生物安全实验室的个人防护

（一）个人防护

1. 个人防护装备概念

●个人防护装备（personal protective equipment，PPE）是指为防止或减少外来伤害，保护人身安全和健康的装置。

●个人防护装备可以涉及众多领域，如：军人防护装备、劳动防护装备、卫生防护装备、抢险救援防护装备、航空救生装备等。

●生物安全实验室个人防护装备是指设立物理屏障防止实验室工作人员受到工作场所中物理、化学和生物等有害因子伤害的各种器材和用品。

个人防护装备使用中应注意的事项：

（1）正确的配备、科学规范的使用。

（2）不能代替规范合格的实验室工程，不能没有严格的行政管理，也不能缺乏熟练的工作技能。

2. 个人防护装备的实施

（1）管理人员：提供装备、指导或培训正确使用、发现新的危险因素及时报告并及时调整、确保缺损装备的及时更换。

（2）实验人员：参加必要培训、按要求正确使用装备、出现损坏或异常情况及时报告管理人员。

（3）生物安全办公室：对实验场所的危险性进行评估，决定是否使用个人防护装备，保存危险性评估资料。向管理人员提供有关装备的使用、保管、清洁等方面的培训及相关技术指导。

（二）个人防护装备的种类和使用原则：

●个人防护装备涉及防护部位主要包括：眼睛、头面部、躯体、手足、耳（听力）及呼吸道。

（1）眼睛防护装备：

●所有易发生潜在眼睛损伤，包括物理、化学、生物等因素引起的损伤，或有潜在粘膜吸附危险时，必须采取眼睛防护措施。

●除操作者外临时进入实验室人员也应采取相同防护措施。实验室在提供具体器材的基础上还应配备洗冲眼装置。

a. 安全镜和护目镜

●安全镜和护目镜均可保护眼睛免受含病原体的血液、飞沫或其他液体溅入眼内或透过其粘膜进入人体。没有侧翼的护目镜只能提供正面的保护，而配有侧翼的安全镜由于能紧贴面部皮肤能更好防止从多方面的溅液。

●实验人员如不需要使用矫正的透镜可直接佩戴塑料安全镜、护目镜，如需要使用矫正的透镜时，则应按配镜处方选择合适的安全框架。

●实验室人员不应戴角膜接触镜（隐形眼镜）。因为如意外溅入眼睛液体时会反应性闭眼会使取出隐形眼镜片变得困难，造成严重后果；实验过程中一些水汽会渗入镜片引起广泛刺激；镜片会阻碍眼泪洗除外来刺激物。

b. 洗眼装置

●根据《实验室生物安全适用要求》（GB19489-2004）的规定，实验室尤其是 BSL-2 和 BSL-3 实验室应配置紧急洗眼装置。装置应装在明显并易于使用的位置，并保持水管的畅通。

