

CDC • NIH

微生物学与生物医学实验室 生物安全手册

第三版



中国科学技术出版社

58.5073
675(3)

CDC·NIH

微生物学与生物医学实验室 生物安全手册

第三版



中国科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

微生物学与生物医学实验室生物安全手册/(美)瑞奇蒙德主编;李劲松译.—三版.—北京:中国科学技术出版社, 1996.4

ISBN 7—5046—2148—X

I. 微… I. ①瑞…②李… III. ①微生物学-实验室-安全-手册②生物工程:医学工程-实验室-安全-手册 IV. ①Q93-3②R318-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(95)第 23966 号

中国科学技术出版社出版

北京海淀区白石桥 32 号 邮政编码:100081

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

北京市朝阳区京精印刷厂印刷

*

开本:787×1092 毫米 1/32 印张:5.5 字数:125 千字

1996 年 6 月第 1 版 1996 年 6 月第 1 次印刷

印数:1—1000 册 定价:12.00 元

内 容 简 介

本书根据美国疾病控制与预防中心(CDC)和国立卫生研究院(NIH)共同编写的《Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories》1993年第三版译出,并根据原主编的建议,增加血热病毒实验室生物安全导则一章。

本书是美国50年来微生物实验室生物安全经验的总结,有关致病微生物及微生物实验室生物安全的分级标准、实验操作规程、安全设备和实验室建筑设计要求均有详细介绍和具体要求。这些标准和要求已为WHO和世界上大多数实验室所认可和接受,故具有普遍的权威性。同时,本书所提出的生物安全分级标准与NIH的重组DNA研究指南也是一致的。本书适用于医学、药学和农学部门和微生物学工作者、医院传染病科和检验科工作者、实验动物学工作者和分子遗传学工作者以及有关专业实验室设计工作者阅读。

美国疾病控制和预防中心(CDC)
美国国立卫生研究院(NIH)

主编:[美]乔纳森 Y·瑞奇蒙德 哲学博士

[美]罗伯特 W·麦金利 哲学博士

编委:[美]罗伯特 B·克雷文 医学博士

[美]马克 L·埃伯哈德 哲学博士

[美]约瑟夫 E·麦克达德 哲学博士

[美]C.J·彼得 医学博士

[美]约翰 E·贝内特 医学博士

[美]戴维·哈克斯塔德 哲学博士

[美]罗伯特·珀塞尔 医学博士

[美]黛伯拉 E·威尔逊 公共卫生学博士

[美]彼得 J·格里勒 理学博士

[美]德布里 L·亨特 公共卫生学博士

[美]彼得·杰瑞里 哲学博士

[美]约翰 H·理查森 兽医学博士

翻译:李劲松 医学硕士

审校:陈宁庆 教授

封面设计:晓 燕

责任编辑:肖 叶

序 言

1994年2月我去美国亚特兰大参加第三届生物安全研讨会时,获得CDC和NIH联合编写的第三版《微生物学与生物医学实验室生物安全手册》。会后,商得会议主席、CDC生物安全部主任、本书主编乔纳森Y. 瑞奇蒙德(J. Y. Richmond)博士同意,由我译成中文,将本书介绍给中国同行。后来,他还寄来该书最后校正的软盘,并建议将CDC出版的1994年MMWR上的《与汉坦病毒肺综合症相关病原体的实验室管理临时生物安全导则》一并译出,作为附录列入本书。信中再次表示同意译成中文出版,他唯一的要求是出版后寄给他一本。在此,我们要特别感谢瑞奇蒙德博士对本书中文版出版的关心。

本书是美国50年来微生物实验室生物安全经验的总结。书中提出的关于致病微生物和微生物实验室生物安全的分级标准、各种安全措施和要求,已为WHO和世界上大多数实验室所认可和接受,具有普遍的权威性。它已成为与医学、农学、药学和微生物学、临床检验学和实验动物学工作者必须掌握的基本知识。同时,本书中有关生物安全的分级标准与NIH的重组DNA研究指南是一致的,因此,它也是分子遗传学工作者的重要参考资料。

