

分子克隆

实验指南系列

实验室生物安全手册

马文丽 郑文岭 主编



科学出版社

www.sciencep.com

分子克隆

实验指南系列

实验室生物安全手册

马文丽 郑文岭 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

生物医学研究中不可避免地会接触到各种病原体。病原体若从实验室泄露,可能在实验室、实验室周围甚至更广的范围内造成疾病的传播或流行。基因技术造福社会的同时,亦可能引发病原体基因的突变从而使病原体的致病性加强。这类变异的病原体更加难以防治,而且目前尚无有效的防治措施,一旦从实验室泄露并造成流行,后果不堪设想。自实验室泄露的变异病原体还可能被敌对的恐怖分子利用,转化为大规模杀伤性生物武器,从而对社会造成极为严重的危害。因此,应对实验室生物安全方面的规范予以高度的重视。本书综述了生物安全 1~4 级(biological safety level, BSL)标准和特殊微生物学操作规程、安全设备和设施,目的是帮助实验室将研究生物病原体的过程严格控制在生物安全标准范围内有序进行。

本书适于生物技术、医学生物学、病毒学、实验动物学等相关领域的工作人员们参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

实验室生物安全手册/马文丽,郑文岭主编. —北京:科学出版社,2003. 12
(分子克隆实验指南系列)

ISBN 7-03-012005-1

I. 实… II. ①马… ②郑… III. 实验室-生物工程-安全技术-技术手册 IV. Q81-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 066617 号

责任编辑:莫结胜 乐俊河 / 责任校对:刘艳妮

责任印制:刘士平 / 封面设计:王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003 年 12 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2003 年 12 月第一次印刷 印张:8

印数:1—4 000 字数:170 000

定价:24.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

编写委员会

主 编 马文丽 郑文岭

编 者 马文丽 彭翼飞 朱利娜

刘翠华 冯春琼 胡子有

(中国人民解放军基因工程研究所)

郑文岭

(中国人民解放军广州军区广州总医院肿瘤分子生物研究所)

前 言

随着生物学研究的深入,实验室或研究机构不可避免地会接触或使用到生物病原体。生物病原体研究对于人类控制疾病,特别是传染性疾病的诊治预防均起到重要作用。但由于生物安全问题尚未得到应有的重视,病原体感染实验室工作人员的情况时有发生。病原体若进一步泄露到周围环境中形成疫情,危害将十分严重。为加强实验室研究人员和有关管理机构对生物安全问题的重视,本书综述了生物安全 1~4 级(biological safety level, BSL)标准、特殊微生物学操作规程、安全设备和设施,目的是帮助实验室将研究生物病原体的过程严格控制在生物安全标准范围内有序进行。

本书在编写过程中,参考了美国卫生部(US Department of Health and Human Services, HHS)、国立卫生研究院(National Institute of Health, NIH)及美国疾病预防控制中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)的有关规定和出版物,在下述方面有所侧重。

●为了响应全球对于新出现的以及重现的传染病的关注,对生物安全的危险评估进行特别论述,旨在为实验室人员提供更多的信息,使其更易于得出生物安全的评估结果。

●我们专门阐述了生物医学和微生物学实验室,尤其是 BSL-3 级和 BSL-4 级实验室的设计和建设,因为目前国内多数实验室在设计和建设时,未重视或未考虑到实验室进一步工作时的生物安全问题。

●随着疯牛病/牛海绵状脑病(bovine spongiform encephalopathy, BSE)在英国的流行,人们对朊病毒病的兴趣显著增加。因此,本书专列一节,介绍这类病原体生物安全方面的问题。