（2）头面部防护装备

a. 口罩

●外科手术用口罩：

➢由三层纤维组成，可预防飞沫进入口鼻及保护部分面部免受实验物血液、体液等喷

溅污染，适用于 BSL-1 和 BSL-2 实验室。此外，该型口罩单独使用不能对实验者提供呼吸保护，必要时应组合使用面罩。

➢佩戴方法：双手将口罩放置恰当位置，口罩中金属软条向上；头带分别系在头顶后和颈后；将金属条向内按压至紧贴鼻梁，完成佩戴时，口罩须覆盖鼻至下巴，紧贴面部。

●N 级口罩多用于操作经呼吸道传播的高致病性微生物感染实验，在 BSL-2 级以上实验室配备。

➢N 系列口罩可过滤 0.3um 或以上的微粒，效率可达 95%（N95 级）、99%（N99 级）、99.99%（N100 级）。

➢在有油性烟雾情况下应选择 R95、R99、R100 级口罩（R 为抗油）或 P95 级、P99、P100 级（P 为防油）。

➢N 级口罩佩戴方法：

•按面型选择适当的尺寸型号；拉松头带，金属软条向上，将手穿过头带戴上口罩；头带分别置于头顶后及项后；双手食指和中指由中央向两侧按压金属软条。

•正压检查：以双手轻按口罩可以呼气，空气不应从口罩边缘泄漏。

•负压检查：以双手轻按口罩，刻意吸气，口罩应会稍凹陷。

●b. 防护面罩

➢防护面罩可以保护实验室人员面部避免碰撞及感染性材料飞溅接触脸、眼、口鼻的危害。

➢防护面罩有时需要和护目镜、安全镜或口罩联合使用，以达到最佳防护效果。

●c. 防护帽

➢防护帽内由无纺布制成的一次性帽子可以保护实验室人员化学、生物危害物质飞溅至头部。实验室人员在操作时应佩戴防护帽、罩住全部头发。

（3）呼吸防护装备

➢呼吸防护的有效装备为防护（毒）面具。主要由正压面罩、个人呼吸器和正压防护服三种。

➢防护面具中装有可更换的过滤器，保护佩戴者免受气体、蒸汽、颗粒及气溶胶的危害。

➢使用注意点：

•根据危险度选择类型，根据测试选择符合面型适合度的型号，在专业人员指导下佩戴。

a. 正压面罩

➢正压面罩除对呼吸系统防护外，还可以提供眼睛、面部和头部防护。主要可分为头盔、安全帽正压式呼吸防护系统（瀑布式气流从上部进入为呼吸区域提供稳定气流，再经底部流出）、双管供气式呼吸防护系统（前置式、背置式、全面具、半面具）、电动式呼吸防护系统（电动式送风、防尘装置）。

b.个人呼吸器

➢呼吸器在选择型号合适时，可以完全遮盖住口、鼻、下颌，由橡胶松紧带固定在头部，呼吸器内置有可交换的空气滤过装置，只有过滤后的空气方可被吸入。

（4）手部防护装置

a. 手部的防护主要是佩戴手套。避免锐器刺伤、化学品毒害、辐射污染、感染性物质污染及实验动物的伤害。

➢手套的材质可有：乳胶、橡胶、聚睛类、聚氯乙烯类多种，特殊操作时使用不锈钢网孔手套（防止切割损伤）。

➢防护手套使用注意事项：

•BSL1-2 级实验室戴一副手套即可，BSL3-4 级实验室应戴二副。一旦外层手套被污染时，应立即用消毒剂喷洒消毒后丢弃于高压灭菌带中，迅速更换外手套。手套应覆盖实验

服袖口。

➢避免手套“触摸污染”。戴上手套开始实验后，应尽量避免取触摸与实验无关的物品。特别严禁触摸鼻、面部等。

➢脱掉手套应用一手提起另一手腕部处的手套边缘，将手套从手上脱下并将手套外表面翻转入内，用戴着手套的手拿住该手套。用脱去手套的手插入另一手套腕部内表面，脱下第二只手套，并使其内面向外，形成一个由二只手套形成的袋状物，丢弃在高压消毒袋中。

●b.洗手

➢根据（GB 19489-2004）要求，生物安全实验室必须具备洗手装置，并应以脚踏或红外来控制水流，以使肥皂和水清洁手部，洗手后可用酒精擦干（自动酒精擦手器）。

