



结核病实验室生物 安全手册



世界卫生组织



结核病实验室生物 安全手册



世界卫生组织

WHO Library Cataloguing-in-Publication Data

Tuberculosis laboratory biosafety manual.

1.Laboratories – standards. 2.Laboratory infection – prevention and control. 3.Tuberculosis – diagnosis. 4.Containment of biohazards. 5.Laboratory manuals. 6.Guideline. I.World Health Organization.

ISBN 978 92 4 550463 4

(NLM classification: WF 220)

© 世界卫生组织，2013年

版权所有。世界卫生组织出版物可从世卫组织网站 (www.who.int) 获得，或者自WHO Press, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland (电话: +41 22 791 3264; 传真: +41 22 791 4857; 电子邮件 bookorders@who.int) 购买。要获得复制许可或翻译世界卫生组织出版物的许可 - 无论是为了出售或非商业性分发，应通过世卫组织网站 (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html) 向世界卫生组织出版处提出申请。

本出版物采用的名称和陈述的材料并不代表世界卫生组织对任何国家、领地、城市或地区或其当局的合法地位，或关于边界或分界线的规定有任何意见。地图上的虚线表示可能尚未完全达成一致的大致边界线。

凡提及某些公司或某些制造商的产品时，并不意味着它们已为世界卫生组织所认可或推荐，或比其它未提及的同类公司或产品更好。除差错和疏忽外，凡专利产品名称均冠以大写字母，以示区别。

世界卫生组织已采取一切合理的预防措施来核实本出版物中包含的信息。但是，已出版材料的分发无任何明确或含蓄的保证。解释和使用材料的责任取决于读者。世界卫生组织对于因使用这些材料造成的损失不承担责任。

Designed by GPS Publishing

Printed in Italy

WHO/HTM/TB/2012.11

目录

执行概要	V
参编人员	VI
缩略词	VII
引言	1
1. 结核病实验室的风险评估和分级	4
1.1 结核病实验室风险评估：这是什么？	4
1.2 确定危害物	4
1.3 确定风险	4
1.4 监测风险和缓解措施	7
1.5 员工职业卫生规划	7
1.6 结核病实验室的分类	8
2. 结核病实验室的基本生物安全措施	9
2.1 工作守则	9
2.2 设备	12
2.3 设计和设施	12
2.4 培训	13
2.5 废弃物处理	13
2.6 污染材料的处置程序	14
3. 低风险结核病实验室	16
3.1 增加感染风险的因素	16
3.2 具体特征和最基本的实验室安全措施	16
4. 中等风险结核病实验室	19
4.1 增加感染风险的因素	19
4.2 具体特征及最基本的生物安全措施	19

5. 高风险结核病实验室（结核病防护实验室）	22
5.1 增加感染风险的因素	22
5.2 具体特征及所需的生物安全措施	22
6. 安全设备	24
6.1 生物安全柜	24
6.2 带有安全桶的离心机	29
6.3 高压灭菌器	29
7. 个人防护装备与服装	31
7.1 隔离衣	31
7.2 呼吸罩	31
7.3 手套	32
8. 应急准备与应对方案	34
8.1 应急准备预案	34
8.2 结核病实验室应急响应步骤	34
8.3 溢洒处置包	35
9. 参考文献	36
附录1：参会人员名单	38
附录2：利益关系声明	40
附录3：同行审查小组人员名单	41

执行概要

2008年9月，世卫组织和美国疾控中心在美国佐治亚州亚特兰大市联合召开了技术协商会议。该会议围绕可用于改善全球范围内的实验室生物安全状况的策略、方法和合作伙伴关系进行了讨论。2009年4月，在瑞士日内瓦世卫组织总部召开了专家组会议，此次专家组会议旨在精心编制适用于诊断结核病的实验室操作的生物安全指南。专家组成员均提交了利益关系声明，上述声明在会议举行前由世卫组织的法律部门进行了审定。本次会议的目的在于对设立最低标准所必需的实验室操作和设计基本原则达成共识，以保证在不同国家及流行病学环境中进行结核杆菌镜检、培养、药物敏感试验和分子检测的生物安全。

本手册是基于专家组会议的精神而编撰的。本手册所推荐的生物安全措施均基于对不同类型的结核病实验室开展的不同技术操作的相关风险进行评估的结果。本手册描述了对设施和操作的基本要求，可以根据地方或国家的规范或风险评估结果对这些要求进行改编。进行风险评估时，需要仔细的判断：一方面，低估风险可能导致实验室工作人员暴露于生物危害物；另一方面，设置比实际需要更严格的风险消除设施可能导致对实验室工作人员增加不必要的负担，并可能增加建立和维护实验室运转的成本。进行风险评估时，应该考虑材料的细菌载量（比如标本和培养物）、细菌的活性、处理材料在所评价操作中是否容易产生气溶胶、实验室工作量、疾病的流行病学特征以及实验室工作人员的健康状况；还应当考虑那些可能影响暴露于结核杆菌的可能性或暴露结局的因素。

本手册建议的目标阅读对象是实验室和结核病规划的主管和管理者以及负责结核病检测的实验室工作人员，特别是结核病高负担的欠发达地区的工作人员。在本手册中，“结核病实验室”是指开展结核病检测的实验室或部分实验区域。

本手册建议针对特定的实验室，这些实验室遵循明确流程检测可能含有结核分枝杆菌的样品。对于其他不同病原体 and 不同操作程序的任意组合，也可采用相似的方法规定其生物安全防护措施。

本手册于2012年5月获得了世卫组织指南审查委员会的批准，并且对其与世卫组织出版的《生物安全手册（第三版）》不同之处进行了解释。本手册旨在告知生物安全的要求和标准，而非取代现有国家级要求和标准。本手册建议不能代替任何地区级或国家级的规章条例。

预定评审日期：2017年

参编人员

参与本手册编写的人员如下：

Christopher Gilpin (Lead), Jean Iragena, Fuad Mirzayev, Wayne van Gemert, Karin Weyer

参与2008年9月2-4日在美国乔治亚州亚特兰大市由世卫组织和美国疾控中心联合举办的实验室生物安全国际技术协商会议的人员如下：

May Chu, Daniela Cirillo, Philippe Dubois, Christopher Gilpin, Paul Jensen, Shanna Nesby, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Veronique Vincent, Karin Weyer.

2009年4月8-9日在瑞士日内瓦世卫组织总部召集的专家组成员如下：

Jenny Allen, May Chu, Daniela Cirillo, Sébastien Cognat, Philippe Dubois, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Jean Iragena, Paul Jensen, Moses Joloba, Jean Joly, Sang Jae Kim, Scott Kreitlein, Shanna Nesby, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Andrew Ramsay, Peter van't Erve, Veronique Vincent, Karin Weyer.

2011年8月22-23日在瑞士日内瓦世卫组织总部召集的技术审查小组的部分成员如下：

Alice da Silva Telles, Sara Irène Eyangoh, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Jean Iragena, Moses Joloba, Fuad Mirzayev, Satoshi Mitarai, Richard O'Brien, Daniel Orozco, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, Leen Rigouts, Thomas M Shinnick, Akos Somoskovi, Magdi Samaan, Wayne van Gemert, Elsie Van Schalkwyk.

