

# 生物安全实验室的 个人防护、消毒灭菌及 废弃物处理

孙志平

54237286

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

以前的实验室…



现在的实验室对个人防护有了新的要求…

# 生物安全防护三原则

- 实验室生物安全防护的内容包括：

1. 安全设备、个体防护装置和措施（一级防护）

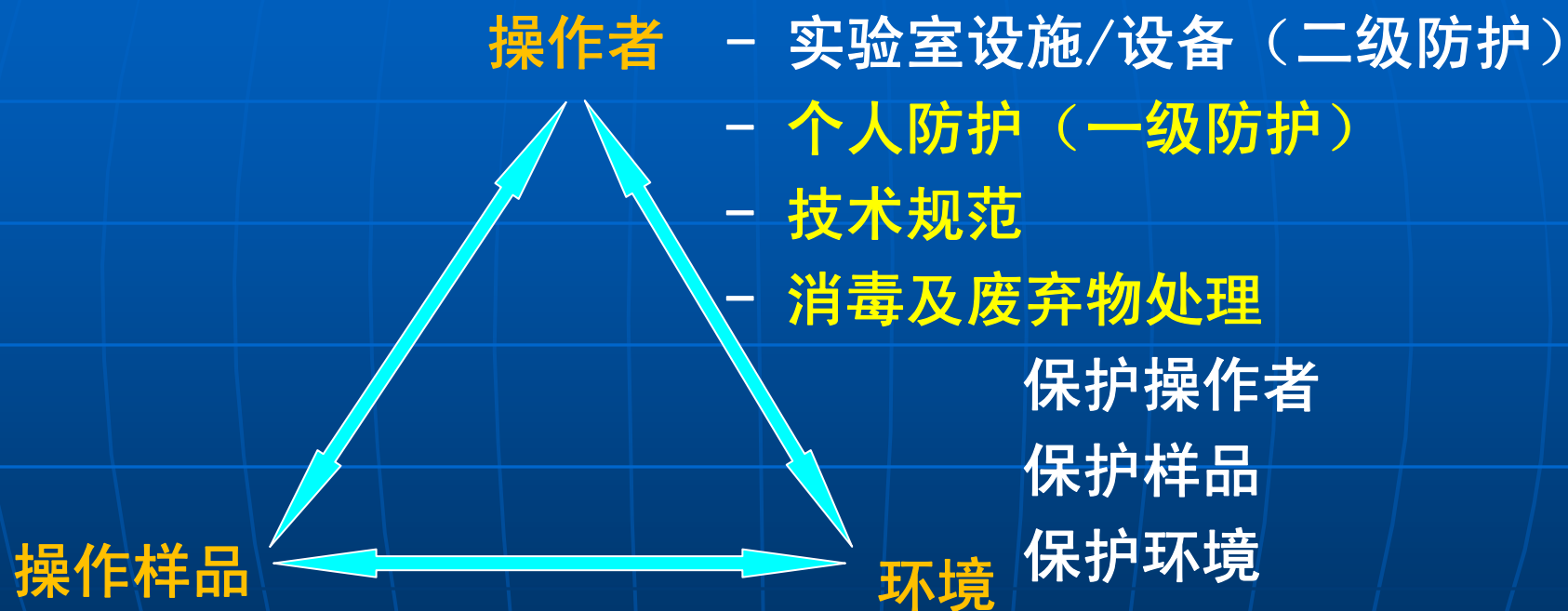
2. 实验室的特殊设计和建设要求（二级防护）

3. 严格的管理制度和标准化的操作程序与规程(SOP)等方面采取综合措施