当我着手翻译时,得悉李劲松同志已将本书第二版译完,便将有关资料交给他补充译出,由我进行了审校,以便早日与读者见面。本书的出版对我国生物医学实验室的生物安全必将有所裨益,但翻译中的错误和不妥之处难免,欢迎读者指正。

陈宁庆

1996年3月

43592

目 录

第一章 前言	1
第二章 生物安全的原则	6
一、实验室操作技术	6
二、安全设备(一级屏障)	7
三、实验室建筑设计(二级屏障)	8
四、生物安全水平	9
第三章 实验室生物安全水平的标准	16
一、1级生物安全水平(BSL-1)	16
二、2级生物安全水平(BSL-2)	18
三、3级生物安全水平(BSL-3)	23
四、4级生物安全水平(BSL-4)	29
第四章 脊椎动物生物安全水平标准	39
一、1级动物生物安全水平(ABSL-1)	40
二、2级动物生物安全水平(ABSL-2)	42
三、3级动物生物安全水平(ABSL-3)	46
四、4级动物生物安全水平(ABSL-4)	51
第五章 为感染性病原体和被感染动物提出的 生物安全水平	59
第六章 危险评价	63
第七章 病原体概述	65
一、寄生虫病原体(Parasitic Agents)	65
二、真菌病原体(Fungal Agents)	69
三、细菌病原体(Bacterial Agent)	73
四、立克次体病原体(Rickettsial Agents)	91

五、病毒病原体(除虫媒病毒外)	
[Viral Agents(other than arbovirues)]	94
六、虫媒病毒(Arbovirues)	111
附录 A:生物安全柜	125
附录 B:免疫预防	133
附录 C:对与实验室相关的立克次体感染的 工作人员的监督	133
附录 D:人类病原体和相关材料的进口和州际运输	134
附录 E:禁止限制的动物病原体	136
附录 F:信息来源	138
附录 G:与汉坦病毒肺综合症相关的病原体的实验室 管理的临时生物安全导则	138
参考文献	146

第一章 前 言

微生物实验室往往是唯一造成其工作人员或附近的人员感染疾病危险的工作环境。纵观微生物学历史,在实验室中常常发生感染性疾病。本世纪内公开发表的报告记载了与实验室相关的伤寒、霍乱、马鼻疽、布氏(杆)菌病和破伤风等病例¹⁹²。在1941年 Meyer 和 Eddie¹²⁵发表一篇在美国发生的74例与实验室相关的布氏(杆)菌病感染的评述,并且推断“培养基或标本的处理及含有布氏(杆)菌病的灰尘的吸入是实验室工作人员的主要危险”。许多病例是由于粗心大意或是处理感染性材料的落后技术造成的。

在1949年, Sulkin 和 Pike¹⁷⁹第一次发表了一系列与实验室相关的感染的调查报告,共计222例病毒感染,其中21例死亡。至少1/3的病例的感染源可能是与处理感染动物和它的组织有关。其中27例(12%)实验室感染是有据可查的。

1951年, Sulkin 和 Pike¹⁸⁰第二次发表了一系列与实验室相关的感染调查报告。这些报告是建立在对5000个实验室的问卷调查的基础之上的,在调查中发现1342事例中仅1/3的事例在文献中报告过。布氏(杆)菌病在数量上超过其它所有报告过的实验室感染,同结核病、土拉菌病、伤寒和链球菌感染加在一起占有细菌感染的72%,占有病原体引起感染的31%,全部病例的病死率是3%。所有报导过的感染仅有16%是与有资料证实的事故相关。这些事故大部分是与

