



世界卫生组织

实验室生物 安全手册

第三版

6.4-62



北京

北京市疾病预防控制中心翻印



世界卫生组织

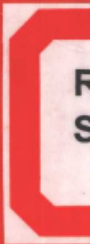


实验室生物 安全手册

第三版



北京市疾病预防控制中心翻印



实验室 生物安全手册

第三版



世界卫生组织

日内瓦

2004

序

世界卫生组织（WHO）早就认识到安全，特别是生物安全，是一个重要的国际性问题，因此早在 1983 年就出版了《实验室生物安全手册》（Laboratory Biosafety Manual）第 1 版。该手册鼓励各国接受和执行生物安全的基本概念，并鼓励针对本国实验室如何安全处理致病微生物制订操作规范。1983 年以来，已经有许多国家利用该手册所提供的专家指导，制订了生物安全操作规范。该手册的第 2 版于 1993 年出版。

在该手册第 3 版中，WHO 将继续发挥她在国际生物安全领域的领导作用，阐述新千年所面临的生物安全和生物安全保障问题。该手册第 3 版自始至终强调了工作人员个人责任心的重要作用，并在下列几个方面增加了新的内容：危险度评估、重组 DNA 技术的安全利用以及感染性物质运输。世界上最近发生的事件表明，由于蓄意滥用和排放微生物因子和毒素，公共卫生正受到新的威胁。因此，第 3 版也介绍了生物安全保障的概念——保护微生物资源免受盗窃、遗失或转移，以免因微生物资源的不适当使用而危及公共卫生。第 3 版中还包括了 1997 年 WHO 出版的《卫生保健实验室安全》^[1]（Safety in Health-Care Laboratories）中有关安全的内容。

WHO《实验室生物安全手册》第 3 版对各个国家都是有益的参考和指南，它可以帮助制订并建立微生物学操作规范，确保微生物资源的安全，进而确保其可用于临床、研究和流行病学等各项工作。



Dr A. Asamoah-Baah

助理总干事

传染病事务

世界卫生组织

瑞士，日内瓦

目录

序	viii
致谢	ix
第 1 章 总则	1
引言	1
第一部分 生物安全指南	
第 2 章 微生物危险度评估	7
信息有限的标本	7
危险度评估与遗传修饰微生物	8
第 3 章 基础实验室——一级和二级生物安全水平	9
操作规范	9
实验室的设计和设施	11
实验室设备	13
健康和医学监测	15
培训	15
废弃物处理	16
化学品、火、电、辐射以及仪器设备安全	17
第 4 章 防护实验室——三级生物安全水平	18
操作规范	18
实验室的设计和设施	18
实验室设备	19
健康和医学监测	19
第 5 章 最高防护实验室——四级生物安全水平	22
操作规范	22
实验室的设计和设施	22
第 6 章 实验动物设施	25
动物设施——一级生物安全水平	26
动物设施——二级生物安全水平	26
动物设施——三级生物安全水平	27
动物设施——四级生物安全水平	27
无脊椎动物	28

2006.7.6 — 市CDC 增订/修改 —

第 7 章 实验室 / 动物设施试运行指南	29
第 8 章 实验室 / 动物设施认证指南	31
第二部分 实验室生物安全保障	
第 9 章 实验室生物安全保障的概念	41
第三部分 实验室设备	
第 10 章 生物安全柜	45
I 级生物安全柜	46
II 级生物安全柜	46
III 级生物安全柜	49
生物安全柜的通风连接	49
生物安全柜的选择	49
实验室中生物安全柜的使用	50
第 11 章 安全设备	53
负压柔性薄膜隔离装置	54
移液辅助器	54
匀浆器、摇床、搅拌器和超声处理器	55
一次性接种环	55
微型加热器	55
个体防护装备和防护服	55
第四部分 微生物学操作技术规范	
第 12 章 实验室技术	61
实验室中标本的安全操作	61
移液管和移液辅助器的使用	61
避免感染性物质的扩散	62
生物安全柜的使用	62
避免感染性物质的食入以及与皮肤和眼睛的接触	62
避免感染性物质的注入	63
血清的分离	63
离心机的使用	63
匀浆器、摇床、搅拌器和超声处理器的使用	64
组织研磨器的使用	64
冰箱与冰柜的维护和使用	64
装有冻干感染性物质安瓿的开启	64
装有感染性物质安瓿的储存	65

对血液和其他体液、组织及排泄物的标准防护方法	65
对可能含有朊蛋白物质的防护	66
第 13 章 意外事故应对方案和应急程序	68
意外事故应对方案	68
微生物实验室应急程序	68
第 14 章 消毒和灭菌	71
定义	71
实验室材料的清洁	71
化学杀菌剂	72
清除局部环境的污染	75
清除生物安全柜的污染	76
洗手 / 清除手部污染	76
热力消毒和灭菌	76
焚烧	78
废弃物处理	78
第 15 章 感染性物质的运输	79
国际运输规定	79
基本的三层包装系统	79
溢出清除程序	81
第五部分 生物技术介绍	
第 16 章 生物安全和重组 DNA 技术	85
生物表达系统的生物安全考虑	85
表达载体的生物安全考虑	85
用于基因转移的病毒载体	85
转基因动物和“基因敲除”动物	86
转基因植物	86
遗传修饰生物体的危险度评估	86
进一步的考虑	87
第六部分 化学品、火和电的安全	
第 17 章 危害性化学品	91
暴露途径	91
化学品的储存	91
关于不相容化学品的一般原则	91
化学品的毒性作用	91
爆炸性化学品	92
化学品溢出	92