- 确保实验室工作人员不受实验对象侵染

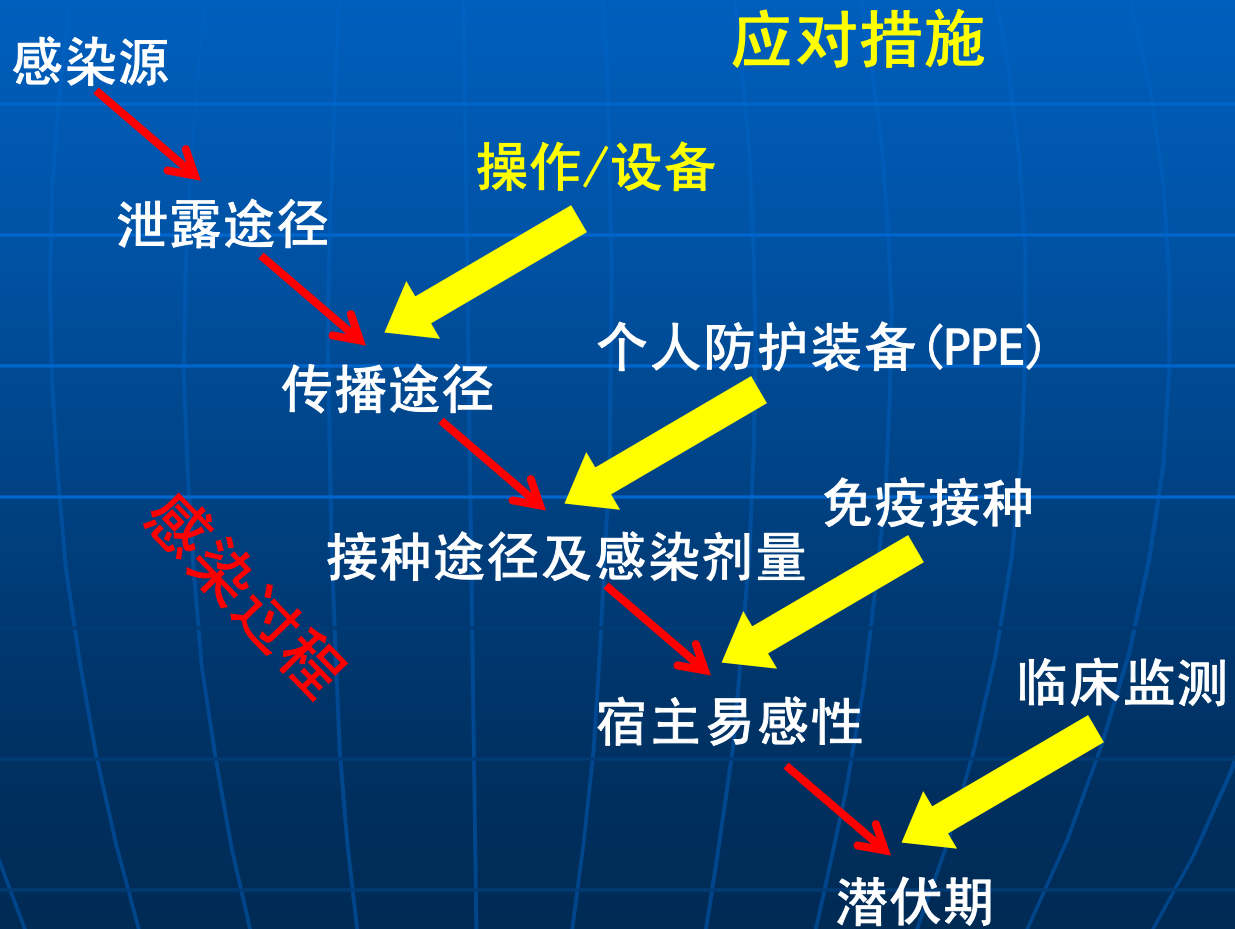
- 确保周围环境不受其污染

# 实验室生物安全的目标



# 生物安全实验室意外感染的应对

## 实验室感染链



# 感染源的重要传播途径-气溶胶

- 气溶胶是由固体颗粒、液体颗粒或液体及固体颗粒悬浮于气体介质中形成的均匀分散的多体系，可长时间悬浮于空气中。它们的粒子大小约在100-10000纳米之间，属于粗分散物系。
- 气溶胶能够携带烟尘、花粉、微生物（细菌、病毒）等。
- 产生来源：火山喷发、海水飞溅、汽车尾气、动物呼吸等等。