●针对目前新出现的一些已知和未知病原体引起的实验室相关性感染,本书在第六章中进行了相应的阐述。

●有关国内和国际间传染性微生物的转运问题已逐渐引起了人们的关注。因而在附录 C 中,列出了实验室间病原体转运的有关规定。

●最后,近年来生物恐怖主义的危险已引起了人们对生物安全问题的日益重视。鉴于此,撰写了附录 F,再次强调微生物学实验室的生物安全问题。

综上所述,生物安全问题对于实验室的日常工作至关重要,我们愿以此书献给生命科学的研究者们,愿生物安全问题引起实验室管理人员和研究人员的充分重视。

目 录

前言

第一章 绪论	1
第二章 生物安全准则	3
第一节 基本概念	3
第二节 实验室操作和技术	3
第三节 安全设备(初级屏障)	3
第四节 实验设施的设计和建设(二级屏障)	4
第五节 生物安全水平	4
一、生物安全 1 级水平	5
二、生物安全 2 级水平	5
三、生物安全 3 级水平	5
四、生物安全 4 级水平	6
第六节 动物实验室	6
第七节 临床实验室	6
第八节 某些生物医学物品的出入境及城市间运输	7
第三章 实验室生物安全水平标准	8
第一节 生物安全 1 级(BSL-1)	8
一、概述	8
二、标准微生物学操作规程	8
三、特殊操作规程	8
四、安全设备(初级屏障)	9
五、实验设施(二级屏障)	9
第二节 生物安全 2 级(BSL-2)	9
一、概述	9
二、标准微生物学操作规程	9
三、特殊操作规程	10
四、安全设备(初级屏障)	11
五、实验设施(二级屏障)	11
第三节 生物安全 3 级(BSL-3)	12
一、概述	12
二、标准微生物学操作规程	12
三、特殊操作规程	13
四、安全设备(初级屏障)	14
五、实验设施(二级屏障)	14
第四节 生物安全 4 级(BSL-4)	16
一、概述	16
二、标准微生物学操作规程	16

三、特殊操作规程	16
四、安全设备(初级屏障)	18
五、实验设施(二级屏障)	18
第四章 脊椎动物生物安全等级标准	23
第一节 概述	23
第二节 动物生物安全 1 级(ABSL-1)	23
一、概述	23
二、标准操作规程	24
三、特殊操作规程	24
四、安全设备(初级屏障)	24
五、设施(二级屏障)	24
第三节 动物生物安全 2 级(ABSL-2)	25
一、概述	25
二、标准操作规程	25
三、特殊操作规程	26
四、安全设备(初级屏障)	26
五、设施(二级屏障)	26
第四节 动物生物安全 3 级(ABSL-3)	27
一、概述	27
二、标准操作规程	27
三、特殊操作规程	28
四、安全设备(初级屏障)	28
五、设施(二级屏障)	29
第五节 动物生物安全 4 级(ABSL-4)	30
一、概述	30
二、标准操作规程	30
三、特殊操作规程	31
四、安全设备(初级屏障)	32
五、设施(二级屏障)	32
第五章 生物安全的危险评估	33
第一节 概述	33
第二节 危险评估的影响因素	33
一、病原体的致病性	33
二、传播途径	34
三、病原体的稳定性	34
四、病原体的感染量	34
五、病原体的浓度	34
六、感染性物质的来源	34
七、动物研究结果	34
八、预防措施或治疗方法	35
九、医 疗 监 督	35
十、其他	35
第三节 被评估的感染性物质种类	35