口吸移液管、针头和注射器的使用不当有关。

这个调查报告在 1965 年¹⁵⁴增补 641 件新的事例或先没有报告过的事例,并且在 1967 年¹⁵¹再次增补,累计 3921 例。布氏(杆)菌病、伤寒、土拉菌病、结核病、肝炎和委内瑞拉马脑炎是最常见报道的。所有事例中不到 20% 的病例与已知事故相关,80% 以上的报告病例可能是由传染性气溶胶引起的,但是,这些病人只“与病原体有过接触”而不能肯定由气溶胶引起。

1967 年, Hanson⁸⁶等人报告了 428 例明显与实验室相关的虫媒病毒感染。在一些事例中,一种虫媒病毒使人致病的能力首次被证明按实验室人员意外感染的结果而定。暴露于感染性气溶胶是最常见的感染源。

1974 年, Skinhoj¹⁷⁰发表了在丹麦的一个化学临床实验室工作的雇员的肝炎发病率比普通人群高 7 倍的调查报告(每年 2.3 人/1000 雇员)。1976 年 Harrington 和 Shannon⁸⁸的调查表明,在英国医学实验室的工作人员结核病感染的危险比普通人群高 5 倍;在大不列颠,肝炎和志贺菌病继续被认为是同结核病一起构成三大最常见的、与职业有关的传染病。

虽然这些报告指出实验室工作人员被他们所处理的致病因子感染的危险在增长,而实际的感染率尚无典型的报告。然而, Harrington、Shannon⁸⁸和 Skinhoj¹⁷⁰的研究表明实验室工作人员的结核病、志贺菌病和肝炎的发病率比普通人群高。

与文献报告的实验室人员发生实验室感染对比,应用感染性材料的实验室迄今尚未表明对社会构成威胁。例如,从 1947~1973 年¹⁵⁹,疾病控制和预防中心记录了 109 例实验室感染,但在家庭成员中或社会接触者中没有第二代感染病例。

国家动物疾病中心也报告过类似的情况¹⁸¹，从1960~1975年发生的18例实验室感染病例的实验室或非实验室接触者都没有发生第二代感染。一例被马尔堡病毒初次感染的病人的妻子的第二代感染，被推测为出院后两个月，通过性行为传播感染的¹¹⁷。1973年¹⁵⁷和1978年²⁰²，报告英国两起实验室感染引起的3例天花第二代感染。较早的报告有一个商业洗衣房在清洗来自Q热实验室的内衣裤和制服时发生了6个雇员感染Q热¹⁴⁰，在实验室参观者中有1例Q热感染¹⁴⁰和2例与立克次体的患者接触的家庭成员感染¹⁰。1例由被感染的动物管理员把猴B病毒传播给妻子，显然这是由于破损皮肤接触了病毒⁹²。这些事例说明从事感染性病原体工作的实验室人员的感染是散发性的，引起社会感染是少见的。

1979年，Pike¹⁵³在他的评论中指出“知识、技术和设备对防止大多数实验室感染是有用的”。然而，在美国没有一本关于这方面工作的操作、标准、导则或规范的出版物或其它出版物，也没有其它出版物提供详细描述技术、装备和其它有关进行各种本土的和外来的病原体，实验室活动的普遍适用的细则和建议。《基于危害程度的病原微生物分类》²³这本小册子可作为从事致病微生物某些实验室工作的一般参考。此书把病原微生物和实验室活动分为四级的概念成为前几版《微生物学和生物医学实验室的生物安全》(BMBL)的基本形式。《微生物学和生物医学实验室的生物安全》的第三版继续特别描述微生物操作、实验室设备和安全装备的联合应用，并介绍对人有感染性的特定微生物和实验室操作的四级安全水平的应用。

生物安全水平1~4级的说明与美国国立卫生研究院的

重组 DNA 研究指南是一致的^{71, 72, 139}, 而且与原用于《基于危害程度的病原微生物分类》中 1~4 级分类的一般原则也是一致的²³。这一分类原则也适用于利用小实验动物作感染性疾病研究。对特殊病原体的生物安全水平分类是基于该病原体可能的危险和实验室的功能或操作内容的基础上的。