# 实验室气溶胶产生途径

- 移液器、注射器
- 漩涡搅拌、高速离心
- 开启压力容器
- 超声粉碎
- 组织研磨
- 加热接种环
- 动物鼻内接种
- 更换动物垫料



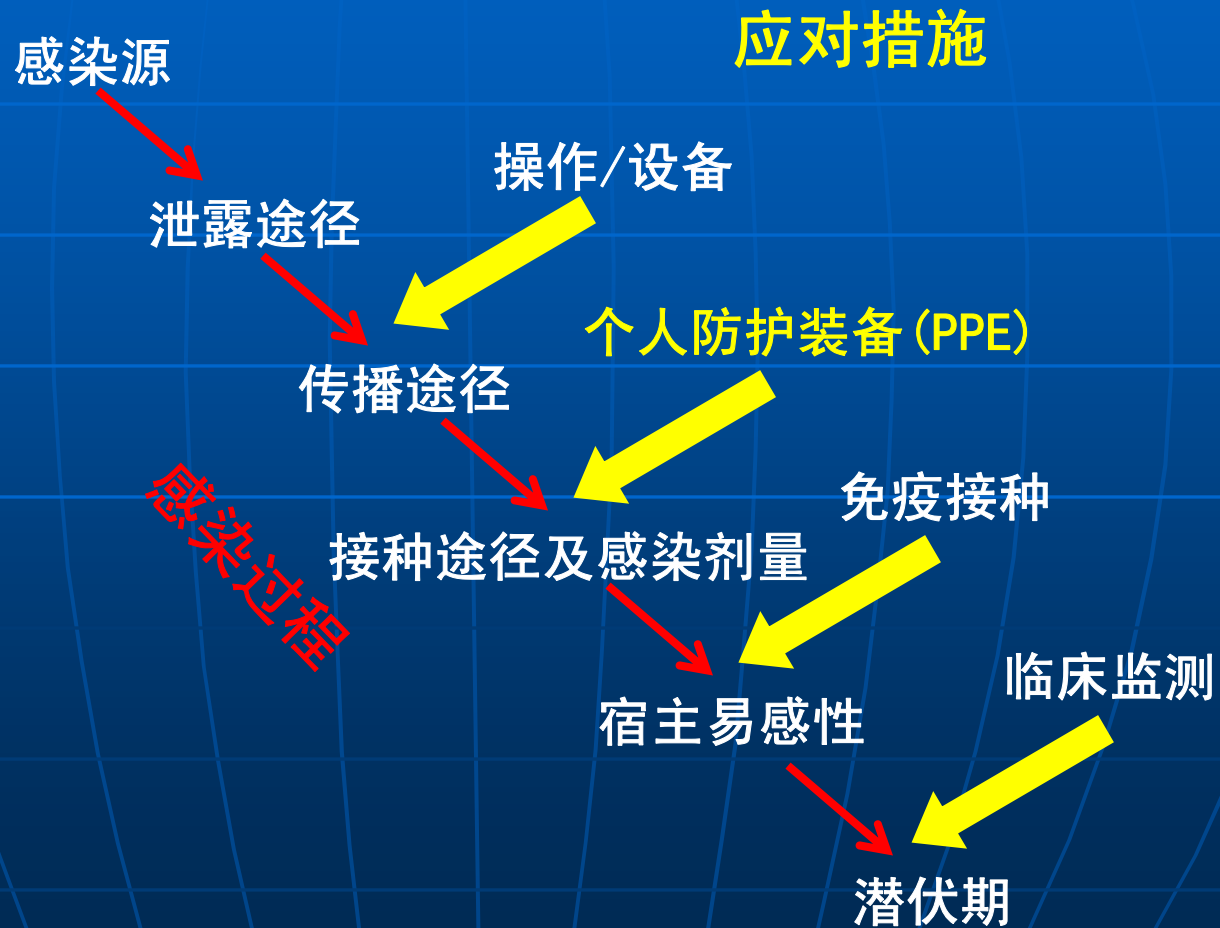
# 减少气溶胶产生





# 生物安全实验室意外感染的应对

## 实验室感染链



# 一. 个人防护装备

(Personal Protective Equipment, PPE)