一、含有已知感染性病原体的物质	35
二、含有未知感染性病原体的物质	35
三、含有重组 DNA 分子的物质	36
四、可能含有(或没有)未知感染性病原体的物质	36
五、动物研究	36
六、其他应用	37
第六章 病原体及生物安全程度分级	38
第一节 概述	38
第二节 细菌病原体	39
一、炭疽杆菌	39
二、百日咳博德特氏菌	40
三、布氏杆菌属(牛布氏杆菌、犬布氏杆菌、羊布氏杆菌、猪布氏杆菌)	40
四、Burkholderia 马鼻疽杆菌(假单胞菌属马鼻疽杆菌)	41
五、弯曲杆菌属(空肠弯曲杆菌/结肠弯曲杆菌,胎儿弯曲杆菌)	41
六、鹦鹉热衣原体、肺炎衣原体、沙眼衣原体	42
七、肉毒梭菌	42
八、破伤风杆菌	43
九、白喉棒状杆菌	43
十、肠出血性大肠杆菌	43
十一、土拉热弗朗西斯菌	44
十二、幽门螺杆菌	44
十三、问号钩端螺旋体(所有血清型)	45
十四、单核细胞增多性利斯特氏杆菌	45
十五、嗜肺军团菌;其他军团菌样病原体	46
十六、麻风分枝杆菌	46
十七、结核分枝杆菌、牛型结核分枝杆菌	46
十八、其他分枝杆菌	47
十九、淋球菌	48
二十、脑膜炎奈瑟氏球菌	48
二十一、沙门氏菌属(伤寒沙门氏菌以外所有的血清型)	48
二十二、伤寒沙门氏菌	49
二十三、志贺氏菌属	49
二十四、梅毒螺旋体	49
二十五、肠炎弧菌属(霍乱弧菌、副溶血性弧菌)	50
二十六、鼠疫杆菌	50
第三节 真菌病原体	51
一、皮炎芽生菌	51
二、粗球孢子菌	51
三、新型隐球菌	52
四、荚膜组织胞浆菌	52
五、申克孢子丝菌	52
六、表皮癣菌属、小孢子癣菌属和毛癣菌属的致病性成员	53
七、其他霉菌	53

第四节 寄生虫	53
一、人类血液和组织寄生原虫	53
二、人类小肠寄生原虫	54
三、人类寄生吸虫(血吸虫属和片形吸虫属)	55
四、人类寄生绦虫(细粒棘球绦虫、猪肉绦虫和微小膜壳绦虫)	55
五、人类寄生线虫	55
第五节 朊病毒	56
一、概述	56
二、朊病毒的种特异性	57
三、生物安全水平分类	57
四、人类朊病毒病	57
五、牛海绵状脑病	58
六、实验室啮齿类动物朊病毒病	58
七、朊病毒的生理特性	58
八、朊病毒的灭活	59
九、对取自疑患朊病毒病患者组织的操作和处理	59
第六节 立克次氏体	61
一、伯纳克立克次氏体(Q热的病原体)	61
二、其他立克次氏体	62
三、监测实验室人员实验室相关性立克次氏体感染	62
第七节 病毒(不包括虫媒病毒)	63
一、汉坦病毒	63
二、Hendra 病毒及 Hendra 样病毒	64
三、甲型肝炎病毒和戊型肝炎病毒	64
四、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和丁型肝炎病毒	65
五、猴疱疹病毒	65
六、人疱疹病毒	66
七、流感病毒	67
八、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	67
九、脊髓灰质炎病毒	68
十、痘病毒	69
十一、狂犬病毒	69
十二、反转录病毒(包括人免疫缺陷病毒 HIV 和猿免疫缺陷病毒 SIV)	70
十三、传染性海绵状脑病(罗伊茨费乐特-雅各布综合征、库鲁病及其他相关病原体)	72
十四、泡性口腔炎病毒	73
第八节 虫媒病毒与相关的动物病毒	73
一、BSL-2 级虫媒病毒	73
二、BSL-3 级虫媒病毒及沙粒病毒	78
三、BSL-4 级虫媒病毒、沙粒病毒及线状病毒	82
第九节 SARS 冠状病毒	83
一、冠状病毒概述	83
二、SARS-CoV 病毒基因组结构	84
三、SARS-CoV 病毒的结构蛋白	85