同时，编者要感谢编撰世卫组织《实验室生物安全手册（第三版）》的专家们，本文件中的部分内容参考上述手册。

本文件的编撰和出版得到了美国国际开发署和美国疾控中心的资助。

缩略词

ACH	每小时换气次数
AFB	抗酸杆菌
BSC	生物安全柜
DST	药物敏感性试验
HEPA	高效微粒空气（过滤器）
MDR-TB	耐多药结核病
XDR-TB	广泛耐多药结核病

术语定义

产生气溶胶的操作	可能由于机械力的作用增加飞沫核产生几率的高风险操作（比如移液，涡旋震荡，离心或混合）。
空气传播	由悬浮在空气中的仍具有传染性的飞沫核播散而传播疾病
每小时换气次数	实验室整体空间体积每小时外排并更换清洁空气的次数。
缓冲间	引导从实验室的一个区域进入另一个区域的小房间（比如引导进入受结核分枝杆菌污染的实验室区域）。
生物安全管理方案	通过将行政管理、防护措施、实验室操作和步骤、安全设施、应急准备和实验室设备相结合，确保实验室工作人员在进行传染性微生物操作时的安全性。
飞沫核	直径小于5微米的飞沫失水后的残留物。
外排空气（排气）	使空气从实验室排出并且不再循环（至室内）。
良好微生物技术	良好微生物技术包括无菌技术和其他操作；其他操作是指可能尚未正式界定，但对于防止实验室操作污染或环境污染是必须的操作。
危害物	任何可能引起伤害的事物，无论伤害是否易于发生。
混合通风	机械通风和自然通风的组合（也称为“混合模式通风”）。

传染性气溶胶	含传染性介质的悬浮颗粒，该颗粒可能被吸入并引起感染。
实验服	实验服通常为长袖并在胸前扣紧。在结核分枝杆菌低风险或中等风险的试验区工作时应当穿戴实验服。
隔离服	隔离服应该为长袖，袖口具弹性（至少30毫米宽）并且在后背系紧。应为员工提供不同尺寸的隔离服。在结核分枝杆菌高风险的试验区工作时应当穿戴隔离服。当实验室技术人员站立时，隔离服必须延伸至实验台高度以下。当实验室技术人员端坐时，隔离服必须完全遮盖其膝盖。
自然通风	使用自然力引导和散布室外空气进入或排出实验室。
机械通风系统	机械通风系统通过排风扇将空气抽离实验室。
气室	气室是指位于生物安全柜上部的一个空间，在此空间内，一部分空气被排出生物安全柜，其余部分提供给试验区域。
风险	与某个特定危害物相关的事件发生的可能性及其后果。
风险评估	顾及现有控制措施的完善性，对一种或多种危害物引发的一重或多重风险进行评估的过程；该过程也包括判断此风险是否可以接受。
灭菌	可以杀灭所有类型的微生物和芽孢的操作过程。
通风	通风使得室外空气引入建筑物或实验室房间，并且将空气扩散于全实验室。对于生物安全措施而言，室内通风的目的在于引入清洁空气，稀释实验室可能产生的气溶胶，并且提供一定速度的空气交换率，从而提供适于呼吸的健康空气。

引言

实验室生物安全是综合应用行政管理、预防措施, 实验室操作规程、安全设备、应急准备和实验室设备等措施和手段, 使实验室工作人员能够安全处理具有潜在传染性的微生物的过程; 生物安全也致力于预防对病原体的意外暴露或病原体泄漏事故。本手册描述了不同级别结核病检测实验室为减少实验室获得性感染风险而应当采取的最低生物安全措施。

如果本国已建立针对结核病实验室和操作程序的具体要求, 本手册建议不应替代现有国家级生物安全指导意见。然而, 实验室主管、管理人员、生物安全专业人员以及实验室规划管理人员应当利用本手册, 告知并指导实施针对开展结核病诊断相关检测和操作的实验室及其网络的最低生物安全要求。

风险评估是促进风险考虑, 并综合每个实验室现有的检测流程、工作人员技术特长和设施的具体特点, 制定适宜实验室的生物安全操作的一种手段。风险评估最好能够在单个实验室水平上进行, 但是实际中却无法推行, 特别是在结核病高负担且地方支持和监管资源有限的国家, 要逐个评估成千上万的仅进行相对低风险操作的基层实验室尤为困难。因此, 本手册提供了针对结核病实验室网络的实用建议, 并且聚焦于特定的操作流程, 如痰涂片镜检、培养、药物敏感性试验以及分子检测方法。

生物安全手册的编撰过程

本结核病实验室生物安全手册改编自世界卫生组织出版的《实验室生物安全手册(第三版)》²。手册内容主要依据世界卫生组织和美国疾控中心联合举办的技术协商会议(2008年9月)、世界卫生组织致力于解决结核病实验室诊断流程所涉及的生物安全问题的专家组会议(2009年4月)以及独立的外部评审专家所达成的共识(2011年8月)而制订。

本手册重点致力于满足结核病控制规划的特殊需求, 并促进适用于多层级的结核病实验室系统的高效生物安全措施的实施。同时, 本手册应与世界卫生组织出版的《实验室生物安全手册》一同阅读, 因为《实验室生物安全手

册》中介绍了实验室生物安全的一般要求, 如非结核病实验室所特有的危险化学品、火灾及其他危害物的处理, 传染性物质的运输和培训等。

专家组会议

世卫组织在瑞士日内瓦召开了专家组会议。只有与会者参与了制定建议的初始讨论和后续讨论。专家组成员是经过筛选的, 以代表和平衡为制定与结核病相关的特定实验室生物安全指南所必需的重要观点。专家组成员包括技术专家、终端用户、生物安全柜制造商以及生物安全专业人员(专家组成员名单列于附录1)。

利益关系声明

专家组成员均提交了利益关系声明。他们的声明内容参见附录2。这些声明在召开本次会议前由世卫组织法律部门进行了审定, 并且在会议开始时由专家组主席进行了总结。会议宣布来自两个公司的代表(Peter van't Erve 和 Scott Kreitlein)具有重大利益冲突并设定其为观察员身份。这两名代表均未参与本手册中任何建议的制订。

外部同行评审过程

在世卫组织总部对本手册进行了外部技术评审。在本手册合适之处引用了评审人员的关注点, 并因此为本书提供相关内容。参与同行评审的人员名单列于附录3。

理由和过程

下一章节解释了违背先前指导方针的理由。此外, 标题为“专家组建议”的文本框用于解释现行建议与世卫组织出版《实验室生物安全手册》的不同之处以及产生上述差异的原因。

世卫组织指南审查委员会¹于2012年5月对综合证据和制定本指南的过程进行了审查并予以批准。下次审查的预定时间为2017年。

本手册与世卫组织《实验室生物安全手册（第三版）》的不同之处

结核病实验室网络的操作风险评估

世卫组织出版的《实验室生物安全手册》²建议，对每个实验室进行风险评估以确定合适的操作流程、处理方法和预防措施。本手册的不同之处在于提供了实用性的建议，这些建议是基于以结核病诊断为目的的特定实验室操作，通常情况下这些操作由不同层级结核病服务机构所实施。上述建议旨在指导国家级结核参比实验室更好地理解与特定流程操作相关的风险；国家级结核参比实验室的职责是管理国家级及地区级结核病实验室网络。上述建议也旨在促使国家级参比实验室能够在适宜设施中应用合理的生物安全操作方法，并确保训练有素的工作人员在合乎标准的范围内开展结核诊断试验。

