

《实验室生物安全基础》

Laboratory Biological safety fundamental



# 生物安全实验室

防护设施、空气净化与负压体系、  
生物安全柜



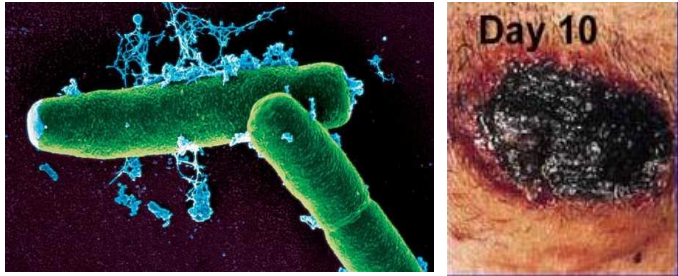
韩文东

5423 7286

[hanwendong@fudan.edu.cn](mailto:hanwendong@fudan.edu.cn)

<http://mvlab-fudan.cn/part10.htm>

# 生存环境



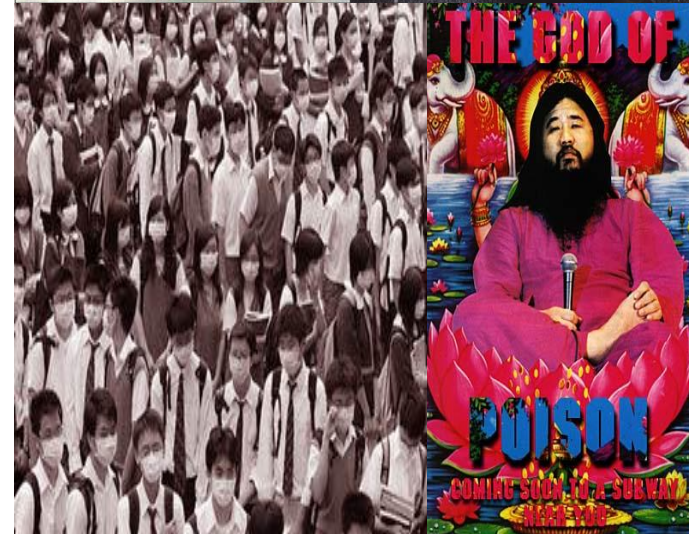
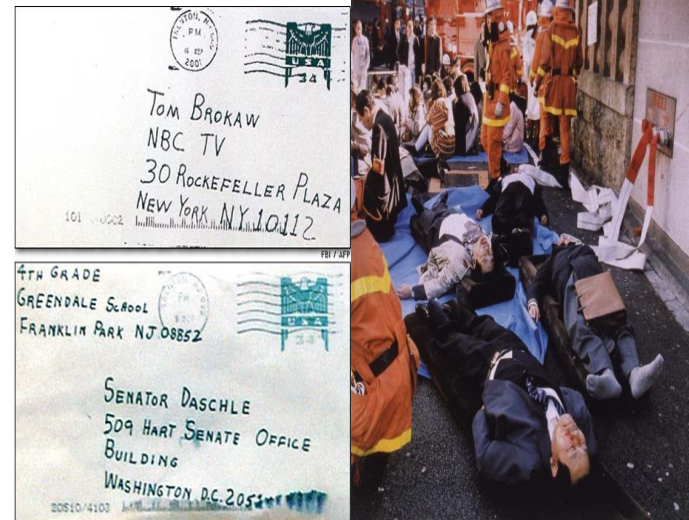
Yersinia pestis (Bubonic Plague)



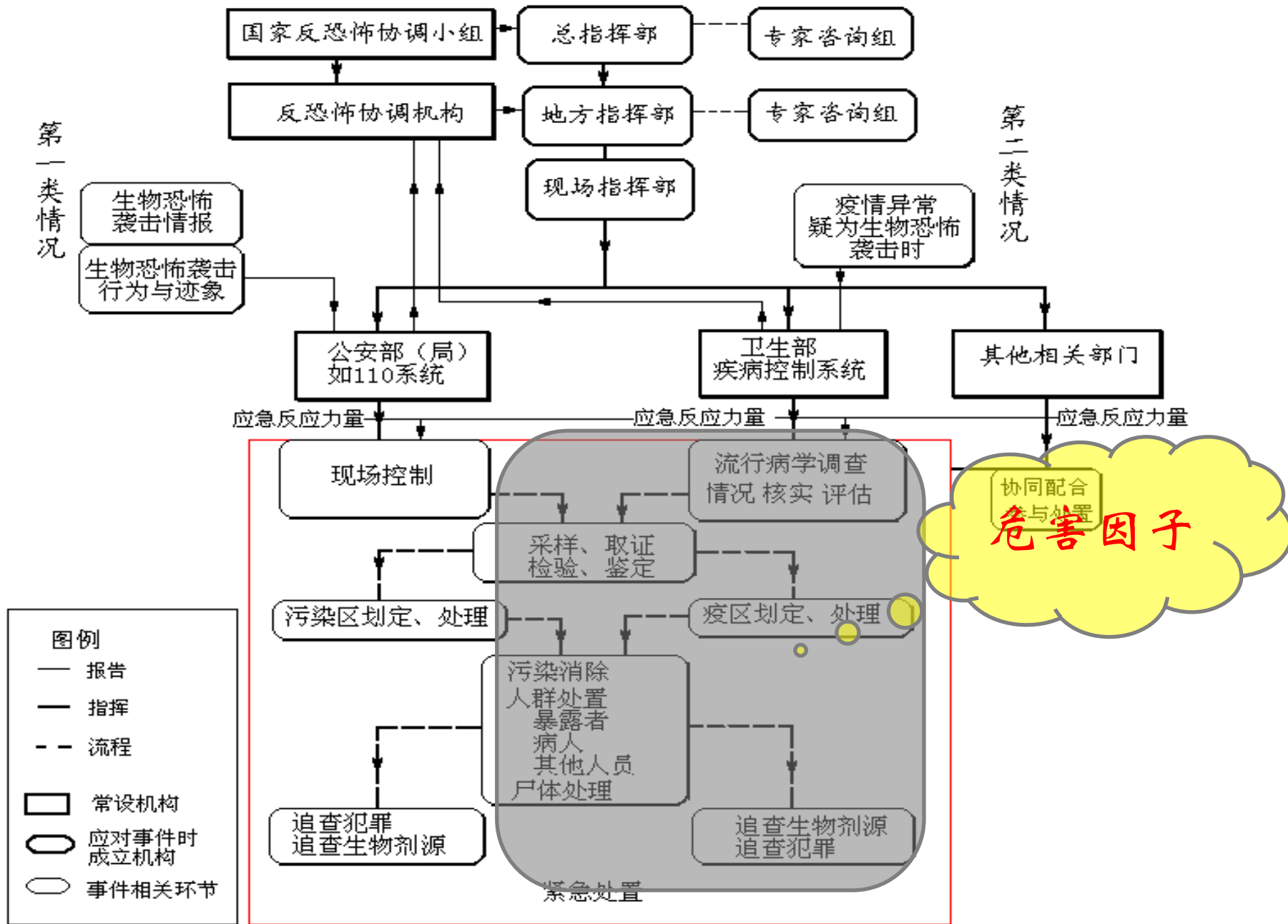
Ebola Patient (Intensive Care)



Natural threats



Artificial threats



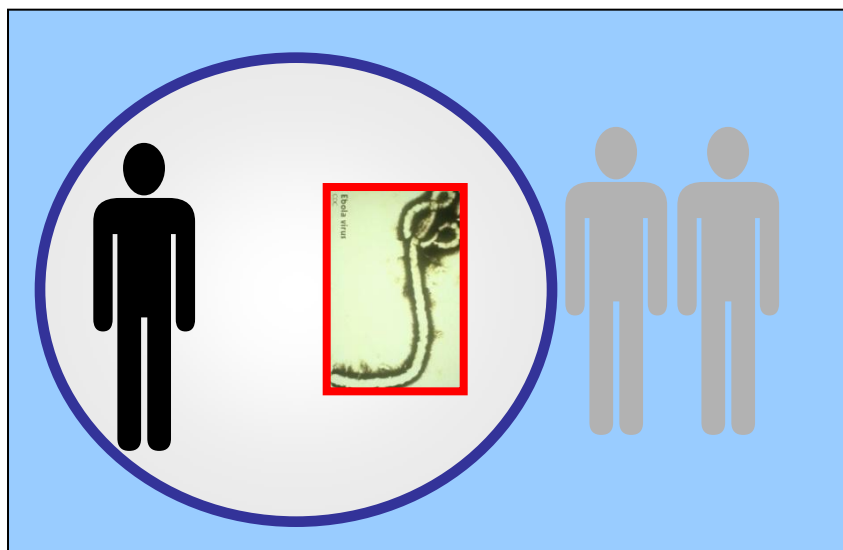
## 生物恐怖/危害事件现场应急处置

# 学习内容

---

1. 生物安全原理
2. 生物安全防护实验室
3. 高效空气过滤器
4. 生物安全柜
5. 常规操作错误分析
6. 思考题

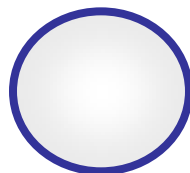
# 生物安全原理



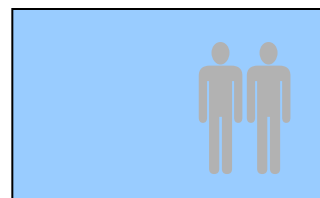
试验人员



传染性材料



实验室

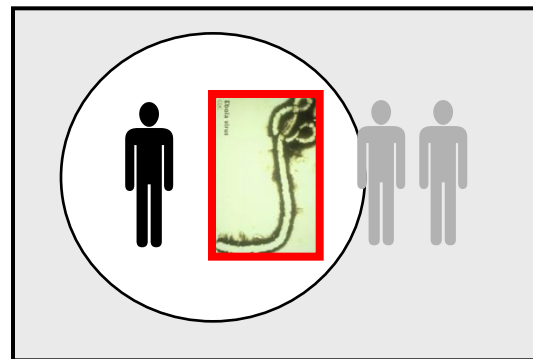
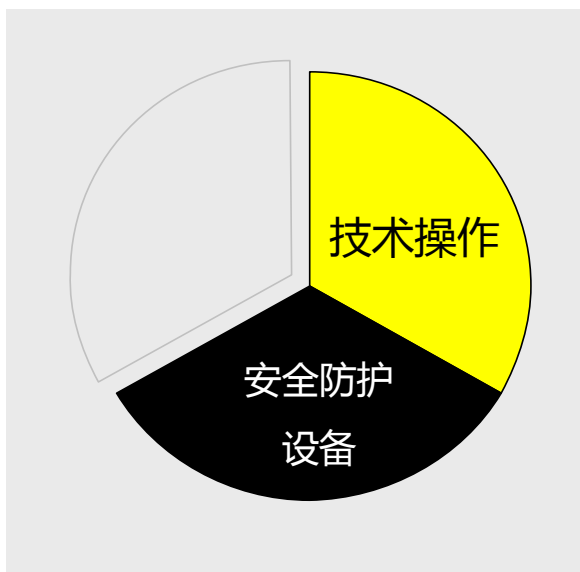


环境

# 防护屏障

## 一级防护屏障

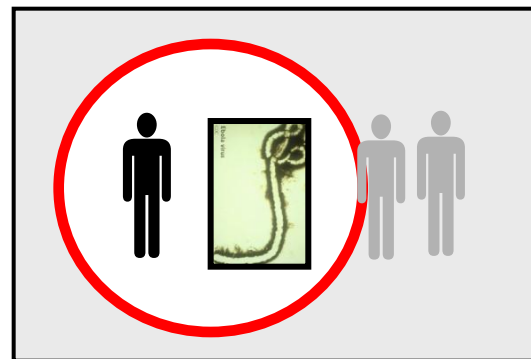
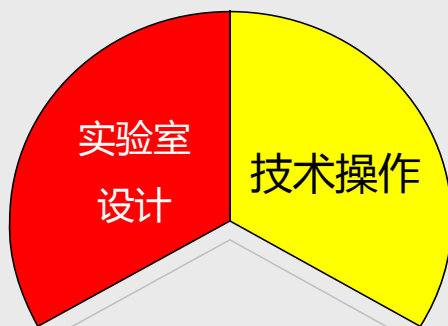
所有涉及感染性物质的操作  
均在其中进行  
生物安全柜等隔离设备



# 防护屏障

## 二级防护屏障

实验室的平面布局、维护结构、控制入口、负压环境和为减少气溶胶从实验室释放而设置的通风系统等



# 病原微生物的危害程度分类的主要依据

## 生物安全水平 分级 标准

- \* 《病原微生物实验室生物安全管理条例》
- \* 《实验室生物安全通用要求》（GB19489-2008）
- \* 《实验室生物安全手册》WHO，第三版 2004

### 《人间传染的病原微生物名录》

卫生部 2006.1.11



- 致病性
- 传播方式、宿主范围
- 所具备的有效预防措施
- 所具备的有效治疗措施



# Infectious Accidents

---



旅游中... ..

