4. 污水的净化。防护服实验室、净化室、净化淋浴或者 III 级生物安全橱出

来的误会在排出前必须净化。高压灭菌是首选方法。污水也要经过调整到合适的 pH 值才能排放。从员工淋浴和厕所里出来的污水可以直接排放到公共下水道内。

5. 废物和其他物质的灭菌。在实验室区域必须有双层门、通道处高压锅。还必须有其他的净化方法以及不会防止蒸汽灭菌的设施。
6. 样本、材料和动物的进入必须有密封过度门。

实验室生物安全手册

由于生物安全 4 级水平的实验室工作的复杂性，必须有一个详细的工作手册，并且让大家都参加培训。此外，必须有紧急事故的处理措施。在制订之前，必须建立与国家以及当地的卫生机构的合作组织。其他的紧急设施，如火、警卫、附近的医院等，也要考虑到。

6.实验室动物设施

任何用动物进行实验或诊断的人有义务减少动物在实验过程中受到的多余的痛苦。必须给动物提供舒适的、卫生的房间以及充足的食物和水。实验室结束时，动物应当得到人道的待遇。为了安全原因，动物房必须是独立的。如果动物房和实验室相连，则必须将其和实验室公共区域分开以便于动物房的净化和灭虫。

表 4。动物设施密封水平：实验和安全设备的概括。

危险级别	密封水平	实验室规则和安全设备
1	ABSL－1	有限的入口，防护服和手套
2	ABSL－2	ABSL－1 的设备再加上：I 级和 II 级 BSC 防止产生气溶胶的设备，清洗之前的废物和动物笼的净化设施
3	ABSL－3	ABSL－2 的设备再加上：受控的入口。BSC 的要求及专门的防护服
4	ABSL－4	ABSL－3 的要求加上：严格限制的入口。进入 III 级 BSC 和正压防护服实验室前必须换的衣服，离开时的淋浴。所有废物除去之前的净化。

ABSL，动物生物安全水平；BSC，生物安全橱

动物设施，象实验室一样，必须根据微生物的危险级别来分为生物安全水平 1，2，3，4 级。还要考虑其他因素。就代理商而言，必须有正常的运输路线，合适的尺寸和浓度、接着途径，以及通过何种如见排泄。就动物而言，包括动物的特征，如：它们的侵略性，咬和抓的倾向，它们生外部和内部寄生虫的特点，它们易感染的疾病，以及可能产生的过敏原。

象实验室一样，根据相应的生物安全水平，对动物实验室的设计特点、设备和警告等要求都应加强。这些在下面有所描述，表 4 中有总结。这些原则是附加性的，这样才能在具有较低生物安全水平的实验室中有较高的对动物实验室的要求相结合。

动物设施－生物安全 1 级水平

对于大部分经检疫的动物（灵长类除外，这点应当向有关专家询问）以及经过 1 级危险中免疫接种的动物而言，这些设施是合适的。并且要求有良好的微生物技术。动物设施主管必须制订动物房里所有操作和入口规定方面的政策，必须对操作人员制订合适的医疗监督政策。必须制订一个安全操作手册。

动物设施－生物安全 2 级水平

对 2 级危险中进行过微生物免疫接种的动物操作，这些设施是必要的。必要的时候要进行安全警告。

1. 首先必须满足生物安全 1 级水平的所有动物设施要求。
2. 在门后和其他位置应放置生物危险警告标志，且能够识别具有传染性物质。
3. 这些设施必须易于清洗和保存。
4. 门要能够从内部打开且能自动关闭。
5. 加热、通风和照明都必须充分。
6. 如果有机械通气系统，空气流动必须是向内的。废气排出后不应该再在其他楼内使用。
7. 入口只能有授权人士进入。
8. 除了实验用动物，其他动物不允许进入。
9. 应该有一个节肢动物和啮齿动物控制计划。
10. 窗户必须是安全的、防碎。如果能打开，必须装有防节肢动物进入的屏障。
11. 使用后，工作台必须用有效的消毒剂进行净化（见 14 章）。
12. 在可能产生气溶胶的时候，必须有生物安全橱（I 级或 II 级）和隔离室进行供气和废气的 HEPA 过滤。
13. 在实验室场所或附近必须有高压锅。
14. 移走动物草垫的时候，要最大限度的减少气溶胶和灰尘的产生。

15. 所有废物和草垫除去前必须净化。
16. 必须严格限制锐利器具的使用。锐利器具应当放入一个防刺破的容器中，且有盖。
17. 将要进行高压灭菌或焚化的物质必须在密闭容器中安全运输。
18. 动物的笼子用完后必须净化。
19. 动物的尸体必须焚化。
20. 进入时需穿防护服，离开时除去。必须有合适的手套，且应当在实验时戴上。
21. 必须有洗手设施。操作人员在离开动物房后必须洗手。
22. 所有损伤，不论多么小，都应该向上报告并记录。
23. 实验室中禁止吃、喝和化妆。
24. 所有人员必须接受培训。

动物设施－生物安全 3 级水平

对于 3 级危险中使用的经过特意免疫的动物而言，这些设施都是合适的。所有系统、设施和手续必须每年都校正。

1. 生物安全 1 级和 2 级水平中的要求都必须满足。
2. 入口必须经过严格控制。
3. 这些设施必须和其他实验室隔开，动物房必须有两道门，形成一个前厅。
4. 前厅内必须有洗手和淋浴设施。
5. 必须有机械通风设施以确保所有房间的空气连续流通。废气排出后不应再利用。排出前必须经过 HEPA 的过滤。该系统必须能够防止空气逆流以及动物房增压。
6. 含有生物危险的动物房附近应当有高压灭菌锅。传染性废物在排出前必须进行高压灭菌。
7. 当地必须有焚化炉或其他设施。
8. 感染有微生物 3 级危险的动物必须放在隔离室的笼子里或后部有通气系统的房间内。
9. 动物用草垫必须没有灰尘。
10. 在动物实验室内必须穿上防护服。且在实验室外不能穿这种防护服，在清洗之前必须净化。
11. 窗户必须关闭、密封且防碎。
12. 操作人员必须进行免疫。

动物设施－生物安全 4 级水平

在这种设施下的工作和最大封闭实验室－生物安全 4 级水平下的有通常的联系。必须制订国家和当地的规则以达到二者的和谐。如果工作是在防护服实验室内完成的，还需要有其他的设施和计划。（见 5 章）

1. 生物安全 1 级、2 级、3 级水平中的要求必须首先满足。

2. 入口必须严格控制，仅仅主管授权的员工才可进入。
3. 单个人不能进去工作，必须应用二人规则。
4. 操作人员必须接受作为微生物学家的最高级培训，且对他们工作中可能遇到的危险以及必要的警告很熟悉。
5. 4 级危险中感染动物的住所和最大封闭实验室－生物安全 4 级水平的要求相一致。
6. 进入这些设施前必须有一个密封前厅，净化场所必须通过更衣室和淋浴设施进而和动物房分开。
7. 必须有一个 HEPA 滤气系统以确保内部负压（单向向内的空气流动）。
8. 必须防止通气系统的逆流以及正压情况。
9. 传输物质必须有一个双端高压锅，净化端在封闭实验室的外部。
10. 操作者在进入前必须换上防护服，出来时必须除去防护服，并将其进行高压灭菌，离开前进行淋浴。
11. 为了传输物质必须有一个密封门。
12. 对所有 4 级危险中传染性动物的操作必须在最大封闭实验室－生物安全 4 级水平的条件下进行。
13. 所有动物必须放在隔离室内。
14. 所有草垫和废物除去前必须经过高压灭菌。
15. 对操作人员必须有医疗监督以及合适的免疫。

节肢动物

实验室中用到的节肢动物通常是病原体的带菌者和传染原，或者生态环境研究中出来的，或者因为食物中注射了病原体而受到感染的。可能包括以下几种动物：环节动物、aschelminthes、节足动物、棘皮动物、软体动物、扁形动物和原生动物。

就节肢动物而言，生物安全水平设施将由危险级别来决定，但是对特定的节足动物尤其是飞虫而言，特殊的警告还是必要的。

1. 感染的和未感染的节肢动物之间必须进行隔离。
2. 这些房间必须能够密封。
3. 应当有充足的杀虫剂。
4. 必要时，应当有冷冻设施以减少节肢动物的活动。
5. 进入实验室必须经过前厅，前厅内有对付昆虫的设施以及门上有防节肢动物进入的屏障。
6. 所有废气通气管道和可以打开的窗户必须装上防止节肢动物的屏障。
7. 废物和水不能烘干。
8. 所有废物必须经过高压灭菌的净化，因为即使用所有的杀虫剂，也会有一部分节肢动物不被杀死。
9. 必须经常检查幼虫、飞虫、爬虫和跳动的节肢动物。
10. 滴管和其他小的容器应当放在装有油的碟子里。
11. 感染的或有潜在感染性的飞虫必须放在有双层网的笼子里。
12. 必须在生物安全橱或隔离室中处理感染的和有潜在感染危险的节肢动物。

13. 必须在冷却的碟子里处理感染的和有潜在感染危险的节肢动物。
进一步的信息要看参考书 1 和 6～9。

第二部分 实验室设备

7.生物安全橱

生物安全橱的设计是为了保护操作者、实验室环境以及其他物质免受传染性气溶胶的影响。在对具有传染性的物质进行操作，如原培养液、牲畜和诊断样本，就有可能产生气溶胶。给液体或半流体物质以能量就有可能产生气溶胶，如摇晃、灌、刺激、把一种液体倒入另一种液体中。实验室活动，如使用光的琼脂板，用吸液管在细胞培养瓶里接种，用多通道管分散液体悬浮液使之成为微培养板，使传染性物质均质化，过滤传染性液体或用动物操作，都有可能产生气溶胶。直径小于5μm或在5～10μm之间的气溶胶粒子是人肉眼看不到的。实验室工作者通常意识不到这些小粒子的产生，因而就很可能吸入甚至造成交叉感染。BSC，如果正确应用的话，是能够有效的减少实验室获得性感染以及因气溶胶的产生导致的交叉感染的。每种BSC都能保护环境。

表5。BSC的选择，根据被保护的物质类型选择。

保护物品的类型	BSC选择
操作人员个人防护、1～3级危险中的微生物	I级、II级、III级
个人保护。4级危险中的微生物，手套盒实验室	III级
个人保护、4级危险微生物、防护服实验室	I级、II级
产物保护	II级，如有薄层组织则用III级
挥发性的放射性防护和化学防护，较小的量	IIB1级，IIA2级
挥发性的放射性防护和化学防护	I级、IIB2级、III级

多年来BSC的设计也经历了几种设计模式。一个主要的变化就是附加了HEPA过滤系统。HEPA系统能够吸附99.97%的直径0.3μm的粒子，对于更大直径的粒子能够做到99.99%的吸附。这样HEPA几乎能够吸附所有的传染性物质，确保从BSC中排出的废气中不含微生物。第二种设计的改进就是直接将HEPA过滤过的空气吹到工作台表面上，保护工作台表面的物质不受污染。这种方法也叫产物保护。这种基本的设计关键导致了BSC的三级进化。保护物品的类型由表5中列出。

注意：水平和垂直流出道的橱（净气工作站）不是生物安全橱，不能以上述方法使用。

I 级生物安全橱

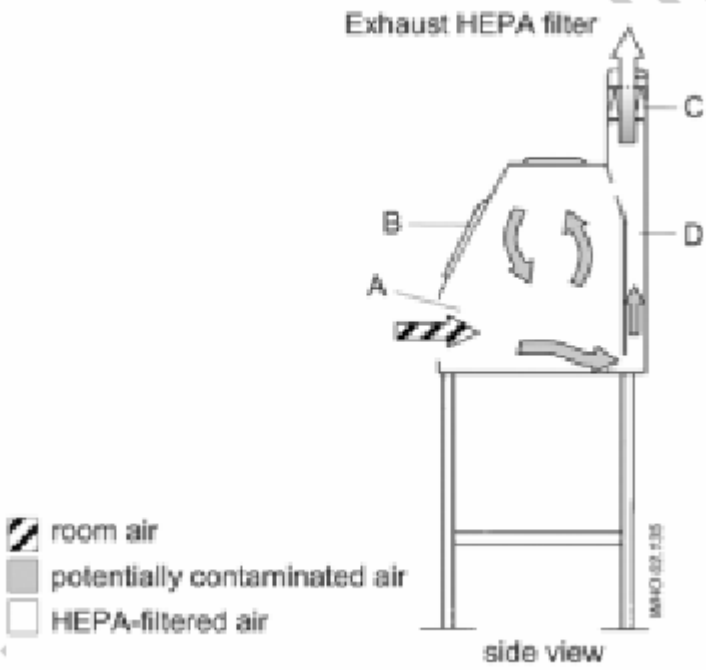


图 3.I 级生物安全橱的示意图。A：前面开口；B：窗户；C：HEPA 过滤系统；D：排气阀

图 3 画出的是 I 级 BSC 的示意图。空气从前面的开口以 0.38m/s 的速度进入房间，穿过工作台然后从排气管排出。这样在工作台表面可能产生的气溶胶粒子就随着排气管排出室外而不接触工作者。前面的开口使得操作者的胳膊可以伸到工作台的表面上，并且可以通过玻璃观察到工作台表面。当清洗工作台或其他目的时可以将窗户完全打开。

从 BSC 内出来的空气排出前要经过 HEPA 过滤：(a) 过滤后进入实验室然后通过实验室的排气系统排出室外；(b) 直接通过排气系统排出去；(c) 直接排出室外。HEPA 过滤系统可以安装在 BSC 的排气阀或实验室排气系统中。有一些 I 级 BSC 内部装有排气扇，尽管其他的依赖于该建筑中排气系统的排气扇。

I 级 BSC 由于设计简单而成为第一个被认可的 BSC。且仍在广泛使用。它有很多优点：可以保护操作者和环境以及适合于处理放射性核物质、挥发性化学毒物质。因为未灭菌的室内空气进入工作台，因此并不能始终提供可靠的产物保护。

II 级生物安全橱

细胞和组织的培养就会很容易促进病毒的生长，因此未杀菌的室内空气经过工作台就不太合适了。II 级 BSC 的设计不仅可以保护工作人员，而且可以保护

工作台表面免受污染空气的干扰。II 级 BSC，共有四类（A1、A2、B1、B2），因它允许 HEPA 过滤的空气经过操作台而与 I 级不同。II 级 BSC 可以用于在 2 级和 3 级危险中工作处理传染性微生物。在正压时，II 级 BSC 可用于 4 级危险下操作传染性微生物。

II 级 A1 类 BSC

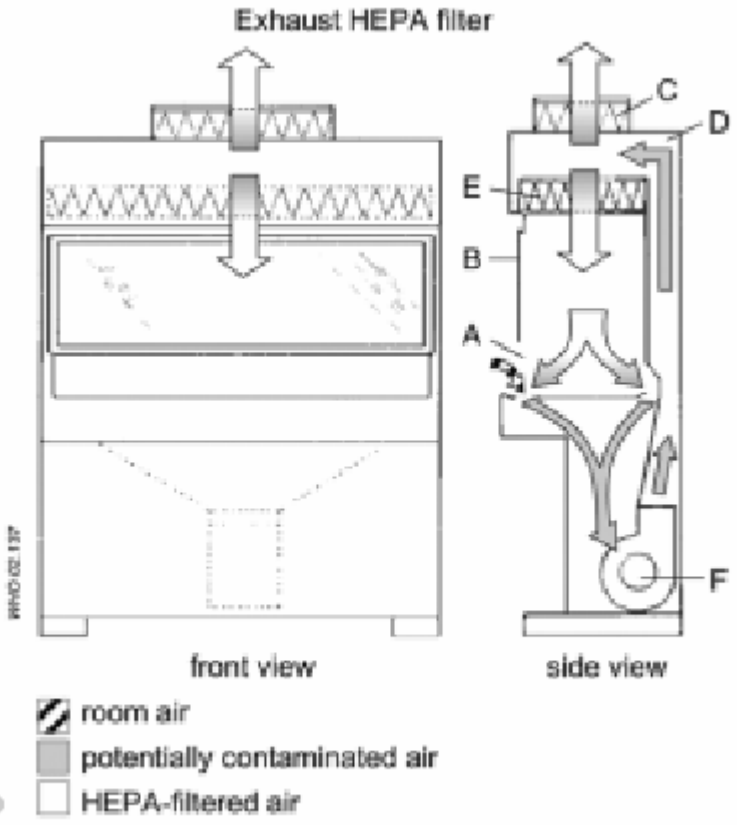


图 4.IIA1 级 BSC 的示意图。A：前面开口，B：窗户，C：HEPA 系统，D：后部阀，E：HEPA 供气系统，F：吹风机

II 级 A 型 BSC 如图 4 所示。内部有一个扇子将室内空气从前面开口吸入安全橱内，并进入前面的入口。气流速度至少应为 0.38m/s。空气流经 HEPA 供气系统，然后向下流入工作台。当空气向下流动的时候，它从离工作台 6～18cm 的时候分成两路，一半流入前面的排气阀，另一半流入后面的排气阀。工作台表面如果产生任何气溶胶粒子，将会立即随着向下流动的空气进入前面或后面的排气阀，因此能够提供高水平的产物保护。空气然后通过后部的阀排出到供气和排气之间的位置。由于这些滤器的相对尺寸，大约有 70%的空气会通过 HEPA 供气阀回到工作台区域，其余的 30%将通过排气阀进入室内或室外。

II 级 A1 型 BSC 排气装置中出来的空气可以再回到室内循环利用，或者通过排气系统排出室外。废气在室内的再循环利用可以降低燃料的费用，因为热空气或冷空气不通过外部环境。有排气系统的 BSC，有些可以操作放射性核和挥发性有毒化学物质（表 5）。