在许多资源有限的结核病高负担地区，尚缺乏足够的生物安全技术专长，不能建立国家规划以对所有实验室开展个体化的风险评估。为了扶持这些规划，开展了致力于建立共识的协商过程，以对上述地区结核病实验室经常发生的风险进行评估，并且确定安全地开展结核病实验室检测的最低生物安全标准。

用于撰写指南的标准

2008年，欧洲标准化委员会出版了实验室生物风险管理标准CWA15793³，该标准重点强调了成功建立并实施生物风险管理系统所需要考虑的关键因素。该标准支持使用基于风险的评估方法，而非依照世卫组织《实验室生物安全手册》所描述的病原体或实验室安全的风险分级或者防护级别。根据CWA15793标准所建原则制定本生物安全手册，并且对结核病机构进行诊断操作的人员提供指导，明确最低生物安全要求。

风险组别分级的应用

《实验室生物安全手册》建议不同国家按照风险组别起草国家级或地区级的微生物分级方法。对于同一种病原体的风险组别划分可能因为地区或菌株而异。这可能归因于病原体在不同地区的流行特征或实验室获得性感染的风险不同。

重要的是，要认识到实验室不同人员感染结核杆菌后发病的几率不同，并且感染人群中仅有一小部分在有生之年发展为活动性结核病⁴。诸如HIV感染者或孕妇等免疫力低下的人群，可能是易患结核病的高风险人群，因此必须采取额外的预防措施。

因此，与CWA15793标准一致，本手册采用基于风险的评估方法，而非使用《实验室生物安全手册》中所描述的病原体或实验室安全的风险分级或者防护分级。

生物安全等级的确定

《实验室生物安全手册》描述了生物安全的四级分类系统。对处理不同风险组别的病原体所需的设计特点、布局、控制设施、设备和操作以及规程等因素进行综合考虑，最终确定生物安全等级。很多人经常错误地认为某特定风险组的微生物（比如风险度3级）需要生物安全等级相当的实验室（即生物安全3级）来实施安全操作。然而，根据所实施的特定操作和其他因素，更高或更低的生物安全等级可能更合适（见本手册第一章）。

《实验室生物安全手册》规定，某特定工作需要何种生物安全等级应基于风险评估结果而做出专业判断；而非依据病原体所属特定风险组，就机械地认为应该需要相应的生物安全等级。本手册中制定的方法以《实验室生物安全手册》的指导方针为基础，并且使用规范方法进行风险评估。经空气传播是结核病的主要传播途径⁴。本手册并非为特定操作设定一个特殊的生物安全等级，而是界定为降低某特定操作的风险所需要的最低标准，其考虑因素包括气溶胶风险、可用设施以及减少感染所需的设备、操作和规程。

降低风险

生物安全柜的使用

实验室获得性感染经常源自未察觉情况下产生的包含结核杆菌的传染性气溶胶。尽管直接接种或吞咽也会导致感染结核分枝杆菌，但是感染结核分枝杆菌主要通过吸入传染

性气溶胶，因此，对于进行结核病检测的实验室而言，最严重的危害（或风险）是传染性气溶胶的产生。在对含有结核杆菌的液体进行操作时可能产生传染性气溶胶。飞沫核沉降在物体表面后，不会再气溶胶化并且被认为是不具传染性的^{5,6,7}。换言之，结核分枝杆菌通常只通过空气而非表面接触传播⁸。

在评估气溶胶风险时，两个重要的考虑因素是操作物的细菌载量和操作物产生气溶胶的可能性。对于痰标本（检测结核病最常用的标本）而言，细菌载量范围为从0（对于多达90%的检测标本而言处于此种情况）到 10^3 - 10^4 /ml（在稀疏涂片分级（scanty smear grading）的痰标本中），到 10^6 /ml（在阳性级别3+标本中）⁹。在痰标本的培养物中，细菌载量可能超过 10^9 /ml。由于痰标本的粘性，与操作液体培养物相比，操作痰标本时产生传染性气溶胶的可能性要小得多。因此，直接操作痰标本的风险显著低于操作培养物。

最后，本手册认为进行直接痰涂片镜检时，生物安全柜不是必需的；这也是本手册不同于世卫组织《实验室生物安全手册》之处。专家组成员认为，对直接暴露于由特定操作产生的传染性气溶胶的实验室人员或其他人员而言，感染结核分枝杆菌是已被证实的风险。对于与结核病实验室特定操作相关的风险，其证据仍然有限。韩国进行的一项回顾性研究¹⁰表明，与普通人群相比，进行直接抗酸杆菌涂片镜检的技术人员感染结核的相对危险度为1.4（95%置信区间为0.2-10.0）；进行药物敏感性试验的技术人员的相对危险度为21.5（95%置信区间为4.5-102.5）。专家组成员推断，生物安全柜不是进行直接痰涂片镜检所必需的。专家组成员发现，对于采用良好微生物技术的操作人员，直接涂片镜检产生传染性气溶胶的风险很低，如果能够确保充分通风，上述操作可以在开放的操作台上进行。这一建议与先前的指导意见一致^{11,12}。

1. 结核病实验室的风险评估和分级

1.1 结核病实验室风险评估：这是什么？

世界卫生组织出版的《实验室生物安全手册》²描述了生物安全级别的四级分类系统（1-4级），阐述了生物安全基本概念，为制定国际或国家级操作准则提供了广泛的指导。结核病规划管理者和实验室员工（特别是在资源有限的地区）所面临的挑战是如何将通用的风险组别划分和实验室安全等级转化为与国家活动密切相关的具体防护措施。因此，当描述结核病实验室需求时，使用生物安全1-4级已带来了困扰：哪些预防措施是必需的？

对一个特定实验室而言，要确定哪些生物安全措施最为恰当，应当采用基于风险评估的方法，评估过程需要全面考虑实验室开展的不同类型的操作所涉及的风险。风险评估需要仔细判断：一方面，低估风险可能导致生物安全受到威胁，但另一方面，比实际需要更严格的防护设施可能对实验室员工和管理环节增加不必要负担——包括财政和人力资源两方面。

对结核病实验室进行风险评估时需要考虑：

- 材料（比如痰标本和培养物）的细菌载量以及结核杆菌的活性；
- 结核病的传播途径；
- 所处理材料和各规程所需操作是否可能产生传染性气溶胶；
- 每种技术可能产生气溶胶的操作步骤数；
- 实验室工作量以及员工人数；
- 实验室位置；
- 疾病的流行状况以及本实验室所服务患者数量；
- 实验室技术人员的经验水平和工作能力；
- 实验室员工（尤其是HIV阳性技术人员）的健康状况。