- 全身症状  
长期低热或高热、疲乏、无力、消瘦、盗汗等；
- 呼吸系统症状  
咳嗽、咳痰、咯血、胸痛、呼吸困难

如何处理？

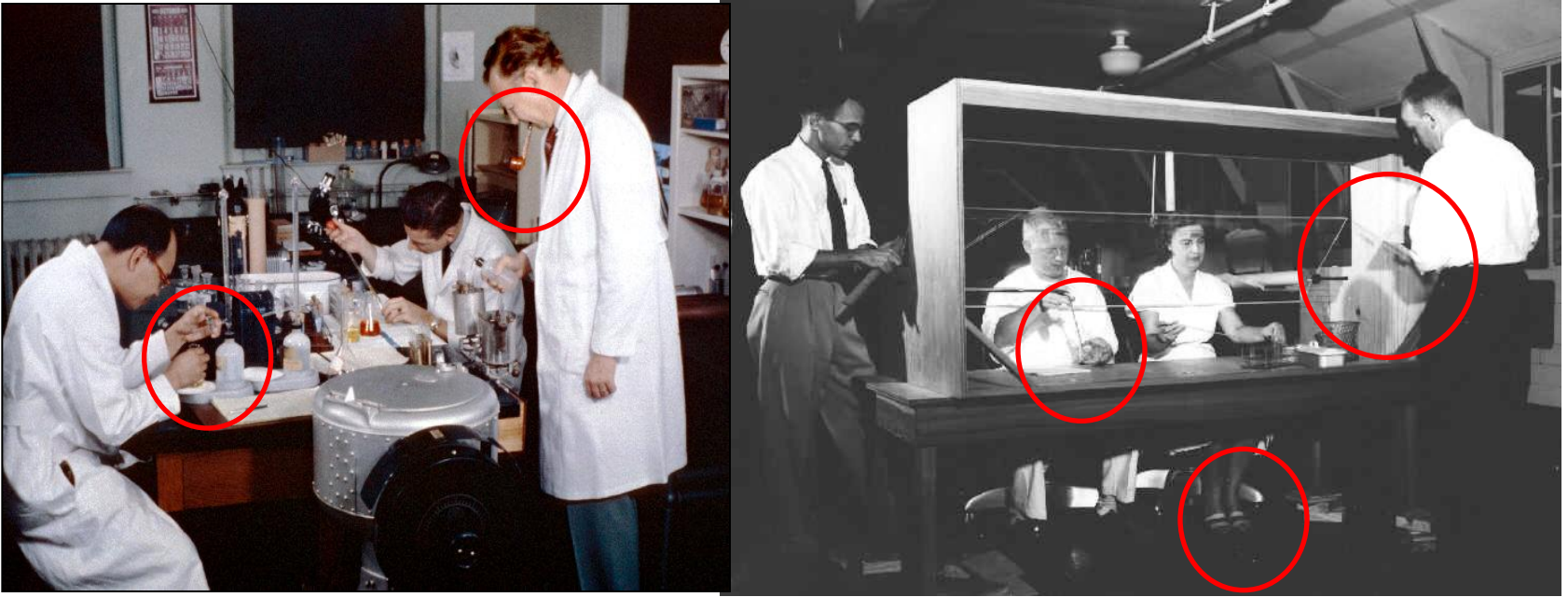
# 微生物危害等级对应的生物安全水平、操作和设备

生物危害等级	危害程度与范围	代表微生物	实验室操作	安全设备
I	不太可能引起人或动物致病的微生物； 无或极低的个体和群体危险	枯草杆菌	GMT	不需要，开放实验室
II	病原微生物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； 个体危险中等，群体危险低	乙型肝炎病毒	GMT加防护服、生物危害标志	开放实验台，此外需BSC用于防护可能生成气溶胶
III	病原微生物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； 个体危险高，群体危险低	结核分枝杆菌	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基本设备
IV	病原微生物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； 个体和群体的危险均高	埃博拉病毒	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并加穿正压服，双扉高压灭菌器，过滤空气

BSC：生物安全柜

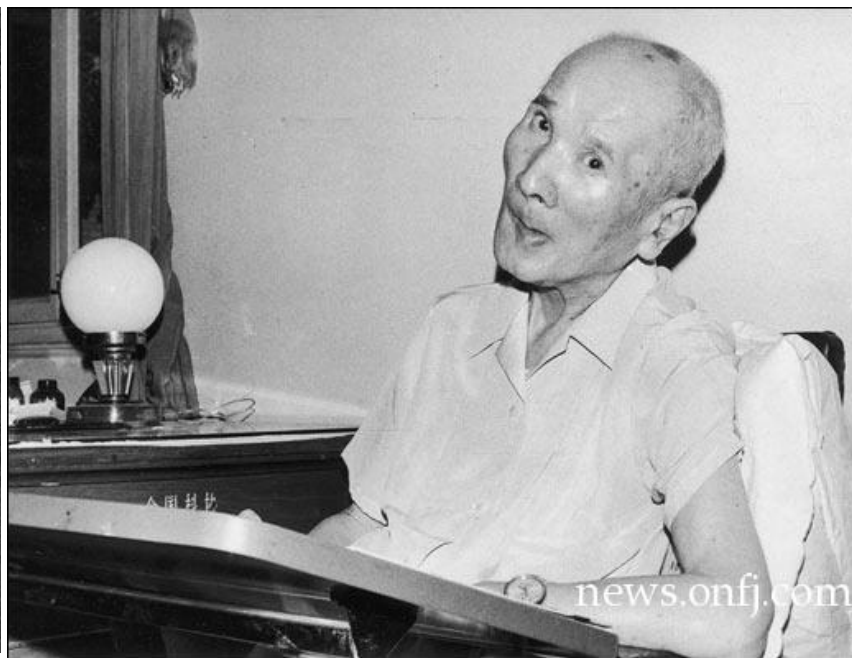
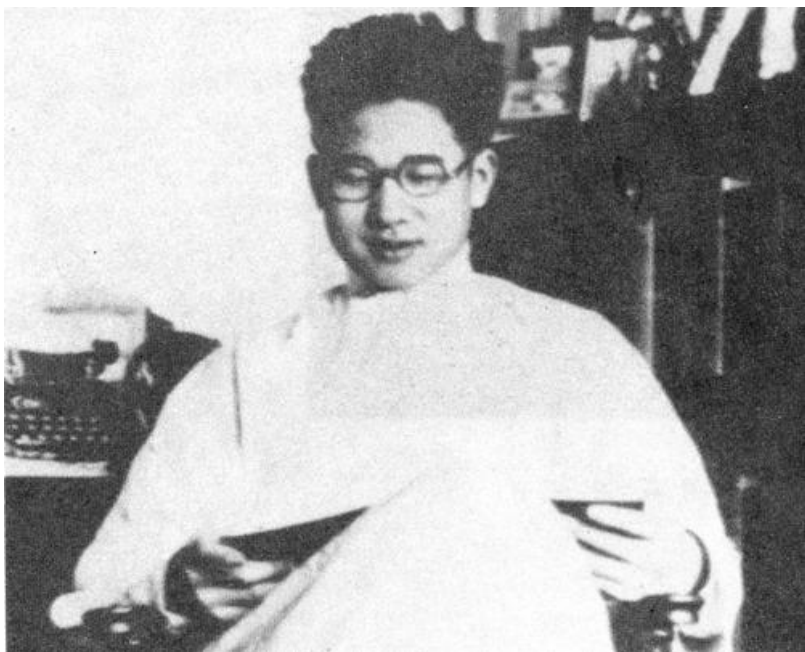
GMT：微生物学操作技术规范

# 过去的微生物学实验室



从前的实验室……

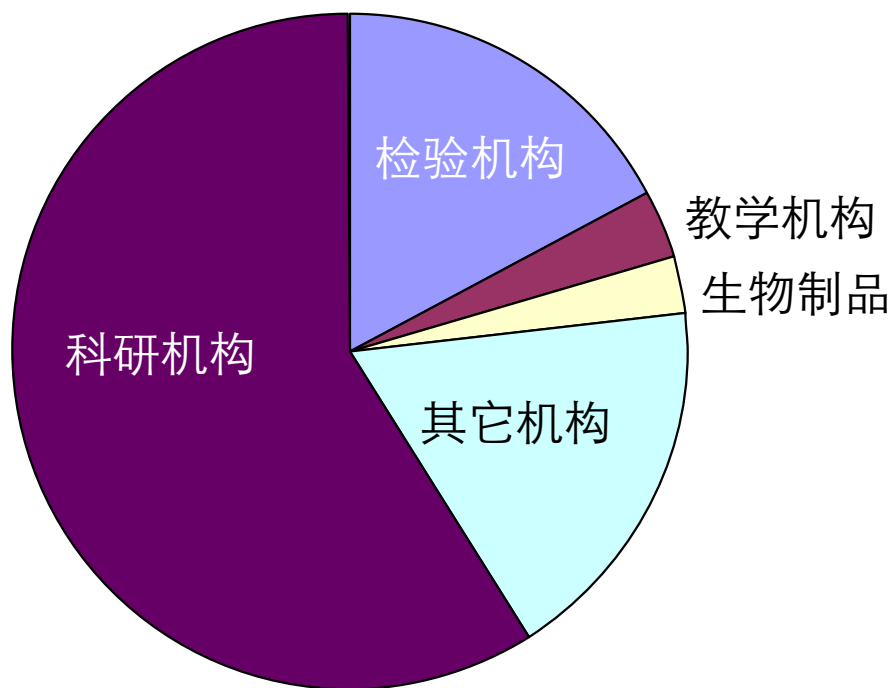
# LAI Laboratory Acquired Infection 感染例子



“去掉人旁不做官，去掉金旁不要钱”

——高士其

# 实验室获得性感染



1976年 Pike

3921例

实验室感染 (LAI)

科研机构占58.8%

原因分析:

1. 防护措施简化
2. 操作不规范

# 实验室设计的安全原则

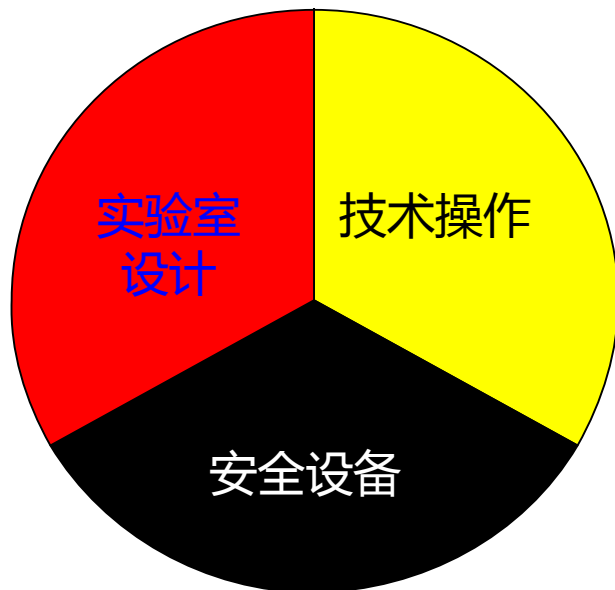
- 气溶胶的形成
- 处理大体积或高浓度样本
- 仪器设备过度拥挤和过多
- 啮齿动物/节肢动物侵扰
- 未经允许人员进入实验室
- 工作流程

- 围场操作
- 屏障隔离
- 定向气流
- 消毒灭菌
- 有效拦截

- 科学合理
- 安全首位
- 软件在先
- 管理严格
- 远离病原
- 预防为主
- 使用方便
- 厉行节约

依据国家标准 《实验室生物安全通用要求》  
(GB19489-2008)

# 生物安全实验室概念



生物安全实验室，简称“BSL实验室”，是指通过规范的实验室设计、实验设备的配置、个人防护装备的使用等建造的实验室。

# BSL实验室目的与标识

## 目的

保护实验室工作人员；  
对外环境人员提供保护屏障；  
同时也保护社区普通的人员  
与动物不被实验室内偶然泄  
露的传染性因子感染



**生物危害**

授权人员方可进入

生物安全水平： \_\_\_\_\_

责任人： \_\_\_\_\_

紧急联系电话： \_\_\_\_\_

白天电话： \_\_\_\_\_

家庭电话： \_\_\_\_\_

必须得到上述责任人  
的授权方可进入



# 生物安全实验室分级



基础实验室

BSL-1

BSL-2



屏障实验室

BSL-3

BSL-4

# BSL-1 实验室



**基础实验室**

——  
一级生物安全水平

微生物学教学

基础研究

\*GMT

\*需要洗手池

\*不需特殊的一级、二级屏障

# BSL-1 实验室

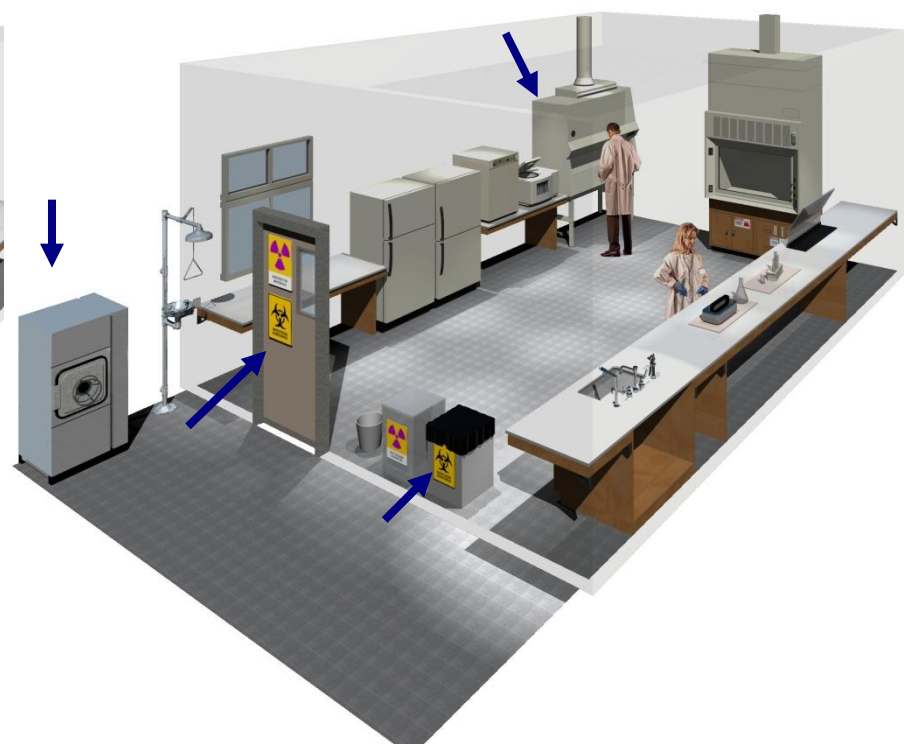
- \* 空间充足，便于维护、清洁
- \* 天花板、墙壁、台面平整、整洁、耐腐蚀
- \* 地板防滑
- \* 管线避免外露
- \* 照明充足，避免反光、闪光
- \* 设备摆放稳定
- \* 存储空间划分明确
- \* 放射性物质、压缩气体、液化气体需要安全操作的，具有足够空间与设备
- \* 工作区域外有存放外衣与私人物品设施
- \* 洗手池必备，最好安装在出口处
- \* 若有可开启窗户，应设置纱窗
- \* 应有适当的消毒设备



# BSL-1 与 BSL-2 实验室

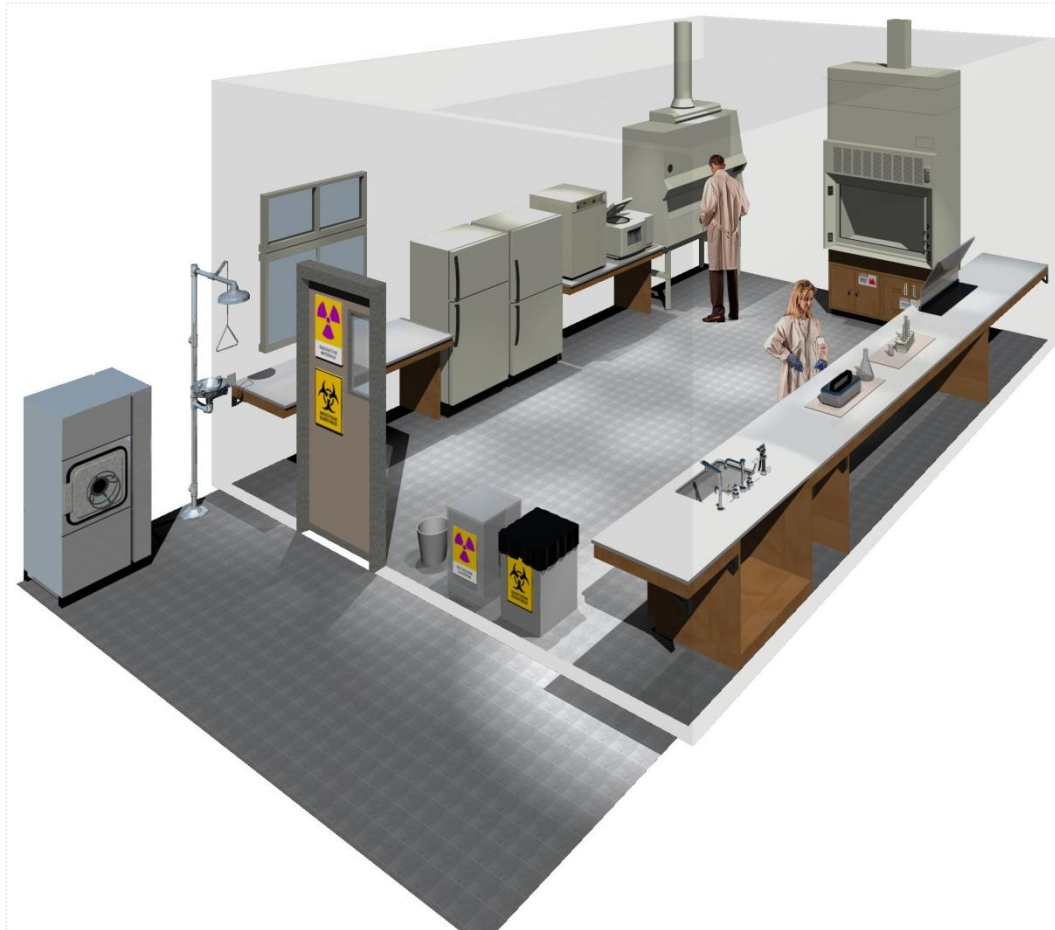


基础实验室 —— 一级生物安全水平  
普通微生物教学、研究



基础实验室 —— 二级生物安全水平  
临床卫生服务；检验、研究

# BSL-2实验室



## 基础实验室

二级生物安全水平

临床卫生服务；诊断、研究

- \*生物安全柜
- \*高压蒸汽灭菌器
- \*离心机安全罩
- \*洗眼器

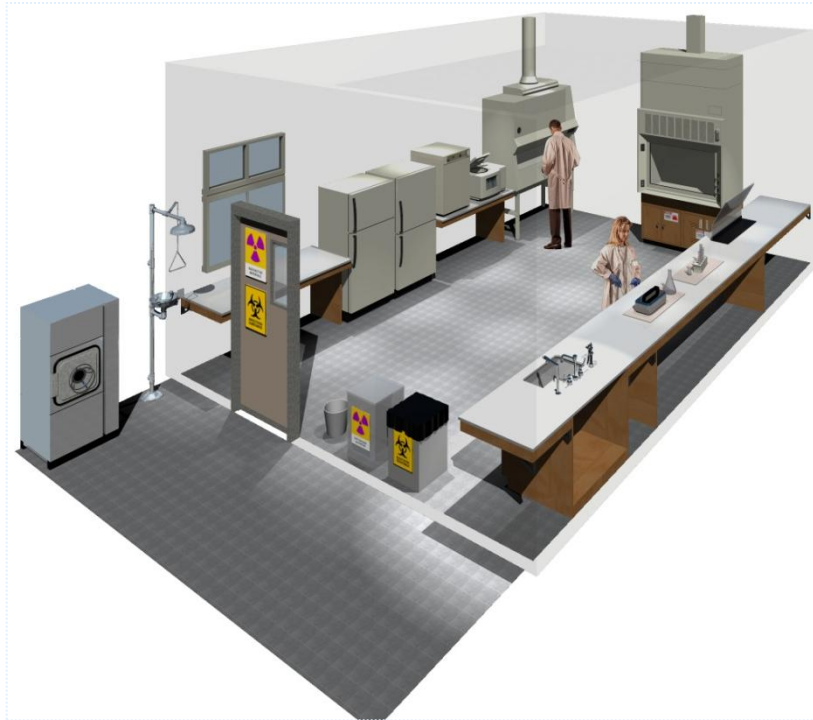
# BSL-2实验室

## BSL-1 设施的基础上

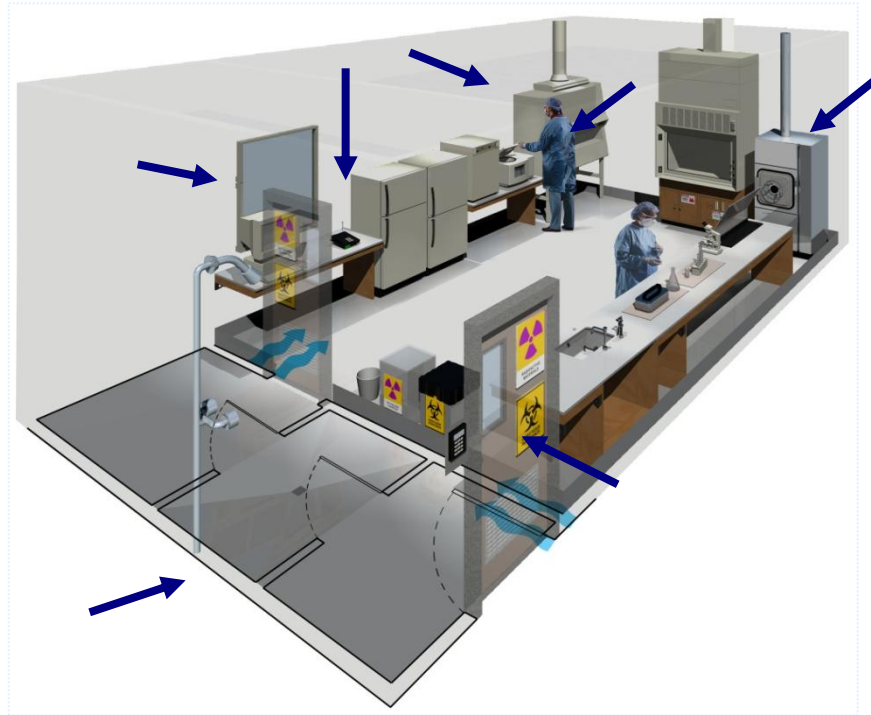
- \* 实验室的**门能自动关闭**，有**可视窗**
- \* 不需要特殊的通风设备，但窗户要求能打开并且**安装防虫纱窗**
- \* 可靠的电力供应与应急照明，培养箱、生物安全柜、冰箱最好增加**备用电源**
- \* 实验室出口有黑暗中可**明确辨识的标识**