80 年代早期, 在包括人类免疫缺陷病毒(HIV)操作在内的相关活动中, 实验室已经应用这些基本的原则。即使在 HIV 被证实为获得性免疫缺陷综合症(AIDS)的致病因子之前, 操作血液传播的病原体的原则也适应于安全实验室工作⁴³。以“普遍预防”为标题颁发了为医护人员安全而制定的导则。实际上, “普遍预防”和本书已成为近来职业安全与健康署(OSHA)公布的处理血液和体液安全措施的基础, 职业安全与健康署最近的出版物《血液传播的病原体标准》¹⁸⁷也是基于这些原则编写的。

在 80 年代晚期, 公众对医学废弃物已表示出相当大的关注, 从而在 1988 年颁布了医学废弃物跟踪法令¹⁸⁶。早先出版的 BMBL 中关于处理感染性废弃物的原则, 在国家研究委员会出版的《实验室安全: 感染性材料的处理和抛弃细则》¹²中作为职业危害再次作了强调。

当这本书即将出版时, 人们对与结核病再次出现有关的安全操作、工作程序、设备的完整性以及实验室和医疗单位工作人员的安全的关注日益增加。《生物医学实验室的生物安全水平》的基本原理可用于这种空气传播的病原体的控制, 包括结核杆菌的多种抗药性株^{47, 54}。

经验已证实, 适用于处理病原微生物的实验室和动物试验单位的生物安全 1~4 级操作规程、程序和设施是很详细

的。虽然尚无关于实验室感染的国家信息系统,但私人报告指出:严格执行这些准则,确能保证实验室的工作人员、及其同事的健康和周围环境的安全。这里提出的准则可作为一个实验室制定细则以及结合其它可行的科学资料来评价其合理性,以进一步减少实验室感染的可能性的依据。

第二章 生物安全的原则

“防护”一词是描述在有感染病原体存在的实验室环境中,处理感染病原体的安全方法。防护的目的是为了减少或消除实验室工作人员和其他人员受到感染的可能性以及外环境受到潜在的有害病原体的危害。

一级防护是指对暴露于传染性微生物的人员和实验室内环境的防护,由良好的微生物学技术和适当的安全设备提供。使用疫苗可以提高个人防护水平。二级防护是指传染性微生物对实验室外环境的防护,由设备的设计和操作实践的结合来提供。所以,防护的三个要素包括实验室操作技术、安全设备和实验室设计。从事特殊病原体工作的危险评价将决定这些要素的适当的组合。

一、实验室操作技术

防护的最重要因素是严格遵守标准的微生物操作和技术规程。从事感染性微生物或可能有感染性的材料的工作人员必须意识到潜在的危害,并接受培训和熟练掌握安全处理这些材料的操作技术。实验室主任或负责人有责任安排人员培训。

每个实验室应该制定系列细则或采纳一套生物安全操作手册,明确可能遇到的危害,并说明减小或消除有危害的操作程序。应使工作人员了解特殊危害,要求他们阅读和遵守有

关操作程序。要由在实验室技术、安全程序和处理感染性病原体危害方面受过训练的专家全面指导实验室工作。

当标准实验室操作不能充分控制与特殊病原体或实验室程序相关的危害时,额外的措施是必需的。实验室主任对选择额外的安全操作负责,额外的安全操作必须与病原体或实验室程序相关的危害是一致的。

必须以相应的实验室设施的设计和工程特点、安全设备和管理措施来补充实验室工作人员、安全操作和技术的不足。

二、安全设备(一级屏障)