此外，实验室人员控制危害物的能力必须予以考虑。他们的能力取决于所有实验室技术人员的工作能力、技术熟练度和微生物操作经验；防护设施的正确操作程度；机构安全设施；以及标准操作程序的可用性和合理使用情况。专栏1提供了进行常规风险评估的细节。表1和表2总结了通常用于评估结核病实验室风险的考虑因素，以及在结核病实验室中进行不同操作的相关风险。专家组用这些考虑因素来确定在结核病实验室中进行不同操作所必需的最低生物安全要求。

实验室管理者负责确保实施本手册所述的最低生物安全防护措施，并且确保有恰当的标准操作程序、设备和设施可用于支持正在进行的工作。应当定期核查实验室生物安全防护措施，必要时进行修正，特别是在引入新操作或者新技术后。

为确保尽可能安全地开展工作，应当按照风险评估结果确定适宜的实验室设备、个人防护装备以及设施的设计特征，这些需要成为实验室每项技术的标准操作程序的一部分。

1.2 确定危害物

危害物是指任何可能引起伤害的事物，无论伤害是否易于发生。危害物可能是一种物理状况（如火灾或爆炸），一个动作（如吸液）或一种物质（如包含感染性细菌的气溶胶）。除非有效地确定危害物，否则不可能对设施及其活动相关风险做出正确评估。

1.3 确定风险

风险是接触特定危害物的可能性以及与特定危害物相关事件的后果。应明确风险是否存在并进行分类，同时确定需要控制哪些风险或使之降低到最小限度。本手册所述及的气溶胶化风险分析已促进确定结核病实验室不同操作所必需的最低生物安全要求。

专栏1. 如何对一个结核病实验室开展操作风险评估

风险评估是一个需要考虑微生物和操作的危害特征的主观过程，有时候的判断基于不完整信息。风险评估只是一个仔细检查的过程，以确定工作中哪些操作可能对人造成伤害；这种评估促使你权衡是否已经采取足够的防护措施还是应该采取更多措施以预防伤害¹³。实验室工作人员和其他人有权利避免因未采取合理防护措施而受到伤害。目前尚无开展风险评估的标准方法，下列步骤可用于指导该过程。

1. 确定内在危害物。不同的结核菌株对个体或群体的危害程度不同。耐药结核菌株，特别是耐多药结核病a和广泛耐多药结核菌株b的危害程度更高，其原因在于其治疗方法有限或治疗效果更差，因而对患者造成的伤害更大。无论是出于患者选择还是当地流行状况，所操作菌株更可能为耐药型的实验室应当考虑设置更高级别的防护措施。
2. 确定哪些人可能受到伤害以及如何受到伤害。结核病实验室最主要的操作风险与生成气溶胶有关，这些气溶胶可能被实验室工作人员吸入造成感染。这些气溶胶与特定操作密切相关，其产生更可能取决于检测频度或工作量、材料粘稠度及其气溶胶化倾向（比如，粘稠的液体对比干燥的固体）、实验材料的细菌载量以及细菌活性。同样重要的是，要意识到不同实验室员工对结核病的易感性存在差异。免疫力低下的个体——由特定药物、HIV感染或怀孕引起——可能是感染结核的高风险人群。如果有免疫功能受损的人员在结核病实验室中工作，那么咨询熟知结核病的职业医师是非常重要的。
3. 评估风险并确定防范措施。
 - a. 确定物理结构的适用性。最终确定结核病风险的恰当等级及所需的额外防护设施，需要全面了解在当前设施之内开展的操作、现有安全设备和防护措施等情况。如果风险评估结果表明需要改变所选结核病风险级别的特定防护措施，一名具有生物安全风险管理经验的专业人员则应当独立验证此判断，并且在加强设施的二级防护屏障之前为实验室管理者提供相关信息和建议。
 - b. 评估实验室人员遵循安全操作的熟练度。实验室员工和相关人员的防护本质上依赖于自身。在进行风险评估时，实验室管理者应当确认工作人员具有进行良好微生物实验操作所需的技术熟练度，拥有安全处理潜在传染性材料所需的设备，并且他们在进行实验操作时已经形成一贯的良好作风。确保人员能够胜任实验室工作、具有处理传染性物质的经验、精通无菌技术和生物安全柜的使用、有能力处理突发状况并且愿意承担保护他/她自身和其他人的责任，这是实验室人员能够安全工作的重要保障。

专栏1. 如何对一个结核病实验室开展操作风险评估（续）

- c. 评估安全设备的完善性。实验室管理者应当确保必需安全设备是可用的，经具备资质的专业人士认证可以正常使用，并且日常检测其完善性。比如，一台未认证的生物安全柜意味着可能导致使用者及实验室其他人员面临严重风险。此外，实验室工作人员应当接受开展简单日常检查的培训，以确保实验室设备正常运转。比如，他们应该检查离心机转子的盖子是否破裂，O型环位置是否正确且未被损坏。应当对生物安全柜进行简单的日常检查以确保空气正确的流入每台生物安全柜。

4. 记录结果并应用。应当记录风险评估过程中的发现以及所需采取的预防措施，并将之纳入标准操作程序。风险评估结果将表明核查正确，并且确定何人将因特定操作而面临风险。尽管不可能完全消除结核病实验室的危害物（如产生气溶胶），但是必须采取仅存低风险的合理防护措施。
5. 复查评估结果，必要时更新。应当定期对可能存在风险的流程和操作进行复查；这应当变为标准流程以促进并确保安全的实验室操作。已实施的生物安全防范措施应当至少每年核查一次；在风险评估之后，以及通常在引入新操作或技术后，必要时应当修改这些防范措施。
 - ° 耐多药结核病：由至少对异烟肼和利福平同时耐药的结核分枝杆菌菌株所引起的结核病。
 - ♭ 广泛耐多药结核病：由同时对一种氟喹诺酮类药物和至少一种二线注射类药物（阿米卡星、卡那霉素和卷曲霉素）耐药的结核分枝杆菌所导致的耐多药结核病。

表1. 为确定接收结核检测样品的实验室所需的防护措施，进行操作风险评估时需要考虑的因素

与所有结核病实验室相关的因素	考虑因素
致病性	未经治疗的结核病患者的病死率为30 - 50%；大约30%长期暴露于传染性结核病患者的人群感染结核；5 - 10%的感染者发展为结核病患者。
首要传播途径	吸入感染性飞沫核
次要传播途径(实验室少见)	摄入或直接接种
稳定性	结核分枝杆菌在环境中能保持一段时间活性
感染剂量	对人而言，大约吸入10个结核杆菌 [°] ；在动物研究中，感染剂量范围为1-1000个结核杆菌，取决于该物种的易感性
免疫力正常的人群对结核病的易感性	5 - 10%的免疫力正常的感染人群在有生之年发展为结核病患者
免疫力低下的人群对结核病的易感性	每年有5 - 10%免疫力低下的人群发展为结核病患者
在结核病高负担地区在社区获得性感染结核的风险	高
有效疫苗	无，无可用的
对不同药物敏感的菌株开展有效的治疗	可以
对MDR菌株有效的治疗	可以，但是比治疗敏感菌株更加困难
对XDR菌株有效的治疗	可供选择治疗药物很少