# BSL-2 与 BSL-3 实验室

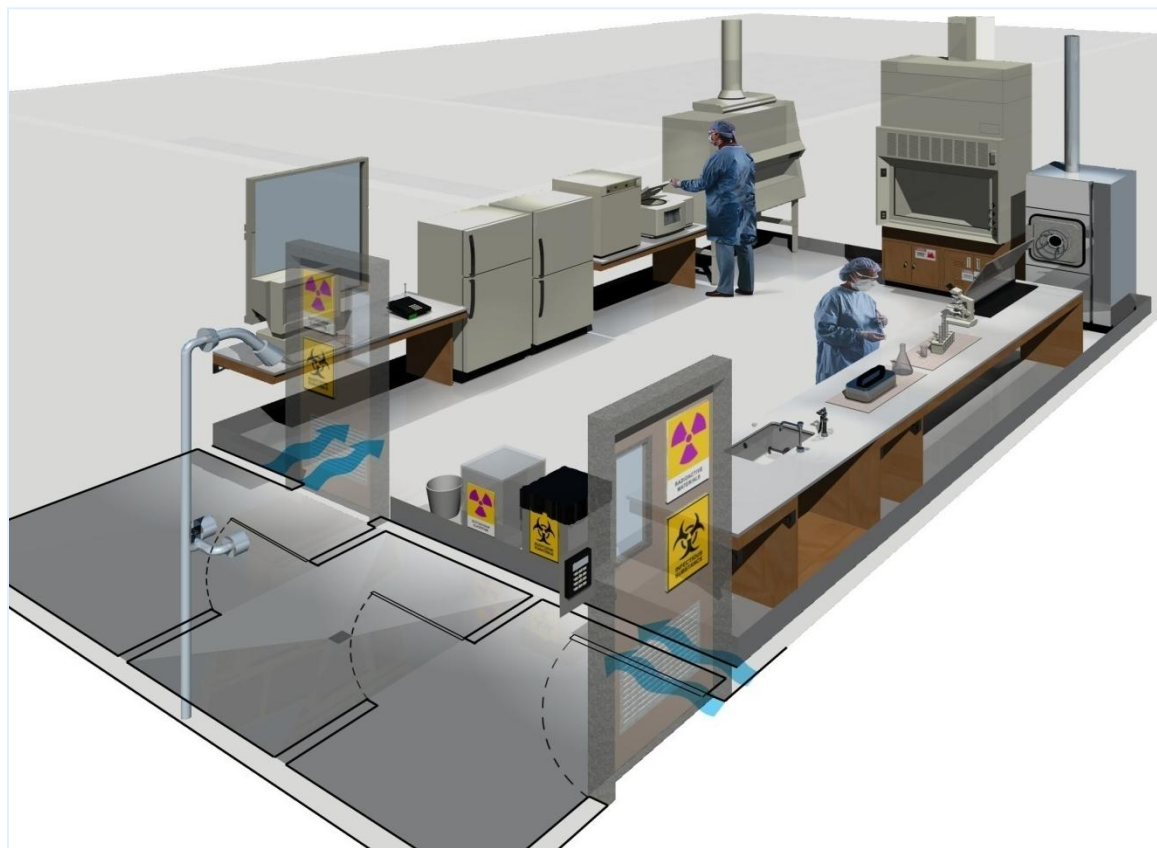


基础实验室 —— 二级生物安全水平  
初级卫生服务；诊断、研究  
医院检验科、CDC



屏障实验室 —— 三级生物安全水平  
高等级微生物的诊断、研究  
专门的科研机构、CDC

# 三级生物安全实验室



围场效应

盒中盒结构

物理隔离分区

负压通风过滤技术



# 三级生物安全实验室

## 一级屏障:

生物安全柜、离心机  
负压罩、双扉高压蒸汽灭菌器等

➤ 生物安全柜

## 二级屏障:

平面布局、维护结构、  
控制入口、负压环境、  
通风系统等

➤ 设施系统

平面布局

负压系统

通风系统

# BSL-3 设施系统

## 1. 选址

自成隔离区，严格入口控制

## 2. 平面布局

污染区、半污染区、清洁区

缓冲间……自动关闭&互锁

**传递窗**……互锁&物理消毒装置

半污染区……紧急撤离安全门

## 3. 围护结构

光滑耐腐蚀、防水

易于消毒清洁

缝隙密封

门均能自动关闭

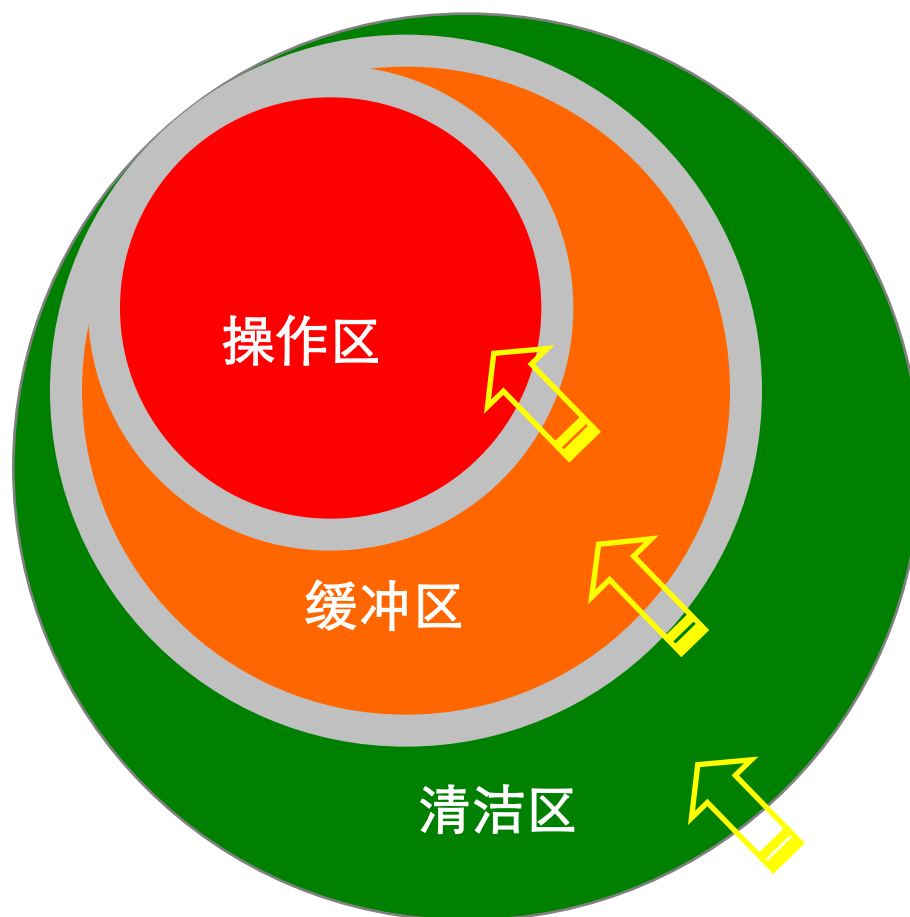
安全出口有长效发光指示标志



# BSL-3 设施系统

## 4.通风系统

- \* 独立的通风空调系统  
气流方向&压力梯度
- \* 气流方向  
“清洁” → “污染”
- \* 通风空调……直排式  
不得采用回风系统
- \* 进风经初中高效三级过滤
- \* 风机启动自动联锁装置  
启动时先排后送  
关闭时先送后排
- \* 控制系统



# 复旦大学BSL-3实验室

## Citect Menu

实验室状态监控

实验室系统监控

房间\BIBO压差监控

过滤器压差监控

报警显示

报警记录

实验室A\B\C压力数据保存

温度及缓冲间压力数据保存

半污染区数据保存

BSL-3实验室A压力曲线

BSL-3实验室B压力曲线

BSL-3实验室C压力曲线

走廊压力曲线

实验室温湿度曲线

半污染区趋势图

退出

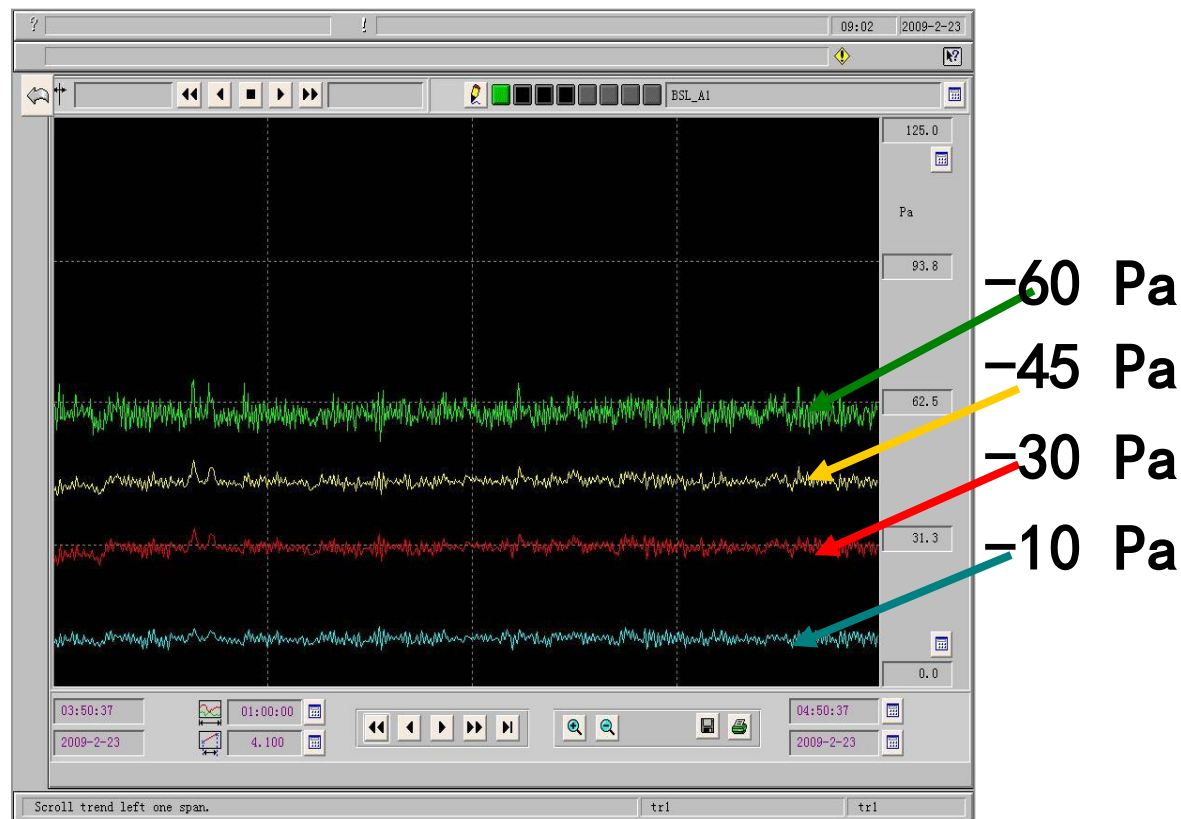
➤ 控制系统

PLC+DDC

# BSL-3 设施系统

## 5. 环境参数

- 压力——负压
  - 污染区 -  $(40 \pm 5)$  Pa
  - 半污染区 -  $(20 \pm 5)$  Pa
  - 清洁区 室外大气压
- 温度 ——  $19-22^{\circ}\text{C}$
- 相对湿度 ——  $30\% \sim 70\%$
- 空气洁净度 1万-10万级
- 人工照明 ——  $500\text{lx}$
- 嘈声 ——  $\leq 65\text{dB}$