II 级 A2 类 BSC，B1 和 B2 类 BSC

IIA2 类通风口朝外，IIB1（图 5）和 IIB2 类 BSC 是 IIA1 类的变化形式。表 6 中列出了这些安全橱以及 I 级和 III 级 BSC 的特点。每一个变化都使得 BSC 有一种特定的用途（见表 5）。这些 BSC 在几个方面不同：前面开口空气流入的速度、工作台表面再循环的空气量和排出量的比例、排气系统（决定了空气从安全橱中是排到室内还是室外），通过专门的排气系统还是大楼内公共的排气系统、以及压力安排（生物安全橱是否有生物污染的导管和负压下的阀，或者生物污染的导管和被负压管和阀包围的阀）。

对 IIA 级和 IIB 级 BSC 的完整描述见参考书 10 和 11，或者参考制造商的手册。

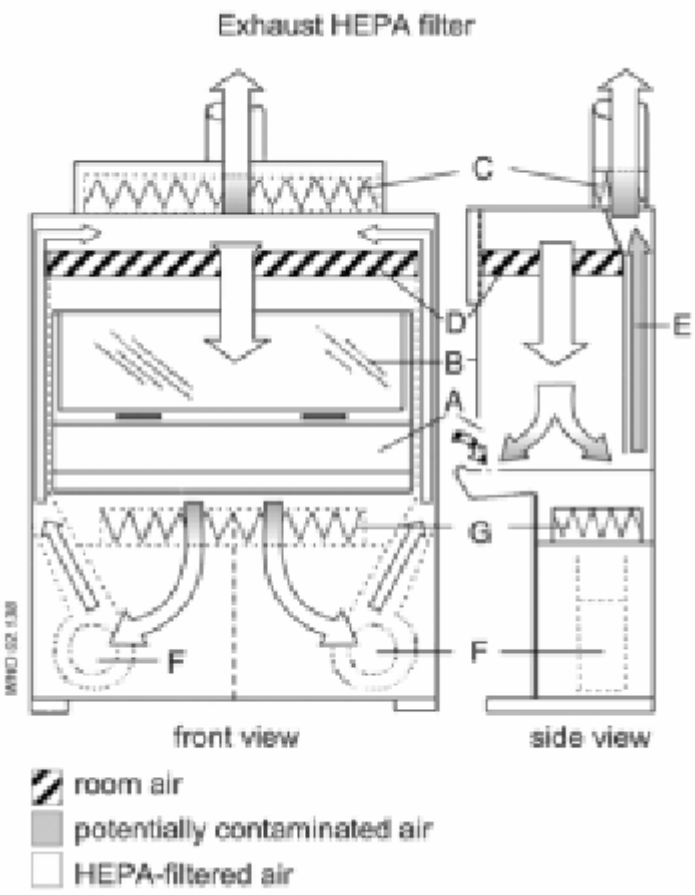


图 5.IIB1 类 BSC 的示意图。A：前面开口，B：阀，C：HEPA 排气系统，D：HEPA 供气系统，E：负压排气阀，F：吹风机，G：HEPA 供气过滤系统。安全橱内的排气系统和公共排气系统应该相连。

表 6.I、II、III 级 BSC 之间的区别。

BSC	面板气流速度（m/s）	空气流量比例（%）	排气系统

		再循环的	排出室外的	
I 级 [a]	0.36	0	100	硬管
IIA1 级	0.38～0.51	70	30	气体排到室内或套管内
IIA2[a]，通风口朝外	0.51	70	30	气体排到室内或套管
IIB1 级 [a]	0.51	30	70	硬管
IIB2 级 [a]	0.51	0	100	硬管
III 级 [a]	NA[b]	0	100	硬管

[a] 所有生物污染的导管都是在负压条件下，或者周围是负压下的导管和阀。
[b]NA，不可用的。

III 级 BSC

此类（图 6）BSC 对操作人员提供了最高水平的保护，并且可用作危险分级 4 级中。所有装置都密封良好，不透气。供气通过 HEPA 过滤，废气通过两个 HEPA 系统进行过滤。通过安全橱外部的单向排气系统维持空气流动，这可以使内维持在负压条件下（大约 124.5Pa）。进入工作台表面需要戴上厚的橡胶手套。III 级 BSC 应当有可灭菌的通道，且应当装有 HEPA 过滤排气系统。III 级 BSC 有可能和双层门高压锅相连，以净化进入安全橱或橱内现存的物质。几个装手套的盒子可以放在一起延伸到工作台表面。III 级 BSC 适合于在生物 3 级和 4 级危险的实验室中使用。

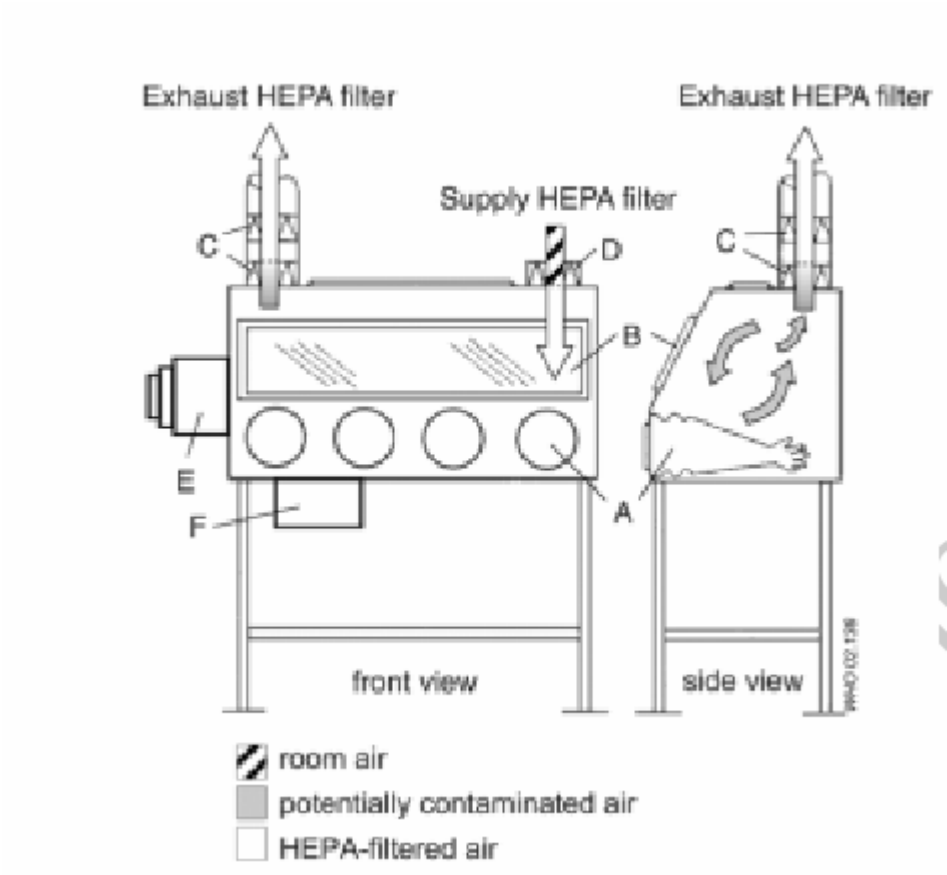


图 6.III 级 BSC 的示意图（有手套盒）。A：放有长臂手套的盒子，B：阀，C：双层 HEPA 排气过滤系统，D：HEPA 供气过滤系统，E：双端高压灭菌锅，或由盒子做的通道，F：化学物质浸泡箱。安全橱的废气排气系统应当和一个独立的公共排气系统相连。

BSC 空气连接系统

为了安全橱 IIA1 级和 IIA2 级和外界的通风而设计了环形管。在安全橱和导气管之间通常有一个直径为 2.5cm 的小开口。这个小开口使得室内空气被吸入废气系统中。其容量必须保证能够容纳室内和安全橱两个部分的废气。套管必须可以移走，且允许对安全橱进行检测。通常，和套管相连的 BSC 较少受到楼内空气流动变化的影响。

IIB1 和 IIB2BSC 是硬管，比如连接牢固，没有通向排气系统的任何开口。更没有通向单向废气导气系统的开口。大楼内的排气系统必须由制造商根据容量和静态压力精密设计以满足空气流动的要求。硬管相连性 BSC 比弯管相连性 BSC 费时。

BSC 的选择

BSC 首先应该根据被保护物品的类型来选：产物保护、1～4 级危险微生物

中的人员保护、暴露于放射物质和挥发性化学有毒物质中的人员保护。表 5 表明的 BSC 可以保护的类型。

挥发性和有毒化学物质不应该在 BSC 中使用，如，I 级中的废气不应该导入楼内其他废气系统，或者 IIA1 和 IIA2BSC 中。IIB1 级 BSC 中有少量的挥发性化学物质以及放射物质是允许的。IIB2 级 BSC，当使用大批放射物质和挥发性化学物质的时候也是需要一个全套的废气导气系统。

实验室中使用 BSC

场所

空气从前厅流入 BSC 的速度大约是 0.45m/s。以这个速度，就很容易受到来来往往的行人的影响，以及窗户开放、空气供应器，开关门都很容易影响气流。理想情况下，BSC 的位置应当远离交通或其他干扰气流的因素。在安全橱的后面以及每个方位都应该有 30cm 的空以便于以后的维修工作。其上面应该有 30～35cm 的空间以便于测量空气流速。

操作者

如果不能正确的使用 BSC，它的保护效果就会大打折扣。操作者必须注意维持前厅空气流动的完整性，尤其是将胳膊伸进和拿出 BSC 时。胳膊的移动应当尽可能慢，且和前面的开口垂直。对 BSC 里的物质进行操作必须在将手放进去 1 分钟后进行，这样可使安全橱调整流过手臂和胳膊表面的空气。在开始操作前，往安全橱里放东西时，应当尽量减少胳膊伸进伸出的次数。

物品的放置

II 级 BSC 的入口处不能用纸、器具或其他东西填充。放入安全橱内的东西必须经过 70%的酒精的净化。可以用浸满消毒剂的毛巾擦拭溅出的液体。所有物品应当放在安全橱内离人尽量远的地方，也就是靠近工作台的后部，这样不用锁住后部。易产生气溶胶的设备应当放在安全橱的后部。大的容器，如生物危险袋，废弃的移液管盘子和长颈瓶应当放在安全橱靠前面的位置。活动的工作应当是从干净的地方经工作台表面到达污染区域。奈高压的生物危险搜集袋和搜集移液管的盘子不应当放在安全橱外面。经常性的移近移出就会破坏安全橱内的空气屏障，并且能够降低操作者和物品的保护功能。

操作和维修

大部分 BSC 的设计都允许每天 24 小时的工作，研究者发现连续的工作可以控制实验室中灰尘和粒子的水平。IIA1 和 IIA2 级 BSC 中的排气系统在不用的时候应当关闭。其他类型的如 IIB1 和 IIB2 级 BSC，它们安装了硬管，则为了维持室内的空气平衡，必须有恒定的气流流过。安全橱必须在工作时必须提前 5 分钟开放，在工作结束后也应当开放一会便于净化，即开放一段时间以便于污染空气流出安全橱外。

BSC 的维修工作必须由有经验的技术人员进行。BSC 的任何的误操作都应当向上报告，且在再次使用前必须修理。

紫外灯

BSC 中不需要紫外灯。如果用的话，就必须每周清洗以除去灰尘和脏东西以免影响紫外线的杀菌效果。当安全橱校正的时候必须检查紫外灯的强度以确保紫外灯发射的粒子浓度合适。当操作者进入时必须关掉紫外灯，以保护眼睛和皮

肤免受紫外线的损害。

开放的火焰

BSC 内部无微生物的环境中应当避免开放性火焰。因为开放性火焰将破坏空气的流通模式，且当使用挥发性易燃性物质时就更加危险。若要杀菌，应该用微生物燃烧炉或电炉，而不应用开放性火焰。

溢出液

应当制订处理溅出液的书面规则，并且每个使用实验室的人都要有一份，都要阅读且理解。一旦 BSC 内出现生物危险性溅出液，则应立即进行清理，同时安全橱可以继续操作。应该有一种有效的消毒方法，能够最大限度的减少气溶胶的产生。所有与溅出液有联系的物质都应当消毒和高压灭菌。

年度校正

根据制造商的介绍，每个 BSC 的功能操作和完整都必须符合国家或国际标准，安装的时候以及以后都必须由熟练的技术人员进行校正。生物安全橱密封有效性的评价应当包括：安全橱的完整性、HEPA 过滤系统泄漏性、向下流的速度图形、表面速度、负压/通气率、空气流动模式、警告和内锁。也可以进行随意的漏电、光强度、紫外灯强度、噪声水平和振动检测。特殊的训练，技巧，或设备都要进行这些检查，且最好由一个高水平的专业人士进行。

清洗和消毒

BSC 内的所有东西，包括设备，其表面都必须净化用完后必须除去，因为剩余的培养液很容易滋生细菌的繁殖。BSC 的前部表面在使用前后都要净化。工作台表面和后壁应当用消毒剂擦洗以便杀死任何微生物。工作结束后，最后的表面净化应当包括工作台表面、边上、玻璃的前部和后部。在使用腐蚀性消毒剂如漂白粉时，要进行二次擦洗。建议安全橱在不用时保持开放状态。如果不这样，用完后也要至少开放 5 分钟才能关闭。

净化

在滤器改变里面的空气以及移走之前，BSC 必须净化。最常用的净化方法是用甲醛其他进行。BSC 的净化应当由有经验的专业人士进行。

个人保护设备

不论什么时候使用 BSC 都应当穿上个人防护服。实验室的防护服是生物安全 1 级和 2 级水平的实验室中获得的。防护服的前面固定，后面封闭，这样可对操作者提供较好的保护，且在生物安全 3 级和 4 级水平的实验室（除了防护服实验室）中都应当使用防护服。手套应当套在防护服的外面。可以穿有弹性的袖子以保护手腕。有些情况需要安全玻璃以及安全罩。

警告

BSC 可以安装两种警告系统中的一种。框格性警告仅仅可以装在安全橱的可滑动的框格上。这种警告表面操作者已经将它移到一个不合适的位置了。正确的操作是将它推回原位。空气流动警告表明安全橱内的正常的空气流动模式被破坏了。这表明对操作者或产物而言有立即的危险。当空气流动发出警告时，工作应当立即停止，且应当通知实验室监督员。制造商的说明手册应当提供进一步的处理这方面事故的详细信息。

补充信息

选择正确类型的 BSC，安装，正确检查并每年校正其操作，是一个复杂的过程。强烈建议这些工作在一个训练优良的、经验丰富的、生物安全专家的指导下进行。这个专家必须非常熟悉参考书表中列出的所有文献，且应当且在 BSC

的所有方面都经过培训。操作人员应当接受关于 BSC 的操作和使用的正规的培训。

进一步的信息可以看参考书 1 和 10～19，和第 10 章。

8.设备相关性危险

某些设备在使用时也有可能产生微生物危险。而有些其他的设备则可以防止或减小生物危险（见 9 章）。

产生危险的设备

表 7 列出了一些可能产生生物危险的设备和操作，且列出了如何避免或减小这些危险。

表 7.可能产生危险的设备和操作。

设备	危险	如何消除或减小危险
皮下注射针	偶尔刺入皮肤，产生气溶胶或溢出液	*不要把针剪短 *用一个针套将注射器封闭，以免针头和注射器分离；或者使用一次性针管，这样的针管针头和管是连在一起的。 *良好的实验室技术，如： －仔细将注射器吸满液体以免气泡产生 －避免使用注射器的时候将传染性物质混合，使用时，应当使针头在管内液面下，避免多余的压力 －将针头从橡胶瓶里拔出来之前用潮湿的棉布将它包起来，并用合适的消毒剂进行消毒 －去除多余的液体和气泡的时候，用沾有消毒剂的湿棉布包起来 *操作所有的传染性物质都要使用 BSC *操作动物时应当阻止它们的活动。操作动物鼻内或口内使用钝的针或套管。使用 BSC。 *使用后进行高压灭菌，确保细菌正确的除去。如果使用一次性针头和注射器，在进行高压灭菌前不要将二者分开。
离心机	气溶胶、飞溅物、管破裂	使用密封桶（安全杯）或密封的转轴。在除去气溶胶 30 分钟后或者在 BSC 内才能使用开放的桶和转轴

红母翻译

超离心机	气溶胶、飞溅物、管破裂	－在离心机和真空泵之间安装一个 HEPA 过滤系统 －对每次转轴使用的时间都有一个日志，且有一个维护计划以减少产生机械故障的危险 －装载和卸载桶和轴都应该在BSC内进行
厌氧性物体罐	爆炸，传染性物质扩散	确保催化剂周围金属帽的完整
干燥器	内部破裂，玻璃碎片的分散，传染性物质的扩散	放在一个结实的金属笼里
均质器（高速搅拌器）	气溶胶，泄漏，和容器破裂	－在 BSC 内操作或打开设备 －使用专门设计的模板或 O－环衬垫防止物质从转轴泄漏，或者用胃托 －打开搅拌机的碗之前，等待 30 分钟让气溶胶充分溶解，冷却使气溶胶浓缩 －如果使用人工的组织研磨器，用一个浸有吸收剂的软东西包住管子
超声降解机，超声清洗器	气溶胶，听力下降，皮炎	－在BSC中或气体密封单元内打开和操作设备 －确保绝缘保护人免受分谐波的影响 －戴手套以防高频清洁剂对皮肤的损害
培养液搅拌器，混合器，煽动器	气溶胶，溅出液和溢出液	－在 BSC 中或专门设计的单元内操作 －必要的时候，使用具有重螺丝帽的培养瓶，瓶口装有过滤保护的出口
冷冻干燥机	气溶胶，直接接触污染	－使用 O 形连接器彻底密封 －使用令人满意的净化方法，如化学消毒剂 －提供全金属的湿闸和蒸汽冷凝器 －仔细检查所有玻璃真空管，以免表面有刮擦，真空下的操作只能使用专门设计的玻璃器具
水浴室和 Warburg 浴室	微生物生长，叠氮钠和一些金属形成易爆炸性复合物	－确保定期的清洗和消毒 －不要使用叠氮钠抑制微生物的生长