（5）躯体防护装备

●躯体防护装备主要包括实验服、隔离衣、连体衣、围裙及正压防护服。

a.实验服

●前面应完全可以扣住，多在 BSL-1 级实验室进行相应操作。

b.隔离衣

●隔离衣多在 BSL2-3 级实验室使用。隔离衣应为长袖背开式，穿着时应保持领部和腕部扎紧。如遇衣袖稍短时应加戴一次套袖。实验时所带乳胶手套应完全遮盖住袖口。所作实验如有可能发生危险物（血液、培养液、感染性样本）喷溅到身上时，应在隔离衣外另加高领塑料保护围裙。

c.连体衣、正压防护服

●在 BSL-4 级实验室使用，适于涉及致死性生物危害或第一类生物危险因子的操作。如：埃博拉病毒。

➢这类防护服带有生命支持系统可提供超量清洁的供呼吸用的气体。防护服内气压相对于周围环境持续呈正压状态。

➢躯体防护服的使用注意事项：

●清洁的防护服应放置在专用存放处，用过的防护服应放到带有标志的防泄漏消毒袋中。

●有可能发生化学或生物物质喷溅时应外加围裙。

●实验室内严禁着短装和裙装。

●所有躯体防护装备均不得穿着离开实验室。

（6）足部防护装备

●主要是采取鞋套或靴套避免足部手化学、生物物质损害。鞋套应防水、防滑、方便步行动作。BSL3-4 级实验室应着皮质或合成的不渗液体的专用鞋。室内禁穿凉鞋、拖鞋、机织物面鞋。

（7）听力防护设备

●长时间暴露于高强度的噪声可使听力下降甚至丧失。某些设备如超声粉碎器等可产生高分贝噪声或长时间持续一定低强度噪声都对实验者听力有影响。实验人员在必要时应佩戴听力保护器以保护听力。常用的听力保护器为御寒式防噪声耳罩和一次性泡沫材料防噪耳塞。

（三）个体防护装备脱卸顺序

➢生物安全实验室工作人员应了解个体防护装备“污染”和“清洁”部位的概念。“污染”部位系指防护装备的外部前侧区域，而装备的内面和后侧相对清洁。

➢可在实验室内门口处或实验室前厅（BSL1-2 级实验室）或离开主实验室在半污染区或缓冲间内脱卸下个人防护装备（BSL3-4 级实验室）。在一般情况下脱卸顺序为：外层手套→面罩或护目镜→隔离衣→口罩、防护帽→鞋套→内层手套。

五、医学微生物学标本的采集、运输和存放

●标本（specimen）是医学生物学研究和实践不可缺少的对象。大多数标本中都可能含有微生物，特别是病原微生物。根据《中国医学微生物菌（毒）种管理办法》规定我国将医学微生物按其对人类的危害性、是否具备有效治疗和预防的手段分为四类。其中第一、二类为高致病性病原微生物。因此，微生物标本的采集（collection）、运输（delivery or transportation）和存放（storage）等行为需要按照国内外相关的法律规定和管理规定按等级进行。

