

GLOBAL
HEALTH
SECURITY

EPIDEMIC ALERT AND RESPONSE

实验室生物安全手册

Laboratory Biosafety Manual

第2版（修订本）

世界卫生组织 编

主 译 陆 兵
陈惠鹏
郑 涛



人民卫生出版社



世界卫生组织



World Health
Organization

实验室生物安全手册

Laboratory Biosafety Manual

第2版（修订本）

世界卫生组织 编

顾问 李逸民

主译 陆兵 陈惠鹏 郑涛

翻译和校对（以姓氏笔画为序）

朱联辉 陆兵 陈惠鹏

周煜 郑涛 谢英华

审校 祝庆余 李劲松

人民卫生出版社



世界卫生组织



世界卫生组织委托中华人民共和国卫生部

由人民卫生出版社出版本书中文版

图书在版编目(CIP)数据

实验室生物安全手册/陆兵等主译. —2版. —北京:
人民卫生出版社, 2003
ISBN 7-117-05816-1

I. 实… II. 陆… III. 微生物-实验室-安全-手册
IV. Q93-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 114496 号

©世界卫生组织 2003

本手册为世界卫生组织(WHO)的非正式出版物,世界卫生组织保留其一切权利。本手册的部分或全部内容可以自由地进行评述、摘录、复制和翻译,但禁止进行销售或用于任何商业目的。

手册中那些署名的观点仅由作者本人负责。

无论是关于国家、地区、城市或某一区域本身及其权力机构的法律地位,还是关于其边界范围的界定,在本手册(包括表格和地图)中所使用的名称以及所陈述的资料,均不代表世界卫生组织秘书处的任何意见。

文中所提到的具体公司或某生产商的产品,并不意味着 WHO 优先认可或推荐这些公司或产品。除非由于错误或遗漏,否则所有专利产品的名称首字母均大写。

实验室生物安全手册 第 2 版(修订本)

主 译: 陆 兵 陈惠鹏 郑 涛

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/32 印张: 6

字 数: 113 千字

版 次: 2004 年 1 月第 1 版 2004 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05816-1/R·5817

定 价: 18.00 元

著作权所有,请勿擅自用本书制作各类出版物,违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

中文版序

正当一种前所未见的病毒——SARS 病毒攻击人类的时候，世界卫生组织（WHO）在其官方网站（www.who.int）推出了《实验室生物安全手册》第 2 版修订本的英文版。该手册对指导并规范全世界从事致病微生物研究的科研人员的实验室生物安全操作具有重要意义。为了让国内同行可以尽早接触到该手册的中文版，我们在第一时间通过人民卫生出版社与 WHO 联系，获得了翻译并出版该手册的授权。在此，我谨代表全体参译人员和阅读本手册中文版的同行向 WHO 和人民卫生出版社表示感谢。

我们第一次接触到本手册的英文版，就被本手册关于生物安全的理念，以及本手册的内容、组织和版面所深深吸引。可以说，WHO《实验室生物安全手册》第二版修订本是我们所接触到的最好的一本生物安全手册，这也是我们决定翻译这本手册的动因。

今年 8 月 1 日，中华人民共和国卫生部发布的“微生物和生物医学实验室生物安全通用准则”在国内开始实施，中国实验室国家认可委员会（CNAL）组织编写的“实验室生物安全通用准则”也正在起草过程中。正如《实验室生物安全手册》第 2 版修订本英文版序

的作者 W. Emmett Barkley 博士所说，本手册的目的是要“促进国际上微生物实验室的健康与安全”，为各国制订“安全处理致病微生物的操作规程提供专家指导”。相信这些标准、手册都将是我国微生物实验室安全与健康的有效保证。

本手册的翻译、校对、统稿、定稿工作是由军事医学科学院生物工程研究所的一线科研骨干完成的。军事医学科学院微生物流行病学研究所的祝庆余研究员和李劲松副研究员在百忙中完成了对本书的审校工作。我谨向所有参加本手册翻译出版工作的同志们表示崇高的敬意和感谢！我更加热切地期望我国从事生物安全工作的科技工作者，在学习借鉴本手册的基础上，总结经验，开拓创新，青出于蓝而胜于蓝，以贡献于世界！

军事医学科学院院长



2003年9月1日

原 版 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 年就出版了第 1 版《实验室生物安全手册（Laboratory Biosafety Manual）》。该手册鼓励各国针对本国实验室如何安全处理致病微生物来制订具体的操作规程，并为制订这类规程提供专家指导。