9.减小生物危险的设备设计方法

由于气溶胶是一个重要的传染源，应当采取措施降低它形成和扩散的程度。很多实验室操作都可以产生危险性气溶胶，如传染性物质的混合、研磨、摇晃、刺激、降解、离心。即使使用安全的设备，在经证实完好的 BSC 内进行这些操作也是必要的。生物安全橱的使用和检测在第 7 章中有叙述。只有操作者经过正

确的培训后，使用正确的技术时，安全设备才能提供保护作用。应当经常检测这些设备以确保它能够保持持续的安全功能。

表 8 提供了安全设备的检查表。进一步的详细介绍在随后的几页。附加的使用信息在第 10 章。

表 8.生物安全设备

设备	相关危险	安全特点
I 级 BSC	气溶胶和溅出液	当工作台入口打开时，应当限制气流速度为最小。废气的充分过滤
II 级 BSC	气溶胶和溅出液	当工作台入口打开时，应当限制气流速度为最小。废气的充分过滤
III 级 BSC	气溶胶和溅出液	最大封闭程度
负压薄片隔离器	气溶胶和溅出液	最大封闭程度
溅出物防护罩	化学物质的溅出	操作者和工作台之间有屏蔽玻璃
吸液管助管	口吸液带来的危险，如吸入病原体，吸入管中产生的气溶胶，这些气溶胶可能因为嘴吹出液体产生。吸液管尖端的污染	－方便使用 －控制因吸入产生的污染 －可以被灭菌 －防止吸液管尖端的泄漏
微焚化炉，可移动线圈	转换线圈中溅出液体	－玻璃管或瓷管末端有防护帽，用气体或电加热 －使用方便，不需加热
搜集传染性物质的防漏管和传染性物质的运输灭菌	气溶胶，溢出液，漏出液	－有盖或帽的防漏构造 －耐用 －可以进行高压灭菌
装锐利器具的容器	偶尔的刺伤	－可以高压灭菌 －结实，防刺
实验室和气体机构之间的运输容器	偶尔会使微生物逃脱	－结实 －第一容器防水，第二容器可以接受溢出液 －有吸收剂以吸收溢出液
高压灭菌锅，手工的或自动的	传染性物质（安全的可以除去或再利用的）	－满意的设计 －有效的高温灭菌
有螺丝帽的瓶子	气溶胶和溢出液	有效的密封
真空线保护	实验室真空系统受到气溶胶和溢出液体的污染	－弹药筒式的过滤系统阻止气溶胶粒子的通过（粒子尺寸 0.45vm） －装溢出物的瓶子里有

		消毒剂。溢出瓶满的时候可以用橡胶球自动封口。 －整个单元都可以进行高压灭菌

负压薄片隔离器

负压薄片隔离器是一个自密封的初级封闭装置。它为接触危险的生物物质的人们提供最大的保护。它可以装在一个流动站上。工作站被全部密封在透明的聚氯乙稀悬浮液中，悬浮在钢框架上。隔离器维持在内部负压的环境下。进入的空气要经过一个 HEPA 过滤系统，出来的空气要经过两级 HEPA 过滤系统，因此也就不必将废气导出楼外了。隔离器也可以安装在培养皿、显微镜和其他实验室设备上，如离心机、动物笼、热木塞等。进入隔离器或从其中出来的物质可以从供应管道进行，这样就不会降低微生物的安全性。操作应当戴上长袖手套以及短的手套。装一个压力计以监视密封的压力。

薄片隔离器用于高危险的有机体（3 级或 4 级危险），因为这种情况下安装通常的 BSC 是非常不容易的。它们也可以运到野外去工作。

吸液管助管

在洗液操作中经常用到吸液管助管。严格禁止用嘴吸液。

吸液管助管的重要性液不能被夸大。吸液带来的最大危险就是用嘴吸液带来的危险。口头吸入和注射危险物质被认为是许多实验室相关性传染病和事故的两大来源。

如果将污染的手指放在吸液管的吸管末端，病原体也可能被传到嘴里。一个更鲜为人知的危险就是吸入气溶胶。在正压或负压条件下，棉塞不是有效的微生物过滤器，粒子可以经过它被吸入到体内。当塞子很紧时，就会用很大的力气吸，这样就很可能吸入活塞、气溶胶甚至液体。使用吸液管助管可以避免很多病原体进入体内。

当将液体溅到工作台表面时也有可能产生气溶胶，当培养液由于吸和吹而被混合、以及最后一滴吹出吸液管时都有可能产生气溶胶。

在 BSC 内工作可以避免吸入气溶胶。吸液管助管应当经过严格选择。它们的设计和使用不应该产生附加的传染性危险，且容易灭菌和清洗。应当使用尖端有活塞（阻止气溶胶）的吸液管，尤其在操作微生物和细胞培养的时候。

吸液管的尖端如有破裂，就不应再使用，它们有可能损害吸液管助管的密封性并带来危险。

均质器、摇晃器、混合器和超声降解机

家庭（厨房）用的均质器没有密封且释放气溶胶。只有专门为实验室设计的均质器才可以在实验室里使用。它们的构造可以防止释放气溶胶或降低释放气溶胶的可能性。胃托，有不同容量，可以很方便的买到的，也可以产生气溶胶。3 级危险的微生物所用的均质器应当总是装满，且在 BSC 内再次打开。

超声降解机也会释放气溶胶。它们应当在 BSC 内使用，或者使用时前面放一个保护盾牌。超声降解机的外部以及盾牌在使用后都要净化。

可移动性传输线圈

可移动性传输线圈的优点就是它们不用灭菌，且可以用在 BSC 中，哪怕有 Bunsen 燃烧炉和微生物焚化炉干扰空气流动。这些线圈用后应当消毒，且扔掉时应视为污染性废物（见 3 章中污染性废物的除去）。

微焚化炉

气性或电热性微焚化炉有着硼硅酸盐玻璃和瓷制盾牌，可以降低传输线圈灭菌时传染性物质的飞溅和扩散。然而，微焚化炉干扰空气流动，因而不能用于 BSC 中。

个人防护服和设备

个人防护服可以提供一个屏障以减少人暴露于气溶胶、飞溅的液体和意外危险物的机会。所选择的衣服和设备取决于工作的性质。在实验室工作，必须穿防护服。离开之前必须除去防护服，洗手。表 9 概况了实验室中使用的一些防护服以及它们可以提供的保护。

表 9.个人防护设备

设备	相关危险	安全特点
实验室大衣，隔离衣，外套	衣服污染	－背部开放 －盖住平时穿的衣服
塑料围裙	衣服污染	防水
鞋套	挤压和溅出液体	前端封闭
护目镜和安全眼镜	挤压和溅出液体	－防挤压的透镜（必须是光学上合适的且戴起来方便） －保护侧面

面罩	挤压和液体溅出	－保护整个面部 －出现事故时容易除去
呼吸器	吸入气溶胶	设计可以有头巾，半个面罩，等
手套	偶尔的直接接触 偶尔的刺破或切伤	－易处理的橡胶或乙烯手套 －保护手的装置 －网织手套

实验室外套、长袍、大衣、围裙

实验室的衣服应当钮扣齐全。然而，长袖的、背部开放的隔离衣将比实验室外套提供更好的保护，且在微生物实验室和 BSC 工作时为首选。围裙应当穿在实验室隔离衣外，以提供进一步的保护，保护操作者免受化学和生物物质如血液和培养液的飞溅的影响。

护目镜、安全屏障、面罩

保护眼睛免受溅出液和冲出液影响的设备的选择依赖于所进行的活动的性质。可以制造有特殊框架的眼镜，前面装有透镜，用防碎物质，弯曲的或者旁边有保护盾牌（安全眼镜）的。在正常的眼镜外应当戴上护目镜，因为透镜不能提供人在生物危险中的保护。面罩是用防碎塑料制的，罩住整个脸，且固定在头上。

呼吸器

在高危险的条件（如清洗传染性物质的溅出液）下工作时要用到呼吸性保护装置。面罩和呼吸器的选择，呼吸器类型的选择依赖于所遇到的危险的类型。呼吸器内部有可互换的滤器以保护人免受气体、蒸汽、粒子和微生物的伤害。注意只有 HEPA 滤器才能阻止微生物的伤害，且它必须强制性安装在正确类型的呼吸器上。为实现最佳的保护效果，呼吸器应当放在操作者面部检验。全部自密封且有完整的供气系统的呼吸器能提供完全的保护。应当向有经验的人询问有关建议，如一个职业卫生学家，来选择正确的呼吸器。

手套

进行实验室操作时手会受到污染。手也很容易受到锐利器具的损伤。可除去橡胶手套和乙烯外科手套被经常用于一般的实验室工作，操作传染性物质、血液和体液。可以再次利用的手套必须进行正确的清洗和消毒。操作传染性物质、在 BSC 内工作，以及离开实验室之前，在手套除去之后，必须彻底清洗手部。用过的一次性手套必须跟随传染性实验室废物一起除去。

过敏反应如：曾有实验室报道过皮炎以及超敏反应原，以及其他带着橡胶手套的工作者，尤其用粉末工作的。在出现问题时应当使用无粉末手套或乙烯手套。

当有暴露于锐利器具的危险的时候，应当使用不锈钢网织手套。如尸检。然而，这样的手套只能保护免受切伤，却不能保护针刺的伤害。

进一步的信息见参考书 12，20，21。

第三部分：微生物技术规范

10.安全的实验室技术

人为的错误、不良的实验室技术、设备的不正确使用会引起实验室大部分的事故、损伤、工作相关性传染。这一章描述了避免或减小实验室大多数事故的技术方法。

实验室中对被实验物的安全操作

实验室中不正确的收藏、内部传输和接受实验物都会使相关操作者有感染的危险。

装实验室样品的容器

这些容器可能是玻璃的，当然塑料的更好。它们应当足够结实且盖上塞子后防漏。所有东西都必须放在容器内。为了便于识别，容器必须贴上标签。实验物的要求和说明书之类的应当包在容器外，但是应当防止弄湿。

容器内物品的运输

应当用装满干草的箱子盛物品以防止物品泄漏和溅出。这种箱子可以是金属的或塑料的，并且要耐压、耐消毒剂腐蚀。箱子封口时应当有衬垫。且通常应当净化。远距离的物品的运输见 12 章。

接受实验物品

接受大量实验物品的实验室应当准备一个独立的房间或区域放置它们。

开放的包裹

接受并打开包裹的人员应当小心可能会有潜在的危险，对他们应当进行培训以便有基本的警惕，尤其是操作碎了的或漏了的容器时。应当在 BSC 内解开物品的包装。应当有消毒剂。

吸液管和吸液管助管的使用

1. 应当总是使用吸液管助管。必须禁止使用口用吸液管。
2. 所有的吸液管都应当有棉塞以减少吸液管的污染。
3. 不能对含液体的任何传染性物质吹入空气。
4. 不能用吸液管反复吸入和抽出传染性物质。
5. 不能从吸液管中强制性排出液体。

6. 贴标签的吸液管比其他类型的好，因为这样在下次使用时就不用排除最后一滴。
7. 污染的吸液管必须完全浸在充满消毒剂且不易碎的容器中。在扔掉之前应当浸泡 18～24 小时。
8. 废弃的装有吸液管的容器应当放在 BSC 内部而不是外部。
9. 注射用针管不能用于吸液。应当用钝的套管代替针管。有一些设备允许使用吸液管且不允许使用皮下注射针管。
10. 为避免传染性物质从吸液管中滴出，在工作台上应当放一块浸满消毒剂的布或吸收性好的纸，这些布和纸都应当进行高压灭菌，且在丢弃时应当作为传染性废物处理。

避免传染性物质的扩散

1. 为了避免传染性物质的过早脱落，微生物传输线圈的直径应当是 2～3mm，且完全封闭。为了减轻振动，腿不应该超过 6cm。
2. 通过电微焚化炉对传输线圈进行消毒，以避免开放性 Bunsen 焚化炉中传染性物质的溅出。可移动性传输线圈，就不需要重新消毒，因此，效果会更好。
3. 为避免气溶胶泡沫和扩散，不应当在滑片上测试过氧化氢酶。应当用毛细管或玻璃管代替。
4. 要进行高压灭菌或除去的废弃的样品和培养液应当放在防漏容器中，如实验室废物袋。
5. 每次工作结束后都要对工作区域进行净化。进一步的信息见参考书 12。

生物安全橱的使用

1. 应当将 BSC 的用途和局限性解释给每一个可能用到它的人，可以参考国家标准和相关文献。应当将书面的协议或安全手册或操作手册发到每一位员工手里。更重要的是，让大家必须清楚，安全橱并不能保证人们免受溅出液、容器破损和不良技术的影响。
2. 只有在 BSC 工作正常时才可以使用。
3. 当使用 BSC 的时候，不能打开玻璃面板。
4. 尽量减少安全橱内放置的设备和物品的数量。不能封住后部高压部分的空气流动。在把物品放入 BSC 内的工作区之前必须对物品进行表面净化。
5. BSC 内不能使用 Bunsen 燃烧炉。产生的热将干扰气流破坏滤器。允许电微焚化炉的存在，但消毒了的可移动性传输线圈则更好。
6. 所有的工作必须在工作台的中部和后部完成，且通过玻璃面板能看到这些操作。
7. 应当尽量减少操作者后部的人员流动。
8. 操作者应当尽量减少胳膊的移进移出，以尽量减少对气流的干扰。

9. 前面的空气通道不能被吸液管或其他物质堵住，因为这些东西会干扰气流并引起潜在的物品污染以及操作者暴露于其中。
10. 在工作完成或一天结束时，应当对 BSC 的表面进行消毒。
11. 在开始工作前 5 分钟和工作结束 5 分钟后都应当把 BSC 的风扇打开。

关于 BSC 的进一步的信息见 7 章。

避免传染性物质的注射以及其和皮肤、眼睛的接触

1. 在微生物操作中溅出到桌面和操作者手上的大粒子或液滴应当立即处理。应当带上一次性手套。实验室工作者应当避免手和嘴、眼睛、脸的接触。
2. 在实验室中不能吃东西，喝饮料。
3. 实验室中不能嚼口香糖。
4. 实验室内不准化妆。
5. 在任何可能引起传染性物品溅出的情况下，脸、眼睛、嘴都应当保护好。

避免传染性物质的注射

1. 通过仔细的操作和严格的步骤可以避免因碎裂的玻璃器具而导致的人们不小心注入传染性物质。在任何可能的情况下，应当用塑料器具来代替玻璃器具。
2. 传染性物质的注入可能是由于注射用针、玻璃的巴斯德吸液管、碎玻璃。
3. 减少针头引起的事故可以：(a）格外小心；(b）尽量少用针管，可以在针管外面套上钝的套管。
4. 针头必须不能循环使用。扔掉的时候应当放入防刺破的容器中。
5. 塑料制巴斯德吸液管应当代替玻璃制品。

血清的分离

1. 只有经过严格训练的员工才可以进行此项操作。
2. 应当带上手套、眼罩以及其他保护膜。
3. 只有通过优良的实验室技术才可以避免溅出液和气溶胶。血液和血清必须仔细吸出而不能倒入。必须禁止用嘴吸液。
4. 吸液管在用完后应当完全浸泡在次氯酸盐或其他合适的消毒剂中。除去、清洗或灭菌再使用前至少应当浸泡 18 小时。
5. 废弃的含有血凝块的管应当放入合适的防漏容器中便于以后进行高压灭菌或焚化。
6. 每天都应当准备新鲜配置的次氯酸盐溶液，以便于清洗溅出物和溢出液。

离心机的使用

1. 在使用实验室离心机时，满意的机械操作是先决条件。
2. 操作离心机应当根据制造商的说明书进行。
3. 离心机放置的高度必须保证比一般人个子矮的人也能看到它内部并能把管正确放进去。
4. 离心管和样品容器管应当用厚壁玻璃制的，或者塑料制的。且在使用前应当仔细检查。
5. 用于离心的管子必须盖上帽。
6. 在 BSC 内，管子必须装满、平衡、密封或打开。
7. 用于离心的小桶和耳管必须有同重量的管进行平衡。
8. 离心管内液体占离心管体积的比例应当根据说明书来进行。
9. 为了平衡空的管，应当用蒸馏水或酒精。不能用碱液或次氯酸盐溶液，因为它们腐蚀金属。
10. 可密封的离心桶（安全杯）必须杯用于微生物危险 3 级和 4 级水平。
11. 当使用一定角度的离心时，必须注意管子不要装的太满以防漏出。
12. 对离心管的内部转轴应当每天检查以除去脏东西。
13. 必须每天检查离心轴和桶以发现破坏和头发丝样爆裂。
14. 桶、轴必须在用完后净化。
15. 用完离心桶后应当将其倒置以排出所有液体。
16. 使用离心机时可能会喷射出传染性的空气粒子。如果离心机放在传统的开放的 I 级或 II 级 BSC 内的话，气流根本就无法挡住如此高速的传染性粒子。III 级 BSC 中的离心机能够阻止传染性粒子的广泛扩散。然而，良好的离心技术和盖上安全帽的管，就提供了足够的保护，以避免接触传染性气溶胶和扩散粒子。

均质器、摇晃器、搅拌机和超声降解机

1. 在实验室中不能使用家庭（厨房）用的均质器，因为它们可能泄漏或释放气溶胶。实验室的搅拌机和胃托都是安全的。
2. 塞子、杯子和瓶子都应当放在正确的位置，不要有裂缝和变形。盖子应当盖好，衬垫也应该放好。
3. 在操作均质器、摇晃器、超声降解机的时候，必须加强管内压力。在管和盖子之间有可能飞出含有传染性物质的气溶胶粒子。由于玻璃管易碎，释放传染性物质甚至伤害操作者，所以塑料制品，尤其是聚四氟乙烯（PTFE）制管被推荐使用。
4. 均质器、摇晃器、超声降解机在使用的时候应当包上坚固的透明的塑料薄膜。用完后应当消毒。如果可能的话，这些机器应当在 BSC 内，盖上盖子后操作。
5. 操作完成后，应当在 BSC 中打开这些容器。
6. 使用超声降解机的人员应当提供听力保护。