是指用于防止工作人员受到物理、化学和生物等有害因子伤害的器材和用品。

在生物安全实验室中，这些器材和用品主要是保护实验人员免于暴露于生物危害物质（气溶胶、喷溅物以及意外接种等）危险的一种物理屏障。

# 个人防护装备

## 防护部位

— 眼睛



## 防护装备

眼镜（安全镜、护目镜）



— 头面部、呼吸道



口罩、面罩、防毒面具、帽子



# 个人防护装备

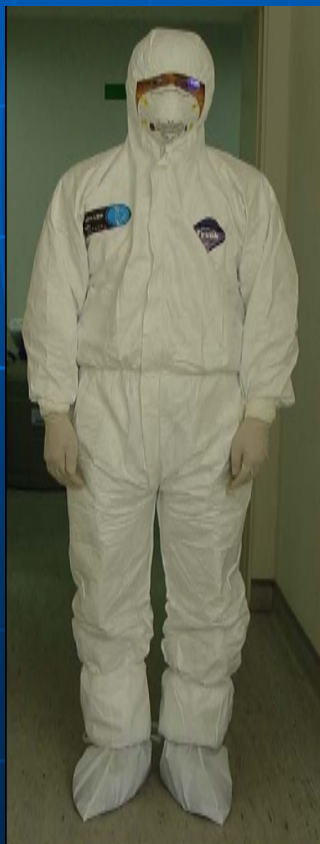
## 防护部位

躯体

## 防护装备

防护服

实验服、隔离衣、连体衣、围裙



# 个人防护装备

## 防护部位

- 手、足
- 耳部

## 防护装备

- 手套、鞋套、靴套
- 护耳器



# 个人防护装备选择原则

- 实验室工作人员必须根据**不同级别的生物安全水平**的实验操作选择个人防护装备。

要求工作人员必须十分了解和掌握

1. 实验工作的**性质和特点**
2. 实验工作所需要使用个人防护装备的**类型**
3. 正确的**使用方法**

# 个体防护的配备原则

## BSL-1实验室



- 工作人员在实验时应**穿工作服**。
- 工作人员手上有皮肤破损或皮疹时应**戴手套**。
- 必要时**戴防护眼镜**。

# 个体防护的配备原则

## ■ BSL-2实验室

除符合BSL-1的要求外，还应该符合下列条件：

1. 在实验室中应穿着工作服或罩衫等**防护服**。

离开实验室时，防护服必须脱下并留在实验室内。**不得穿着外出**。

用过的工作服应先**消毒**，然后统一洗涤或丢弃。

2. 当手可能接触感染材料、污染的表面或设备时应戴**手套**。

如可能发生感染性材料的溢出或溅出，宜戴**两副手套**。**不得戴着手套离开实验室**。工作完全结束后方可除去手套。

**一次性手套不得清洗和再次使用**。

3. 当微生物的操作不可能在生物安全柜内进行，而必须采取外部操作时，为防止感染性材料溅出或雾化危害，必须使用**面部保护装置**（护目镜、面罩、个体呼吸保护用品或其他防溅出保护设备）。



## ■ BSL-3实验室

除符合BSL-2的要求外，还应该符合下列条件：

1. 工作人员在进入实验室工作区前，应在专用的**更衣室**（或缓冲间）穿着**背开式**工作服或其他**防护服**。工作完毕必须脱下工作服，不得穿工作服离开实验室。

**可再次使用的工作服必须先消毒后清洗。**

2. **必须戴手套（两付）。**

在使用传染性物质或已被污染的仪器后，需脱去、换戴外层手套。在使用电话、计算机等设备进行文书工作前，必须换戴外层手套。一次性手套必须**先消毒后丢弃**。



3. 在实验室中必须配备有效的**消毒剂、眼部清洗剂或生理盐水**，且易于取用。可配备**应急药品**。
4. 有可能溅出或喷出传染性物质、危险试剂、或进行可能产生感染性气溶胶的操作时，需使用**面部和眼部防护器具**，当不能安全有效地将气溶胶限定在一定范围内时，应使用**呼吸保护装置**。
5. 当有程序不能在生物安全柜内处理时，要组合使用适当的操作人员防护设备（如面罩、呼吸器）和**物理容器设备**。

**谨记不能带着手套离开BSL-3实验室。**

**所有离开BSL-3实验室的物品必须正确消除污染，并放在干净的容器或袋子中。**

## 二.实验室的消毒与灭菌

- 消毒与灭菌的定义
- 消毒的管理与操作
- 实验室灭菌的管理与操作

# 消毒与灭菌的区别

## ■ 概念

**清洁**是指用物理方法清除物体表面的污垢、尘埃和有机物，目的是**去除和减少**微生物。

**消毒**是指用物理或化学方法消除或杀灭**芽孢以外**的所有病原微生物。只能将有害微生物的数量**减少到不致病**的程度，而不能完全杀灭微生物。也就是说只对繁殖体有效，**不能杀死细菌的芽孢**，有的只起到抑菌的作用。所用的消毒药物称消毒液。

**灭菌**是指用物理或化学的方法**杀灭全部微生物**，包括致病和非致病微生物以及芽孢。经过灭菌处理后，未被污染的物品，称无菌物品。经过灭菌处理后，未被污染的区域，称为无菌区域。

# 实验室消毒灭菌的特点

- **实验室生物安全工作的保障**  
(贯穿整个实验过程及实验结束)
- **物品类型多** (固体耗材、液体培养基...)
- **影响消毒效果的因素多** (消毒剂效力、消毒对象...)
- **消毒效果的最终确认需要较长时间**
- **实施前验证评估**

# 实验室消毒灭菌的质量管理

- 制定一个好的消毒灭菌程序或方案  
(plan)
- 按制定的消毒灭菌程序或方案进行操作  
(do)
- 采取正确的方法进行消毒效果评价、监测  
(check)
- 根据评价结果改进工作  
(advance)

# 消毒灭菌方案的制定

## 消毒灭菌方案应包括的内容

- 1. 明确消毒灭菌的目的 (why)
- 2. 确定对象和目标微生物 (what)
- 3. 明确消毒灭菌的时机 (when)
- 4. 确定消毒方法与选择合适的消毒因子 (how)
- 5. 操作人员 (who)
- 6. 对方案进行评估