安全设备包括系列生物安全柜(BSCs)、各种密闭容器和其它为了消除或减小暴露于有害生物材料设计的工程控制设施。生物安全柜(BSC)是主要的设备,用于许多微生物学操作过程中产生的感染性溅出物或气溶胶的防护。在微生物实验室中使用的三种型号生物安全柜(Class I、II、III)将在附录 A 中说明。在具有良好的微生物操作技术时,前开门式 I 级和 II 级生物安全柜是为实验室工作人员和环境提供良好保护的一级屏障。II 级生物安全柜还可以防止放置在生物安全柜中的材料(细胞培养、微生物贮存菌种等)的外污染。三级气密型生物安全柜可以对工作人员和环境提供最高水平的保护。其它一些一级屏障还有安全离心机罩以及为防止在离心过程中气溶胶被释放出而设计的密闭容器。为了减少这种危险,在处理可以通过气溶胶途径传播的感染性微生物时必须使用生物安全柜或离心机罩。安全设备还包括个人防护用品,例如手套、外套、长服、鞋套、长筒靴、口罩、面罩、安全眼镜或防风镜等。使用生物安全柜和其它设备进行病原体、动物

或其它材料的研究时,通常与个人防护设备联合使用。某些情况下不能在生物安全柜里进行工作时,那么,个人防护设备可以在工作人员和感染性材料之间形成一级屏障。例如某些动物实验、动物尸体解剖、致病微生物生产过程以及有关设施的维护、服务或实验室设备供应等相关的活动。

三、实验室建筑设计(二级屏障)

为了对在同一建筑物中实验室内外工作的工作人员提供保护屏障,以及防止社会上的人员或动物接触从实验室偶然释放出的感染性微生物,建筑物的设计是非常重要的。实验室管理部门负责提供与实验室功能相适应的设施和为所从事的致病病原体应采用何级的生物水平提出建议。提出的二级屏障取决于特殊致病微生物传播的危险性。例如,在1级和2级生物安全水平设施里的大多数实验室工作的暴露危险是直接接触致病病原体,或由于疏忽接触污染的工作环境。在这些实验室中,二级屏障包括实验室工作区和公共通道的分开,使用消毒设备(如:高压灭菌器)和洗手装置。随着气溶胶传播危险的增加,为防止感染性微生物逸出进入环境,较高水平的一级防护和多级的二级屏障是必要的。它们的设计性能包括:保证定向气流的特殊通风系统、从排出的气体中消除或除去致病因子的空气处理系统、控制的通过区、以气锁作实验室的入口或单独建筑物或用把实验室分开的缓冲间。实验室的设计工程可以参考美国加热、制冷和空调学会(ASHRAE)出版的《加热、制冷和空调的应用手册(HVAC)》²。

四、生物安全水平

由实验室操作技术、安全设备和实验室设计的组合构成四级生物安全水平。每一种组合是根据进行的操作、已证实的或可疑的传播途径和实验室功能或活动特殊性而建立的。在第七章中建议的微生物生物安全水平,一般情况下可保证处理该微生物的安全。实验室主任对危险评价和提出适用的生物安全水平负有特殊的和主要的责任。一般情况,从事已知的致病微生物的工作应该在第七章中提出的生物安全水平条件下进行。当得知其毒力、致病性、抗药性方式、可利用的疫苗和治疗明显改变了的特殊信息时,可规定更严格(或更松的)操作程序。

(一)1级生物安全水平(BSL-1)

1级生物安全水平的操作、安全设备和建筑是适用于大学教学和再教育培训等教学用的实验室,也适应于在其它建筑物内从事具有明确的、已知在健康成人中不能引起疾病的、活的微生物菌株研究。枯草杆菌、格氏阿米巴原虫和感染性犬肝炎病毒是符合这些标准微生物的代表。然而,许多通常对正常成人不致病的微生物却是机会病原体,可以在儿童、老年人、免疫缺陷者和使用免疫抑制的个体中引起感染。对于疫苗株,不要简单地认为在体内已经繁殖多代的疫苗株是无毒的。1级生物安全水平不需要特殊的一级和二级屏障,除需要洗手池外,依靠标准的微生物操作即可获得基本的防护水平。

(二)2级生物安全水平(BSL-2)

2级生物安全水平的操作、设备和设施可应用于临床、诊断、教学的单位,以及研究与各种不同严重程度的人类疾病相