组织研磨机的使用

1. 使用玻璃研磨机应当带上手套，并在研磨机外面包一层吸收性的较软的材料。塑料（PTFE）研磨机更加安全。
2. 操作组织研磨机应当在 BSC 中进行。

冰箱和冷藏库的使用和维护

1. 对于冰箱，深度冷藏库和固体二氧化碳（干冰）库应当定期解冻和清洁，且应当移走任何在储存期间破裂的瓶子、管之类的。在清洁的时候应当带上厚的橡胶手套和面罩。BSC 的内部应当消毒。
2. 在冰箱或其他冷藏库中储存的所有容器必须贴有表面其内部物品的科学名字的标签，标明存储日期、使用者等。没有标签或陈旧的物品应当进行高压灭菌并除去。
3. 必须有一个冰箱内物品的目录。
4. 易燃性溶液（除非防爆）不能放于冰箱中。在冰箱门上应当有这类东西的警示牌。

含有冻干了物质的瓶子的打开

当含有冻干物质的瓶子被打开时应当小心，因为这些东西可能一直在负压下，突然的打开可能使空气进入并将一些物质吹散到空气中。BSC 中的瓶子应当一直处于开放状态，下面是打开瓶子的步骤。

1. 首先净化瓶子外部表面的空气。
2. 在棉花和纤维素的塞子中部贴上文件标签。
3. 拿着瓶子，用一块浸满酒精的棉花保护手免受瓶子破裂的伤害。
4. 轻轻的除去盖子，就像对待污染物一样。
5. 如果取不掉盖子，就用消毒钳除去。
6. 缓慢加入液体避免起泡。

含有传染性物质的瓶子的存放

装有传染性物质的瓶子不能放在液体氮中，因为有裂缝的或者未密封好的瓶子在移动过程中有可能破裂或爆炸。如果可以获得很低的温度，这些瓶子也只能房子液体氮上方的气体部分。当从冷藏库中移走瓶子的时候，实验室工作者应当带上眼罩和手的保护设备。当瓶子从存储区域移走时，其外部应当消毒。

操作血液、体液、组织和排泄物时要特别小心

下面列出的警惕措施都是为了保护实验室工作者免受血液病原体的感染。

1. 物品的搜集、贴标签和运输

1）一般的警惕措施都应当遵从，所有操作都应当带手套。
2）必须由训练有素的操作人员从病人和动物中取血。
3）对于抽血，应当用单独使用的安全真空管代替传统的针管注射器，以使血液直接进入有培养液的罐子，用完后自动销毁针管。
4）这些管子应当放在足够多的容器中以运输到实验室（见 12 章，运输要求）。要求内容应当单独的防水袋或信封中。
5）运输人员不应当打开这些袋子。

2. 密封

1）诊断工作可以在基础实验室－生物安全 2 级水平的，尤其是专门为这些目的设计的实验室。
2）大体积高浓度的传染性微生物传播的研究和发展工作可能需要密封实验室－生物安全 3 级水平或更高的密封程度。

3. 打开样品管和取样

1）样品管的打开应当在 I 级或 II 级 BSC 中进行。
2）必须带手套、眼罩、保护膜（护目镜、盔甲）
3）防护服外面最好有塑料围裙。
4）应当用纸或薄纱布塞住以防止液体飞溅。

4. 玻璃和锐利器具

1）任何可能的情况下，应当用塑料器具代替玻璃器具。只有实验室级别（硼硅酸盐的）的玻璃器皿才可以使用，任何有缺口或碎裂的容器都应该扔掉。
2）注射针不应当作吸液管用。有钝的套管的可以用

5. 显微镜用薄片和涂片

为了便于显微镜观察的血液、唾液、排泄物样品的固定和着色，也不必杀死涂片上所有的微生物和病毒。这些东西应当用镊子操作，正确存储、净化，除去前高压灭菌。

6. 自动化装置（超声降解机，旋涡混合器）

1）设备必须是能够自动关闭的，以避免液滴和气溶胶的扩散。
2）流出液应当搜集在密封的管中以为了进一步进行高压灭菌或除去。
3）每次操作结束后都应当对设备进行灭菌，并根据制造商说明书进行。

7. 组织

1）应当使用福尔马林固定剂。小的样品，如针刺活检，可以在几个小时内固定净化，但是较大的样品可能需要几天。
2）应当尽量避免冻僵的切片。必须保护好低温保持器，操作者必须穿上安全服。净化时，仪器的温度应当上升到 20°C。

8. 净化

建议用次氯酸盐和高水平的消毒剂进行净化。新鲜配置的次氯酸盐溶液应当包括：一般用途氯的浓度是 1g/l，用于血液净化是浓度应为：10g/l。戊二醛可被用于净化表面。

要警惕包含朊病毒的物质

朊病毒（也被称为慢性病毒）是和某些遗传性脑海绵体病变（TSEs）相关的病毒，尤其是 Creutzfeldt-Jakob 疾病（CJD；包括最新的变异形式），Gerstmann-Str.ussler-Scheinker 综合症，致命的家族失眠症和人类的库鲁病；羊骚病，牛的海绵体脑病（BSE）；以及其他的鹿、麋鹿、貂的遗传性脑病。尽管 CJD 可以传播到人类，没有任何关于这种病毒的实验室相关性感染的报道。不过，在操作从传染性或具有潜在传染性的人和动物身上取出的样品的时候最好小心。

操作 TSEs 时生物安全水平的选择依赖于所研究的样本，且应当在国家的权威人士的指导下进行选择。人们在中枢神经系统组织中发现了高浓度的朊病毒。动物研究表明，在脾、胸腺、淋巴结节、肺组织中也可能存在高浓度的朊病毒。

由于没有一种方法可以保证暴露于朊病毒之后的彻底净化，在任何可能的时候都要使用可移动性器具，在 BSC 的工作台上盖上一个防护罩，用完后可以立即除去的那种。

最应该注意的是应当避免传染性或污染的物质刺入实验室工作者的皮肤。应当采取以下的措施，当实验室消毒和灭菌不能全部杀死那些病毒的时候。

1. 使用专门的设备，如不能和其他实验室共用的设备。
2. 可除去的实验室防护服（隔离衣和围裙）以及手套（病理学家用橡胶手套、钢丝网织手套）。
3. 一次性塑料器皿的使用，用完后可以随意扔掉。
4. 由于消毒的问题不宜用组织处理器。应当用罐子和大口杯。
5. 所有操作均应在 BSC 中进行。
6. 应当训练操作者注意避免气溶胶的产生，意外物质的刺入、切割和刺破皮肤。
7. 经福尔马林固定的组织应当被认为是仍有传染性的，即使是长久泡在福尔马林液体中的。
8. 长椅上的废弃物，包括一次性手套、隔离衣、围裙，应当经过高压灭菌，然后焚化。
9. 非一次性器具，包括玻璃网织手套，必须搜集后净化。
10. 被朊病毒污染的传染性废物，要经过 2mol/l 的氢氧化钠浸泡 1 小时后在进行高压灭菌。
11. 多聚甲醛喷雾器并不能减小朊病毒浓度。且朊病毒可以抗紫外线辐射。然而，BSC 必须用标准方法净化以避免其他病毒的产生。
12. 被朊病毒污染的 BSC 和其他表面可以用 2mol/l 的氢氧化钠反复擦拭，然后用清水清洗。对 HEPA 过滤系统应当定期进行高压灭菌和焚化。
13. 所有仪器应当在 2mol/l 的氢氧化钠浸泡 1 小时，然后放于清水中，最好进行高压灭菌。
14. 不能进行高压灭菌的仪器可以用 2mol/l 的氢氧化钠反复擦拭 1 小时。当然也需要合适的清洗方法以除去多余的氢氧化钠。要了解进一步的信息可以看参考书 12、22 和 23。

11.生物安全和重组 DNA 技术

重组 DNA 技术包括从不同的来源组合遗传信息，因此可以产生遗传变异的微生物（GMOs），这些微生物可能在自然界中从来没有存在过。最初，分子生物学家还考虑这些变异的微生物可能有不可预计的特点，甚至会当它们离开实验室时就会产生生物危险。这个考虑导致了著名的 1975 年举行的 Asilomar 会议。这次会议讨论了安全话题，且提出了重组 DNA 技术的第一个总则。25 年多过去了，没有出现不利的危险。这表明遗传工程是安全的。

重组 DNA 技术或者说遗传工程第一次被用于克隆细菌的 DNA 片断，以产生足够多的纯净物质便于进一步的研究。近来，重组 DNA 分子也被用于遗传变异的高等有机体，如转基因动物、转基因植物（见下面的相关章节）。

重组 DNA 技术对生物学和医学有了巨大的冲击，在不远的未来对它们的影响将更加深远。既然人类整个基因组的核苷序列已经清楚了，下面将会研究成千上万的未知功能的基因，重组 DNA 技术将是进行这些研究的一个重要方法。此外，在将来，人们期望用基因治疗某些特定的疾病。基因转导的很多带菌者将被基因工程技术修正。最后，转基因植物将在现代农业中有着日益重要的地位。

当考虑到 GMOs 的构造和使用时，危险评估过程似乎显得更加重要（和没有遗传变异的生物相比）。尽管后者对病原体的特性已经有明确的了解。前者是新事物，对它的危险评估不能以现在的经验为准。危险评估将会判定所用的生物密封系统。原来生物的特点、DNA 序列的本质将会被转导，必须估计受体生物的特点，环境的特点。这些因素都会决定 GMO 操作的安全水平。后面几段提供了关于这些标准的一些背景信息。

生物表达系统

生物表达系统指的是一些符合一定标准能够安全使用的带菌者或细胞。一个较好的例子就是质体 pUC18（或派生物），它经常用于和埃希式大肠杆菌 K12 联合克隆细菌。pUC18 质体和它的派生物序列已经被全部测出。更重要的是，进行有效转导所需的所有基因都已经从其先驱 pBR322 中删掉了，埃希式大肠杆菌 K12 缺乏产生病原体的基因。此外，埃希式大肠杆菌 K12 不能永久克隆健康的人和动物的大肠。因而，大多数遗传工程实验都可以用埃希式大肠杆菌 K12/pUC18 在生物安全 1 级水平的实验室中进行，此时插入的 DNA 序列不需要较高的生物安全水平（见下面叙述）。

原来生物和克隆 DNA 的特征

危险评估不仅要考虑带菌者的特点，还要考虑克隆 DNA 的特征。在多数情况下，危险评估表明插入的 DNA 序列是不可能改变原来生物的生物学特征的，但在一些情况下可以，如它们来自于病原体的机体。显然并非病原体生物的所有

基因都能产生毒性。因此，插入完好的不包含病原体的 DNA 序列可能就不需要额外的安全措施。然而，在 DNA 序列特征不明显时，一个生物要建立 DNA 的基因库的时候不可避免的就会遇到这种情况，这时候就需要较高的生物安全水平。且要考虑这种基因产品是否有药理活性。蛋白质的基因代码克隆（如毒素）就需要较高的生物安全水平。从真核病毒中提取的基因产品，当它们有药理特性时，就会产生无法预期的后果。

基因转导的病毒携带者

滤过性病毒携带者不仅用于基因治疗也用于有效的基因转导。腺病毒被广泛用于基因治疗。这些带菌者缺乏病毒复制所需的基因，因此它们必须在细胞基线传播，这样就能修补缺失。

尽管这些带菌者可以修复缺失，它们应当在同一生物安全水平下进行操作，正如它们的父级腺病毒一样。原因在于病毒的牲畜可能被可复制病毒污染，这可能是由于在修补细胞线时少见的自发在结合导致的。

转基因的或破坏了的动物

对带有外来基因信息的动物（转基因动物）进行操作，应当在与外来基因特定相适合的密封水平下进行。有着特殊基因缺陷的动物一般不产生特定的生物危险。

转基因动物的例子包括不具有传染力的病毒的表达受体。如果这些动物离开实验室并把转基因传到其他的野生动物群上，这样就会产生一个特定病毒的动物库。在脊髓灰质炎病毒中讨论了这种可能性，在根除脊髓灰质炎的上下文中更有提及。

转基因老鼠表达了人类在不同实验室条件下产生的脊髓灰质炎病毒受体，这种受体对通过不同途径感染的脊髓灰质炎病毒是敏感的，最后引起的疾病和人类的脊髓灰质炎相似。但是鼠的营养模式不同于人的营养模式。因此，对这种老鼠而言，它逃到野生动物群里形成一个新的脊髓灰质炎病毒的储藏库的可能性是很小的。不过，这个例子也表明，对任何一个转基因动物，需要进一步的研究来确定动物传染的途径，达到感染所需的接种物尺寸，传染性动物的病毒脱落程度。此外，可以采取所有措施来保证转基因老鼠受体的密封。

转基因植物

转基因植物表达了耐除草剂和昆虫的基因，这个观点一直是世界范围内引起广泛争议的话题。这些争议主要讨论了这些植物作为食物以及大面积种植对于生态环境的影响问题。这些不是本章的主要话题。

转基因植物表达了人类和动物起源的基因。这些转基因植物应当根据它们所表达的基因的产品的特征而在一定的生物安全水平下处理。

结论

当创造或处理重组的生物体的时候，进行详细的危险评估是必要的，这些就必须考虑到基因捐赠者的特征，受体生物和环境的特征。很多情况下，危险评估将表明重组生物可以在与野生受体相同的生物安全水平下操作。然而，在某些情况下，则需要更高的生物安全水平。例如，当有病的 DNA 序列被转导的时候，这就会增加受体生物体的毒性。在进行随机克隆实验建立基因 DNA 库时就会遇到这种情况。当用药理物质如毒素创造 GMOs 表达蛋白的时候危险评估就尤其重要。显然这些有机物必须谨慎处理。一些具有药理活性的蛋白质只有当处在较高的表达水平时候才具有毒性。这个时候危险评估就变得非常苛刻，因为此时的评估还包括预期的蛋白质表达水平的评估，蛋白质的表达是通过重组生物体技术进行的，在这种表达水平下，某种特定的蛋白质就会在它所暴露的生物体环境中变得有毒。很多国家都有国家委员会，这为 GMOs 的工作提供了指导，并帮助科学家在合适的生物安全水平下完成他们的工作。不同国家的分类标准不一样，当新的信息或带菌者出现的时候，将它归入较高的或较低的生物安全水平，在不同国家会有不同的决定。因此危险评估是一个动态过程，它考虑了科技的发展和进步。科学家有责任是基因工程的发展跟上这些进步，且遵从由国家委员会制订的指导方针。

进一步的信息见参考书 25～27。

12.传染性物质的运输

传染性物质运输的国际标准建立的基础就是联合国危险物品运输专家委员会两年一次的会议上的提议。2002 年 12 月，在 2002 年末，联合国将提出进一步的建议以修正危险物品运输的现行标准。已经采纳的建议、将要介绍的进一步的变化，将会大大影响传染性物质运输的现行规则。12 章“传染性物品的运输”期待着 2002 年末改委员会的最好裁决。

实验室生物安全手册（第三版），其中第 12 章将会被修正，将于 2003 年在 WHO 网页上出版。

13.处理意外事故和紧急情况的计划和步骤

任何用到传染性微生物的实验室都应当制订一个与要处理的微生物和动物的危险相适应的安全标准。在任何时候，操作 3 级或 4 级危险水平（封闭实验室－生物安全 3 级水平和最大封闭实验室－生物安全 4 级水平）的微生物工作时都

必须制订一个处理意外事故的书面计划。国家或当地的权威人士应当参与紧急事故处理计划的制订。

意外事故处理计划

意外事故处理计划包括以下几点：

－当心一些自然事故，如火、血液、地震、和爆炸。
－生物危险评估
－事故暴光管理和净化
－假设下人和动物的意外事故评估
－工作者的医疗监督
－工作者的临床管理
－传染性调查

在发展计划时应当包括下列几点：

－高危险微生物的判断
－高危险区域的位置，如实验室、储存库、动物设施
－判断处于危险中的操作者和其他人群
－正确判断操作者的责任心和职责，如生物安全长官、安全操作者、当地健康权威人士、临床医师、微生物学家、兽医、流行病学家、火和警卫系统
－对感染者的治疗和隔离措施
－感染者的运输
－免疫血清、疫苗、药物、特殊设备和供应品
－意外事故处理设施，如防护服、消毒剂、净化设备

微生物实验室的急症处理步骤

1．意外的注射、切割和破损

受影响的人应当除去防护服，洗手，并对受影响部位用合适的皮肤消毒剂消毒，进入第一援助室，并通知负责人所受的损伤以及相应的微生物。必要的时候应当询问内科医生的意见。应当保留合适的、完全的医疗记录。

2．有潜在危险性的物质意外地刺入皮肤

此时，应当除去防护服，并带入第一援助室。应当告诉内科医生刺入的物质类型并询问他的建议。要保留合适的、完整的医疗记录。

3．潜在危险性气溶胶的释放（BSC 内的除外）

所有人都必须撤离受感染区域，且任何暴露于其中的人都必须接受医生的建议。应当立即通知实验室监督员和生物安全长官。1 小时内任何人不准进入，在此期间除去气溶胶和其他的重粒子。如果实验室没有一套中心排气系统，则 24 小时内不准有人进入，并在门口贴上标签表明禁止进入。这段时间过后，应当在生物安全长官的指导下进行净化。进行净化时应当穿上防护服和呼吸保护装置。