四、SARS-CoV 病毒的系统发生关系分析	86
五、病毒存活时间	86
六、样品的采集	87
七、实验样品的转运	88
八、SARS 的实验室诊断方法	88
九、处理 SARS 标本的实验室生物安全操作指南	90
附录 A 基本的防扩散装置:生物安全橱	94
一、一级生物安全橱	94
二、二级生物安全橱	94
三、三级生物安全橱	95
四、正压防护套服	95
五、其他设备	96
附录 B 免疫预防	99
附录 C 生物病原体的运输和转移	100
一、运输	100
二、转移	101
附录 D 受限制的动物病原体	103
附录 E 信息资源	105
附录 F 微生物学和生物医学实验室的实验防护与应急措施	107
一、要认识到实验室防护与实验室安全虽然相关,但不能将二者等同	107
二、控制人员进入使用和贮存生物病原体或毒素的区域	107
三、明确在实验区的人员	108
四、明确被带入实验区的物质	108
五、明确从实验区带出的物质	108
六、制定应急措施	108
七、制定事故报告方案	109
附录 G 害虫的综合防治	110
附录 H 人及其他灵长类动物细胞和组织的操作技术	112
附录 I 生物毒素操作指南	113
一、概要	113
二、标准操作规程	113
三、特殊操作规程	113
四、安全设备	114
五、实验设施	114
推荐读物	115

第一章 绪 论

微生物学实验室是一个独特的工作环境，可能造成室内或周围人员感染传染病的危险。在微生物学发展史中，一直有实验室内感染传染病的报道。在 19 世纪末发表的一篇报道中，描述了实验室相关性伤寒、霍乱、鼻疽病、布鲁氏杆菌病和破伤风病。1941 年，Meyer 和 Eddie 的调查报告描述了发生在美国、累及 74 人的实验室相关性布鲁氏杆菌感染。该报告还指出，处理微生物培养物标本，或吸入含有布鲁氏杆菌的灰尘等对实验室人员具有明显的危险性。很多感染病例都是由于处理传染性物质时疏忽或操作不当引起的。

1949 年，Sulkin 和 Pike 发表了一份实验室相关性感染调查报告，总结了 222 例病毒性感染，其中 21 例是致死性的，27 例（12%）由已知事故引起，至少 1/3 的病例与对传染性动物和组织的处理方式有关。

1951 年，Sulkin 和 Pike 根据 5000 名实验人员的问卷调查结果，发现 1342 个病例中只有 1/3 曾被报道过。其中布鲁氏杆菌病是最常见的实验室相关性感染，它与结核、土拉菌病、伤寒和链球菌感染一起，占细菌性感染的 72%，占病原性传染病的 31%，总病死率达 3%，其中只有 16% 的病例是由有记录的事故引起，大部分则与口吸移液技术以及注射器和针头的使用有关。

上述调查到 1965 年时，增加了 641 例新病例，到 1976 年，总共积累了 3821 个病例。布鲁氏杆菌病、伤寒、土拉菌病、结核、肝炎以及委内瑞拉马脑炎是最常见的感染性疾病。这些病例中只有不到 20% 的病例与已知事故有关。接触传染性气溶胶，被认为与 80% 以上病例的发病有关。

1967 年，Hanson 等报道了 428 例实验室相关性虫媒病毒感染。在某些情况下，某一特定虫媒病毒在人体中引起疾病的能力，是通过在实验人员中引起意外感染而首先被鉴定出来的。接触传染性气溶胶被认为是最常见的感染原因。

1974 年，Skinholj 发表的一篇调查报告表明，Danish 临床化学实验室工作人员的肝炎发生率 [2.3 例/（1000 人·年）] 比一般人群高出 7 倍。1976 年 Harrington 和 Shannon 的调查结果表明，英国医学实验室人员比一般人群感染结核的危险高 5 倍。乙型肝炎和志贺氏菌痢疾也是常见的职业传染病。也就是说，乙型肝炎、志贺氏菌痢疾和结核是英国最常见的职业相关性感染。

尽管这些报道都提示，实验室人员受其处理的病原体感染的危险高于一般人群，但与所记录的实验室相关性感染的发生情况相比，传染病实验室人员并未对社区构成真正意义上的威胁。例如，在 1947~1973 年间，美国疾病预防控制中心记载了 109 例实验室相关性感染，但没有其家庭成员或社区接触者发生二次感染的报道。美国国立动物疾病中心也有类似报道，在 1960~1975 年间，发生了 18 例实验室相关性病例，均未引起实验室和非实验室接触人员的二次感染。一例马尔堡病患者的妻子发生的二次感染，认为是此患者出院 2 个月后由性行为传染的。1973 年和 1978 年，英国的两次实验室相