# 1. 消毒的目的 (why)

- 保护工作人员健康，防止实验室感染；
- 保证实验正常进行；
- 避免污染环境。



## 2. 确定消毒对象 (what)

对象：对实验过程中**可能的污染物**应进行消毒处理。

包括各种实验物品、个人防护用品、空气、实验室的环境表面、废水、实验室废物和实验人员的身体（**特别是手**）等。

微生物：应考虑对实验微生物有效。



# 3. 明确消毒的时机 (when)

## ■ 及时性:

实验前：实验仪器、耗材等，保证实验结果。

实验过程中：操作对象，保护操作者。

实验结束后：实验废弃物，保护环境及实验人员。

## ■ 可操作性:

简便易于操作，避免使用复杂的消毒方式如同位素、微波、激光等。

避免影响实验对象，如将实验动物进行紫外照射。

# 4. 确定消毒方法

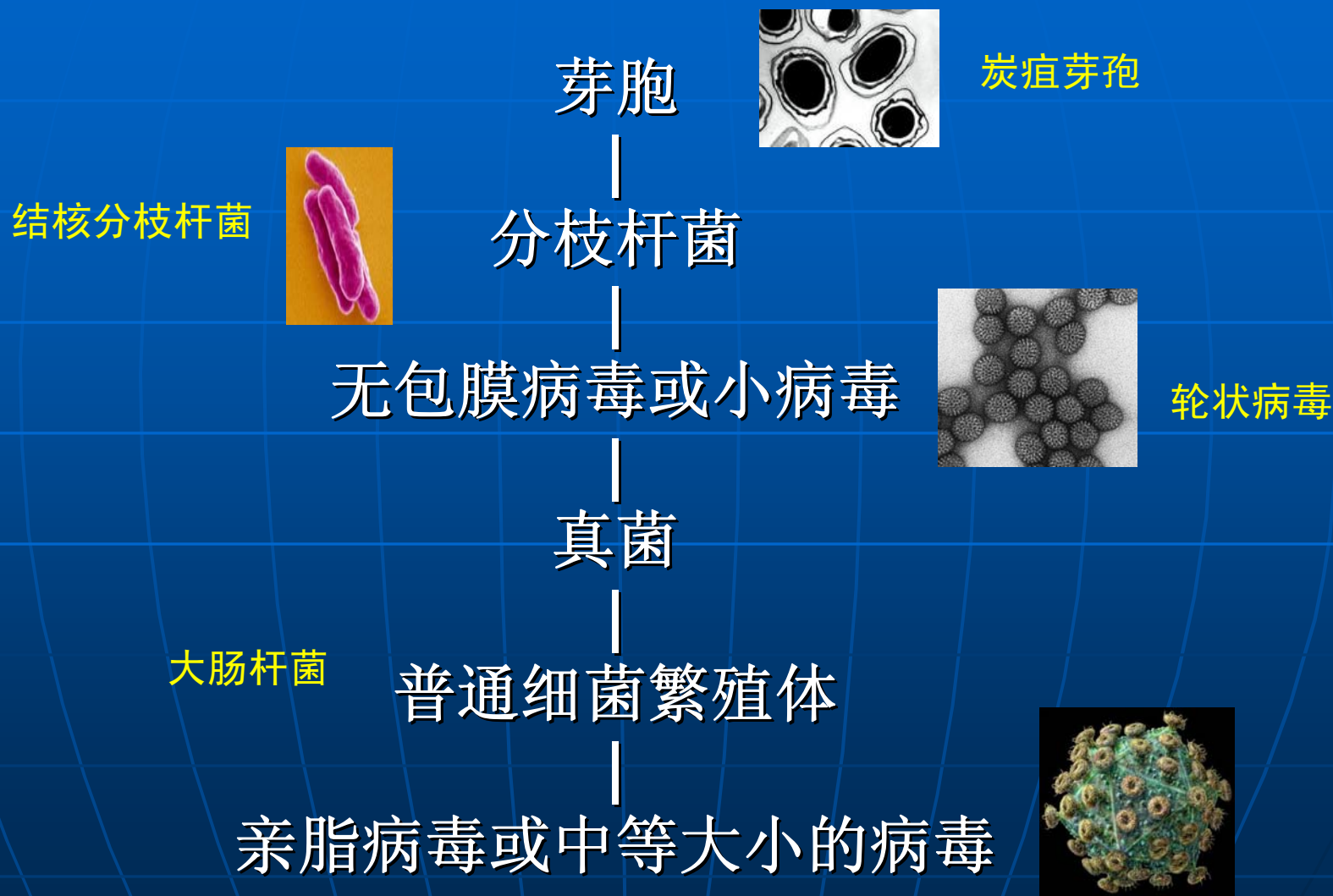
## 选择合适的消毒剂（how）

- **确保有效性：** 根据目标微生物选择有效的消毒剂。
- **对健康和环境的影响小：** 如氧化性消毒剂对金属有腐蚀作用，醛类消毒剂具有致癌作用等。
- **使用有许可证件的消毒产品：** 确认生产厂家的生产资质、产品合格证书等。
- **价格可以接受：** 消毒剂使用量大，必须考虑成本因素。