4．打碎的或溢出的传染性物质，包括培养液

受到传染性物质污染的打碎了的物质，包括瓶子和容器，溢出的传染性物质包括：培养液应当用布或纸巾覆盖。在上面倒入消毒剂至少 30 分钟后再处理。然后除去布或纸巾和碎裂的物质，用镊子除去玻璃碎片。再用消毒剂擦拭污染区域。如果用畚箕除去碎裂的物质，则首先必须进行高压灭菌，且在有效的消毒剂中浸泡 24 小时。布、纸巾和擦拭布应当放入盛污染废物的容器内。所有这些步骤都应该戴手套。如果实验室表格或其他打印的或书面的材料被污染了，应当将这些信息复制到其他表格中，并将污染的那些扔在装有污染废物的容器里。

5．在不含密封桶的离心机内的含有潜在危险物质的瓶子的破碎

如果在离心过程中有破裂出现或感觉到有破裂出现，则应当关掉电源 30 分钟。如果机器停止允许后发现了破裂，应该立即除去盖子并密封 30 分钟。在这两种情况下都应该通知生物安全长官。

在随后的操作中必须戴上结实的手套（如厚橡胶手套），必要的时候外面再套一层一次性手套。应当用镊子或镊子上的棉花除去玻璃碎片。

所有碎裂的管、玻璃碎片、桶、转轴应当放在无腐蚀性的消毒剂中浸泡 24 小时然后再进行高压灭菌。未碎的有帽的罐子应当放在另一个单独的容器中进行消毒，60 分钟即可。离心桶应当用同种消毒剂擦拭，以合适的浓度、过一夜后再擦一遍，用水洗然后烘干。在超净工作台上用到所有物品应当都视为传染性废物

6．在密封桶（安全杯）中的管子的碎裂

所有密封的离心桶的拿进拿出都必须在 BSC 中进行。如果怀疑有破碎，则应该打开盖子，放松且对桶进行高压灭菌。

7．火、水和自然灾难

急症处理计划中应当包括对火和其他事故的处理。应当事先告诉人们那些房间可能包含传染性物质。让人们熟悉实验室规划和内部物品是有益的。

经过水或其他自然灾害（包括地震）后，应当将这些潜在的危险通告实验室大楼内部或附近的急症处理中心。人们必须和有经验的实验室工作者一起才可以进入。应当将传染性物质或培养液搜集到防漏的箱子里或结实的废物处理袋内。抢救和最好的处理应当由当地有知识的人员进行。

8．蓄意破坏

蓄意破坏通常是针对性的（如针对动物房）。合适的防御就是用结实的重的门、好的锁，严格控制入口。希望有视频窗户和入侵者警告音。破坏后采取的措施和其他急症相同。

9．急症服务：和谁联系？

应当将下列电话号码和地址放在每一个电话处的显著部位：

－机构或实验室本身的(打电话的人或者服务中心有可能不是很清楚这个地址和位置)。
－实验室主任
－实验室监督员
－生物安全长官
－火警
－医院/救护服务（如果一个指定的医院处理这些意外事故，如高危险人员、个人和医生的名字）
－警察

－医疗长官
－技术责任人
－水、气和电设施

10. 急症设备

必须有下列急症处理设备：
－第一帮助工具，包括通常的和特殊的消毒剂
－担架
－合适的灭火器、灭火毯

下列也是推荐使用的，但是可以根据具体的情况而有所变化：
－全套防护服（手套、头罩－在 3 级和 4 级危险的微生物中使用）
－有特殊化学物质和粒子过滤功能的呼吸器
－房间消毒装置，如甲醛喷雾器
－一些工具，如锤子、斧子、扳手、螺丝刀、梯子、绳子
－划分危险区域的设备

进一步的信息见参考书 12 和 28。

14.消毒和灭菌

在生物实验室中了解消毒和灭菌的基础知识是非常必要的。既然严重污染的物质有时候不能被立即有效的消毒和灭菌，理解预清洗的基本原理同样重要。下面的总的原则适用于所有微生物病原体类型，除了朊病毒外。关于朊病毒将会有专门的章节进行讨论。

进行生物安全净化的特殊要求依赖于实验工作的类型和传染性物质的特征。因此，用一般的信息来推出更加具体的标准化的处理步骤以适应特定实验室中各种特定的生物危险水平的需要。

定义

很多术语被用于描述生物安全的净化过程。下面的是最常用的。

杀菌剂：杀死微生物或抑制它们的生长和分化。

防腐剂：在不杀死微生物的情况下，能够抑制其生长和发育。经常用于体表消毒。

生物杀灭剂：杀死单细胞或多细胞的物质。

化学杀菌剂：杀死微生物的一种化学物质或几种化学物质的混合物。

净化：任何除去或杀死微生物的过程。也用于描述除去或抑制危险化学物品和放射性物质。

消毒剂：能够杀死微生物的化学物质或几种化学物质的混合物，但不一定杀死它们的孢子。消毒剂经常用于无生命的物体或物体表面。

消毒：能够杀死微生物的物理或化学方式，但不一定杀死它们的孢子。

杀微生物剂：杀灭微生物的化学品或化学物质的混合物。这个词经常代替生物杀灭剂、杀菌剂或抗菌剂。

灭菌：破坏或除去所有微生物和其孢子的过程。

实验室物质的预清洗和清洗

实际应用中，清洗就是除去眼睛可以看见的灰尘和污点。这可以通过下列方式完成：(a）刷、真空吸尘、烘干
（b）清洗、用含有肥皂液或清洁剂的拖把拖。
此时人和病原体污染的物质接触的危险较高，随后也需要净化。由于灰尘和土会隐藏微生物进而干扰杀菌剂的杀菌作用，因此进行预清洗是必要的。在这种情况下，为了完全的消毒和灭菌就必须进行预清洗。而且，有很多杀菌剂也要求在预清洗过的物品上进行。进行预清洗应当尽量避免传染性物质以及和杀菌剂化学相容的物质暴露于空气中。建议用同种消毒剂进行预清洗和消毒。

化学杀菌剂

很多化学物质都可以作为消毒剂和杀菌剂，且消毒剂和杀菌剂在数量和变化上也是日益增加。必须根据制造商的指导严格选择特定用途的消毒剂、存储和使用、除去。很多化学物质在高温下的杀毒是很快的。同时，高温也有助于其蒸发，并降低其杀毒能力。在热带区域储存和使用这些化学物质时必须格外小心。由于温度很高，可以除去挡板。

很多杀菌剂对人和周围环境有害。因此应当小心选择、操作和除去这些杀菌剂。在稀释这些杀菌剂时建议戴上个人防护设备、手套、围裙、眼罩。常规清洗地板、墙壁、设备和家居不需要使用消毒剂。

常用的化学杀菌剂种类如下表中所示，还有使用的一般信息。杀菌剂的浓度是以重量/体积（w/v）表示的。表 10 总结了释放氯的复合物的推荐稀释方法。

表 10. 释放氯的复合物的推荐稀释方法

	“干净”环境下	“污染”环境下
可以得到所需的氯	0.1%（1g/l）	0.5%（5g/l）
次氯酸钠溶液（5%的氯）	20ml/l	100ml/l
次氯酸钙（70%的氯）	1.4g/l	7.0g/l
双氯氰酸纳粉末（60%的氯）	1.7g/l	8.5g/l
双氯氰氯酸纳片（每片中含有 1.5g 氯）	1 片/l	4 片/l
氯胺（25%的氯）	20g/l	20g/l

氯（次氯酸钠）

氯是一种速效氧化剂，用的较为普遍且能够大范围的杀死细菌。通常它是作

为漂白粉出售的。次氯酸钠溶液（NaOCl）可以用水稀释后制成各种浓度的氯溶液。

氯尤其是漂白粉具有强碱性，对金属具有腐蚀性。有机物（蛋白质）可以减轻它的活性。如果将漂白粉溶液或氯溶液置于开放容器中，尤其是高温中，就会释放出氯气进而削弱它们的杀菌能力。更换氯溶液的频率取决于它的起始浓度，所放容器的类型（有没有盖子）和尺寸，使用的次数和特点、以及周围温度等条件。一般来说，每天都要注入好几次高浓度有机物的溶液应当一天更换一次，对于不常用的溶液可以一周更换一次。

一般意义上的全能实验室消毒剂其含氯的浓度是 1g/l。更强的溶液，浓度为 5g/l 可以用来处理生物危险的溢出液和用于处理大量的有机物。含氯 5g/l 的次氯酸钠溶液可以用于含有 Hanta 病毒、沙拉病毒和埃博拉病毒的急症处理。

次氯酸钠溶液，向漂白粉一样，氯的浓度为 50g/l，应当进行 1:50 或 1:10 稀释以获得 1g/l 和 5g/l 的溶液。工业用漂白粉的浓度是 120g/l，应当将它根据相应的需要进行稀释。

次氯酸钙的颗粒或药片中含氯 70%。用颗粒或片制成的溶液包括 1.4g/l 和 7.0g/l，也能得到 1.0g/l，和 5g/l 的溶液。

漂白粉一般不用作杀菌剂，但可以用作一般用途的消毒剂以及浸泡污染的非金属物质。在紧急情况下，也可以用漂白粉净化饮用水，所用氯的浓度是 2mg/l。

注意：氯气是剧毒性的。使用漂白粉只能在通风良好的环境下进行。为避免快速的释放氯气，漂白粉不能和酸混合使用。氯的很多副产品都对人和环境有害，因此应当避免盲目使用氯类消毒剂，尤其是漂白粉。

双氯氰酸钠

双氯氰酸钠（NaDCC）粉末含 60%的氯。用 NaDCC 粉末配置的浓度为 1.7g/l 和 8.5g/l 的溶液分别含氯的浓度为 1.0g/l，和 5g/l。NaDCC 片每片含氯 1.5g。一片或 4 片融于水中将分别得到浓度为 1.0g/l，和 5g/l 的溶液。NaDCC 存放容易且安全。当血液或其他生物危险性液体溅出时可以使用固体 NaDCC 至少消毒 10 分钟之后除去。然后对污染区域进一步清洗。

氯胺

氯胺粉末含氯 25%。氯胺释放氯气的速度比次氯酸盐慢。因此消毒时需要的起始浓度也要比次氯酸盐更高。另一方面，氯胺也不像次氯酸盐那样容易被有机物抑制活性。20g/l 的浓度可以用于干净和脏的环境中。

氯胺溶液是没有香味的。然而浸在它里面的东西必须经过彻底清洗以除去加在氯甲苯磺酰上的任何残余。可以用 1～2g/l 的氯胺溶液对饮用水消毒。

二氧化氯

二氧化氯是速效杀菌剂，经常有人报道它在浓度较低时杀菌能力也很强。为了得到实验室用活性溶液，必须把两个分离的部分：盐酸（HCl）和亚氯酸钠（NaClO2）混合。当使用这种产品时，必须注意要有一个稳定的环境，另外物质相容性和腐蚀性也应当考虑。

甲醛

甲醛是一种气体，在温度高于 20°C 的情况下，能够杀死所有微生物和它们的孢子。甲醛对朊病毒不起作用。相对而言，甲醛具有低活性且需要相对湿的环境（湿度要求 70%）。多聚甲醛，薄片或片剂，或者气体以 370g/l 的浓度融于水的溶液，含甲醇 100ml/l，可以作为定型剂。加热都可以使它们释放氯气，可用于封闭容器如 BSC 和其他房间的净化和消毒（见下面的具体环境净化）。

甲醛也可用作液体消毒剂。

注意：甲醛是一种可疑的致癌物质。它有一种刺激性气味能够刺激眼睛和黏液膜。因此它们的存储必须密封好，且放在通风区域。在使用前应当首先询问有关的安全规则。

戊二醛

象甲醛一样，戊二醛（OHC（CH2）3CHO）也对有活力的细菌、孢子、真菌、脂类和非脂类病毒起作用。它是非腐蚀性的且比甲醛作用效果快。然而，杀死细菌孢子却需要几个小时。戊二醛的浓度通常为 20g/l（2%），在使用前必须加入重碳酸盐激活。根据使用的次数和类型，可以在 1～4 周内重复使用戊二醛溶液。量油计只能提供粗糙的估计。当戊二醛溶液变浑浊时就不能再用了。

注意：使用戊二醛必须在密封好且通风的区域进行。不建议使用它进行环境表面的净化。使用前应当询问有关的安全规则。

酚复合物

酚复合物，有一大类物质，就是早期使用的杀菌剂。然而最近基于安全考虑禁止使用酚了。它们对活性细菌和脂类病毒起作用，正确使用的话也对分支杆菌起作用。它们对孢子不起作用，它们对非脂类病毒的活性也是千变万化。很多酚类产品用于环境表面的净化，一些（如：triclosan 和二氯苯酚）就是常用的防腐剂。Triclosan 常用于洗手时的杀菌。它主要对活力细菌起作用，对皮肤和黏液膜是安全的。然而，实验室研究表明，对低浓度的 triclosan 溶液抵抗力的细菌也对其他类型的抗生素有耐药性。这项发现的意义人们尚未明确。

注意：酚复合物不要用于食物表面以及小孩。它们可以被橡胶吸收也能刺破皮肤。

四胺复合物

多种四胺复合物经常混合在一起使用，或者和其他杀菌剂如乙醇混合后使用。它们对活力细菌和脂类病毒起作用。某些种类（氯苯甲烷胺）被用于作防腐剂。

注意：有机物、水的硬度和含阴离子的清洁剂都能大大降低四胺复合物的活性。因此在使用四胺复合物作为消毒剂时应当注意预清洗时水的选择。有潜在危害的细菌可以在四胺复合物的溶液里生长。由于具有较低的降解能力，四胺复合物也可以在环境中聚合。

乙醇

乙醇（乙烷基酒精，C2H5OH）和 2-丙醇（异炳基酒精，（CH3）2CHOH）有着相似的消毒特性。它们对活性细菌、真菌和脂类病毒起作用，但对孢子无作用。它们对非脂类病毒的作用是变化的。当水中的浓度达到 70%以上时就可以有较高的活性。较高或较低的浓度都不适宜作消毒剂。乙醇的水溶液作消毒剂的一个最大优点就是它们对被消毒的物质不留下任何残余。乙醇和其他消毒剂混合使用效果会更好，如：70%（v/v）乙醇和 100g/l 甲醛混合，乙醇中含有 2g/l 的氯。70%（v/v）的乙醇水溶液可以用于皮肤、实验室工作台表面、BSC 的消毒，以及小型的外科手术器械的消毒。皮肤消毒至少 10s，其他物体表面消毒不能少于 3 分钟。乙醇能使皮肤很干燥，因此常和润肤剂混合使用。在没有方便的洗手的地方时，推荐使用浸有乙醇的洗手刷清洗轻度污染的手指。但必须注意乙醇对孢子无效，不能杀死全部的非脂病毒。

注意：乙醇具有挥发性和易燃性，因此不能在近火焰处使用。平时应当密封保存。乙醇可以使橡胶变硬，融化一些胶。实验室中应当对乙醇进行分别存储以

免它用于其他用途（除了消毒）。由于宗教原因，在一些地区可能禁止使用乙醇，也不可能买到。装乙醇的瓶子必须贴上标签，以免它们偶尔被高压灭菌。

碘和碘载体

这类消毒剂的作用和氯相似，尽管它们不受有机物的影响。碘会染布和其他物体表面因此不适合用作消毒剂。此外，碘载体和碘的酊剂却是较好的消防腐剂。碘乙烯是一种可靠的外科手术前的皮肤消毒剂。碘类的消毒剂一般不适合用于医疗/牙科的消毒。碘使用时不能有铝和铜。

注意：碘是有毒的。有机碘物质必须在 4～10°C 时保存，以避免其表面生长潜在危险性细菌。

过氧化氢和过酸

正如氯一样，过氧化氢（H2O2）和过酸是强氧化剂，可以作多种杀菌剂。它们带给人和环境的危害更小一点。

过氧化氢溶液一般是 3%或 5%的，然后再用已灭菌的水稀释 5～10 倍。然而 3～6%的过氧化氢溶液仅限于作杀菌剂。现在的过氧化氢一般都混有其他成分以稳定过氧化氢，加速它的杀菌速度，降低它的腐蚀性。

过氧化氢可以用于实验室工作台表面的净化以及 BSC 的净化，强溶液可以用于对热敏性医疗/牙科设备消毒。用于医疗/牙科设备消毒的过氧化氢蒸气和过酸（CH3COOOH）需要有特殊的设备。

注意：过氧化氢和过酸对金属有腐蚀性，如铝、铜、黄铜、锌，也可以漂白纤维、头发、皮肤、黏液膜。它们应当放在避光阴凉处。

局部环境的净化

实验室空间、家具和设备的净化需要多种气体和液体消毒剂的结合。表面可以用次氯酸钠（NaOCl）进行消毒；含氯 1g/l 的溶液可以用于一般的环境消毒，含氯 5g/l 的溶液可以用于高危险环境的消毒。对于环境的净化，用 3%的 H2O2 溶液比用漂白粉溶液好。

可以将多聚甲醛或加热福尔马林使其放出甲醛气体净化房间和设备。房间的所有开口（如窗户、门，等）必须密封。灭菌必须在室温 21°C 下，湿度 70%时进行（见下面的 BSC 的净化）。

气体和物品表面的接触至少 8 小时。消毒后这些物体表面必须彻底通风，然后工作人员才可以进入。通风之前任何人要进入该房间都必须戴上呼吸器。气态碳酸铵可被用于抑制甲醛。

曾经有人报道过用过氧化氢气体进行消毒，但尚需进一步研究。

注意：甲醛是一种危险的刺激性气体，是一种可疑的致癌物质。使用时应当戴上能覆盖整个面部的呼吸器。且实验室中至少应当有两个人。

BSC 的净化

应当将适量的多聚甲醛（空气中多聚甲醛的浓度为 0.8%）放在电热板或平板（从 BSC 外部可以控制）上对 I 级和 II 级 BSC 进行净化。在 BSC 内也放有