关性疾病爆发，有 3 例二次感染天花。早些时候曾报道一家商业洗衣房工作人员发生 6 例 Q 热病。这家洗衣房曾清洗过 Q 热立克次氏体实验室人员的床单和工作服。其中一例曾访问过 Q 热病实验室，还有两例为立克次氏体实验人员的家人。此外，还有一例动物饲养员将猴 B 病毒传染给妻子的报道，显然是破损的皮肤接触病毒引起的。这些病例表明，传染病实验室人员造成的社区感染具有散发性及低频率的特点。

1979 年，Pike 指出，“我们具备了防止大部分实验室感染的知识、技术和设备”。然而当时国际上并没有任何操作规程、标准、指南或其他文件，为实验室常规操作提供详细的技术、设备介绍及其他规范。《病原体的危险程度分级》(*Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard*) 这本小册子，在当时被作为传染病实验室的一般参考。这本小册子以及将传染病病原体和实验室行为分为 4 个等级或水平的概念，是《微生物学和生物医学实验室生物安全》(*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, BMBL) 早期版本的蓝本。本书主要参考了第四版 BMBL，详细而全面地介绍了微生物学操作规程、实验室设施和安全设备，同时将其运用于 BSL-4 级实验室（其中涉及特定的对人具有传染性的病原体）。

本书对生物安全水平 1~4 级的描述，与美国《NIH 重组 DNA 分子操作指南》(*NIH Recombinant DNA Guidelines*) 中的有关介绍相似，并且与病原体依危险程度分为 4 个等级的一般标准相一致。4 个生物安全水平也可用于描述应用小型实验动物进行传染病实验的研究。对特定病原体生物安全水平的评估，则依据此病原体的潜在危险性和实验室职能再进一步确定。

自 20 世纪 80 年代初以来，实验室已将这些基本指南应用于人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的操作中。甚至在明确 HIV 是获得性免疫缺陷综合征 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 的病因前，血源性病原体操作原则就已应用于实验的安全操作。在 20 世纪 80 年代晚期，美国公众对医疗垃圾的广泛关注导致了 1988 年《医疗废物追踪法案》(*Medical Waste Tracking Act*) 的颁布实施。在早期出版的 BMBL 中，还介绍了处理具潜在传染性的医疗垃圾和生物学垃圾（作为一种职业危险）的原则。在美国国立实验室生物安全研究委员会制定的《处理传染性物质的操作规范》(*Biosafety in the Laboratory: Product Practices for the Handling and Disposal of Infections Materials*) 中，亦进一步强调了这些原则。

当前，人们对结核杆菌的再次肆虐以及对实验室人员安全方面的顾虑不断增加。编著本书的目的在于强调生物安全的具体原则，以确保操作、程序和设施的生物安全性。这些原则适用于控制空气传播性病原体，包括多药耐药菌株。此外，由于重组 DNA 技术已成为常规操作，可以实现对各种微生物的遗传改造。因而在讨论这些行为以及它们的潜在未知危害性时，必须对危险进行充分的评估。

实践已证实，生物安全水平 1~4 级所规定的、在实验室和动物室中进行病原体处理的操作、程序和设施方面的要求必须认真做好。尽管未见实验室相关性感染的报道，但严格遵守这些指南，确实有助于为实验室人员和周围社区接触者建立一个更健康更安全的环境。本书提供的原则仅作为最低防泄漏安全指南；为了进一步降低实验室相关感染的潜在危险，在实际工作中，还必须根据各实验室的具体情况加以调整。