# 影响消毒效果的各种因素

- 病原体抵抗力
- 传播方式
- 消毒因子
- 消毒对象
- 消毒环境
- 消毒时间
- 实施过程

# 病原体对常见消毒因子的抵抗力



# 消毒因子

## ■ 物理因子：

热：干热、湿热

射线、微波和激光：紫外线，同位素射线

过滤、吸附与清洗：如0.22um、0.45um孔径过滤膜

## ■ 化学因子：

现配现用的消毒因子

商品化的消毒剂：高、中、低效消毒剂

## 高效消毒剂

杀灭大部分微生物

如：次氯酸消毒剂、84消毒液（含氯）、过氧乙酸等以氧化作用杀灭微生物

## 中效消毒剂

杀灭真菌、病毒及繁殖体

如：乙醇、甲醛等，使微生物蛋白变性，杀灭微生物

## 低效消毒剂

杀灭繁殖体和亲脂病毒

如：季铵盐等，使微生物细胞膜受损杀灭微生物

# 依据微生物(抵抗力、危害性)选择消毒的方法

- 1) 芽孢、孢子、分枝杆菌污染：高效消毒法
- 2) 经血传播病原体（HBV、HCV、HIV等）污染：高效消毒法
- 3) 真菌、亲水病毒、支原体、衣原体污染：中效消毒法
- 4) 一般细菌和亲脂病毒污染：中/低效消毒法
- 5) 以下两种情况下必须**增加消毒剂量**  
较多**有机物**（血清样品）的物品  
微生物**污染严重**时



# 根据物品性质选择消毒方法

- 1) 耐高温、耐湿度的物品和器材：压力蒸汽灭菌
- 2) 耐高温的玻璃器材、油剂类和干粉：干热灭菌
- 3) 不耐热、不耐湿物品：环氧乙烷或低温蒸汽甲醛气体消毒、灭菌
- 4) 金属器械：使用的消毒剂应选择对金属基本无腐蚀的消毒剂
- 5) 选择表面消毒方法：**光滑表面**可选择紫外线消毒器近距离照射，或液体消毒剂擦拭；**多孔材料表面**可采用喷雾消毒法

# 复旦大学三级生物安全防护实验室 消毒剂选择一览表

使用目的	消毒剂			
	75%乙醇	0.2%新洁尔灭	5000mg/L含氯消毒剂	37%甲醛
实验室台面消毒	√	×	×	×
<b>BSC</b> 台面消毒	√	×	×	×
地面及墙面消毒清洁	√	√	×	×
实验室房间空气消毒	×	×	×	√
生物安全柜空气消毒	×	×	×	√
清洁工具消毒清洁	√	√	√	×
<b>HIV</b> 实验样品消毒	√	×	√	×
<b>TB</b> 实验样品消毒	√	×	√	×
饲养笼具消毒	×	×	√*	×
动物尸体消毒	×	×	√*	×
少量实验样品外溢处理	√	×	√	×
大量实验样品外溢处理	×	×	√	×

## 5、人员（who）

- 实验室操作人员
- 专门的清洁消毒人员
- 专门的压力蒸汽灭菌器操作人员

# 消毒效果的实验室评价

- 浓度：有效浓度
- 时间：最佳消毒时间
- 消毒方法按实际使用时的方法
- 目标微生物不得检出

细菌：培养

病毒：PCR反应??

# 实验室灭菌的方法

## ■ 干热灭菌法

优点：对不耐湿物品有效如粉剂等

缺点：热穿透性差，条件较高，需要160–180℃ 2–4h

## ■ 湿热灭菌法

优点：热穿透性好，条件较低，需要121℃ 15–30min

缺点：对不耐湿物品无效

## ■ 射线灭菌法

优点：对不耐热物品有效如食品、饲料、塑料制品等

缺点：操作复杂，成本高

# 压力蒸汽灭菌法

压力蒸汽灭菌器是所有灭菌器中历史最久、应用最广、价格最便宜的灭菌设备之一。

- 适用于耐高温、耐高湿物品的灭菌。
- 适合处理含微生物的废水和固体废物。
- 不能用于凡士林等油类和粉剂的灭菌。

# 压力蒸汽灭菌器的种类

- 按冷空气排放方式：下排气 预真空
- 按蒸汽来源
  - 外来：集中供汽 随灭菌器的电蒸汽锅炉供气
  - 自身：加热灭菌锅内的水产生蒸汽
- 按门的多少：单侧开门 双侧开门 (BSL-3必须)
- 按蒸汽管的位置：套层式 套管式
- 按灭菌器的形状大小
  - 大型、小型
  - 立式、卧式、台式、移动式

普通的压力蒸汽灭菌器在设计时一般不考虑排出的冷空气对环境的污染，但处理有传染性的物品时需要对冷空气进行消毒处理，特别是生物安全实验室处理试验废物的压力蒸汽灭菌器在排气管道上都应该有冷空气消毒处理装置。