MDR，耐多药结核病；XDR，广泛耐多药结核病。

° 基于动物研究推测的数目。

表2. 为确定在不同级别结核病实验室开展特定操作所需的防护措施，进行风险评估时需要考虑的因素

因操作或实验室类型不同而变化的因素	操作名称		
	直接痰涂片 - 显微镜检查	处理痰标本用于培养	处理培养物, DST
与非实验室人员相比，实验室人员感染实验室获得性结核的相对危险度 (95% CI) ¹⁰	1.4 (0.2 – 10.0)	7.8 (1.7 – 34.9)	22 (4.5 – 102.5)
操作物的细菌载量	可变的	可变的	一致高： >10 ⁸ /ml
结核杆菌活性	不确定但假设较高	操作过程能杀灭90%的结核杆菌	高
各个流程所需操作产生传染性气溶胶的可能性 ^{9,10}	低	中	高

CI，置信区间；DST，药物敏感性试验。

根据对资源有限结核高负担地区的结核病实验室所通常遇到的操作风险进行评估的结果，专家组制定了确保进行结核病诊断不同操作的工作人员安全的最低要求。只要可能，每个实验室应该开展自我风险评估，以确定需要采取哪些额外措施来为其实验室技术人员提供适当防护。

本文件所述建议旨在为国家政策提供信息，而非废除或代替任何国家规范或条例。第3、4和5章中描述了降低结核病实验室风险所需的最低要求。

1.4 监测风险和缓解措施

实验室管理者应该进行常规审查以监测风险及控制措施。要实现此目的，可通过检查早期确定问题后采取纠正措施的报告，彻底调查意外事件或事故并实施预防措施，以及保证提供足够资源来维持必需等级的防护措施。记录风险评估过程并确定缓解措施，这是必要且重要的环节，以确保所选择并实施的生物安全措施得以不断改进。

- 下列事件发生时，应当进行一次全新的操作风险评估或审查已完成的评估：开始新工作或改变现有工作规划，或者改

变工作流程或工作量；

- 新建或改建实验室，或者引进新设备；
- 更改实验室人员配置（包括合同工和其他非核心人员使用，或者接纳参观者的需求）；
- 更改标准操作流程或者工作实践（例如，改变消毒或者垃圾管理规定，更改个人防护装备的配置或使用，更改进出门规定）；
- 实验室突发事件（比如，大量溢洒）；
- 确证或疑似实验室获得性感染；
- 考虑应急反应和应急计划需求；
- 现有管理体系的审核过程（比如，每年或者其他合适的预定频度）。

1.5 员工职业卫生规划

员工职业保健规划应当创立一个安全健康的工作环境。要实现此目的，需要将任何暴露因素降至最低限度，迅速检测并处理暴露，并根据源自实验室意外事件和事故的经验教训来强化安全防范措施。在开始结核病实验室工作之前，应当考虑给所有员工进行基线体检并

提供常规随访检查。提供职业卫生服务的医务人员应当熟知结核病实验室中潜在健康风险的本质，并且拥有获取专家咨询意见的渠道。为了及时获得适宜的健康评估和治疗服务，应当可获得便利的医疗服务。

1.6 结核病实验室的分类

根据正在进行的活动及其相关风险，可将结核病实验室设施划分为三种主要的操作风险级别：

- 低结核病风险
- 中等结核病风险
- 高结核病风险(如结核病防护实验室)。

气溶胶产生的可能性是确定风险等级和必需缓解或控制措施的关键考虑因素。当使用良好微生物技术进行操作时，直接痰涂片镜检产生气溶胶的风险很低，因此上述操作可以在

一个可保证充分通风的开放操作台上进行。在世界卫生组织关于结核控制实验室服务的指导意见中，阐明了进行直接痰涂片镜检时要遵守的安全操作指导和建议^{11,12}。

即使采用良好的微生物技术，液化痰标本的操作——比如处理痰液用于标本消化和培养接种、直接药敏试验以及直接线性探针试验等——与其他技术相比仍然增加了产生气溶胶的风险；因此，上述操作应该在生物安全柜中进行。用于间接药敏试验或线性探针试验的培养物操作过程中涉及高浓度结核杆菌和产生高风险气溶胶的步骤；上述操作必须在结核病防护实验室的生物安全柜中进行。表3中列出不同风险级别的结核病实验室所需的合理活动、操作风险评估结果以及最低限度的防护措施。

收集患者痰标本可能存在危害，不应该在实验室中进行。应设立一个与实验室隔开的通风良好的区域用于痰标本收集。该区域最好设在户外。

专家组推荐

专家组注意到，世卫组织出版的《实验室生物安全手册》²建议
只要进行传染性样品操作时就要使用生物安全柜。

专家组发现，在采用良好微生物技术的情况下，
开展直接痰涂片—显微镜检查产生传染性气溶胶的风险较低，
因此该操作可以在一个开放的操作台上进行，条件是保证充足的通风。
该建议与之前的指导文件一致^{11,12}。

表3. 结核病实验室风险防护级别、相关实验室活动和风险评估

结核病实验室 风险级别 ^o	实验室活动	风险评估
低风险	直接痰涂片 - 镜检；使用自动化核酸扩增检测试剂盒的标本前处理过程（如Xpert MTB/RIF）	标本产生气溶胶的风险低；感染性颗粒浓度低
中等风险	处理并富集痰标本用于在基本培养基上接种；直接DST（比如，对处理过痰标本进行线性探针试验）	标本产生气溶胶的风险中等；感染性颗粒浓度低
高风险（结核病防护实验室）	培养物操作用于菌种鉴定；培养分离物的DST或者线性探针试验	标本产生气溶胶的风险高；感染性颗粒浓度高

DST, 药物敏感性试验。

^o风险级别取决于实验室人员因实验室操作而感染结核的可能性大小。

2. 结核病实验室的基本生物安全措施

所有的结核病实验室，无论开展何种操作，都应制定一套必要的生物安全措施，以尽量降低风险。这些措施会影响：

1. 工作守则
2. 设备
3. 实验室设计和实验室设备
4. 健康监测
5. 培训
6. 废弃物处理。

根据实验室所进行的特定测试和操作风险评估结果，可对如下所述措施进行补充和修改，以应对不同级别的风险。（更多的细节见第3章、第4章和第5章。）

2.1 工作守则

工作守则所介绍的实验室操作和程序对于实施良好（这里指“安全”）微生物学技术至关重要。实验室管理者应通过工作守则制定操作程序，并且应遵守这些程序以更安全的工作。此安全手册或操作手册还应明确已知和潜在的危害，并明确特定的措施和程序以最大限度降低相关风险。