第二章 生物安全准则

第一节 基本概念

防扩散，是指在实验室环境中处理、保存和管理传染性物质的安全方法，从而减少或消除实验室操作人员及周围环境人员感染病原体的危险。

初级防扩散，即保护实验室人员及实验室周围环境不受传染性病原体的污染，可通过规范的微生物学技术和合理使用安全设备来实现。疫苗的应用也可以增加对人员的保护。

二级防扩散，即保护实验室的外界环境不受传染性病原体的污染，这也需要通过良好的实验室设计和操作技术实现。因此，防扩散的三个要素包括实验室操作和技术、安全设备以及实验室设计。对这三个要素的合理综合应用，取决于对特定病原体进行特定处理时的危险评估。

第二节 实验室操作和技术

防扩散最重要的方面是严格遵守标准微生物学操作规程。处理传染性病原体或具传染性物质的人员必须意识到工作中的潜在危险性，必须经过训练且能熟练掌握处理这些物质的安全操作和技术。实验室主管应为实验室人员提供或安排适当的培训。

各实验室应制定或采用一个生物安全操作手册，对可能遇到的危险进行鉴定，并且明确为减少或消灭这些暴露危险所应采取的措施和步骤。工作人员必须了解特定的危害，遵守规定的措施和程序。应由一个训练有素且熟知正确实验技术、安全程序和相关危险性的科技人员负责主持各种有关传染性病原体或传染性物质的工作。而且他还必须向生物安全或其他卫生和安全专家请教有关危险评估方面的问题。

当标准实验室操作规程不足以控制与某一特定病原体或实验程序相关的危险时，还需采取进一步的措施。实验室主管应负责选择其他安全措施，这些措施必须与病原体或程序相关危险性相适应。

此外，实验室的设计及工程施工必须合理，需配备相应的安全设备，制定规范的实验室管理制度。

第三节 安全设备（初级屏障）

安全设备包括生物安全橱（biosafety cabinet, BSC）密闭容器以及其他用以减少或消除危险生物学材料暴露的设备。生物安全橱是在许多微生物学操作步骤中，用于防止液体飞溅物或气溶胶污染的主要设备。在附录 A 中描述了三种用于微生物学实验的生物安全橱（一级、二级和三级）。进行微生物学技术操作时，一级和二级生物安全橱

(前面开放) 为实验人员和环境提供了有效的初级保护屏障。二级生物安全橱还能保护安全橱内的物品(如细胞培养物和微生物菌种)不受外界污染。具气密性的三级生物安全橱则为实验室人员和环境提供了目前所能达到的最高水平的保护。

安全离心杯是初级屏障中的另一常用设备,它是一种密闭的容器,用于防止离心过程中产生的传染性气溶胶发生扩散。为减少传染性气溶胶的扩散危害,在处理空气传播性传染病病原体时,必须使用防扩散设备如生物安全橱或离心杯。

安全设备还包括一些为实验室人员提供保护的物品,如手套、外套、长实验服、鞋套、靴子、防毒面具、面罩、护目镜等。这些防护设备常常与生物安全橱及其他存放病原体、实验动物或生物材料的器材综合应用。在某些不能应用生物安全橱的工作环境下,如动物研究、动物尸解、病原体繁殖以及与实验设施的维修、服务或支持相关的操作中,个人防护设备可在实验室人员和传染性物质之间形成初级保护屏障。

第四节 实验设施的设计和建设(二级屏障)

良好的实验设施设计和建设除了能保护实验室人员,还能保护周围社区的人或动物免受意外扩散的传染性病原体的感染。实验室应有合理的设施,使其与实验室职能及根据所研究的病原体而推荐的生物安全水平相适应。

采用何种二级屏障取决于对特定病原体传播性的危险评估。例如,在BSL-1级和2级实验室中进行的大部分实验的暴露危险为:直接与病原体的接触,或通过污染的工作环境不小心接触到病原体。这些实验室的二级屏障包括:将实验室工作区与公共通道分开;灭菌设施(如高压灭菌仓)以及洗手设施。

当存在接触传染性气溶胶发生感染的危险时,就必须采用更高水平的初级防扩散措施和更多的二级屏障,以防止传染性病原体向环境扩散。其设计应包括特殊通风系统(确保气流的定向流动)、空气处理系统(对排出的废气进行消毒处理)、受控的入室区和气压过渡舱。设计工程师或实验人员可参考特殊通风指导,从相应的加热、通风和空调的应用手册中找到此方面的内容。