# 高压蒸汽灭菌器





# 灭菌物品的包装



- 包装材料应允许物品内部空气的排出和蒸汽的透入。
- 新包装材料在使用前，应先用生物指示物验证灭菌效果后方可使用。
- 下排气式的物品包，体积不得超过 $30 \times 30 \times 25\text{cm}^3$ ；预真空的物品包，体积不得超过 $30 \times 30 \times 50\text{cm}^3$ 。
- 盘、盆、碗等器皿类物品，尽量单个包装，包装时应将盖打开。
- 灭菌物品能拆卸的必须拆卸，如对注射器进行包装时，管芯应抽出。必须暴露物品的各个表面（如剪刀和血管钳必须充分撑开）以利灭菌因子接触所有物体表面。
- 捆扎不宜过紧。
- 灭菌器不可装填过满



# 压力蒸汽灭菌所需时间 (min)

	121℃ 下排气	132℃ 预真空	132℃ 脉动真空
硬物(裸露)	15	4	4
硬物(包裹)	20	4	4
织物包	30	4	4

# 灭菌后处理

- 检查包装的**完整性**，若有破损不可作为无菌物品使用。
- 每批灭菌处理完成后，应按流水号登册，**记录**灭菌物品包的种类、数量、灭菌温度、作用时间和灭菌日期与操作者等。
- 合格的灭菌物品，应标明**灭菌日期**，**合格标志**。
- 灭菌后的物品，应放入洁净区的**周转桶**内。周转桶应由不易吸潮、表面光洁的材料制成，表面再涂以不易剥蚀脱落的涂料，使之易于清洁和消毒。



# 压力蒸汽灭菌效果的监测

- 物理监测法
- 化学监测法
- 生物监测法
- B-D 试验
- PCD
- 快速压力蒸汽灭菌质量的监测

# 灭菌过程的监测

- **实时监测**：应该对灭菌锅内、套层内和蒸汽输送管道内的温度、压力等因素进行实时监测。应该对灭菌各步骤的时间进行记录。
- **化学指示卡(管)监测**：将既能指示蒸汽温度，又能指示温度持续时间的化学指示管(卡)放入物品包中央，经一个灭菌周期后，取出指示管(卡)，根据其颜色及性状的改变判断是否达到灭菌条件。
- **生物监测**：将嗜热芽孢杆菌监测管置于试验包中心部位。经一个灭菌周期后，取出管中的培养基，经 $56^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养至说明书规定时间，观察培养基颜色变化。检测时设**阴性对照和阳性对照**。

# 三. 实验室废弃物的处理

- 实验室废弃物处理的相关法规
- 实验室废弃物处理的具体环节
- 实验室废弃物处理的方法

# 相关法规

- 中华人民共和国传染病防治法
- 中华人民共和国固体废物污染环境防治法
- 医疗废物管理条例
- 医疗废物管理行政处罚办法
- 医疗卫生机构医疗废物管理办法
- 医疗废物分类目录
- 医疗废物专用包装物、容器标准和警示标识规定

# 具体环节

- 预处理
- 分类收集
- 内部运送与暂存
- 外部运送与存放
- 集中处置



# 预处理

- 对含病原体的培养基、标本和菌毒种保存液等高危险废物，应首先在**产生地点**进行压力蒸汽灭菌或者化学消毒处理，然后按感染性废物收集处理。
- 进入城市污水系统的废水应达到排放标准。

# 分类收集

- 实验室废弃物应根据《医疗废物分类目录》分别收集。
- 放入容器中的感染性废物不得重新取出。
- 废弃物产生地点应有分类收集方法的文字说明和示意图。



# 医疗废弃物分类

- **感染性废物：**携带病原微生物具有引发感染性疾病传播危险的医疗废物。
- **病理性废物：**诊疗过程中产生的人体废弃物和医学实验动物尸体等。
- **损伤性废物：**能够刺伤或者割伤人体的废弃的医用锐器。
- **药物性废物：**过期、淘汰、变质或者被污染的废弃的药品。
- **化学性废物：**具有毒性、腐蚀性、易燃易爆性的废弃的化学物品。
- **其他：**废弃的麻醉、精神、放射性、毒性药品。