压缩气体和液化气	92
第 18 章 其他实验室危害	94
火的危害	94
电的危害	95
噪声	95
电离辐射	95

第七部分 安全组织和培训

第 19 章 生物安全官员和安全委员会	101
生物安全官员	101
生物安全委员会	101
第 20 章 后勤保障人员的安全	103
工程和建筑物的维护保养	103
清洁(内务)保养	103
第 21 章 培训规划	104

第八部分 安全清单

第 22 章 安全清单	109
实验室建筑	109
储存设施	109
环境卫生和工作人员设施	109
暖气和通风	110
照明	110
保养	110
实验室生物安全保障	110
防火与消防	111
易燃液体的储存	111
压缩气体和液化气	111
电的危害	112
个体防护	112
工作人员的健康与安全	112
实验室仪器设备	113
感染性物质	113
化学品和放射性物质	114

第九部分 参考文献、附录和索引

参考文献	117
-------------------	------------

附录 1 急救	121
附录 2 工作人员的免疫接种.....	122
附录 3 WHO 生物安全合作中心	123
附录 4 设备的安全性	124
可能产生危害的仪器设备	124
附录 5 化学品:危害与预防	127
索引	150

第 1 章 总则

引言

在本手册中，我们根据感染性微生物的相对危害程度制订了危险度等级的划分标准（WHO 的危险度 1 级、2 级、3 级和 4 级）。该危险度等级的划分仅适用于实验室工作。表 1 叙述了不同的危险度等级。

表 1 感染性微生物的危险度等级分类

危险度 1 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。

危险度 2 级（个体危险中等，群体危险低）

病原体能够对人或动物致病，但对实验室工作人员、社区、牲畜或环境不易导致严重危害。实验室暴露也许会引起严重感染，但对感染有有效的预防和治疗措施，并且疾病传播的危险有限。

危险度 3 级（个体危险高，群体危险低）

病原体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。

危险度 4 级（个体和群体的危险均高）

病原体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。

实验室可以分为基础实验室——一级生物安全水平、基础实验室——二级生物安全水平、防护实验室——三级生物安全水平和最高防护实验室——四级生物安全水平。根据操作不同危险度等级微生物所需的实验室设计特点、建筑构造、防护设施、仪器、操作以及操作程序来决定实验室的生物安全水平。表 2 叙述了与不同危险度等级相对应的（而非“等同的”）各危险度等级微生物所要求的实验室生物安全水平。

表2 与微生物危险度等级相对应的生物安全水平、操作和设备

危险度等级	生物安全水平	实验室类型	实验室操作	安全设施
1级	基础实验室——一级生物安全水平	基础的教学、研究	GMT	不需要；开放实验台
2级	基础实验室——二级生物安全水平	初级卫生服务；诊断、研究	GMT 加防护服、生物危害标志	开放实验台，此外需BSC 用于防护可能生成的气溶胶
3级	防护实验室——三级生物安全水平	特殊的诊断、研究	在二级生物安全防护水平上增加特殊防护服、进入制度、定向气流	BSC 和 / 或其他所有实验室工作所需要的基本设备
4级	最高防护实验室——四级生物安全水平	危险病原体研究	在三级生物安全防护水平上增加气锁入口、出口淋浴、污染物品的特殊处理	III级 BSC 或 II级 BSC 并穿着正压服、双开门高压灭菌器（穿过墙体）、经过滤的空气

BSC：生物安全柜；GMT：微生物学操作技术规范（见本手册第4部分）。

每个国家（地区）应该按照危险度等级，并考虑以下因素来制订各自的微生物分类目录：

- 1、微生物的致病性。
- 2、微生物的传播方式和宿主范围。它们可能会受到当地人群已有的免疫水平、宿主群体的密度和流动、适宜媒介的存在以及环境卫生水平等因素的影响。
- 3、当地所具备的有效预防措施。这些措施包括：通过接种疫苗或给予抗血清的预防（被动免疫）；卫生措施，例如食品和饮水的卫生；动物宿主或节肢动物媒介的控制。
- 4、当地所具备的有效治疗措施。这些措施包括：被动免疫、暴露后接种疫苗以及使用抗生素、抗病毒药物和化学治疗药物，还应考虑出现耐药菌株的可能性。

在实验室工作中，应根据危险度评估结果将微生物因子归入某一生物安全水平。在通过危险度评估工作来确立适当的生物安全水平时，要考虑危险度等级以及其他一些因素。例如，归入危险度2级的微生物因子，进行安全工作通常需要二级生物安全水平的设施、仪器、操作和规程。但是，如果特定实验需要发生高浓度的气溶胶时，由于三级生物安全水平通过对实验工作场所内气溶胶实施更高级别的防护，所以更适于提供所必需的生物安全防护。因此，在确定所从事特定工作的生物安全水平时，应根据危险度评估结果来进行专业判断，而不应单纯根据所使用病原微生物所属的某一危险度等级来机械地确定所需的实验室生物安全水平（见第2章）。