一块含有碳酸铵和甲醛（碳酸铵比甲醛含量多 10%）的加热板或平板。第二块板上面最好有覆盖物可以将其移到偏僻处（如，在 BSC 外拉一根绳子）。这样就会减小甲醛气体溶解的速度。如果相对湿度低于 70%，在 BSC 内前面的挡板密封前，就应当放一个盛热水的容器。如果没有前面的挡板，也必须有塑料隔板以确保气体不会渗出室内。多聚甲醛打开 1 小时后关闭，或者等所有的多聚甲醛气体蒸发后关闭。在夜里 BSC 不应当受到任何干扰。第二块板的盖子拿走后打开，碳酸铵蒸发。然后关闭开关，打开 BSC 允许碳酸铵气体循环流动 1 小时。除去前面的挡板就可以工作了。

手的清洗和净化

在任何可能的情况下操作生物危险性物质时都应当戴上手套。然而，这些并不说明可以不需要那些洗手装置了。操作生物性危险物质和动物、使用厕所、离开实验室时、吃东西之前等必须洗手。在多数情况下，用肥皂洗手就已经足够了，但是建议在高危险性情况下使用杀菌性的肥皂。必须用足够的肥皂，搓洗至少 10s，清水清洗，用干净的纸或布擦干（如果可能的话，可以使用暖手机）。推荐使用脚或肘可以操作的水龙头。在没有这些的时候，可以用纸或布包住笼头以避免手的再污染。

如上所述，当没有合适的洗手的设备的时候，应当用含酒精的溶液洗手。

加热消毒和灭菌

加热是除去病原体微生物的最常用的物理方法。“ 燥 ” 热，是完全非腐蚀性的，能够对实验室很多在 160°C 或更高温度下维持 2～4 小时的物品进行消毒。燃烧或焚化也是一种加热消毒的方式。“ 潮湿的 ” 热进行高压灭菌最为有效。虽然煮沸不能杀死全部的微生物和病员体，但在没有其他（化学消毒剂或净化剂，高压灭菌锅）消毒方式的情况下，也是一种可用的消毒方法。

灭过菌的物质必须在下次使用前保证无污染。

高压灭菌

高压下的饱和蒸汽是最有效最可靠的灭菌物质。在多数情况下，下列步骤可以确保正确灭菌：

－134°C 时维持 3 分钟

－126°C 时 10 分钟

－121°C 时维持 15 分钟

－115°C 时维持 25 分钟

高压锅的类型包括以下几种：

1） 重力转移高压锅。图 7 显示了重力转移高压锅的一般构造。蒸气在一定压力下进入室内代替下方的较重的空气，并通过 HEPA 系统的过滤。

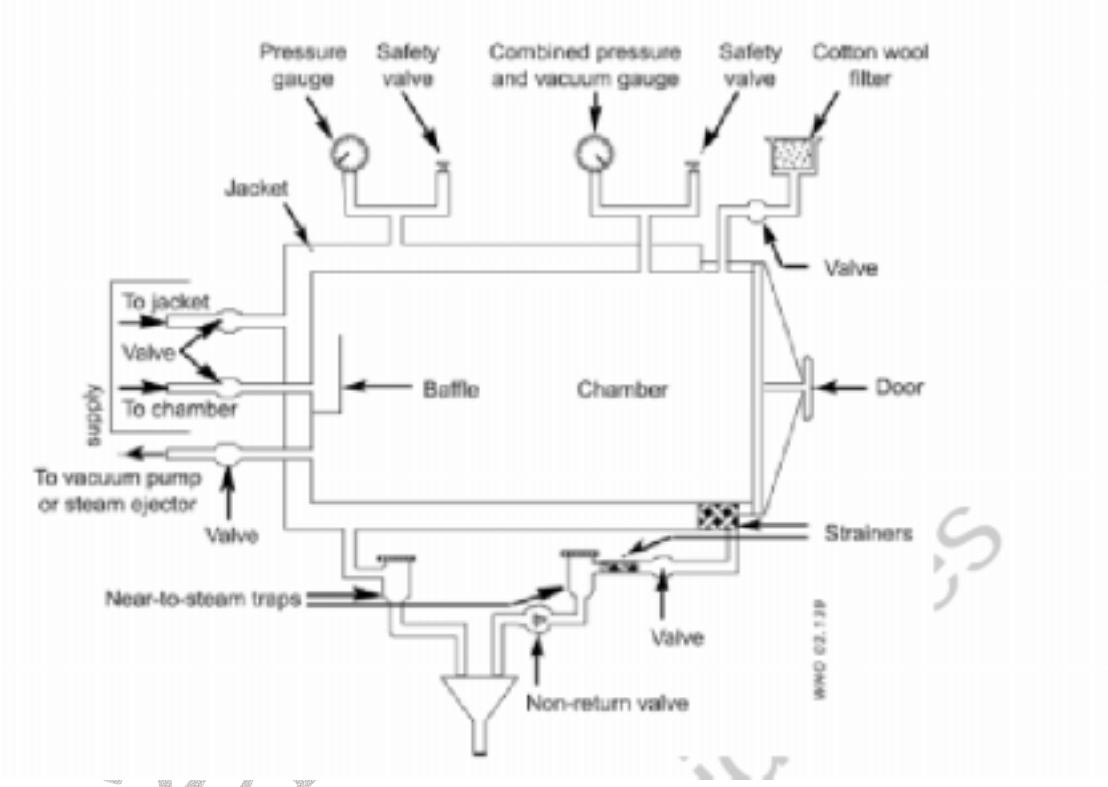
2） 预真空高压锅。这种机器允许蒸汽进入室内前除去里面的空气。排气是通过 HEPA 过滤系统完成的。在循环结束时，蒸汽会自

动排出。这种高压锅可以在 134°C 时进行灭菌，此时的灭菌时间可以减少到 3 分钟。它们对多孔渗水的物质而言是理想的选择，但不能用于对液体灭菌。

3） 燃烧加压高压锅。只有当没有重力转移高压锅的时候才能使用它。应当将其装满东西，通过气体、电或其他类燃料进行加热。加热容器底部的水将产生蒸汽，空气向上流动，通过排气孔排出容器外。当所有空气排出后，排气孔自动关闭，产生的热也减少。压力和温度会一直升高直到安全阀以预定水平运行。这就是保持时间的开端。循环结束时关掉加热炉，在盖子打开前允许稳定降到 80°C。

图 7.重力转移高压灭菌锅

装载高压灭菌锅



焚化

焚化可以在不经过净化（见第三章，污染（传染性）物质的除去部分）的情况下除去动物残余尸体以及解剖的和其他实验室废物。只有在焚化炉可控的情况下，焚化才可以代替高压灭菌，且应当提供一个有效的温度控制方式和第二燃烧

室。

很多焚化炉，尤其是那些只有一个燃烧室的，处理传染性物质、动物残骸和塑料时效果不令人满意。这些物质不一定能全部烧毁，从烟囱中排出的废气中可能有微生物、有毒化学物质和毒烟而污染空气。然而有很多令人满意的燃烧室构形。理想情况下，第一燃烧室的温度至少应达到 800°C，第二燃烧室的温度至少应达到 1000°C。要焚化的物质，即便是已经净化了的，也必须装在袋子里，尤其是塑料袋。焚化操作者应当接受合适的指导控制合适的温度。同时也应当通知他焚化炉的有效操作依赖于废物中各种物质的合适比例。

人们对焚化炉给环境造成的负面效应仍持以密切的关注，并且正在努力减少焚化炉对环境的危害和增加他的有效燃烧程度。

处理

实验室和医疗废物的处理是各个地区、国家和国际的规则中的主题。在制订和实施处理、运输、除去生物危险性废物的计划时应当询问相关的最新文档。一般来说，可以象对待正常废物那样处理从焚化炉出来的灰，并由当地权威人士除去。经过高压灭菌的废物可以通过焚化或掩埋除掉（见 3 章污染性/传染性废物的除去）。

朊病毒污染物质的净化

朊病毒，通常称为“非常规传染性病毒”或“传播海绵体脑病的病毒”，被认为仅仅含有蛋白质。正如以前提到的，它们可以引起人类的 Creutzfeldt-Jakob 病、羊骚病、牛海绵体脑病，等等。这种传染性病毒对于大部分化学和物理消毒剂没有抵抗性，被怀疑有朊病毒的物质在再利用或除去之前必须进行特殊处理。

到目前为止，有数据表明，朊病毒可以被下列方法灭活：2mol/l 的氢氧化钠（NaOH）（含有 4.0mol/l 的氢氯化胍（HNC（NH2）2HCl）或者异氰酸胍（HNC（NH2）2HNCO））、次氯酸钠（NaOCl，含氯>2%），然后在 132C 下进行高压灭菌 4.5 小时。

焚化也是处理朊病毒污染物质的一种方法。（见 10 章“小心包含非常规病毒的物质”）。

总结

正确使用化学杀菌剂和高压灭菌锅有助于提高工作的安全性，降低感染传染性物质的危险。就目前而言，应当限制化学杀菌剂使用的数量，不仅仅是经济的原因，而且还要避免有潜在危险的化学物质释放到环境中。

随着新的灭菌和化学消毒剂的出现，大家也正在努力是化学的和物理的方法对实验室中的微生物灭活。这样会更加安全。同时，应当进一步研究新的方法以检验和确认市场中销售的为微生物净化产品。因此，参考最新版本的国家/国际

标准和准则然后再进行实验室设计和生物安全设计是非常必要的。

第四部分 化学、火和电安全

15.危险的化学物质

在微生物实验室中工作有可能处于化学危险性物质和微生物病原体的环境中。因此有必要对这些化学物质的危险性以及它们的毒性效应有一个充分的认识。描述使用某种特定化学物质可能带来的危险的物质安全数据表（MSDS），可以从制造商那里得到。且应当写入安全手册或操作手册里。

定义和分类

危险性化学物质的定义和分类可以根据危险性物质的运输规则进行，也可以根据这些物质可能造成的危险和程度进行。也可以通过它们的反应程度、不稳定程度、失火或卫生危险、毒效应分类。

暴露于危险性物质的途径

暴露于危险的化学物质中可以有好几种方式：

1）吸入。化学物质可以引起愤怒、感光度增强、过敏反应、呼吸性疾病或癌症。
2）接触。和皮肤接触可引起化学烧伤、眼结膜炎、系统性中毒。
3）摄取。人们偶尔会经嘴吸液吸入危险性化学物质、污染的食物或饮料。
4）通过刺破的皮肤。危险性化学物质可以通过切伤、磨损、针刺破处进入体内。

化学物质的存储

在实验室中存储的日用的化学物质的量应该是下表中的最小量。大批的化学物质应当存放在专门的房间或楼内，应当有水泥地板，门口有水泥门槛防止溢出。

易燃性化学物质应当单独存放，且离其他物质较远。为了避免易燃性物质和爆炸性蒸汽被电火花点燃，灯的开关应当安在建筑物的外面，且灯本身的开关应当在隔壁房间。

不应按字母顺序存放化学物质

不相容的化学物质可以放在较近的距离，但一些危险性物质应该放在高架子上。所有的大瓶子和含强酸或碱金属的瓶子应当放在最下面一层滴盘里。应当有虹吸管和放瓶子的筐。有高架子的时候应当准备好活梯。

非相容性化学物质

实验室很多化学物质在彼此互相接触时反应就会很危险。有些相容性物质在下表中列出。

醋酸－和铬酸、硝酸、羟基复合物，乙二酸、氯酸、过氧化物、高锰酸的混合

丙酮－和浓硫酸和浓硝酸的混合物

乙炔－和铜（管）、卤素、银、汞及其复合物

碱金属－和水、二氧化碳、四氯化碳、其他的烃

无水氨－和汞、卤素、次氯酸钙、氟化氢

硝酸铵－和酸、金属粉末、易燃液体、氯酸盐、亚硝酸盐、硫、有机物或易燃物复合物细末

苯胺－和氨、乙炔、丁二烯、丁烷、氢、碳化钙、松脂和金属细末

活性碳－和次氯酸钙以及其他复合物

氯酸盐－和铵盐、酸、金属粉末、硫、精确分开的有机物和易燃物复合物

氯－和氨、乙炔、丁二烯、苯、其他石油成分、氢、碳化钠、松脂和金属粉末

二氧化氯－和氨、甲烷、磷化氢和硫化氢

铬酸－和醋酸、萘、樟脑、乙醇、丙三醇、松脂和其他易燃性液体

铜－和乙炔、叠氮化合物、过氧化氢

氰－和酸

易燃性液体－和硝酸铵、铬酸、过氧化氢、含氮的酸、锅氧化钠、卤素

烃－和氟、氯、溴、铬酸、过氧化钠

过氧化氢－和丁二烯、铜、铁、其他大部分金属或者它们的盐类、易燃性液体和其他易燃性物质、苯胺和硝基甲烷

硫化氢－和芳香的硝基酸和氧化气体

碘－和乙炔、氨

氮酸－和醋酸、铬酸、氰氢酸、苯胺、碳、硫化氢、液体、以及硝化了的其他和其他物质

氧－和油、油脂、氢、易燃性液体、固体和气体

酢酸－和银、汞

高氯酸－和醋酸酐、铋及其合金、乙醇、纸、木头和其他有机物

氧化磷－和水

高锰酸钾－和甘油、乙烯、乙二醇、苯甲醛、硫酸

银－和乙炔、酢酸、酒石酸和铵复合物

钠－和四氯化碳、二氧化碳和水

叠氮钠－和铅、铜、其他金属。这种复合物可以用作防腐剂，和金属混合后

就会形成不稳定的易爆炸的复合物。如果这些东西掉入水池中，这些金属管就会爆炸。

过氧化钠－和可氧化的物质，如：甲醇、冰状乙酸、醋酸酐、苯甲醛、二硫化碳、甘油、乙烷、糠醛。

硫酸－和氯酸盐、高氯酸盐、高锰酸和水

一般规则

下列左边栏中的物质应当仔细存放不能和右边的物质接触。

碱金属，如：钠、钾、铯、锂　　二氧化碳、氯消毒的烃、水

卤素　　氨、乙炔、烃、

醋酸、硫化氢、苯胺、烃、硫酸　　氧化物：铬酸、氮酸、过氧化氢、高锰酸

化学物质的毒性

很多化学物质可以对吸入者产生毒性，影响他们的健康。除了一些公然的有毒物质，许多化学物质都具有各种各样的毒性。呼吸系统、血液、肺、肝、肾和胃肠系统，以及其他器官和组织可能会受到严重损害。有一些化学物质有致癌作用或能导致畸形。

当吸入一些可溶性蒸汽时也可能产生毒性。除了上述的显著的严重后果，暴露于这些有毒物质中也可能导致一些潜在的危害。但是可能包括共济失调、嗜睡以及类似的症状，因而会增加事故的发生。

反复暴露于很多有机溶剂的液体状态时会导致皮肤损伤。这可能是因为脱脂效应，但也可能出现过敏或腐烂。

表 11. 实验室一些化学物质对健康的不利影响

化学物质	已报道过的对健康的影响	慢性症状
乙醛，醋醛（醋乙醛）	眼和呼吸系统受刺激，昏迷	慢性支气管炎，肝损害
醋酸酐（醋酸氧化物、酐）	眼睛和上呼吸道受到强烈刺激，腐蚀	
丙酮（二甲基酮、2-丙酮）	眼睛、鼻子、喉咙轻度受刺激，昏迷	
乙腈（甲基氰）	呼吸系统受刺激，氰中毒	
丙稀醛	呼吸系统受刺激	
氨	眼受刺激	肺水肿
苯胺（氨基苯，苯胺）	高铁血红蛋白苍白病，轻度昏迷，呼吸系统麻木	
苯	昏迷	白血病，肝损害，贫血

对二氨基联苯	腹部疼痛，恶心，皮肤受刺激	产生癌症
四氯化碳	头痛，恶心，轻度黄疸，食欲不振，昏迷	肝和肾损害，胃肠功能混乱
氯仿	头痛，恶心，轻度黄疸，食欲不振，昏迷	
溴化氰	腹部疼痛，恶心，腹泻，视力下降	肺水肿
细胞松弛素	—	突变，发生变异
二乙基醚	呕吐，视觉模糊	上瘾
二氧杂环乙烷	昏迷	肝、肾损害，致癌
甲醛（福尔马林）	刺激呼吸系统和粘膜	
汞	呕吐，腹泻，头痛，恶心，眼痛	中枢神经系统紊乱，牙龈肿胀，牙齿松弛
甲醇（甲基乙醇）	昏迷，粘膜损害	视网膜和视神经受损
α－萘胺	—	怀疑致癌
β－萘胺	—	致癌
硝基苯	高铁血红蛋白苍白病，轻度昏迷	贫血，血压下降，高铁血红蛋白苍白病，膀胱受刺激，肝损害
苯酚	腹痛，呕吐，腹泻，皮肤受刺激，眼痛，腐烂改变	中枢神经系统混乱，昏迷
嘧啶	肝，肾损害	神经中毒
硒	皮肤灼伤，眼痛，咳嗽	中枢神经系统紊乱，畸形
四氢呋喃（二氧化乙基，氧化四甲基）	昏迷，肝、肾损害，眼和呼吸系统损害	—
铊	腹痛，呕吐，恶心，腹泻	神经疾病，视觉障碍，肌无力，共济失调
O－二甲基二氨基联苯		致癌
甲苯（甲基苯，苯基甲烷，甲苯）	昏迷	非特异性神经受损，上瘾
三氯乙烯（乙炔基，三氯化物）	昏迷	肝损害，非特异性神经受损
M－二甲苯（1,2-二甲苯）	昏迷，头痛，眩晕，疲乏，恶心	非特异性神经受损
O－二甲苯（1,3 二甲苯）	昏迷，头痛，眩晕，疲乏，恶心	非特异性神经受损
P－二甲苯（1,4－二甲苯）	昏迷，头痛，眩晕，疲乏，恶心	非特异性神经受损