# 感染性废弃物归纳为3类

- 医学标本、血液、排泄物和其他体液及它们污染的物品；
- 收治的隔离传染病人的生活垃圾；
- 实验室菌毒株及含菌毒株的培养基。

# 收集

收集医疗废物的容器包括**包装袋和周转箱**两种。

应当使用**双层包装**，废物达到**3/4**时，应封口。

# 包装袋

- 基本要求

材质：不得用PVC

容积： $\leq 0.1\text{m}^3$

厚度：低密度的 $150\ \mu\text{m}$ ，中、高密度的 $80\ \mu\text{m}$

标识：有文字说明，如“感染性废物”，有警示标识

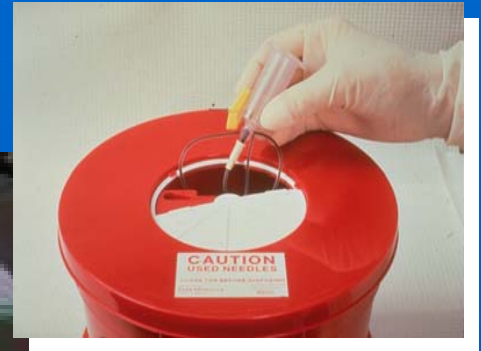
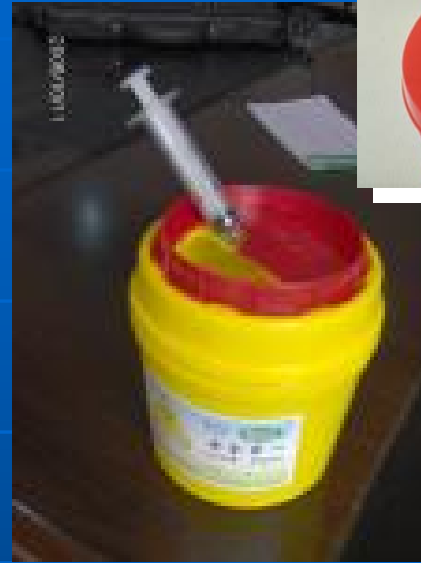
完好性：不漏、不破、不穿孔

- 技术性能要求：外观、物理机械性能和规格



# 利器盒

- 硬质、密封、防开启
- 防穿透、防摔
- 易焚烧
- 黄色，有“损伤性废物”标识
- 有警示标识
- 规格尺寸按用户要求



# 周转箱



- 基本要求

硬质材料、防液体渗漏

重复使用的能快速清洗消毒

黄色、有文字说明和警示标识

- 技术性能要求

原料、外观、规格、物理机械性能等

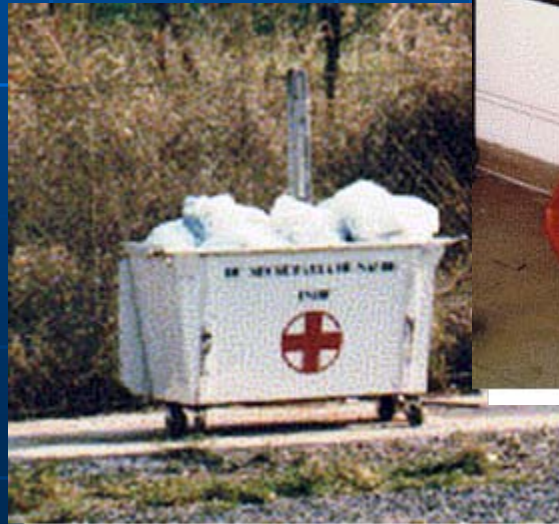


# 内部转运

- 运送人员每天按**规定的时间、线路**运送；
- 运送前应**检查标识、标签和封口**是否符合要求；
- 使用防漏、防洒无锐利边角的**专门运输工具**并及时清洗消毒；
- 注意**个人防护**。

# 暂存

- 有严密的封闭措施，防渗、防雨水，避免阳光直射，防鼠、防蝇、防蟑螂，有标识和警示；
- 不超过2天；
- 定期清洁和消毒；
- 有废物登记记录；
- 一般使用周转箱。



# 处理

- 集中处理的原则
- 高度危险性物品就地消毒后再集中处理
- 处理方法：焚烧



# 思考题：

1. 外出跟团旅游时，团员发生发热或腹泻症状，结合微生物及本节生物安全知识，应该做出哪些措施以达到保护个人及群体的健康安全。
2. 结合本节课的各部分内容，以四川震灾为例，论述当发生大批人员死亡时，如何防止大型传染病的发生以及救灾人员的个人防护问题。
3. 根据本节课的知识，讨论如何在世博会展区范围内开展生物安全应急防范工作。

# 上海世博会生物安全防范工作

- 胡锦涛：倾全国之力办平安世博
- 预计游客超过**7000**万人次
- 世博前生物安全突发事件应急演练
- 要求实现“四无”：
  - 无任何安全事故
  - 无任何感染事件
  - 无任何材料丢失
  - 无生物恐怖袭击事件发生

# 上海世博会生物安全防范工作

- 2008年奥运会：一类停，二类限，非必须不开展
- 2009年国庆：一类停，二类严，重点控
- 2010年世博会：??

# 公共生物安全突发事件应急措施

- 就地防护：隔离
- 媒介生物的防护：消杀灭
- 免疫防护：根据情况储备疫苗血清
- 药物防护：储备相应治疗药物、抗生素

谢谢！