《生物安全实验室通用要求》 GB19489-2008

## 不同生物安全防护水平要求汇总\*

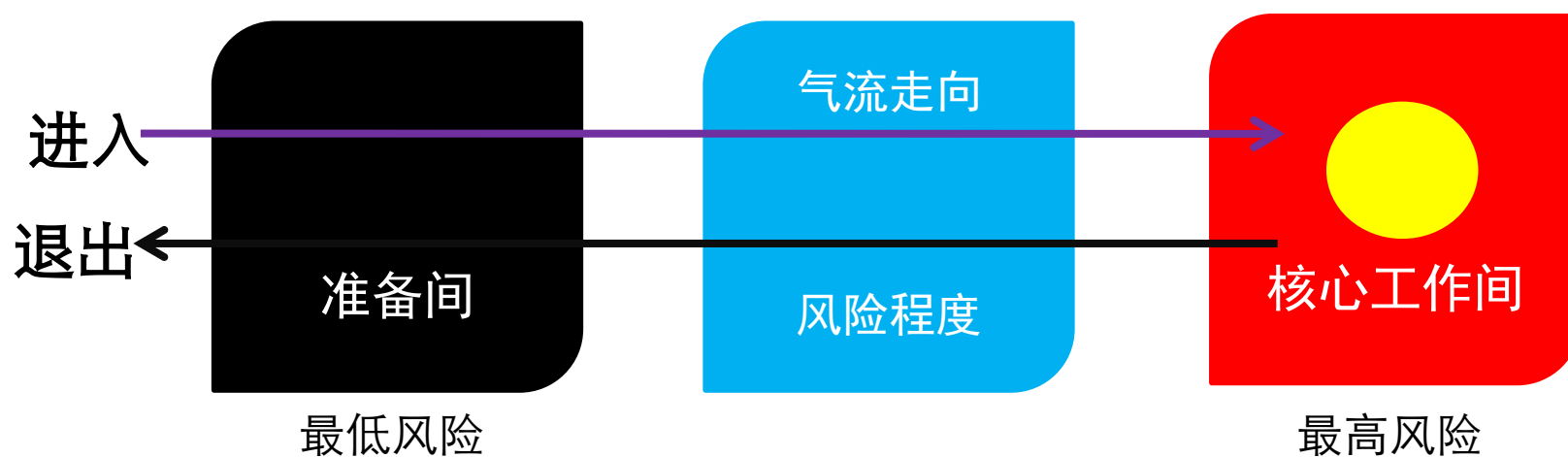
	生物安全水平			
	一级	二级	三级	四级
实验室隔离 <sup>a</sup>	不需要	不需要	需要	需要
房间能够密闭消毒	不需要	不需要	需要	需要
通风				
— 向内的气流	不需要	最好有	需要	需要
— 通过建筑系统的通风设备	不需要	最好有	需要	需要
— HEPA过滤排风	不需要	不需要	需要/不需要 <sup>b</sup>	需要
双门入口	不需要	不需要	需要	需要
气锁	不需要	不需要	不需要	需要
带淋浴设施的气锁	不需要	不需要	不需要	需要
通过间	不需要	不需要	需要	-
带淋浴设施的通过间	不需要	不需要	需要/不需要 <sup>c</sup>	不需要
污水处理	不需要	不需要	需要/不需要 <sup>c</sup>	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 <sup>d</sup>	不需要	不需要	最好有	需要

GB19489修订  
硬件要求—理论基础

## BSL 实验室设计原则

- 正常工作时核心工作区是“清洁”的；
- 正常工作时核心工作区是“污染”的；
- 核心工作区被污染的概率
- 操作的生物因子是否通过气溶胶感染
- 发生意外的后果

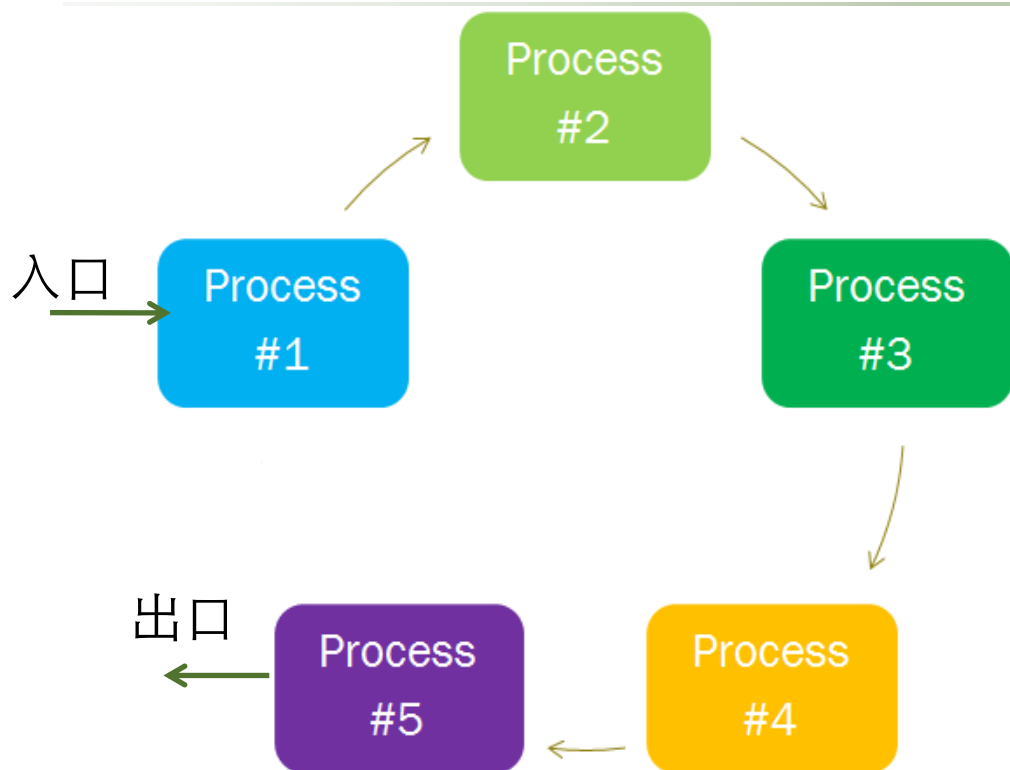
# 设计思路



- 风险/功能分区
- 出入口位于风险最低区域
- 区域划分清洁区→污染区
- 可能混杂的污染分开
- 能够隔离高风险物品材料



# 设计思路



- One-way 进入退出方式
- 出入口分处通道两端
- 连续的气流
- 降低各过渡交叉

# 设计思路

- 配套设施提前到位
- 功能区之间衔接过渡流畅
- 实验室定位明确
- 仪器设备布局明晰



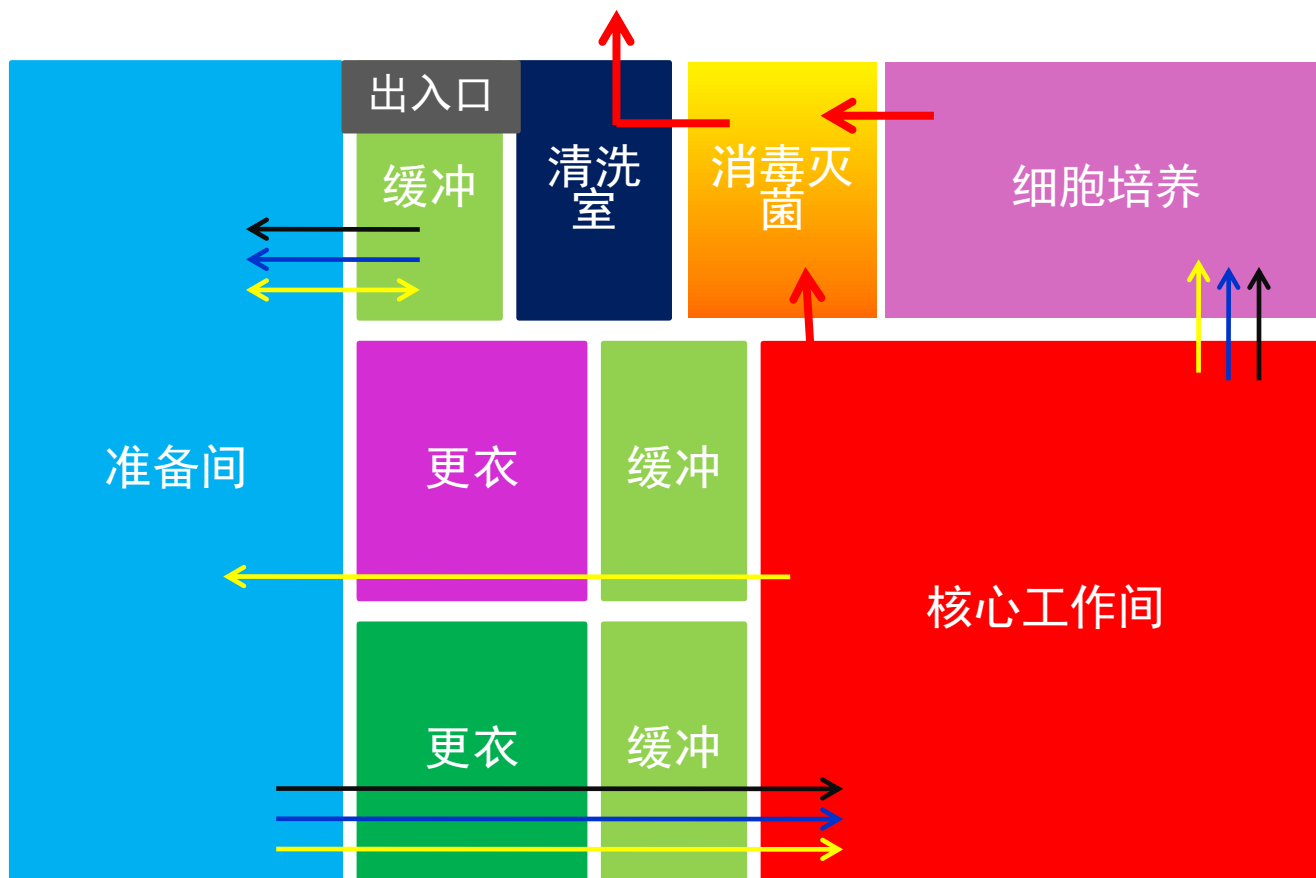
# 设计一个简单的BSL-3实验室

---





# BSL-3 实验室人物流路线



- 黄色箭头 → 操作人员
- 蓝色箭头 → 病原菌/动物
- 红色箭头 → 废弃物
- 黑色箭头 → 材料补给

# 生物安全三级实验室的认证认可



计量认证标志

通过CNAS与MOH认可方可开展工作

# 学习重点

---

1. 生物安全原理
2. 生物安全实验室
3. 高效空气过滤器
4. 生物安全柜
5. 常规操作错误分析
6. 思考题

# HEPA 历史

## High Efficiency Particulate Air filter

20世纪40年代 由美国原子能委员会牵头开发；  
隶属“曼哈顿工程”——原子弹计划；  
目的是滤除由核污染造成的漂浮粒子；  
二战后不再作为保密项目，从而扩展到民用；