实验室专业设备应始终配置，却永远无法取代正确的操作和良好微生物技术。

工作守则列出的最重要的概念如下。

2.1.1 实验室进入

- 国际生物危害警告标志和符号必须在实验室门上显示。
- 只有被授权的人士才允许进入实验室的工作区。
- 儿童不应授权或允许进入实验室的工作区。

2.1.2 实验室管理者的职责

- 实验室管理者有责任确保制定和采纳生物安全管理制度、安全（或操作）手册

以及一套标准化操作程序。

- 管理者应确保工作人员接受过培训，且他们操作不同程序的技术能力已经通过评估。
- 应该将特别危害告知工作人员，并且要求其阅读安全（或操作）手册并遵循标准操作和程序。管理者应确保所有工作人员已阅读相应手册，并签署一项关于已理解安全（或操作）手册的声明。应该把一份最新安全（或操作）手册放在实验室内以便查阅，并标明发行日期。
- 必须建立一个针对供暖、通风、空调和控制（定向气流）系统的永久的维护计划，以确保这些系统始终正常工作。

2.1.3 个体防护装备

- 工作人员任何时候在实验室工作时都必须穿实验室防护服。在实验室以外的区域（例如，在食堂、咖啡厅、办公室、图书馆、职员房间及厕所）不能穿防护服。实验服和隔离服必须与个人衣物分开区域放置。清洁的隔离服和已使用过的隔离服必须存放在实验室不同区域。实验服和隔离服至少每周更换一次，但不可以在家中清洗。
- 隔离服应是长袖、弹性袖口（至少30毫米长），并且在身体背面系带。应为员工提供不同尺寸的隔离服。在结核感染高风险的实验室工作时，必须穿隔离服。
- 实验服通常是长袖，在身体正面系带。应该为工作人员提供不同尺寸的实验服。
- 在进行所有涉及到直接接触或可能意外接触到痰液，血液，体液及其他潜在感染材料的操作时，必须佩戴手套。使用后，丢弃手套应做无菌处理，双手洗净。
- 有明显污染后，传染性物质处理完成后，以及每次离开实验室前操作人员均

应用肥皂彻底清洗双手，摩擦至少15秒；用干净的水冲洗；并使用干净的纸巾擦干。自动化或不使用手的龙头是更佳的选择，但如果没有，应使用纸巾关闭水龙头，避免二次污染干净的手。

- 在实验室禁止进食、饮水、吸烟、使用化妆品和处理隐形眼镜。
- 在实验室的工作区内的任何地方禁止存放食物或饮品。
- 在实验室内不能穿露趾鞋。
- 在实验室内不应该使用移动电话。

2.1.4 操作

- 所有操作必须以尽量减少或防止气溶胶和液滴形成的方式进行（见专栏2）。
- 严禁用口移液。
- 任何材料都不应放入口中。实验室中使用的所有标签必须是不干胶。
- 针头和注射器的使用应受到限制，它们不应该用作移液的替代工具。
- 可能从实验室移出的书面文件应避免污染。

- 所有被污染的材料，标本和培养物在丢弃或重复使用前必须进行灭菌处理。
- 任何事故、泄漏和传染性物质的潜在暴露风险，必须报告实验室管理者。需要保留有关此类事件发生情况和纠正措施的记录，以供未来制定预防措施时借鉴。
- 在实验室中必须制定关于处理事故和泄漏的标准操作程序，并且该标准操作程序在实验室可以获得。每年必须进行相应培训以保证程序已被采纳应用，并且成为一个自动应对过程。
- 样品的包装和运输，必须遵循相应的国家或国际法规。
- 必须制定标准操作程序，工作人员必须接受相应的培训并且具备操作能力。解释程序的手册必须放置在实验室的不同位置以供方便获取。应该每年对该标准操作程序进行审查。标准操作程序应包括风险评估，确定及实施缓解措施和控制措施的详细内容。

专栏2. 如何最大限度地减少气溶胶的产生

通过工程控制措施（例如，生物安全柜和房间通风）和使用个人呼吸防护装置（如呼吸罩），可以帮助预防与吸入传染性气溶胶相关的实验室获得性感染。然而，为减少实验室感染风险，最重要的考虑应是最大限度地减少气溶胶的产生。一些减少气溶胶的产生的实际操作步骤适用于所有结核实验室，而另外有一些则只适用于中等风险或高风险实验室。

对于所有实验室

- 制备涂片时，使用涂菌棒或一次性接种环要比使用需要加热灭菌、可重复使用的接种环更安全。
- 如果使用可重复使用的接种环，应该使用封闭微型灼烧器或本生灯进行加热消毒。可重复使用的取菌环在灭菌前应使用酒精—沙罐清洗。
- 当准备用涂菌棒或接种环涂片时，应缓慢的、平稳的移动，以避免产生气溶胶。
- 在涂片完全自然干燥前，不要移动或加热固定涂片。

对于中等风险和高风险结核病实验室

- 不要从移液管中强行排出传染性的液体。
- 不要移液管中强行排出空气进入具有潜在传染性的液体中。
- 当使用移液管将试剂添加入具有潜在传染性的液体中时，应将移液管贴在容器的内壁并轻轻地排出液体。
- 避免在一个敞口的培养管中戳破气泡或薄膜。可通过以下方法来避免：给培养管加上管盖，轻轻拍打培养管的上部，静置培养管使产生的气溶胶沉淀后再重新打开。
- 当离心分离标本或培养物时，应在一个密封的安全杯或密封转子内进行，以避免释放的气溶胶进入离心机及实验室。始终在生物安全柜内打开安全杯或密封转子。
- 离心、涡旋或晃动标本和培养物后，应将容器在生物安全柜内静置至少10分钟，待气溶胶沉淀后方可开盖。
- 切勿涡旋敞口的试管，在涡旋和震荡时始终确保管盖拧紧。进行涡旋的试管不要使用棉塞或橡胶瓶塞。
- 请勿通过反复加入和完全排空移液管混合或悬停传染性物质。
- 涡旋后的试管应放置10-15分钟以尽量减少气溶胶的传播，尤其试管中含有高浓度的结核杆菌时。
- 确保在轻轻倒出液体时，试管持有一定角度以使液体沿着试管或废弃容器的侧壁留下，尽量减少任何飞溅。
- 只能将微量移液器的一次性吸头插入到试管或容器中，切勿将微量移液器枪管插入试管或容器中。

2.1.5 工作区域

- 实验室应分为“功能性洁净”和“潜在性污染”区，在洁净区进行行政和筹备工作。实验室管理者应对洁净区和污染区的进出进行控制，并且应强制执行。
- 实验室应保持整洁干净，并且只存放执行日常工作所需的材料和设备。不使用或已无法使用的设备和材料应移出工作区域。
- 发生任何潜在传染性物质溢洒时以及在每个工作阶段结束时，必须对工作台表面进行灭菌处理。（请参阅第8章其他信息中关于溢洒的部分。）

2.2 设备

选择设备应遵循的一般原则 — 即设备应该：

- 使用防止或限制操作者直接接触传染性物质的设计；
- 材料构造应是防水和耐腐蚀的；
- 制作光滑，没有锋利的边缘，无可随意移动的部件；
- 设计、结构和安装均致力于操作简便，且易于维护、清洁、灭菌和认证检测；应尽可能避免使用玻璃器皿等易碎材料。