（ - ）标本的采集

1. 标本采集的目的和原则

●医学微生物研究和实践始于正确的标本采集。为了确保标本样品具有代表性，使病因诊断、流行病学调查、科学研究的结果准确可信，在采集标本过程中应遵循一些基本的原则。

●无菌取材：用于微生物分离培养的标本在收集时应严格无菌操作，避免其他微生物污染。盛装标本的容器、保存液、培养基等应先行灭菌处理。

●区别取材：明确取材的时机及部位，按疾病和病原体的特征、实验目的来决定采样时间，按不同病程、不同目的来选择采集标本的部位。

●妥善处理：注意温度、药物、消毒剂、射线等因素的影响。

●安全包装（见下）

●标记清楚：在容器及清单上表明内容物名称、编号、来源、取样日期、检测目的、取样人、送检人和接收人的姓名、联系电话等。便于登记、查找、避免错误。

●个人防护及生物安全：取标本应采取标本防范措施，严格标本外泄和丢失。

2. 各种临床标本的采集方法

●下呼吸道分泌物（痰液）应嘱患者早上起床后清水漱口，不要刷牙，从下呼吸道咳出的第一口痰，置于灭菌容器中，及时送检。标本中须防止食物或饮料的影响。

●尿液：应取中段尿约 3ml 放置灭菌试管中立即送检。

●粪便：将标本置于专用标本盒中，怀疑痢疾应取出粘液及血液处，怀疑伤寒时应发病 2-3 周时取标本。

●眼、耳、鼻、喉分泌物：用棉拭子蘸取少量生理盐水，取可疑处分泌物，置棉拭子于无菌试管内，封口后及时送检。

●浓液：用棉拭子先蘸取少量生理盐水，再蘸取浓液（尽量多取），将拭子置于消毒试管内封口后及时送检。

●血液：怀疑菌血症或败血症的患者进行血培养时，尽量在未使用抗生素前采血，如已使用抗生素，应选择血中抗生素浓度最低时采血。如检查病原体特异性抗体（IgG）时应采取急性期和恢复期双份血液，以判断感染前后抗体效价的变化。

●刺穿液：胸腹水、心包液、关节腔液、鞘膜积液等，严格灭菌操作抽取，注入含肝素抗凝的灭菌试管中，经充分摇动使肝素与穿刺液混合后再置入无菌培养瓶中送检。

●胆汁：由专科医生以无菌方式取引流液 3-5ml 注入灭菌管。

●脑脊液：无菌操作取 3-5ml 脑脊液，置无菌管保存送检，如做培养则置入灭菌血培养瓶内。

●生殖器官标本：阴道、宫颈、前列腺等分泌物由医师采集收集于无菌试管内送检。如怀疑淋病奈氏菌感染应床旁接种并及时放入孵箱中培养。因为奈氏菌不耐热、不耐低温，室温条件也易死亡。

●烧伤标本：以含有生理盐水的棉拭子直接采取多部位创面的浓汁或分泌物，置无菌试管中送检。

●病毒标本：应在发病早期采集病毒标本，因早期病毒量多。病毒不耐热应即刻放入低温环境或直接接种培养。

（二）标本的运送

➢标本的运送的要求是：保证标本的质量，避免标本外泄漏。运送的方式取决于需要运送的距离。

➢国际间标本主要采用航空方式。需要根据病原微生物菌（毒）种分类等级，按照世

界卫生组织关于传染性物质和诊断性标本安全运输指导方针和国际民航组织《危险物品航空安全运输技术细则》等具体规定进行。

➢2006 年我国开始支持执行《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或标本运输管理规定》，在国内一般由经培训的专业人员直接护送送检。

1. 运输的容器

●标本的容器需三层包装系统。由内到外分为主容器、辅助容器和外包装。

●主容器必须防水、防漏。多采用密闭、带螺旋盖的塑料容器，应贴有内容物名称的标签。

●辅助容器应为防水、防漏、结实、可封闭的塑料或金属瓶，并能经高压灭菌或化学消毒。以便定期消毒。与主容器间应有一定空间用以填充吸收性材料。

●外包装外醒目位置应贴有相应生物危险标识，警告用语或提示用语，包装内应附检验申请单或标本信息单。

2. 运输的具体要求

➢根据国家规定，运输高致病性病原微生物标本时，必须向省级卫生管理部门提交相应申请材料，获得准运证书后，由专人专车运输。护送人员不少于 2 人，且经过专业培训，并采取了防护措施。运输车辆上应备有防护用品和消毒用品，如遇标本泄漏应及时采取防

护、消毒等应急措施，同时向有关部门报告。运输单位需记录运送时间、运送地点、运送人等信息，以备卫生行政部门监督检查。

➢同一建筑物内的标本传递，可使用二层包装，即主容器和辅助容器，运送时将容器固定在一架子上，使标本容器保持直立状态。

3. 标本运输注意事项：

●及时运送。

●必要防护措施。

●相应条件提供：温度（多是低温，可用干冰、液氮等），运用介质（Hanks 液、水解蛋白液及抑菌药物），厌氧条件等。

●避免剧烈振动，防止溶血。

●准确无误。

（三）医学微生物学标本的保存与销毁

1. 标本保存的目的

●以最适宜条件确保菌（毒）种存活、高分离率，且不发生变异以备研究使用。积累整

理保存资料档案，便于查找、管理。临床标本原则上要及时送检、及时处理，不得保存。

2. 保存条件：

●冷冻干燥是菌（毒）种保存的首选，保存期限可达数年以上。短期保存可采用耐低温密闭容器放置 4℃或-20 ℃冰箱内。长期保存可放在冰冻管内置于-70 ℃冰箱或液氮中。