HEPA常规应用在医院手术室、层流室、制药车间、计算机芯片厂房以及其它需要完全过滤的房间。

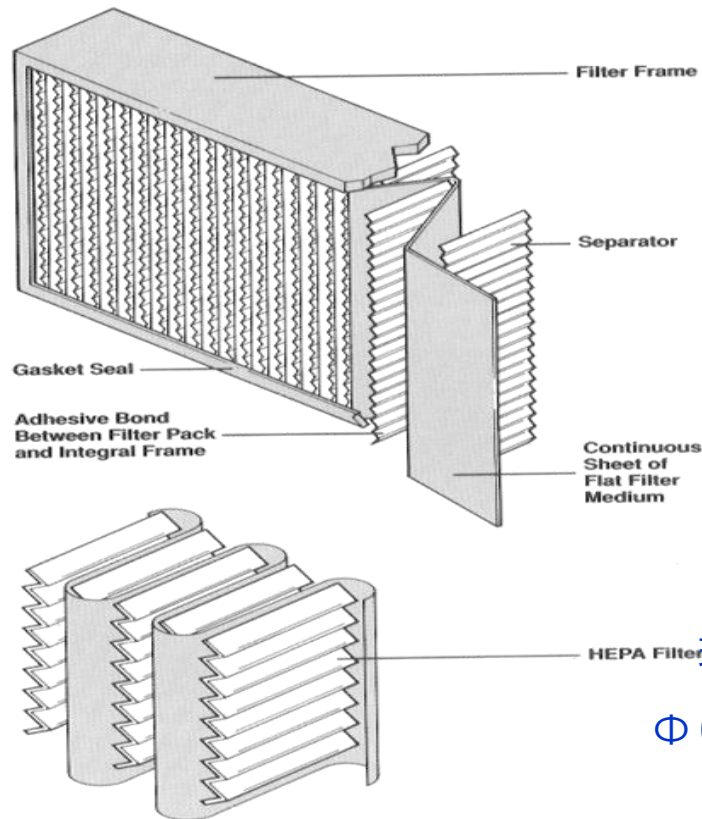
HEPA空气过滤器、真空吸尘器广泛应用于原子、电子、航空宇宙、药品以及医疗领域。

用于石棉、石墨、毒性物质等领域的HEPA必须经过282军用标准的检验。

目前，HEPA空气过滤器、真空吸尘器用于改善哮喘以及过敏体质病人生活。



# HEPA结构

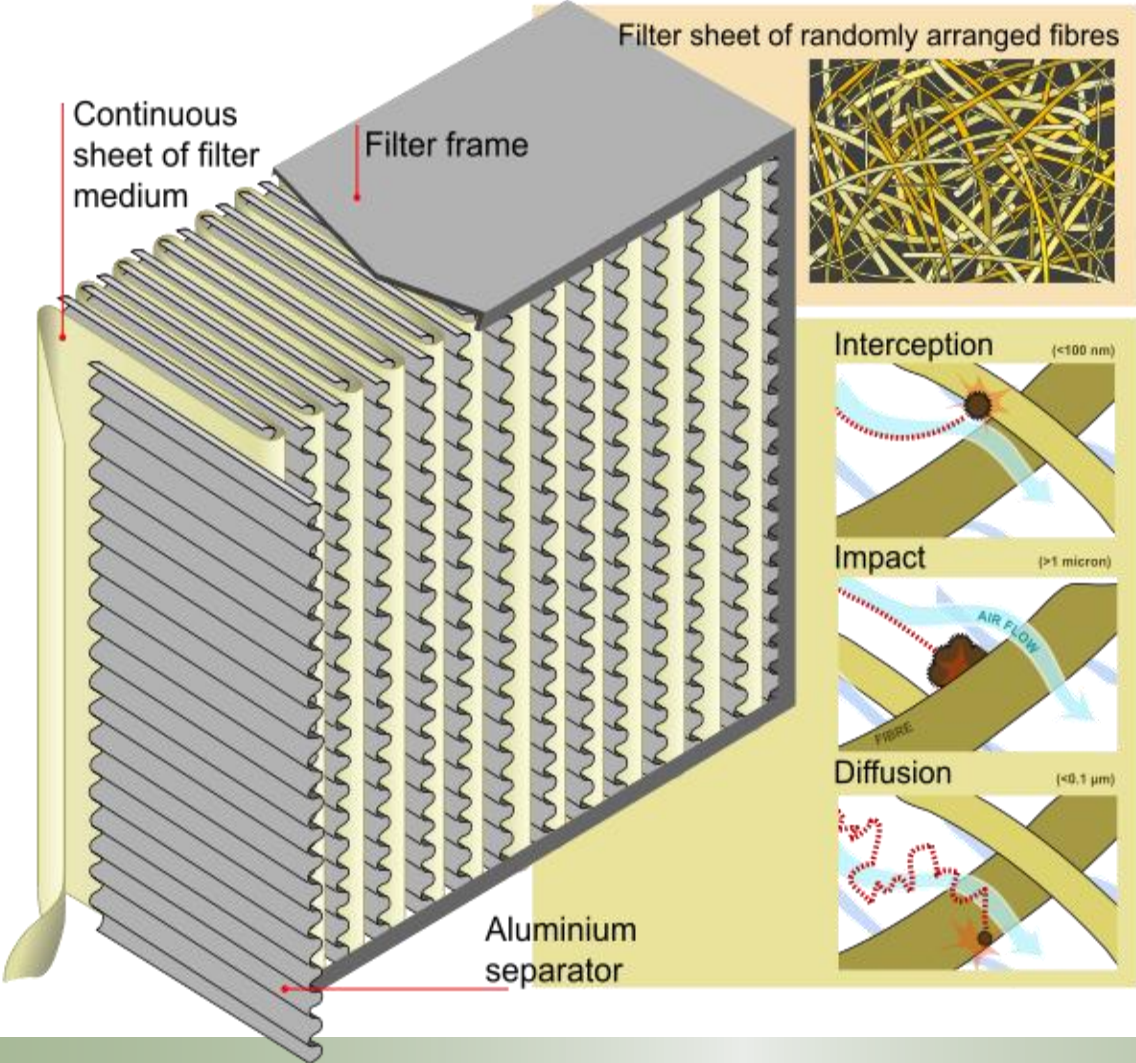


- 可抛型固体薄层滤膜
- 成褶皱状以增加表面积
- 滤膜效率为99.97%  
(吸附 $0.3\mu\text{m}$ 颗粒的效率)
- 吸附颗粒

HEPA Filter 玻璃纤维  $\Phi 0.4-1.4\ \mu\text{m}$  → 纸 厚度  $60\ \mu\text{m}$  → 折叠铝箔隔栅 面积提高10倍

**保障感染性粒子不外泄的关键设备!**

# HEPA 作用原理



拦截  
<100 nm

撞击  
> 1 μm

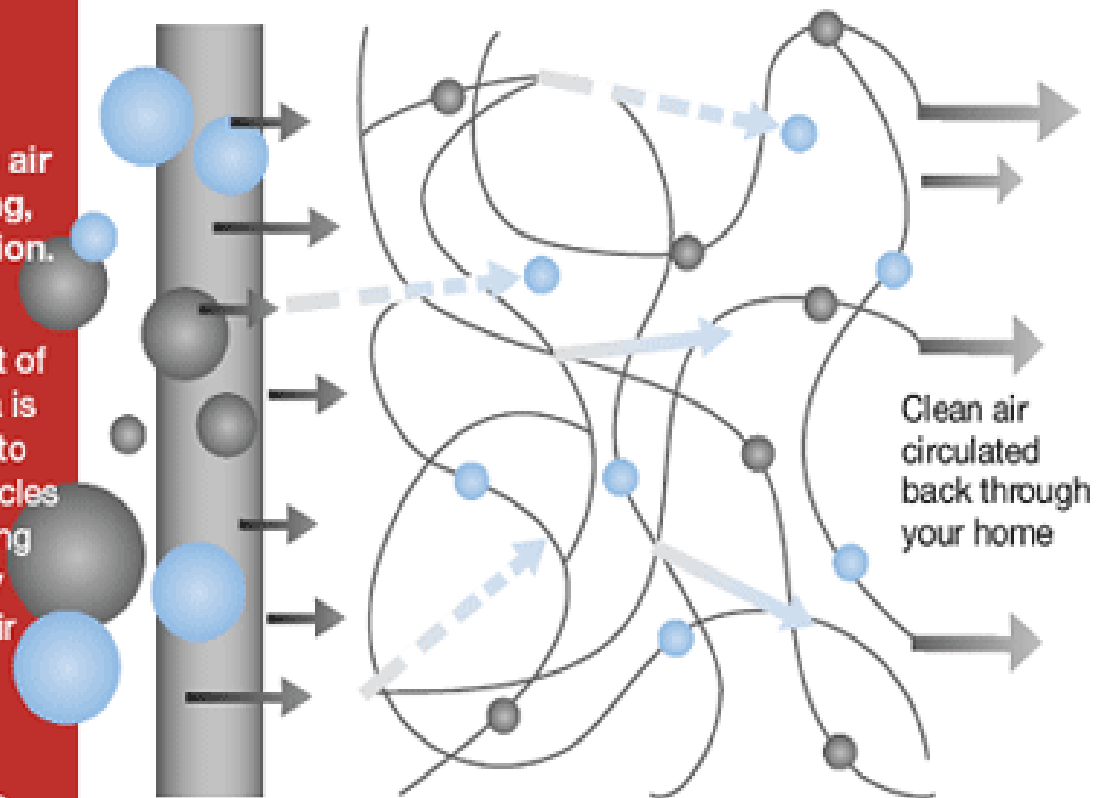
扩散  
<0.1 μm

# HEPA 作用原理

## Here's How It Works

Media Filters clean the air in three ways – straining, interception and diffusion.

In the first stage, larger particles are strained out of the air like cooked pasta is strained when poured into a colander. Smaller particles pass through this straining stage, and are jostled by random collisions with air molecules in the media filters, which causes diffusion. This diffusion causes many particles to collide with and stick to the fibers in the process of impaction. The filter-cleaned air is circulated back through your home.