除了在不同的风险级别实验室需要的特定设备外（详见第3，第4和第5章），其余关于生物安全柜的更多信息均在第6章中阐述，关于其它安全设备的更多信息在第7章中阐述。在中等风险或高风险的实验室，使用生物安全柜提供主要防护，防止特定操作产生的传染性气溶胶的传播。

2.3 设计和设施

合理的实验室设计和结构有助于保护所有实验室工作人员，并提供了一个屏障，保护社区居民免受实验室所产生的结核杆菌气溶胶感染。实验室应具备的特征包括不同实验区相互独立和具备通风系统，这些都是次级防护措施。

推荐用于实验室的次级保护措施取决于实验室执行的操作和相关传播风险。

在低风险的结核病实验室，次级保护措施包括将实验室工作区与公共区域分开，确保废物处置合理，以及提供洗手设施。在高风险的结核病实验室，则要增设一个缓冲间，作伪额外的次级保护屏障，使实验室工作区与公共区分开。

实验室管理者负责提供与实验室的功能和实验室风险级别相称的设施。

设计结核病实验室时，应特别注意已明确会构成安全危险的普遍问题，包括使用可渗透表面，工作区人满为患，未经授权的人员进入实验室，实验室内部及周边工作人员和病人的流动，以及设计不合理的工作流程等。

下面列出了建议基本结核病实验室设计需具备的特点。

- 必需有充足的通风和定向气流。
- 必须提供充裕的空间，以保证实验室工作安全进行，并便于清洁和维护。
- 实验室墙壁、天花板和地板应平整光滑，易于清洁。地面应防滑。
- 实验室台面应防水，耐受实验室中通常使用的化学品和消毒剂；还应耐受中等程度的加热。
- 照明应足够满足实验室的所有活动的要求。避免不良反射和眩光。不得使用窗帘。
- 实验室家具应牢固，应采用防水且易于消毒的材料。不应使用有布覆盖的家具。
- 实验室工作台，实验柜和设备之间及其下方应有开放空间以便于清洗。
- 实验室必须有足够的存储空间以容纳需立即使用的供应品，防止杂物堆放在台面和实验室外的走廊上。需长期存放的供应品，应在一个工作区位置便利的额外的空间储存。
- 实验室应提供一个独立的区域，用于安全配制、处理和存储酸剂、染料和溶

剂。

- 实验室应提供一个工作区外的空间，用于储存个人衣物和物品。
- 实验室应提供一个工作区外的空间，用于进食、饮水和休息。
- 实验室里的每个房间都应配备洗手池和肥皂，洗手池最好在出口附近。建议使用自动或不需要用手关紧的水龙头。洗手池附近应配备自动取纸机。
- 实验室的门应该有一个玻璃窗口面板并具有相应的防火等级；实验室的门应可自动关闭。
- 实验室应有可靠和充足的电力供应。

2.4 培训

人为错误和技术水平差会使已就位的保护实验室工作人员的最佳措施大打折扣。实验室工作人员应被充分告知风险，具备良好的实验室操作能力和安全意识，这对于预防实验室获得性感染、意外事件和事故而言是必需的。

所有人员应接受安全培训；这包括审查工作守则和纳入安全手册的操作和程序。实验室管理者应确保工作人员接受培训，且人员执行不同的操作的能力已经通过考核。培训内容通常包括需要遵循的安全操作守则，以避免或尽量减少吸入、摄入和接种的风险。培训的内容还应该包括如何正确地消毒和处置具有传染性的材料。

2.5 废弃物处理

废弃物管理程序必须遵守国家或当地政府的相关要求和规定。废弃物是指任何要丢弃的物品。按照废弃物风险最小化的首要原则，应对所有感染性材料进行消毒、焚烧、处理后掩埋或高压灭菌。应使用垃圾袋将废弃物进行分类。大多数的玻璃器皿、仪器和实验服将被重复使用或回收。

任何物品或材料从实验室移除之前要询问的主要问题是：

- 是否使用正确的程序对物品或材料进行

了有效的灭菌或消毒？

- 如果没有，它们是否已使用封闭的容器或袋子包装，并立即进行了现场焚烧或高压灭菌？
- 处置已经消毒的废弃物品的过程对于操作人员或者实验室外可能接触这些废弃物的人员，是否还存在任何额外的潜在危害或风险？危害或风险属于生物学类型的还是其他类型？

无论废弃物是否已被消毒，使用焚烧方法来处置实验室废弃物均是有效的。只要实验室管理者确保焚烧方法正确操作，可通过焚烧来替代高压灭菌方法对感染性材料进行处理。

2.5.1 焚烧

正确焚烧危险废弃物需要具有控制温度的有效手段和一个次级燃烧室。许多焚化炉，尤其是那些只有一间燃烧室的焚化炉，传染性物质或塑料的处理效果不能令人满意。如果使用此类焚化炉，可能不能彻底处理某些材料，从烟囱流出的微生物、有毒化学品和烟物可能会污染大气。然而也有很多焚烧炉具有多个燃烧室，其处理效果是令人满意的。理想情况下，主室的温度应至少为800°C，次级燃烧室的温度至少为1000°C。为了达到所要求的温度，必须正确设计、操作和维护焚化炉。

要焚烧的材料即使已经消毒处理，也应应用袋子装好送到焚化炉，并应首选塑料袋装运。处理人员应当获得关于加载焚化炉和控制焚烧温度的指导。一个焚化炉的有效运作取决于焚烧材料是否正确混合。

目前人们担心焚化可能对环境产生的负面影响，因而不断改进设备，使焚化炉更加环保和节能。高压灭菌提供了一个替代焚烧的处理方法。

2.5.2 高压灭菌

应分别使用不同的高压灭菌器对溶液、玻璃制品（清洁材料）和感染性材料灭菌。

以下材料适合于高压灭菌：

- 在一般结核病诊断实验室无菌使用的仪器，玻璃器皿，培养基和溶剂；

- 分枝杆菌培养的废弃物；
- 来自开展结核菌培养的结核病防护实验室的所有传染性物质。

应记录每次运行的时间、温度和压力，以监视高压蒸气灭菌器是否正常工作。应常规使用生物学指标来验证高压蒸气灭菌器的灭菌能力。

2.5.3 消毒

消毒剂作用的大小取决于杀死生物体的数量、所用浓度、接触时间以及有机碎片是否存在。

推荐用于结核实验室的专业消毒剂是含苯酚、氯的消毒剂或酒精。选择何种消毒剂通常取决于对何种材料进行消毒。

苯酚

苯酚的使用浓度为5%（稀释于水）。然而，吸入和皮肤接触苯酚会高度刺激皮肤、眼睛和粘膜。摄入苯酚可致毒。由于其毒性和气味，一般使用苯酚衍生物代替苯酚。

苯酚用于消毒设备和一次性使用的物品。

氯

氯具有广泛使用性。次氯酸钠溶液（家用漂白剂）中含有50 g/l有效氯，因此，应用水稀释至1:50或1:10，以获得最终浓度为1g/l或5g/l。漂白剂，无论是以固体储备或已稀释于溶液中，都必须存放在通风良好的暗区。如果储存条件良好，50g/l的溶剂可储存长达3个月；稀释液则需要每日配备。