表3 汇总了四种不同生物安全水平的防护要求。

表 3 不同生物安全水平对设施的要求

	生物安全水平			
	一级	二级	三级	四级
实验室隔离 ^a	不需要	不需要	需要	需要
房间能够密闭消毒	不需要	不需要	需要	需要
通风				
——向内的气流	不需要	最好有	需要	需要
——通过建筑系统的通风设备	不需要	最好有	需要	需要
——HEPA 过滤排风	不需要	不需要	需要/不需要 ^b	需要
双门入口	不需要	不需要	需要	需要
气锁	不需要	不需要	不需要	需要
带淋浴设施的气锁	不需要	不需要	不需要	需要
通过间	不需要	不需要	需要	—
带淋浴设施的通过间	不需要	不需要	需要/不需要 ^c	不需要
污水处理	不需要	不需要	需要/不需要 ^c	需要
高压灭菌器				
——现场	不需要	最好有	需要	需要
——实验室内	不需要	不需要	最好有	需要
——双门	不需要	不需要	最好有	需要
生物安全柜	不需要	最好有	需要	需要
人员安全监控条件 ^d	不需要	不需要	最好有	需要

^a 在环境与功能上与普通流动环境隔离^b 取决于排风位置（见第 4 章）^c 取决于实验室中所使用的微生物因子^d 例如：观察窗、闭路电视、双向通讯设备

因此，在选定生物安全水平时，要考虑所使用的生物体（病原因子）、可利用的实验设施、实验室内从事安全工作所需要的仪器的操作和程序。

第一部分

生物安全指南

第2章 微生物危险度评估

生物安全工作的核心是危险度评估。可以借助许多方法来对某一个特定的操作程序或实验进行危险度评估，其中最重要的是专业判断。危险度评估应当由那些对所涉及的微生物特性、设备和规程、动物模型以及防护设备和设施最为熟悉的人员来进行。实验室主任或项目负责人应当负责确保进行充分和及时的危险度评估，同时也有责任与所在机构的安全委员会和生物安全工作人员密切合作，以确保有适当的设备和设施来进行相关的研究工作。危险度评估一旦进行，还应当考虑收集与危险程度相关的新资料以及来自科学文献的其他相关的新信息，以便必要时对危险度评估结果进行定期检查和修订。

进行微生物危险度评估最有用的工具之一就是列出微生物的危险度等级（见第1章）。然而对于一个特定的微生物来讲，在进行危险度评估时仅仅参考其危险度等级是远远不够的，适当时还应考虑其他一些因素，包括：

- 1、微生物的致病性和感染数量
- 2、暴露的潜在后果
- 3、自然感染途径
- 4、实验室操作所致的其他感染途径（非消化道途径、空气传播、食入）
- 5、微生物在环境中的稳定性
- 6、所操作微生物的浓度和浓缩标本的容量
- 7、适宜宿主（人或动物）的存在
- 8、从动物研究和实验室感染报告或临床报告中得到的信息
- 9、计划进行的实验室操作（如超声处理、气溶胶化、离心等）
- 10、可能会扩大微生物的宿主范围或改变微生物对于已知有效治疗方案敏感性的所有基因技术（见第16章）
- 11、当地是否能进行有效的预防或治疗干预。

根据危险度评估过程中所明确的上述信息，可以确定所计划开展的研究工作的生物安全水平级别，选择合适的个体防护装备，并结合其他安全措施制订标准操作规范（standard operating procedure, SOP），以确保在最安全的水平下来开展工作。

信息有限的标本

在获得足够的信息以后，就能很好地进行上述危险度评估工作。但是，也有在对相关信息了解较少时进行危险度评估的情况（如对于一些现场收集的临床标本或流行病学样品），这些情况下应当谨慎地采取一些较为保守的标本处理方法。

1、只要标本取自病人，均应当遵循标准防护方法^[2]，并采用隔离防护措施（如手套、防护服、眼睛保护）。

2、基础防护——处理此类标本时最低需要二级生物安全水平。

3、标本的运送应当遵循国家和 / 或国际的规章和规定。

下列信息可能有助于确定处理这些标本的危险度：

1、病人的医学资料

- 2、流行病学资料（发病率和死亡率资料、可疑的传播途径、其他有关暴发的调查资料）
- 3、有关标本来源地的信息。

在暴发病因不明的疾病时，可能应由国家主管部门和 / 或 WHO 制订并在万维网上公布适当的专门指南 [如 2003 年发生严重急性呼吸综合征 (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS) 时的情况] ，指导标本应如何运输以及在标本分析时应按何种生物安全水平执行。

危险度评估与遗传修饰微生物

关于危险度评估以及遗传修饰生物体 (genetically modified organisms, GMOs) 的详细讨论见第 16 章。