3. 标本保存的注意事项：

●专人负责

●保存的菌（毒）种或其他标本应有来源资料、实验资料、档案记录、出入库记录、保存相关记录。

●高致病性微生物的保存单位必须获得国家相应机构的获准认可。菌（毒）种的保存必须由专库、专柜单独保存。并实行双人、双锁保管制，同时应具有防盗和监控系统。

4. 标本的销毁

●要经实验室负责人批准并向上级单位负责人统一批准。

●按照感染废弃物处理方法规定进行销毁，过程中应有人监督，并做销毁和监督记录。

●高致病性微生物相关实验完成后应及时就地销毁样品。

六、医学生物实验室的污染控制

医学生物实验室的污染控制是确保实验室生物安全的重要措施之一。合理、有效的消毒与灭菌可以保证实验用品、实验环境以及污染废弃物达到生物安全。因此消毒和灭菌的基本知识和正确的实施方法对保证生物安全就显得十分重要。

1. 基本概念

■消毒与灭菌是两个不同的概念，灭菌可以包括消毒，而消毒却不能代替灭菌。消毒多用于卫生防疫方面，灭菌主要用于医疗护理。

（1）消毒（disinfection）：杀灭或消除传播载体上的病原微生物，使之达到无害化处理的物理或化学手段。根据针对有无已知传染源可分为疫源性消毒和预防性消毒。又可根据消毒时间的差异分为随时消毒和终末消毒。

（2）灭菌（sterilization）：杀菌和/或去除传播载体上所有微生物，包括病原微生物、非病原微生物及细菌芽孢，使之达到灭菌程度的方法过程。经过灭菌的物品成为“无菌物品”。

（3）消毒剂与灭菌剂

●消毒剂（disinfectant）：用于杀死病原微生物的化学品或化学混合物。但不一定杀死其芽孢。消毒剂常用于非生物体或其表面。

●灭菌剂（microbicide）：指能杀死一切微生物的化学品或化学混合物。该词可代替“生物杀灭剂(biocide)”和“化学杀菌剂(chemical germicide)。

●杀芽孢剂（sporicide）：可杀死微生物和芽孢的化学品或化学混合剂。

（4）无菌（asepsis）：指物体或局部环境中不存在活的微生物。防止外界微生物进入人体或污染物品或污染局部环境的操作技术成为灭菌操作，其主体行为就是灭菌。在微生物学实验、外科手术及许多医疗技术操作中都必须严格执行无菌操作。

（5）抗菌剂（antimicrobial）：能够杀死微生物或抑制它们生长繁殖的制剂。如抗生素。

（6）防腐剂（antiseptic）：能够抑制微生物生长和繁殖但不一定足以杀灭微生物的物质。低浓度的消毒剂可以作为防腐剂使用。

（7）清除污染（decontamination）：指去除和/或杀死微生物的过程，该词也适用于去除或中和有危害的化学品和放射性物质。

2. 消毒与灭菌的方法

（1）物理消毒法

■利用物理因子消除或杀灭病原微生物的方法称为物理消毒法。

Ⅰ.热力消毒法

■高温可以使微生物体内的蛋白质及酶类变性或凝固，从而丧失活性及相应的功能，进而使新陈代谢发生障碍，最终死亡。

a.干热灭菌法

■干热是指相对湿度在 20%以下的高热。是通过空气和物体本身导热达到一定的温度后起到消毒或灭菌作用。

➢热空气加热（干烤）法：通常在烤箱的热空气中进行。烤箱启动后，加热后的空气在一定的空间不断对流，产生均一效应的热空气直接穿透物体。热空气灭菌适用于玻璃器皿、瓷制品、各种粉剂、软膏及明胶海绵等。