易爆炸的化学物质

叠氮不能和铜接触，例如不能和铅、铜管接触，否则即使轻微接触也会引起叠氮的剧烈爆炸。

高氯酸，如果放在木制品、砖、织物上烘干，就会立即爆炸引起火灾。

对苦味酸和苦味酸盐加热和挤压都会引起爆炸。

化学物品的溢出

大部分制造实验室化学物质的商人都会发行一个处理溢出物的表格。这些表格可以从市场上买到。这些表格应当放在实验室的显著位置。并且应当有下列装置：

－防护服，如重的橡胶手套、鞋套、橡皮靴、呼吸器

－铲子和苯基

－夹碎玻璃的镊子

－拖把、布、纸巾

－桶

－苏打、灰（碳酸钠，Na2CO3）或碳酸钠（NaHCO3），可以中和酸

－沙子

－不易燃的清洁剂

应当用下列方法中和溢出液：

酸和腐蚀性化学物质用苏打（碳酸钠）或重碳酸钠

用沙子覆盖碱金属

危险性物质溢出时可以采取下列方法。

1. 通知生物安全长官，将非关键人员撤离危险区域。
2. 专心照顾可能受污染的人。
3. 如果溢出物质是易燃性的，灭掉所有火焰，关掉室内和相邻房间内的煤气，关掉可能产生电火花的设备。
4. 避免吸入溢出物质发出的蒸汽。
5. 如果足够安全的话，建立一个排气系统。
6. 采取必要的措施除去溢出液。

当有大量化学物质溢出时，全体人员应当撤离该室，可能的话打开窗户。如果溢出物是易燃性的，关掉室内和相邻房间内的火焰，关掉可能产生电火花的设备。

压缩气和液化气

在装有易燃性气体气体缸的房间门上应该贴上警告牌提醒人们注意。在任何时候一个房间内不应超过一个气体缸。其余的气体缸应该放在离实验室有一定距离的气体房间内。这种存储通过门上的标志辨别。

压缩气的气体缸应该安全固定在墙上或结实的长椅上，以使得它们不受自然灾难的挤压。

压缩气和液化气的气体缸不应放在靠近电热炉、开放的火焰或其他加热设施、放电设备的地方以及直射的日光下。

如果房间空着，设备不在使用，应当关掉高压总闸。

在运输压缩气气缸时必须盖上盖子，用手推车运输。

进一步的信息见参考书 41～45。

16.实验室中的火

安全长官和当地火警之间的密切合作是很重要的。除了化学物质带来的危险，人们还要考虑火带来的传染性物质的扩散。这可能影响任何一“ 烧尽 ”措施（如考虑是扑灭还是隔离好）。

可以在当地火灾预防长官的指导下训练实验室工作人员的防火意识、出现火灾后的立即反应、防火设备的使用。

在每个房间的显著位置和走廊里都应该有火灾预告、说明和逃脱线路的指示。

实验室中火灾产生的原因通常有：

－电源超载

－不良的供电系统

－气体管道和电导线过长

－不必要的对设备进行开关

－无保护的火焰

－气体管道质量恶化

－滥用火柴

－使用易燃性物质时的粗心大意

－在通常常用的冰箱内存储易燃性和易爆炸性物质

灭火器应当放在离房间的门较近的地方和走廊的关键位置（可由当地的火灾预防官员指导）。这些设备应当包括水龙带、桶（装有水或沙），以及下列灭活的东西。水（H2O），二氧化碳（CO2），干粉和泡沫。装有灭火装置的架子的安排应当使得定期检查和维修这些装置很方便。具体使用如表 12 所示。

表 12.灭火器的类型和使用

类型 [a]	适用的对象	不适用的对象
水	纸，木头、纤维着火	电火花，易燃性液体，燃烧的金属
二氧化碳，粉末	易燃性液体和气体，电火花	碱金属，纸
干粉	易燃性液体和气体，碱金属，电火花	
泡沫	易燃液体	电火花

[a] 水灭火器是由二氧化碳灭火器驱动的，使用二氧化碳灭火器时必须注意，二氧化碳是喷在物体表面的，因此必须保证房间内的通风。

进一步的信息见参考书 42。

17.电危险

电击是威胁生命的，电的故障也会引起火灾。因此，所有的电设备必须定期检查，包括接地，且必须由有经验的电工来维护。实验室人员不能试图操作任何电设备。

不同国家的电压都是不同的，但是即使较低的电压也会带来危险。必须注意确保在设备和电源之间使用合适的保险丝。实验室电路中应当安装电路断路器和接地错误断续器。

注意：电路断路器不能保护人免受伤害，它们主要是保护配线温度过高引起火灾。接地断续器主要是保护人们免受电击。

所有的实验室设备都应当接地，尤其是通过三相插座接地。实验室中较少有双绝缘装置，它们只需要两相插座，但是一旦有这些装置，就要使它们单独接地。不接地的设备可能会成为探测不到的危险。

所有的实验室电设备应当遵从国家电安全准则或者国际电委员会的准则。

实验室人员必须清楚下列危险：

－电源附近的潮湿的表面
－较长的柔软的电缆接头
－电缆绝缘不良
－使用适配器导致电路超载
－靠近易燃物质和易燃蒸汽的发出电火花的设备
－电设备的开关一直开着没人管
－发生电火灾时，使用错误类型的灭火器（使用水或泡沫灭火器而不是 CO2 灭火器）（见表 12）。

进一步的信息见参考书 46～48。

第五部分　安全组织和安全培训

18.生物安全长官和安全委员会

对每一个实验室而言，一个全面的安全政策、一个安全和操作手册、一个安全实施计划是必不可少的。机构或实验室主任或主要领导有责任给生物安全官员以及其他专业人员安排一定的职责。

必须强调，所有监督员和工作者都有责任维护实验室的安全，每位工作者都

有责任维护他们和同事们的安全。我们期望每位雇员都能够安全的工作，他们自己或其他人不会使自己处于不安全的或不健康的条件下工作带来损伤和疾病。实验室工作者应当将不安全的条件立即报告给实验室监督员。希望能由外部的单独的顾问和专家对实验室安全进行定期检查。

生物安全官员

任何可能的时候应当委任生物安全官员以保证安全政策和计划的贯彻执行的重任。生物安全长官担任机构或实验室的领导就有责任履行这些职责。在较小的单位里，生物安全长官可能就是一个微生物学家或技术工人，他可能在业余时间内履行这些职责。不管安全工作做的程度如何，这个人都应该具有良好的微生物实验背景，很积极的参与实验室的工作，有生物安全方面的经验或者经过严格的训练。他或她不应当是行政部门的官员或技术员。

生物安全长官的职责应当包括下列几点：

1. 对技术方法、化学物质、材料和设备进行定期安全检查，这些检查还应该包括对大面积工作台的检查，以确保其符合当地的或国家的安全和健康政策标准。
2. 讨论违反安全政策的个人。
3. 确定所有人员都接受了合适的教育能够意识到所有可能出现的危险，以及医疗工作者，科技和技术工人有能力处理传染性物质。
4. 对所有人员提供安全方面的连续的指导。
5. 给所有人员提供最新的文献和信息、技术方法、要求和新设备的说明书。
6. 即使没有个人损害，所有事故的调查不应放过潜在传染性和潜在毒性的物质，将结果报告给主任和安全委员会。
7. 将实验室人员的疾病和缺席记录在案，并给予帮助，因为这些缺席和记录有可能和实验室获得性传染病有关。
8. 确保在出现溅出液和其他传染性物质的事故后进行净化，应当保存对此类事件的详细的书面记录。以免以后会出现实验室获得性传染或其他情况。
9. 确保用过的物质经过正确的净化，用过的传染性废物已经被安全的除去。
10. 确保任何设备被非实验室人员维修前经过正确的消毒。
11. 正确记录病原体物质的收据、移动、除去，以及研究工作者的报告，实验室新进的传染性物质的说明书。
12. 报告主任那些应该通知当地或国家当局的物质的出现。
13. 在实施之前，评价所有计划、草案和研究工作的操作步骤的安全性。
14. 有一个机构负责在非正常工作时间出现的所有紧急事故。

安全委员会

如果机构足够大，应当设立一个安全委员会，制订一个安全操作手册并保证其实施。安全委员会应当定期评论和更新安全措施。

引起生物安全长官注意的安全问题，以及相应的处理措施，都应当在安全委员会的定期会议上讨论。委员会的其他功能有：研究计划的危险评估、制订新的安全措施、安全事故的仲裁。

安全委员会的规模和组成依赖于实验室的规模和特点、所进行的工作、工作单元和区域的分布。委员会的成员应当反映分散的工作区状况。在健康和安全立法的国家，安全委员会已经成立了。一个基本的安全委员会的组成可能是：

主席	由所有成员选举产生
成员	生物安全长官
	医疗监督者
	兽医专业人员代表
	技术人员代表
	管理者代表

安全委员会也可以包括不同部门的成员和不同的安全专家（如辐射防护方面的专家、工业安全、防火专家，等等），有时候需要各种领域内的专家的建议，以及当地权威人士、国家专家的建议。对于一些有争议的草案，社区成员的意见可能也有用。

总部组织

安全组织的规模和组成依赖于单个实验室的需要，在一些情况下依赖于国家的规则。显然，小的，单个的实验室不需要复杂的组织结构，或全职的专业安全人士。很多情况下，工作于 1 级和 2 级微生物生物危险中的小型的单个的机构或实验室，可以建立一个安全组织管理好几个这样的实验室。较大的生物医疗机构就需要独立的安全委员会，并且将其职责分门别类。

19.辅助操作人员的安全规则

实验室的安全和最优操作很大程度上依赖于实验室辅助人员，因此这些人员应当在工作前进行严格的培训。象工程人员、维修人员和清洁工人，他们有可能进入实验室并与工作人员接触，因此也应该训练他们遵守安全规则。他们应当根据标准的操作步骤进行，且应当受到监督。

设计和建造维修设施

这些设施，关于构造、设备的维护和修理设施在安全计划中有着很重要的作用。常规的服务和维修设施不仅仅是方便的，而且是良好的安全策略。可以找到对实验室工作有一定了解的技术熟练的工人。应当让这些技术工人、外部工程师、其他可能意识到危险的人充分理解安全规则，并且他们在工作时，应当有实验室人员的监督。

维修过后设备功能的检测最好由生物安全长官独立进行或在其指导下进行，如检测 BSC 在装了新的滤器或其他减小气溶胶产生的设备后的效率。

没有内部工程和维修设施的小的机构或实验室，应当有事故防范措施，和当地工程师、建筑工人建立良好的关系，并让他们熟悉实验室设备和工作。

除非是在实验室生物安全长官或实验室监督员的监督下，工程师和维修人员不应当进入封闭实验室－生物安全 3 级水平和最大封闭实验室－生物安全 4 级水平。

几个实验室共用的较大设施的操作者应当根据下列列出的要求进行培训。

清洁设施

实验室的清洁应当在实验室监督员的控制下进行而不能由合同工人进行。这个习惯就会在实验室人员和清洁人员之间培养一种安全协作的工作关系。特别注意，清洁工人不能随便更换。

在封闭实验室－生物安全 3 级水平和最大封闭实验室－BSL4 级水平，这种清洁工作应当由实验室人员完成。否则清洁工人只能在生物安全长官或监督员清洁过后或在其指导下进行工作。

这些人员应当按下列要求进行培训。

下列规则主要是预防清洁人员获得实验室获得性传染病。应当将其复印后分发到每个人手里，并将其放在显著位置。

内部和外部清洁人员的安全规则

1. 在实验室监督员的指导下穿防护服。
2. 当离开一个房间去另一个房间时应当脱去防护服。不能穿着防护服进入人员室、洗刷间和小卖部。
3. 经常洗手，离开实验室时，去洗刷间时，或去人员室前。
4. 实验室内不准吃喝、化妆。在人员室或洗刷间可以。
5. 没有实验室人员的允许不要擦掉工作椅子上的灰尘。
6. 如果遇到任何事故、打破了瓶子、管、罐子或其他设备，立即告诉生物安全长官和监督员、或实验室人员。
7. 出现事故后不经允许不能打扫任何东西。不要用手捡任何玻璃碎片，要用畚箕、刷子或镊子。接受实验室年长人员的指导。

8. 除非授权，不要进入任何门口写有“禁止进入”的房间（如写有生物危险或辐射危险的标志）
9. 除非上面有标签说明可以这样做，否则不准倒掉实验室任何容器内的东西，也不能扔掉任何容器。

20.培训计划

一个连续的安全培训计划对于维持实验室人员和辅助人员的安全意识是非常必要的。在生物安全长官的协助下，实验室监督员对员工培训担任着注意角色。生物安全培训的有效性，包括所有的安全和健康培训的有效性，依赖于管理机制、动机、充分的起始工作训练，良好的交流，最终依赖于组织的目标。下列是生物安全培训计划不可缺少的因素。除了考虑这些因素，安全培训计划的研究者还应当对成人学习原则的非常熟悉。

对要求的评估：这个过程包括定义任务、重要性（根据频率、危险程度、复杂性）、完成这项任务必须步骤的细节。

建立培训目标：要求评估提供了建立培训计划目标的信息。这些就是可以看到的参加培训的人表现出来的、工作中、培训后的行为。培训者应当意识到这些行为发生的环境以及所需的数量程度。

明确培训的内容和途径：内容就是培训者必须掌握的知识和技巧。了解工作和其要求的人通常能最好的定义生物安全培训计划的内容。其他的方法可以集中在问题－解决的训练上，或者设计纠正错误的学习方法。很难说一种方法（演讲、电视广播、计算机辅助教学、交互式教学，等）比另一种更好。更多的依赖于特殊的培训要求，训练者群体的组成，等。

每个人学习能力差别的界定：进行有效的培训必须考虑到被训练人的特征。个人和团体在能力，文化，文化背景、口语语言和原来的技术水平上都有不同。对员工的训练应当以提高他们的工作能力，提高个人的安全性为主。有些人眼高手低，有些人从书本上就能学的很好。对员工的特殊要求应当给予处理，例如课程适应性，尤其是听力下降者。

明确学习的环境：教育（如：培训课程、视频、书面材料，等）的内容不应当和主题冲突，或不相关。例如，教育的内容旨在开发解决问题的能力，教学方法中就应当强调思维推理而不是记忆。提供的教学方法需要合适的反馈（积极的/精确的/可靠的）。此外，相关类似工作的培训工作有助于传达这类工作的技巧。

培训评估：这使人们可以知道先前的教学有没有达到预期的效果。培训评估通常包括四部分。

－测试被训练人对教育的反应
－测试被训练人的记忆能力/成绩
－评价他们对同一工作的行为的变化
－根据组织的目标测定实际的结果

大部分完全评估包括这四个区域。效率最低的评价就是仅仅考虑被训练者对教育的反应，因为这个反应和实际的教学程序关系最小。这个不能用作测定培训有效性的唯一方法。

培训的修正：

由于有多个标准来测量结果，培训评估很难说明一个培训计划是否全部成功。通常这些数据只是表明对一些章节的理解、记忆和应用比其他章节要好而已。知识的变化和知识之间的代沟是由于培训过程中的努力程度不够，比如：需要更多的培训时间，更换一种教育方法，或者换一个更有能力的教师。

下面列出了一个良好的实验室操作的基本课程，这个可以根据具体的需要进行修改。后面紧接着列出了五个为实验室成员和辅助人员设计的培训模板。这些技术模板可以进行修改以满足具体实验室或组织的评估和学习目的的需要。

基本课程：良好的实验室操作（GLP）

总则

1. 实验室传染性物质的来源
2. 实验室危险

－生物的

－化学的

－物理的，包括火和电危险

3. 实验室工作者权利和义务

预备步骤

1. 进入实验室
2. 个人卫生
3. 防护服

实验步骤

1. 使用机械的或其他吸液管助管
2. 减小气溶胶的产生
3. 正确使用 BSC
4. 正确使用高压灭菌锅和灭菌设备
5. 正确使用离心机

意外事故处理步骤

1. 第一援助
2. 溢出液和碎裂
3. 事故

一般的实验室维修

1. 危险性物质的存放
2. 危险性物质的运输
3. 实验室动物的处理和照料
4. 节肢动物和啮齿动物的控制

检查步骤

1. 除去危险性废物

－灭菌

－焚化

2. 净化步骤

3. 个人卫生

模块 1（中心模块）：良好的微生物技术（GMT）

这个模块是为在基本实验室 BSL-1 级和 BSL-2 级工作时设计的。下列列出的课程可以在一周内讲完。

由于诊断实验室不能控制他们可能接受的物品的种类，因此经常会遇到要处理 3 级危险微生物的情况，这时候就需要进一步的培训。

课程内容

1. 根据危险分级中危险水平以及不同地区的分级情况对微生物进行分类。
2. 实验室传染性物质出现的过程，途径和传染模式。
3. 由于已知的事故引起的传染，如偶尔的接种、溢出、预防和最小化
4. 由于气体传染性粒子引起的传染，这些粒子（气溶胶）释放的方法。
5. 气溶胶的测量和控制；通过改变技术和设备减少危险
6. 防护服，眼罩和面罩，个人卫生，免疫
7. BSC，仅 I 级、II 级（在这些实验室中不可能用到 III 级 BSC）
8. 处理血液和体液时特有的小心
9. 传染性废物的除去原则，高压灭菌锅和焚化炉的原理和使用
10. 化学消毒：局限性和方法
11. 动物房：污染控制
12. 实验室设计：安全实验室的设计原则
13. 化学和致癌危险，化学气体橱，危险的分析设备
14. 电和火危险
15. 实验室事故的第一援助室
16. 意外事故处理步骤
17. 传染性物质的邮寄和船运
18. 现存的实验编号的检查：步骤说明；生物安全长官职能，信息来源
19. 没有现代设施的时候怎样工作

模块 2：安全的实验室环境

模块 2 分成两部分，一个是关于安全计划的，另一个是关于安全组织的。这两部分都是针对资格较老的实验室的科技和技术人员的，还有和实验室的建筑、维修和服务有关的工程、建筑和管理人员。提供的讨论文献是关于国家生物安全总则和实验室计划和建筑计划的。这部分内容应当用两个课时。