第五节 生物安全水平

本书第三章描述了4个生物安全级别,由实验操作和技术、安全设备和实验设施等几个方面组成。每一组合都是根据所进行的操作、可疑的传染病传播途径以及实验室的职能设定的。

在本书第六章中,针对不同病原体提出的各级生物安全水平,代表了那些通常可安全处理这类病原体的条件。实验室主管的主要职责是评估危险,并采用合适的生物安全标准。通常,涉及已知病原体的操作,应在第六章所推荐的生物安全水平条件下进行。当有明确信息提示病原体的毒力、致病性、抗药谱、可应用的疫苗和处理措施或其他因素发生了显著变化时,应相应地修改并制定严格的措施。

一、生物安全 1 级水平

BSL-1 级水平的操作、安全设备以及实验设施的设计和建设，适用于对本科生和实验人员继续培训的教学实验室，以及处理那些已熟悉其特征、但通常对健康成人不致病的活微生物的实验室。枯草杆菌、耐格里原虫、传染性猫肝炎病毒以及《NIH 重组 DNA 分子操作指南》中忽略的病原体便是符合这些标准的微生物。许多病原体属机会性病原体，可使儿童、老年人以及免疫缺陷或免疫抑制患者引起感染。通过多次动物体内传代而得到的减毒株，亦属于这一类，但不应将免疫株简单地看做无毒株。

BSL-1 级水平代表了防扩散的基本水平，它依赖于无特殊初级或二级屏障存在的标准微生物学操作，而不是简单地依赖于洗手盆等清洁设施。

二、生物安全 2 级水平

BSL-2 级水平的操作、设备和实验设施的设计及建设，适用于临床、诊断、教学和其他处理多种具中等危险的当地病原体（存在于本社区并引起不同程度的人类疾病）的实验室。采用良好的微生物学技术，便可在开放实验台对这些病原体进行安全操作。当然，前提条件是其产生飞溅物或气溶胶的可能性很小。乙肝病毒、HIV、沙门氏菌以及弓形体等便是这种防扩散水平的代表微生物。BSL-2 级适用于对人血液、体液、组织或原代人细胞系等未知其传染病病原体存在与否的标本进行的操作 [进行人源性材料操作的实验室人员应参考《血源性致病微生物标准》(Bloodborne Pathogen Standard)，以了解详细的预防措施]。

对于操作这些病原体的人员，其主要危险是意外地经皮肤或黏膜接触或摄入传染性物质。对于污染的针头或尖锐的器具应采取极其严格的防范措施。尽管常规在 BSL-2 级水平条件下操作的生物并不通过空气途径传播，但对一些很可能产生气溶胶或飞溅物的操作，应该使用初级防扩散装置如生物安全橱或安全离心杯，以减少实验人员暴露于病原体的机会。其他初级屏障也应酌情应用，如喷溅物挡板、面罩、长实验服和手套等。

二级屏障如洗手盆和废物消毒设施必须完备，以减少潜在的环境污染。

三、生物安全 3 级水平

BSL-3 级水平的操作、安全设备以及实验设施的设计和建设，适用于临床、诊断、教学、科研或生产设施等，涉及内源或外源性的具有潜在呼吸道传染性的病原体，且这些病原体可能引起严重的致死性感染。结核分枝杆菌、圣路易斯脑炎病毒以及贝纳柯克斯体等是应用 3 级生物安全水平的代表。进行这些病原体操作的人员主要危险源于经皮肤破损处自身接种、经口摄入和吸入传染性气溶胶。

在 BSL-3 级水平，防范重点在于，通过初级和二级屏障保护实验室附近人员、社区及环境避免受传染性气溶胶的污染。例如，所有实验室操作都必须在生物安全橱或其他密闭设备如气体密闭式气溶胶产生橱中进行。这一安全水平的二级屏障包括受控的实验室进入通道和通风设施，从而将释放出去的传染性气溶胶减少到最低程度。