➢注意事项：烤箱内待灭菌物不宜过多，以便空气流动；灭菌时间应从达到要求温度时算起；灭菌后待温度下降至 40℃以下，以防炸裂；灭菌途中不得打开烤箱；棉织品、塑料、橡胶不宜用此法。

■红外线照射法：红外线又称热射线，为 0.77 - 1000um 的电磁波，在 1-1000um 波段具有良好的热效应。该波段电磁波在照射处可直接换成热能，不需要空气传导，故加热快。

➢注意事项：热效应只在照射局部区域表面产生，不易使物体的各面均匀加热：红外线辐射产生的热效应与照射的距离和表面颜色有关，光源越远热效应越差，黑色表面热效应

最高，白色最低。

■传导加热法：将导热性能良好的金属或玻璃小型器材与已加热至高温的热源接触，使其快速升温。利用此原理进行热浴法、金属传导加热箱或玻璃珠加热罐等进行灭菌或消毒。

■强光加热法：利用可产生强光和高热的卤钨灯照射进行灭菌。只适用于金属、玻璃等耐热且导热快的物品灭菌。

■烧灼法：一些耐高温的器械（金属、搪瓷等）在急用或无条件用其他方法消毒时可用此方法。将器械放在火焰上烧灼 1-2 分钟，也可在物品表面洒少量乙醇（95%），加热同时使乙醇燃烧，从点火燃烧至熄灭约 1-2 分钟。该法还可用于无菌操作时的瓶（管）口及瓶（管）盖的灭菌等。锐利的刀剪为保护刀锋不宜用烧灼法。

■焚烧法：某些特殊感染，如破伤风、气性坏疽、绿脓杆菌等污染的医疗垃圾在焚烧炉内焚烧炭化灭菌。

b.湿热灭菌法

➢湿热灭菌消毒法是目前最好的方法，广泛地应用于医疗卫生、工业生产以及家居生活。该法主要是由空气和水蒸气导热，传热快，穿透力强。

■高压蒸气灭菌法：利用高压和高热释放的潜能进行灭菌。适用于耐高温、高压、不怕潮湿的物品。如手术敷料、器械、细菌培养基、药品等的灭菌。（潜能是指 1 克 100℃的水蒸气变成 1 克 100℃水时释放出 2252.2 焦耳的热量）

●高压蒸气灭菌温度与时间的选择一般多采用下列组合：134 ℃，3min；126 ℃，10min；

121 ℃，15-20min；115 ℃，25-30min。

●高压灭菌器（锅）从结构上可以分二大类：

➢下排式高压灭菌锅：蒸气在压力作用下进入灭菌器，由上而下置换较重的气体，使空气从排气阀排出，并通过增加锅内压力而提高温度进行杀菌。通常温度达 121 ℃，15 - 20min 即可杀死细菌芽孢，达到灭菌效果。该类型高压灭菌器内冷空气通常难以排除彻底，因此影响温度的提高。

➢预真空高压灭菌器：可预先将灭菌器内空气抽出形成真空，继而蒸气进入，并很容易增加压力使温度上升。通常可在 134℃条件下 3min 完成灭菌工作。虽然灭菌效果好，但由于需抽真空，故不能用于液体的高压灭菌。

●高压蒸气灭菌效果的监测：

➢工艺监测又称程序监测：通过灭菌器上的量器（压力表、温度表、计时表）、图表、指示针、报警器等来监测工作状态，能快速指出出现的故障，但不能确定待灭菌物品是否达到灭菌要求。

➢化学指示器监测：利用化学指示器材在一定温度与作用时间条件下变色或变形的特点，来判断是否达到灭菌所需参数。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/678040074045006050