课程内容：第一部分

1. 不同目的的房间的尺寸和分布；计划和建筑系统；家具和持久的设备
2. 服务设施：水、气、电、没有公共设施处的其他安排
3. 卫生设施：洗刷的，洗刷间，等
4. BSC 和橱内的通风
5. 废物处理；污染和化学废物；高压灭菌过和焚化炉

6. 动物房：计划、密封、控制、排出无关动物包括节肢动物
7. 防止蓄意破坏

课程内容：第二部分

1. 安全委员会的职责和功能
2. 生物安全长官的职责和功能
3. 医疗监督、免疫计划
4. 偏远地区人员的培训
5. 考了一个详细的安全操作手册，并思考如何将它应用于当地的环境
6. 安全审核，怎样进行审核以及审查官应当寻找什么
7. 一般的安全设施，如火警系统
8. 处理意外事故的计划

模块 3：辅助人员的 GLP

这个模块，就是一天的课程，是针对下列的实验室辅助人员的，他们基本上不接受任何实验室培训。

第一组。内部人员，他们：清洗，除去污染和其他实验室废物，洗刷玻璃器具和其他设备，预备培养液并对其进行灭菌。

第二组。工程师和维修人员。他们维修实验室设施和设备

第三组。接受和挑选送入实验室的病理物质的人。开放的邮寄、操作要求形式和实验室记录，将传染性物质打包进行邮寄和船运，驾驶装有传染性物质的车辆。

课程内容

1. 微生物的特点以及它们引起传染（所有级别）的方式
2. 实验室（所有级别）的工作
3. 如何避免实验室传染，个人卫生，防护服，吃喝，生物危险标志和限制区域（所有级别）
4. 消毒剂的使用和限制（所有级别）
5. 高压灭菌锅和焚化炉的操作控制和测试（1 级和 2 级）
6. 特定设备的危险，如 BSC、培养皿、冰箱、均质器和离心机（2 级）
7. 危险性物质的运输和接受。开放性运输和处理记录，如何包装传染性物质进行邮寄和船运，突发事故或溢出时，在生物安全长官到达之前应该采取的措施。（3 级）
8. 化学的、物理的、机械的、电和生物危险（所有级别）
9. 生物安全长官和他/她的职责，根据国家和当地的规则向每个工作者解释他们的权利和责任，报告事故和其他不寻常的事件，局部的安全和防火系统（所有级别）。
10. 简单的第一援助室（所有级别）

模块 4：安全人员的 GLP

这个模块主要是为生物安全长官设定的，但是鼓励安全委员会的其他成员参与。这部分课程要 5 天的时间。

课程内容

1. 在临床和研究实验室中操作的法律要求的大纲，国家专门的健康和安全立法，以及从其他国家得来的例子，雇主和雇员的责任，贸易的位置。
2. 实验和总纲的编号，安全和操作手册，实验室主管对安全政策的声明，安全计划的实施，生物安全长官和安全委员会的职责。
3. 事故和事故报告：常规和紧急情况下的机械装置和通道
4. 意外事故处理计划，准备一些协议处理事故，溢出液，等等。
5. 医疗监督：人员文件，免疫和生病记录，怀疑实验室传染时采取的行动
6. 导致异常行为和随后的危险的人员问题。
7. 实验室和动物房的蓄意破坏，安全设置
8. 实验室事故：接种、溢出、爆裂、设备相关性危险：离心、均质器、吸液、微生物操作。
9. 气溶胶：如何释放的（设备和相关技术）；可能产生的危险；裂缝的测量和重叠的刺绣样品：HEPA 过滤系统的原理和工作。
10. 关于个人卫生和防护服方面对人员进行监督和指导。
11. BSC：分类、局限性和选择；安装和检查（生物挑战，化学烟雾）；训练使用者
12. 通风系统的设计和测试；设立的压力，流量控制；清洁空气的房间
13. 消毒和灭菌的原则和使用：细菌破坏的动力学；高压灭菌和控制，热电偶和指示器的使用（化学的和生物的）
14. 化学和气体消毒剂；效率测试，消毒政策，紫外线辐射
15. 传染性物质的打包、邮寄和船运；国家和国际的规则，意外事故处理步骤
16. 动物房：密封和控制；与环境的隔离
17. 危险性化学物质：处理和存储；阈值和测量。
18. 辐射危险：法律的要求和当地的控制要求
19. 人员保护装置；在外面锁的装置，二人规则
20. 防火系统;燃尽决定，如是否扑灭火
21. 事故准备计划
22. 人员和动物的事故撤退

模块 5：操作 3 级和 4 级危险的微生物的专家的 GLP

这个模块主要是为专门操作 3 级和 4 级危险的微生物的专家和安全人员设定的。安全人员在进行这项培训时最好已经经过模块 4 的培训。没有接受正确培训

的人员应当对 3 级和 4 级危险的微生物负责。这部分课程持续三天。

课程内容

1. 3 级和 4 级危险下的微生物：识别，相关疾病，临床和传染性特征，自然菌库，带菌者，扩散模式，预防和治疗
2. 遗传操作的潜在危险，以及它们和 3 级和 4 级危险下微生物的关系
3. 3 级和 4 级危险微生物的密封水平
4. I 级和 II 级 BSC：密封实验室－BSL-3 步骤，3 级危险下的微生物设施的设计
5. III 级 BSC；最大封闭实验室－BSL-4，在其中工作的步骤
6. 特殊病原体的专门设施，流量的监控：专门的衣服和卫生设施
7. 专门设备：III 级 BSC，检测控制，训练，双层门，经过高压灭菌锅，警告不要完全依赖于机械设备
8. 电源、水、压力设备的简单维修，等。尤其在维修人员不能立即赶到的地方。
9. 医疗监督、免疫、事故处理措施
10. 活动的文件

进一步信息见参考书 49～51。

第六部分 安全检查清单

21.安全检查

这些安全检查清单主要是为了辅助评价生物医学实验室的安全状况。

实验室假设

1. 实验室假设是否满足国家和当地的建筑要求，包括和水灾、地震有关的要求？
2. 这个假设是否很整洁不会受到阻碍？
3. 这项假设干净吗？
4. 在地板、楼梯、墙和屋顶是否有结构的损坏？
5. 地板和楼梯是否相同且防滑？
6. 一段楼梯的扶手上是否多于 4 个人？
7. 地板打开的时候是否有防护栏？
8. 工作区域是否能保证安全的操作？
9. 流通区域和走廊是否足够人们的走动以及大设备的存放？
10. 长椅、设备状态良好？
11. 长椅表面是否抗溶剂，耐腐蚀？

12. 实验室每个房间是否都有洗手盆？
13. 按照假设进行建造和维护能否阻止节肢动物和啮齿动物的进入？
14. 所有暴露的蒸汽和热水管是否被绝缘能够包含操作人员？
15. 当断电的时候，是否有一套独立的供电系统？

存储设施

1. 存储设施、架子等的安排是否能够保证安全的存储东西，防滑、防塌陷且防坠落？
2. 存储设施是否不积累垃圾，不需要的物质和物体，以及避免由昆虫带来的爆炸、火等之类的危险？

卫生和人员设施

1. 这项假设是否维持在一个清洁的、有序的、卫生的环境下？
2. 可以得到饮用水吗？
3. 对男性和女性是否有足够的清洁和 WC 以及洗刷设施？
4. 是否有热水、冷水、肥皂、毛巾？
5. 男性和女性人员是否都有独立的更衣室？
6. 是否有小柜子存放单个人的衣服？
7. 是否有午餐房间？
8. 噪音水平可以接受吗？
9. 是否有足够的组织搜集并除去垃圾？

加热和通风

1. 是否有合适的工作温度？
2. 盲人是否可以靠近暴露在直射日光下的窗户？
3. 通风系统足够吗？如至少每小时六次变化，尤其在有机械通风的房间里？
4. 通风系统中有没有 HEPA 过滤系统？
5. 机械通风系统是否能够抑制 BSC 内的空气流动？

照明

1. 一般的照明是否足够（如 300～400lx）？
2. 工作椅上提供照明吗？
3. 房间或走廊里是否有黑暗的光线照不到的地方？

4. 荧光灯是否和长椅平行？
5. 荧光灯颜色是否平衡？

服务设施

1. 是否实验室每个房间都提供足够的水池、水、电、气出口，使人们可以安全的工作？
2. 对保险丝、灯、电缆、管是否有重组的检查和维修计划？
3. 故障是否能在合理的时间内排除？
4. 内部是否有工程和维修设施，对实验室工作有一定了解的有技术的工程师和工匠？
5. 如果没有内部工程师和维修设施，能否和当地对实验室工作有一定了解的工程师和建筑者？

安全

1. 当不使用的时候是否保证整个建筑被安全锁上？
2. 门和窗户是否都是防破坏的？
3. 含有危险性物质和贵重设备的房间是否在不用的时候都上锁？

火灾预防

1. 是否有火灾警报系统？
2. 火的门是否处于良好状态？
3. 测火灾的系统是否工作良好定期检查？
4. 能否到达火灾警报局？
5. 是否所有出口都有合适的照明标志？
6. 是不是到达出口的通道不能立即看到？
7. 当使用实验室的时候，是否所有出口都畅通无阻且不锁？
8. 是否有任何出口被装饰物、家具和设备堵住了？
9. 出口的设计是否保证在不经过高危险区域就能逃脱？
10. 是否所有出口都能通向一个开放的空间？
11. 是否走廊、流通区域足够整洁，且不受人员流动和灭火设备移动的影响？
12. 是否所有的防火设备都有固定的颜色便于识别？
13. 是否便携式灭火器都工作正常，装满了灭火物质，且放在指定位置？
14. 有潜在火灾危险的实验室是否都装有遇紧急情况使用的灭火器或灭火毯？
15. 如果易燃性液体和气体在某个房间使用时，机械通风系统是否在达到危险浓度之前就能将蒸汽吹散？

易燃性液体的存储

1. 存放设备是否和实验室其他设施隔离？
2. 是否有标签明确表明是危险区域？÷
3. 是否有重力或机械排气通风系统，且与其他主建筑隔开？
4. 灯的开关是否安置在实验室外部？
5. 内部的照明装置是否都密封好以免电火花引起火灾？
6. 易燃性液体是否存放在合适的通风非易燃物质制造的容器中？
7. 所有容器的内容是否都有它表面的标签表明了？
8. 在装有易燃性液体的房间外部靠近房间处是否有灭火器？
9. 易燃气体存储房间内部和外部是否都有禁烟标志？
10. 实验室房间中存储的易燃物质是不是最小量？
11. 这些物质是否存放在合适的容器中？
12. 这些安全橱是否贴了足够的“易燃液体”、“防火”标志？

电危险

1. 是否所有的电设备的安装、修理都是按照电安全规则进行的？
2. 内部配线是否接地良好（如三相系统）？
3. 电路断路器和接地断续器是否适合实验室所有电路？
4. 是否所有电装置都达到了实验室要求？
5. 实验室电缆是否足够短、状态良好、没有磨损、损坏和重叠？
6. 是否电插座只允许一种应用（没有适配器）？

压缩气和液化气

1. 是否每一个便携式气体容器都有标签明确标明了内容以及颜色？
2. 压缩气气缸以及其高压状态是否经过定期检查？
3. 减压阀是否定期维修？
4. 当气缸在使用时，是否有减压装置相连？
5. 当气缸不被使用或运输时，是否盖上了保护帽？
6. 是否所有压缩气气缸足够安全，且在自然灾难中不会坠落？
7. 气缸和液体石油气罐是否远离热的地方？

人员保护

1. 一个被批准的设计其防护服是否足够正常工作下每个人的使用？如隔离衣、围裙、手套？

2. 工作于危险性化学物质和辐射物质、致癌物质环境下时是否有额外的防护服？如处理溢出液的橡胶围裙、橡胶手套，搬动高压灭菌锅和烘箱的耐热手套？
3. 是否有安全的玻璃、护目镜和面罩？
4. 是否有洗眼的设备？
5. 是否有急症淋浴？
6. 辐射保护是否符合国家和国际标准？包括用辐射测量计测得的标准？
7. 是否有防毒面具？
8. 是否有呼吸器，且是否定期清洗、消毒、检查，以及存放在一个卫生的环境中？
9. 正确的呼吸器是否有合适的滤器？如 HEPA 滤器，合适的气体和粒子滤器等？
10. 是否经常检查呼吸器？

人员的健康和安全

1. 是否有专业健康服务？
2. 关键的位置是否有第一援助箱？
3. 是否有合格的第一援助者？
4. 第一援助者是否经过训练，能够处理实验室出现的意外事故？如处理腐蚀性化学物质、意外毒药和传染性物质地方刺入皮肤？
5. 是否对非实验室工作者（如内部的或职员）进行实验室潜在危险和处理方法的教育？
6. 一些通告牌是否给出了关于第一援助者的位置、电话号码的明确的信息？
7. 是否禁止孕妇接触某些特定的微生物、致癌物质、诱导突变的物质和畸胎剂？
8. 如果育龄期妇女说她们有可能怀孕了，那么它们应当通知合适的人员题她们完成剩下的工作
9. 针对实验室工作是否有一个免疫计划？
10. 用有结核菌的物质或气体类似物质工作时，是否有皮肤测试已经辐射防护措施？
11. 对于疾病和事故是否有清晰的记录？
12. 警告和事故预防标志是否起了应有的作用？

实验室设备

1. 是否所有设备都足够安全可以使用？
2. 对设备进行维修前是否能做到对其净化？
3. BSC 和气体橱是否经常检查并修正？

4. 是否定期检查高压灭菌锅和气体高压管道？
5. 是否定期检查离心桶和转轴？
6. 是否用吸液管而不用皮下注射针？
7. 是否把碎裂的或有缺口的容器经常扔掉不再使用？
8. 是否有盛碎玻璃的安全的容器？
9. 在可行的时候是否用塑料容器取代玻璃的？

传染性物质

1. 物品的接受是否在安全的环境下？
2. 对引入的物质是否有详细的记录？
3. 在 BSC 内打开物品包裹时是否足够小心以防碎裂和泄漏？
4. 在解开物品的包装时是否戴有手套？
5. 工作椅是否清洁？
6. 废弃的传染性物质如培养液，有没有在长椅或气体地方积聚？
7. 是否每天都将废弃的传染性物质移走并安全除去？
8. 是否所有成员都清楚处理溢出液、培养液和传染性物质的步骤？
9. 灭菌器的功能是否受到化学、物理、和生物指示器的检查？
10. 离心机每天净化吗？
11. 离心机里提供密封桶吗？
12. 消毒剂使用是否正确？
13. 工作在密封实验室－BSL-3 和最大封闭实验室 BSL-4 下的人员是否经过特殊的培训？

化学物质和放射性物质

1. 不相容的化学物质在存放和使用时是否进行了有效的隔离？
2. 是否所有化学物质都贴有正确的标签以及警告标志？
3. 化学危险警示牌是否放在显著的位置？
4. 是否有溢出液清洁剂？
5. 处理溢出液的员工是否经过训练？
6. 在橱内存放的易燃性物质是否是最小量？
7. 是否有运输瓶子的容器？
8. 是否有可以询问的辐射防护长官或参考手册？
9. 放射性物质的使用和原料的维护是否都有正确的记录？
10. 是否有放射保护屏和长椅柜台？

附录 1

人员的免疫

1. 建议实验室所有人员都应该进行下列传染病的免疫接种：白喉、B 型肝炎、麻疹、腮腺炎、小儿麻痹症、风疹、破伤风、肺结核、伤寒。有些人可能在儿童时期已经进行过免疫接种，但必须有文件证明且要提供足够的保护。

   注意：在世界上的一些地区，如印第安次大陆，或气体地区的，BCG 并不能完全保护人们免受结核的感染，见 WHO 研究组的报告“BSC 接种方法”（WHO 技术报告丛书，652 号），以及精细的体格检查，“关于 BCG 在免疫计划中的应用”。一本讨论文献。Geneva，WHO，1999（未出版的文献，WHO/V&B/99.23）

2. 所有使用动物工作或接触动物的人员应当给予合适的疫苗或类毒素进行接种，为防止意外的事故，下列物质必须有：蒽菌、梭状肉毒菌、A 型结核菌、造血因子，日本 B 型脑炎病毒、分支杆菌、脑膜菌、耶尔森氏菌属、肝炎 A 型病毒、流感病毒、跳病毒 3、鼠疫病毒、裂谷病毒、脑炎病毒 3、痘疹病毒、委内瑞拉象马脊髓炎病毒、黄热病毒。那些工作在痘病毒环境下的人必须进行牛痘疫苗接种。其他疫苗的接种是为了在高危条件工作的人建立的。

附录 2

WHO 生物安全合作中心

向下列组织写信可以获得培训课程、帮助和材料：

*生物安全计划，传染性疾病监督和反馈部，WHO 在 Lyon 的 CSR 局，法国 Lyon，Devourg 第 58 大道，邮编：69007。
网址：http://www.who.int/csr/

*WHO 生物安全合作中心，传染性疾病控制瑞典分部，Novle V.g18，S-171 82 Solna，瑞典，网址：http://www.smittskyddsinstitutet.se/English/english.htm

*WHO 生物安全科技和咨询合作中心，加拿大卫生部，生物安全局，Tunney，Pasture 0700A1，加拿大渥太华，Ontario，K1A 0L2。
网址：http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafty

*WHO 应用生物安全计划和培训中心。卫生和安全部，疾病预防与控制中心，亚特兰大 Mailstop F05，Clifton 路 1600 号。美国，30333
网址：http://www.cdc.gov/

*WHO 应用生物安全计划和研究合作中心，职业安全和卫生分支，安全区分，国家卫生机构，美国 MD20892-5760，Bethesda，MSC 5760，13/3K04 13South Drive。
网址：http://www.nih.gov/

*WHO 生物安全合作中心，维多利亚传染性疾病参考实验室，Wreckyn 街 10 号，Nth Melbourne，维多利亚 3051，澳大利亚，邮寄地址：Locked Bag815，PO Carlton Sth，维多利亚 3053，澳大利亚。
网址：http://www.vidrl.org.au/