四、生物安全 4 级水平

BSL-4 级水平的操作、安全设备及实验设施设计和建设,适用于进行非常危险的外源性病原体的操作,这些病原体对个体有很高的致死性,并且可通过空气途径进行传播,同时对这些病原体尚无有效的疫苗或治疗措施。那些与 BSL-4 级水平病原体具有相似或相同特点的病原体,在其被鉴定之前,也应该按此级水平进行操作。当有足够的鉴定资料时,可仍然按此水平,或根据已有的资料适当降低安全水平。马尔堡病或刚果克里米亚出血热等应在 BSL-4 级水平进行操作。

进行 BSL-4 级水平相关病原体操作的人员,其主要危险是通过呼吸道吸入传染性气溶胶、通过黏膜或破损的皮肤接触到传染性液滴以及自动接种。凡涉及传染性材料、分离物和经自然或实验途径感染的动物的操作,均对实验人员、社区和环境造成很大的感染危险。实验室人员与传染性气溶胶的完全隔离,主要是通过应用三类生物安全橱或正压供气全身防护服实现的。BSL-4 级实验室一般是独立的建筑或处于完全隔离的区域,并且具有复杂的特殊通风装置和废物处理系统,从而防止活性病原体向环境扩散。

实验室主管的主要职责是负责实验室的安全操作。他的知识和判断对评估危险、正确应用这些措施至关重要。所供参考的生物安全水平,代表了那些通常情况下病原体可被安全处理的条件。实验室主管应根据病原体的特性、实验室人员的经验以及实验室的职能,来决定采用哪些建议措施。

第六节 动物实验室

在 4 种生物安全水平中,也描述了那些涉及实验动物的传染性疾病的操作。这 4 种操作、安全设备和设施的组合,被分别指定为动物生物安全水平 (animal biosafety level, ABSL) 1~4 级,为实验室人员和环境提供了更高水平的防护。

第七节 临床实验室

临床实验室,尤其是那些医疗保健机构中的临床实验室,要接收临床标本,进行多种实验室检测和临床辅助服务。通常,临床标本的传染性是未知的,并且这些标本需检测多种病原微生物(如痰标本需进行常规检查、抗酸杆菌检查和真菌培养等)。实验室主管应制定实验室标准操作规程,切实解决临床标本的传染危险问题。

除非在极端环境(如可疑出血热)下,临床标本的初步处理和分离物的血清学鉴定可在 BSL-2 级水平(针对血源性致病微生物如乙型肝炎病毒和 HIV 推荐采用的安全水平)的条件下安全进行,BSL-2 级水平中所用的防扩散装置与《血源性致病微生物的职业性防护》(*Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*)标准一致。规定在处理所有临床血液标本或其他具有潜在传染性的材料时,应采取的特殊预防措施(普遍性或标准预防措施)。此外,其他针对临床实验室的具体建议措施可参考国际上有关良好临床实验(good clinical practice, GCP)中的临床实验室标准。

BSL-2 级水平的规定,集中于防止皮肤和黏膜接触临床标本,在进行可能产生液滴

喷溅的操作中，必须应用初级屏障（如生物安全橱，一级或二级）。此外，在临床标本的初步处理中，如果可能会发生传染性气溶胶感染事故（如结核），或者需要保持标本的完整性时，也必须应用生物安全橱。

实验室主管应将临床实验室职能分开，并且限制人员进入此区域；还应负责制定标准，对潜在危险及所应采取的预防措施作出明文规定。

第八节 某些生物医学物品的出入境及城市间运输

病原微生物和人类疾病载体的出入境，需遵守国际有关检疫条例。相应的条例中，明确规定了对国际商务中病原体 and 诊断标本的包装、标记和运输要求。

美国农业部（United States Department of Agriculture, USDA）对动物病原体的进口和各州之间的运输作出了规定，并制止某些可能对本国牲畜和家禽造成严重疾病的外源动物病原体的进口、保存或应用（附录 D）。