STAGE 1 —  
Straining

STAGE 2 —  
Diffusion

STAGE 3 —  
Impaction

Clean air  
circulated  
back through  
your home

# HEPA 作用原理

---

- **惯性撞击**

气溶胶粒子直径虽然小于网眼，由于粒子的惯性撞击作用也可能阻拦在滤材上

- **粒子扩散**

对于直径小于0.1 $\mu\text{m}$ 的气溶胶粒子作用较强，气溶胶粒子虽然小于网眼，由于粒子扩散作用也可能被阻拦在滤材上

- **过筛**

直径小于滤材网眼的颗粒可以通过，大于的被拦截

- **沉降**

对于直径0.3 $\mu\text{m}$ 以上的气溶胶粒子作用较强

- **热沉降/静电沉降**

对于直径非常小的气溶胶粒子作用较强

# 总结

---

- 0.1-0.3 $\mu\text{m}$ 的粒子最容易逃逸
- 操作病原微生物时采取产生气溶胶最少的技术
- “零泄漏”是不可能的
- 后续课程将会涉及如何采取措施将风险降至最低

# 学习重点

---

1. 生物安全原理
2. 生物安全实验室
3. 高效空气过滤器
4. 生物安全柜
5. 常规操作错误分析
6. 思考题

# 生物安全柜 **Biological Safety Cabinet**

- 简称 BSC
- 负压过滤通风柜
- 防止操作者和环境暴露于实验过程中产生的生物气溶胶
- 保护操作人员…负压
- 保护周边环境… HEPA
- 保护样品…层流



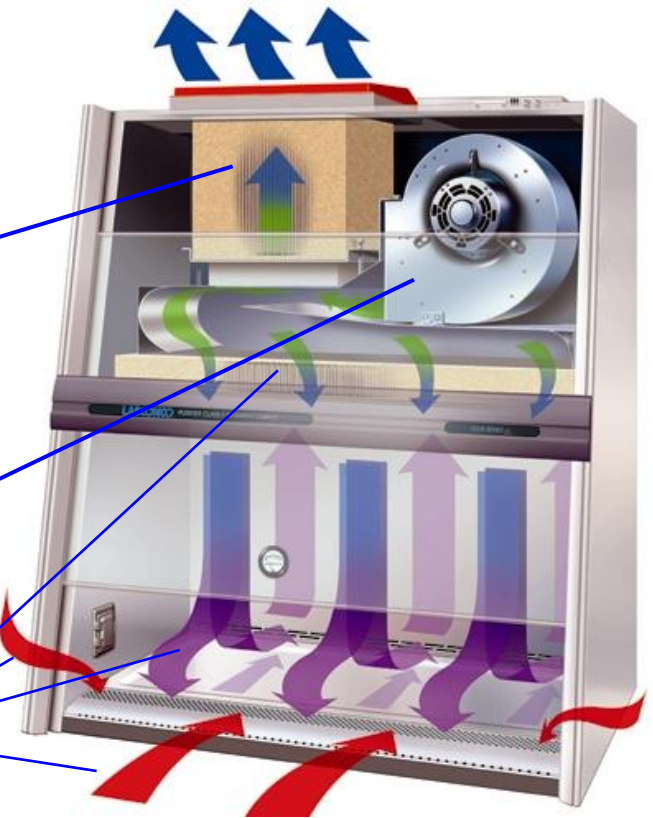
# BSC要求与构造

## BSC均应符合下列要求:

- 颗粒经**HEPA**过滤去除
- 气流为**层流** 没有湍流；无气团；
- 气流**有方向** 为单向稳定气流

## BSC主要部件包括:

- HEPA滤膜
- 马达/风扇强制气体流动
- 马达转速的控制部分
- 气体的平衡控制、管路系统





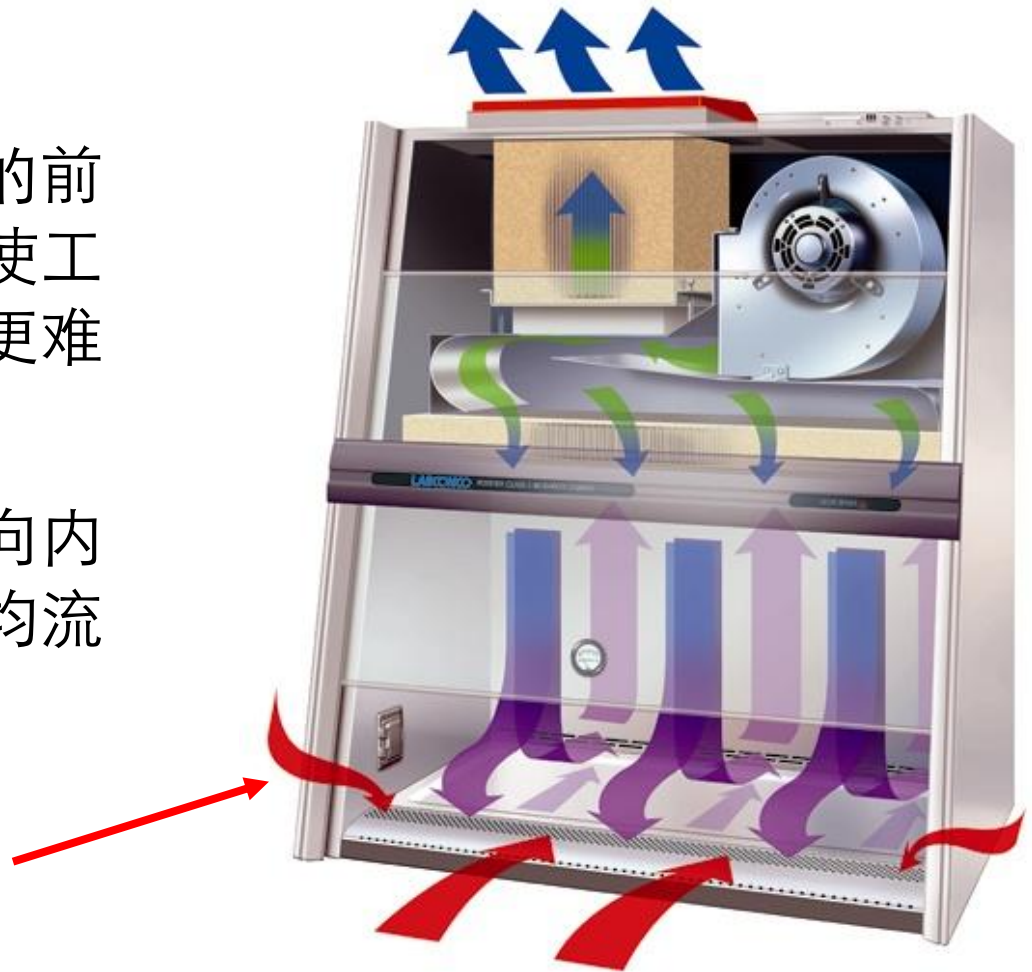
# BSC内气流形式

- 层流
- 有方向的气流
- 分流



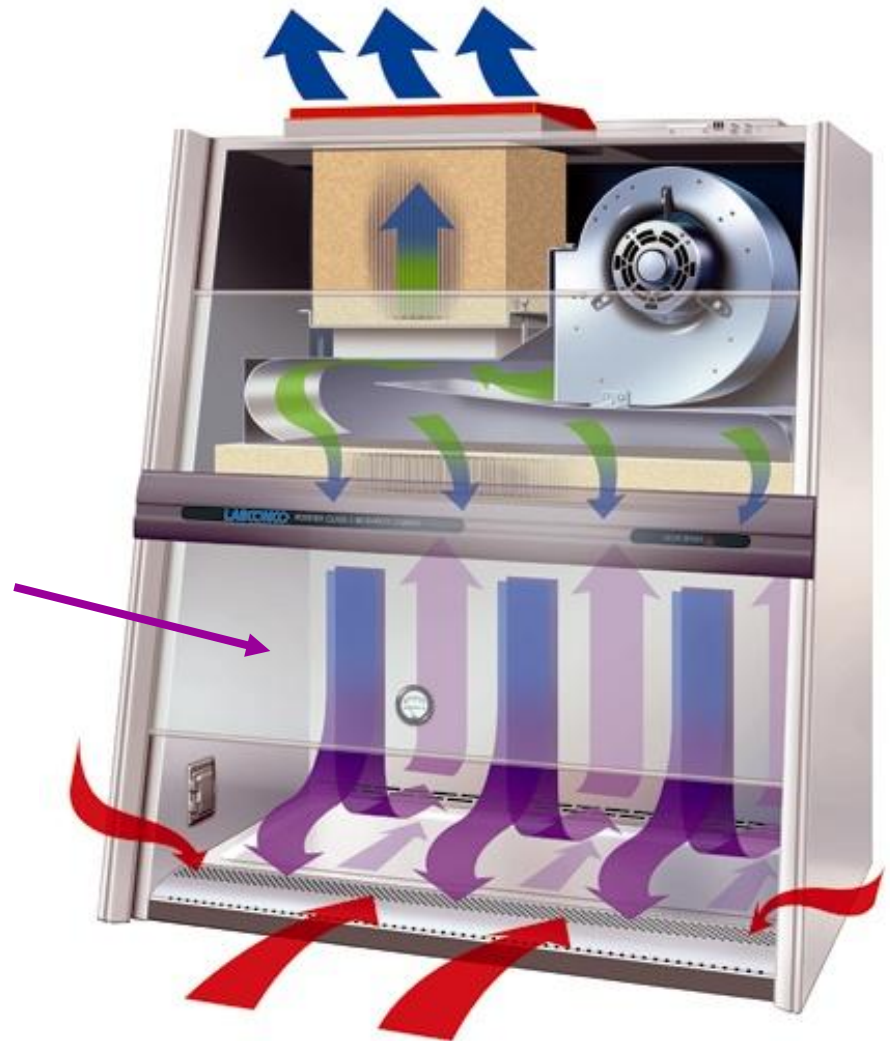
# 理论 - 有方向的气流

- \* 空气从操作人员的前面和周围吸入，使工作区域的气溶胶更难逃逸。
- \* 这个气流通常以向内吸入的体积或平均流速计算、表示。



# 理论 - 层流

- \* 垂直层流向下扫过工作区域，捕获气溶胶，经安全柜的内层至HEPA滤膜
- \* 为实现真正的层流，各点的气流速率必须在平均流速的 $\pm 20\%$ 以内来确保






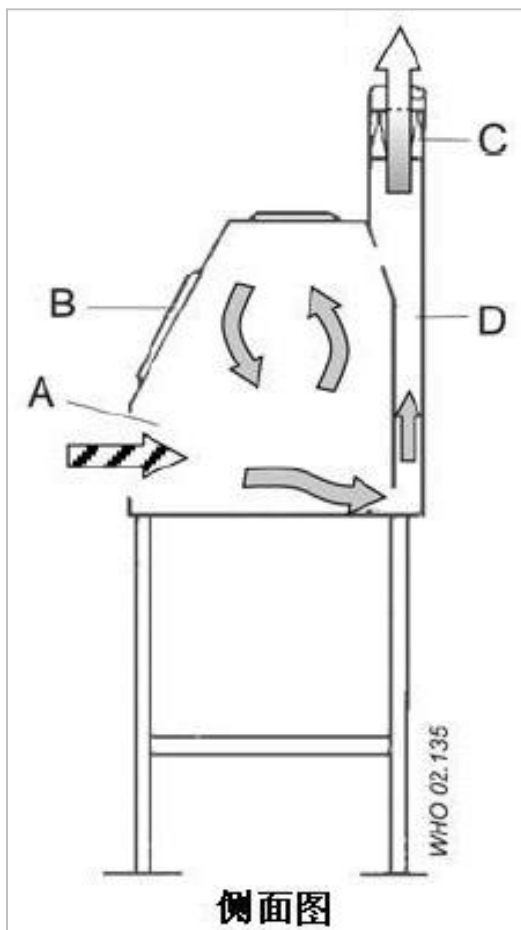
# 理论-分流

- \* 在工作区域的一个垂直平面内烟气被分束，向前方和后方的气孔格栅处移动。
- \* 为最有效的防止烟气逃逸，物品应放在烟气分束以后的区域（操作也应在此进行）