《实验室生物安全手册》第 2 版的网络修订版是该书第 3 版修订工作的第一步，第 3 版计划于 2003 年出版，将包括《实验室生物安全手册》第 2 版（修订版）与《医学实验室安全（Safety in Health-Care Laboratories）》^a 两部分内容。

本手册第 2 版修订本的作者和编者继续秉承 WHO 的传统，即促进国际上微生物实验室的健康与安全。本书在专业上肯定了以前版本的指导价值，同时在内容的组织上又有了一些有益的变化，并增加了一些有价值的新资料。本手册贯穿始终的一点是，工作人员的责任心

^a 《医学实验室安全》（Safety in Health-Care Laboratories）。日内瓦，世界卫生组织，1999（未发表文件 WHO/LAB/97.1）。可以向下述地址索取：Department of Vaccines and Other Biologicals, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland; <http://www.who.int/gov-documents/>.

对于实验室安全操作至关重要。安全和健康的实验室环境源于所有人员均经过良好的培训并具备熟练的安全操作技术，同时也是他们对自身安全、同事安全、社会以及环境安全都具有责任心的结果。工作人员的职责还包括在实施新的实验方法和处理新的病原体之前需进行危险度评估。本手册有两个新章节分别介绍了危险度评估和重组 DNA 技术，这些及时有益的补充为当前微生物实验室危险度评估提供了比较完善而简明的指导。

安全和健康的实验室环境同时也有赖于实验室所在单位领导的认真负责，而国家操作标准则有利于培养优秀的生物安全管理人员。该书对于制订一个国家的操作标准具有参考和指导作用。

W. Emmett Barkley, PhD
Director, Office of Laboratory Safety
Howard Hughes Medical Institute
Chevy Chase, MD, USA

致 谢

《实验室生物安全手册》第2版修订本的完成得到了下列人员的支持，在此对他们所给予的帮助表示衷心的感谢：

Dr Ingegerd Kallings, Swedish Institute of Infectious Disease Control, Stockholm, Sweden

Ms Mary Ellen Kennedy, Consultant in Biosafety, Ashton, Ontario, Canada (Technical editor)

Ms Margery Kennett, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australia

The late Dr Richard Knudsen, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr Nicoletta Previsani, Biosafety Programme, World Health Organization, Geneva, Switzerland

Dr Jonathan Richmond, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr Syed A. Sattar, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada

Dr Deborah E. Wilson, Division of Safety, National Institutes of Health, Washington, DC, USA

Dr Riccardo Wittek, Institute of Animal Biology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

目 录

中文版序	I
原版序	III
致谢	V
第 1 章 基本原则	1

第一部分 指 南

第 2 章 危险度评估	6
对于那些所知甚少的样品	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	12
操作规程	13
实验室的设计和设施	16
实验室设备	19
卫生保健和医学监测	20
培训	22
废物处理	23
化学、火、电及辐射安全	26
第 4 章 屏障实验室——三级生物安全水平	27
操作规程	27
实验室的设计和设施	28

实验室设备·····	30
卫生保健和医学监测·····	30
第5章 高度屏障实验室——四级生物安全水平·····	33
实验室的设计和设施·····	33
实验室生物安全手册·····	36
第6章 实验动物设施·····	38
动物设施——一级生物安全水平·····	39
动物设施——二级生物安全水平·····	40
动物设施——三级生物安全水平·····	41
动物设施——四级生物安全水平·····	42
无脊椎动物·····	44
 第二部分 实验室设备	
第7章 生物安全柜·····	46
I级生物安全柜·····	48
II级生物安全柜·····	49
III级生物安全柜·····	53
生物安全柜的通风连接·····	55
生物安全柜的选择·····	55
实验室中生物安全柜的使用·····	56
第8章 与仪器设备相关的危害·····	62
可能产生危害的仪器设备·····	62
第9章 设计用来减少生物学危害的装置·····	66
负压柔性薄膜分离器·····	69

移液辅助器	69
匀浆器、摇床、搅拌器和超声处理器	70
一次性接种环	71
微型加热器	71
个体防护服和防护装备	71

第三部分 微生物操作技术规范

第 10 章 实验室安全技术	75
实验室中样品的安全操作	75
移液管和移液辅助器的使用	76
避免感染性物质的扩散	77
生物安全柜的使用	78
避免感染性物质的食入以及皮肤和眼睛的 接触	79
避免感染性物质的注入	79
血清的分离	80
离心机的使用	80
匀浆器、摇床、搅拌器和超声处理器的使用	82
组织研磨器的使用	83
冰箱与冷柜的维护和使用	83
装有冻干感染性物质安瓿的打开	83
装有感染性物质安瓿的储存	84
对血液和其他体液、组织及排泄物的特殊 防护	84
可能含有朊蛋白物质的防护	87
第 11 章 生物安全和重组 DNA 技术	90
生物表达系统	91