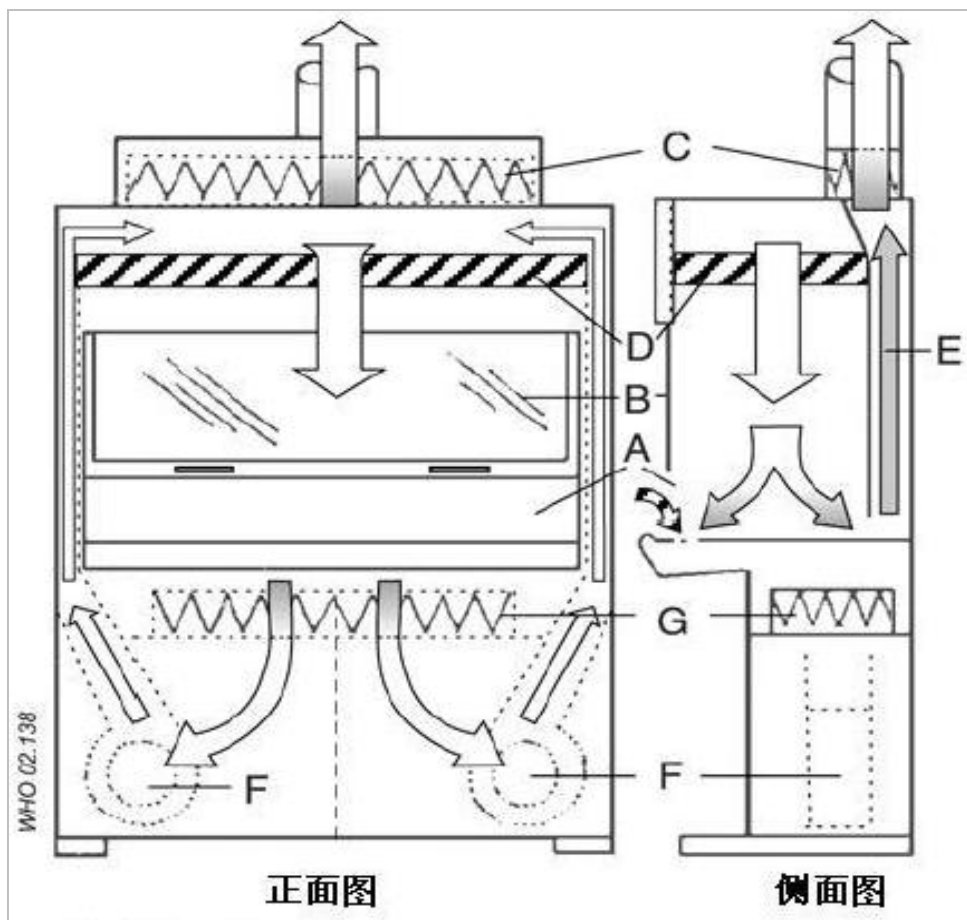


# 生物安全柜工作截面图

-  房间空气
-  潜在污染空气
-  HEPA过滤空气



Class I



Class II Type B2

# 生物安全柜分级

- A 气体流速、类型
- B 排风系统
- C 设计构造

**Class I**

**Class II**

**Class III**

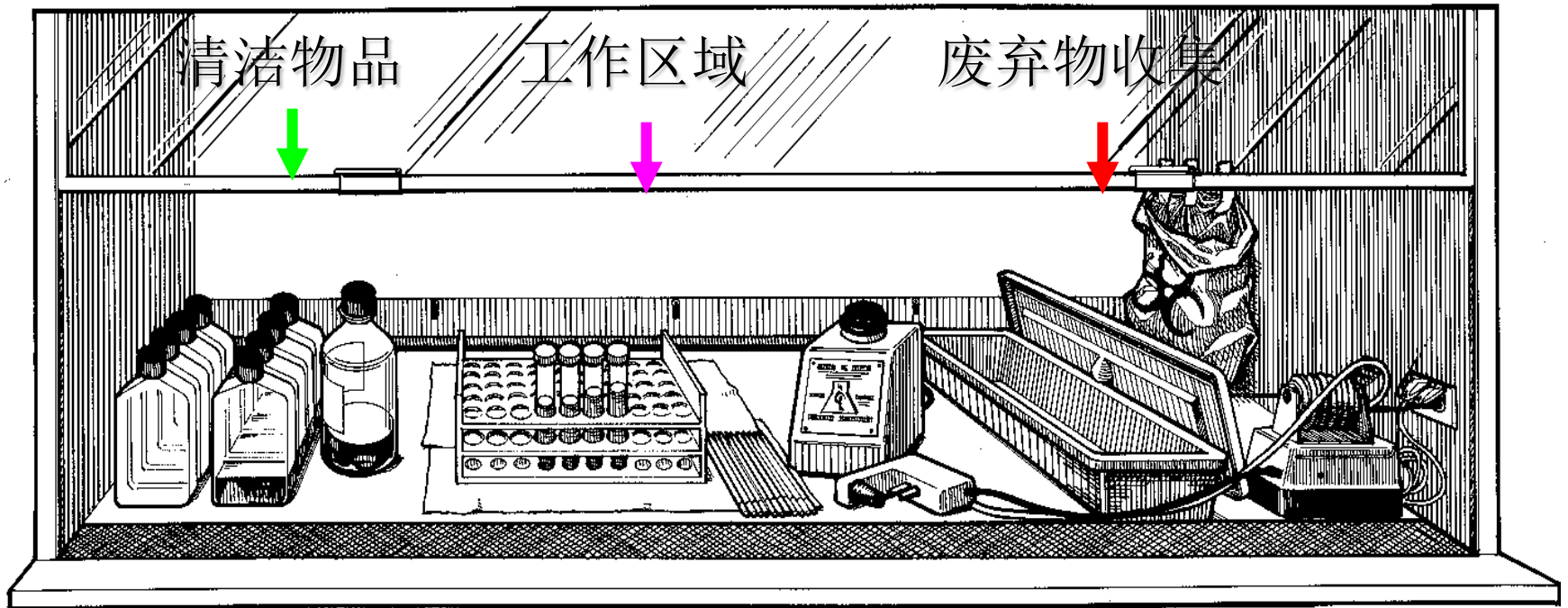
类型	正面气流速度 (m/s)	气流百分数 (%)		排风系统	
		循环部分	排出部分		
I级	0.36	0	100	硬管	
II级	A1型	0.38-0.51	70	30	排到房间或套管连接处
	A2型	0.51	70	30	
	B1型	0.51	30	70	硬管
	B2型	0.51	0	100	硬管
III级	NA	0	100	硬管	

# 生物安全柜选择

保护类型	生物安全柜的选择
个体防护，针对危险度1~3级微生物	I级、II级、III级生物安全柜
个体防护，针对危险度4级微生物，手套箱型实验室	III级生物安全柜
个体防护，针对危险度4级微生物，防护服型实验室	I级、II级生物安全柜
实验对象保护	II级生物安全柜，柜内气流是层流的III级生物安全柜
少量挥发性放射性核素 / 化学品的防护	II级B1型生物安全柜，外排风式II级A2型生物安全柜
挥发性放射性核素 / 化学品的防护	I级、II级B2型、III级生物安全柜

# BSC 工作流程

## 理想的工作台摆放原则（清洁→污染区）



*Clean*



*Dirty*



# 实验室生物安全

---

# 注意事项



工作区域饮食



徒手操作



食品试剂混杂



操作区域光线不足



合理用嘴



工作区界定



拥挤操作



操作区实验记录



BSC外操作



照明、手高度



废弃物处置



利器刺伤



利器专门处理



利器毁型



物品摆放杂乱



防护服袖口短



徒手&废物处置



防护不当赘余装饰



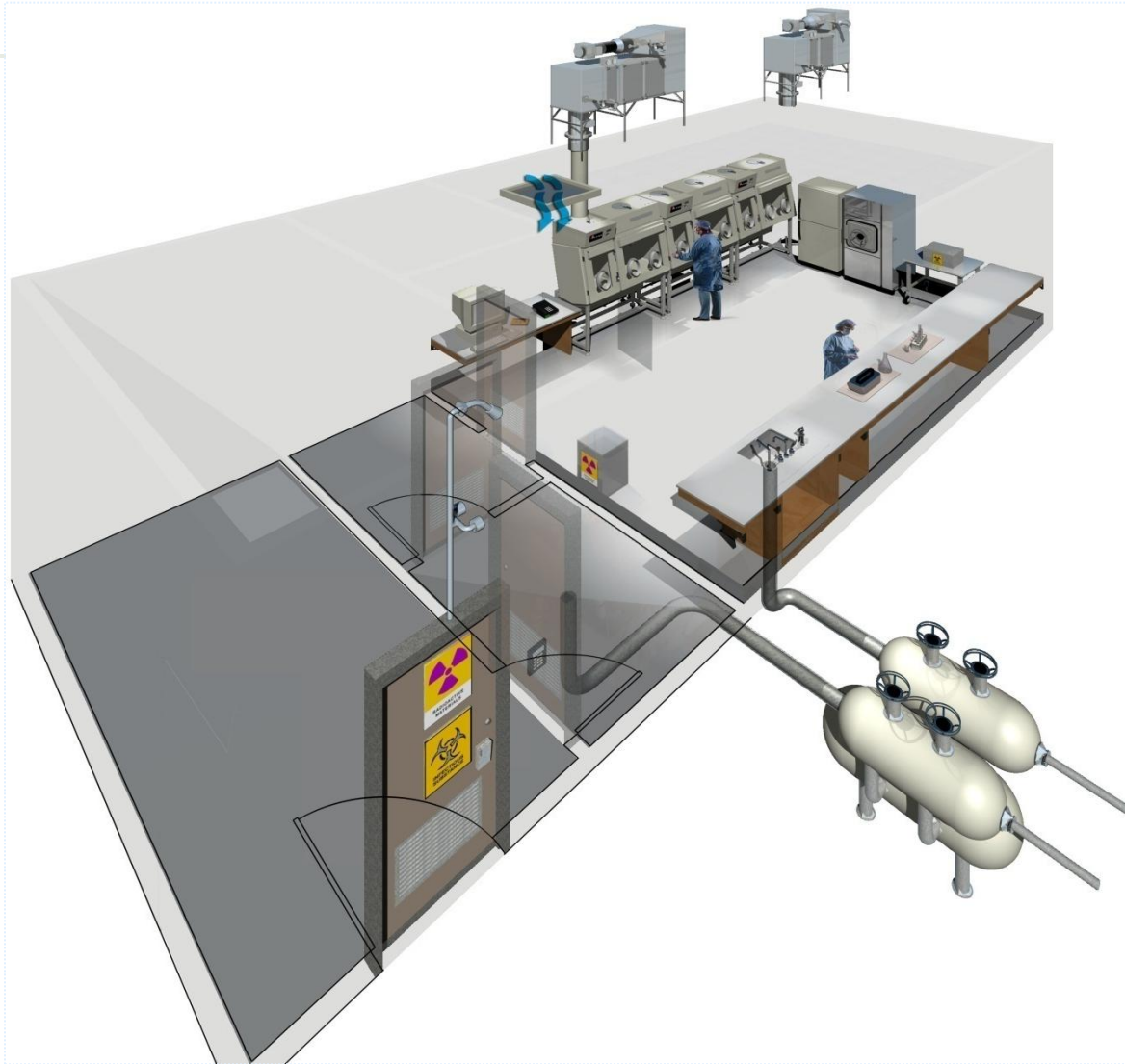
公共场所防护不当



# 移动式P3



# BSL-4 Lab



# 思考题

---

1. BSC、通风柜、超净工作台的区别。
2. 针对同一微生物的不同操作如何选择实验室？以结核分枝杆菌为例。
3. 根据所学内容设计一BSL-3实验室，要求：准备间\*1、核心工作间\*3（细菌、病毒、动物）。其它不限，画出示意图即可。