供体和克隆 DNA 的特性	92
用于基因转移的病毒载体	92
转基因动物和“基因敲除”动物	93
转基因植物	94
结论	94
第 12 章 感染性物质的运输	96
第 13 章 意外事故方案和应急程序	97
意外事故方案	97
微生物实验室紧急事故处理	98
第 14 章 消毒和灭菌	103
定义	103
实验室材料的预清洁和清洁	104
化学杀菌剂	105
清除局部环境的污染	113
清除生物安全柜的污染	114
洗手/清除手部污染	114
加热灭菌和消毒	115
焚烧	118
废物处理	119
清除朊蛋白污染物品的污染	119
总结	120
第四部分 化学试剂、火和电的安全	
第 15 章 危害性化学试剂	122
定义和分类	122

暴露途径	123
化学试剂的储存	123
一般原则	126
化学试剂的毒性作用	126
爆炸性化学试剂	130
化学试剂溢出	130
压缩气体和液化气	132
第 16 章 实验室火灾	133
第 17 章 电的危险	135
第五部分 安全组织和培训	
第 18 章 生物安全官员和安全委员会	137
生物安全官员	138
安全委员会	139
一般组成	141
第 19 章 保障人员的安全准则	142
工程和建筑物的维护保养	142
清洁（日常）保养	143
日常维护和清洁人员的安全准则	144
第 20 章 培训程序	145
基本课程：实验室操作规范	147
模块 1（核心模块）：微生物学操作技术	
规范	149
模块 2：安全的实验室环境	150

模块 3: 保障人员的实验室操作规范	151
模块 4: 安全人员的实验室操作规范	153
模块 5: 操作危险度 3 级和 4 级微生物的专业 人员的实验室操作规范	155

第六部分 安 全 清 单

第 21 章 安全清单	157
实验室建筑	157
储存设施	158
环境卫生和个人卫生设施	158
暖气和通风	159
照明	159
保养	159
安全	160
消防	160
易燃液体的储存	161
电的危险	162
压缩气体和液化气	162
个体防护	163
实验室成员的健康与安全	164
实验室仪器设备	165
感染性物质	165
化学试剂和放射性物质	166
参考文献	167
附录 1 人员免疫	174
附录 2 WHO 生物安全协作中心	175

第1章 基本原则

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。根据实验室的设计特点、建筑构造和屏障设施来决定实验室的级别，包括基础实验室——一级生物安全水平、基础实验室——二级生物安全水平、屏障实验室——三级生物安全水平和高度屏障实验室——四级生物安全水平。表 1 介绍了微生物的不同危险度等级，表 2 介绍了操作不同危险度等级微生物所对应要求的实验室，表 3 汇总了四种不同生物安全水平的防护要求。

表 1 根据不同危险度对感染性微生物进行分类^a

危险度 1 级（无或极低的个体和群体危险）

不能引起人或动物致病的微生物。

危险度 2 级（中度的个体危险，低度的群体危险）

病原体能够引起人或动物致病，但对实验室工作人员、社区、家畜或环境不易导致严重危害。实验室暴露也许会引引起严重感染，但对感染具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（高度的个体危险，低度的群体危险）

续表

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，并且对感染具有有效的预防和治疗措施。

危险度 4 级（高度的个体和群体危险）

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。

* 本危险度等级的概念和分类正在进行重新评价，并且将在《实验室生物安全手册》第 3 版中加以说明。

**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	安全设备
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	屏障实验室——三级生物安全水平	专门的诊断、研究	在二级生物安全防护水平上增加特殊防护服、准入制度、定向气流	BSC 和/或其他所有实验室工作所需要的设备

续表

危险度等级	生物安全水平	实验室类型	实验室操作	安全设备
4级	高度屏障实验室——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、外出淋浴、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(穿过墙壁), 过滤空气

BSC: 生物安全柜; GMT: 微生物学操作技术规范。

每个国家(地区)应该根据下列因素, 并按照危险度等级制订一个国家(地区)的微生物分类目录。

——微生物的致病性。

——微生物的传播方式和宿主范围。它们可能会受到当地人员已有的免疫水平、宿主群体的密度和迁移、适宜媒介的存在以及环境卫生水平等因素的影响。

——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; 动物养殖场或节肢动物媒介的控制。

——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。