漂白剂可用作普适消毒剂和用于浸泡非金属材料，因为它是高碱性的，可以腐蚀金属。

酒精

酒精，乙醇或异丙醇（变性乙醇，甲基化酒精）应使用70%浓度。酒精具有挥发性和易燃性，所以不得在明火附近使用。溶液应存放在适当的容器中，以避免挥发。盛有酒精溶液的容器必须明确标记，以保证不会被高压灭菌。

可以用70%的酒精溶液对实验台面和生

物安全柜进行常规消毒。酒精类水溶液的一个主要优点是，它们不会在被消毒物上留下任何残留物。当手被污染时，有效的方法是用70%乙醇或异丙醇进行冲洗，然后用肥皂和水彻底清洗。

过氧乙酸

过氧乙酸的特点是快速消灭所有微生物。过氧乙酸的特别优势是，它没有有害的分解产物，可以增强有机物质的去除效果，并且无残留。工作溶液（浓度2%）制备后48小时达到稳定状态。

2.6 污染材料的处置程序

应采纳识别和分离传染性物质及其容器的体系。废弃物的类别包括：

- 可重复使用的未受污染（无传染性）的废弃物，回收或以对待一般家庭废物的方式处理；
- 被污染（具有传染性）的锐器，如碎玻璃，注射器和玻片；
- 应进行填埋，焚烧或高压灭菌的传染性污染物。

2.6.1 碎玻璃和玻片

破碎的玻片和已使用过的玻片必须放在锐器容器中进行处置。处置锐器的容器必须是防刺穿的，有严密的盖子，且不得填满。当达到四分之三满时，它们应该被放置在传染性废物焚化炉进行焚化。除非处置锐器的容器已被焚烧或高压灭菌，否则不得丢弃于垃圾场进行填埋。玻片不得重复使用。

2.6.2 处置受污染或潜在传染性物质

所有阳性结核培养物处置前必须经过高压灭菌。开展结核杆菌培养的实验室或其邻近之处应该放置高压灭菌设备。

在被运往焚化前，除锐器之外所有被污染（即可能具有传染性）的材料应放置在一次性塑料袋中。结核病实验室的材料即使在灭菌后，也应尽可能不丢弃于垃圾填埋场。

锅或罐等不易碎的废弃容器（例如塑料），应放置于工作台位。必须使用适宜结核

分枝杆菌的有效消毒剂；废弃材料必须与消毒剂接触一定的时间（也就是说，它们没有被气泡保护），时间长短取决于使用何种消毒剂。丢弃的容器在消毒清洗后方可重新使用。

在结核杆菌感染风险低的实验室，塑料痰容器、用于分子学分析的试剂盒（如Xpert MTB/RIF试剂盒）以及涂痰木棒，应装于密封垃圾袋中移出实验室，然后进行焚烧。

3. 低风险结核病实验室

本章建议是执行具有传播结核病低风险的操作的实验室限制或降低感染风险所需要的基本措施。根据对具体场所的风险评估，可能有必要采取额外措施。

考虑到在实施良好微生物技术的情况下，痰液由于粘稠的特性而不易产生气溶胶，按照本章所描述的基本生物安全要求，低风险实验室能够安全地进行处理痰标本的某些操作。低风险实验室可以：

- 制作痰标本用于直接痰涂片镜检；
- 制作痰标本用于Xpert MTB/RIF[®]分析 (Cepheid, Sunnyvale Ca., 美国)。

尽管当打开痰盒和进行直接痰涂片时，可能产生气溶胶，但与不采取保护措施的一次咳嗽所引起的气溶胶相比，来自这些操作的传播风险几乎可忽略不计。几乎没有流行病学证据可证明直接痰涂片的准备过程与可衡量的获得结核病感染过度风险相关联^{14,15}。

注意：不应该在实验室里采集患者的痰标本。

3.1 增加感染风险的因素

除了第二章所述生物安全措施可应对的一般风险之外，低风险结核病实验室还可能面临以下挑战，这些因素均能增加感染风险：

- 实验台空间使用不合理；
- 标本盒泄漏；
- 处理标本不小心导致产生气溶胶；
- 猛烈地晃动标本；
- 通风或照明条件不佳。

3.2 具体特征和最基本的实验室安全措施

为应对具体的潜在风险，在低风险结核病实验室应该制定以下生物安全要求：

1. **实验台空间利用：**用于制备直接痰涂片镜检的标本或Xpert MTB/RIF分析的实验台应该与接收标本的空间、以及办公区域和电话区域分开。
2. **通风：**痰涂片制作和用于Xpert MTB/RIF分析的标本的制备过程，当使用适宜的微生物技术时，可以在通风足够的区域的开放的实验台进行。

结核病实验室通风足够一般描述为定向气流且每小时换气次数达6-12次（见专栏3）。定向气流是指风从清洁区域流向可能产生气溶胶的区域；空气应该安全的流出房间。“每小时换气次数”是指实验室整体空间体积每小时外排并更换清洁空气的次数。当使用机械通气时，可以直接计算每小时空气交换次数。

对于低风险操作，自然通风应该足够，因虑及空气流向是远离技术人员，流经工作区域，并且可能含有潜在的传染性物质，然后从使用区流出实验室；这种空气流向可以使人员免受工作区域可能产生的气溶胶的感染。为了控制包含致污染物的空气流向，风速应该至少为0.5 m/s¹⁶。

如果当地气候允许，应该确保开窗通风。如果气候不允许开窗，应该考虑使用机械通风系统，提供非循环式的室内空气流动。只有在确定空气定向流动之后，才能使用空调。确保实验室的空气流向是远离实验室人员，这是很重要的。

在自然通风或机械通风条件均不能具备的地区，其解决措施是使用通风橱来进行痰涂片直接镜检或者Xpert MTB/RIF分析，以控制操作过程产生的气溶胶造成的污染。可以获得关于通风橱的指导意见和详细阐述¹⁷。

专家组建议

国际上尚未建立有关实验室通风充分的标准。

专家组建议，作为通风充分的实验室，其实际的定义包含每小时换气次数为6-12次。专家组注意到，没有足够的证据提示

专栏3. 确定通风要求

通风使外部空气进入实验室，并将室内空气排出室外。实验室通风的目的是提供洁净的空气，以稀释任何可能被污染的空气，并将之排出实验室。实验室通风有三个基本要素：

通风速度 — 室外空气流入实验室的数量；

空气流向 — 实验室的整体空气流向应该从清洁的功能区流向污染区；

空气流动模式 — 外部空气应该流入实验室的任何区域，并且有效排出。

实验室通风方式有三种：自然通风，机械通风和混合通风。

自然通风

在自然力驱动下，室外空气通过敞开的实验室门窗进入。自然通风一般可以提供更经济的高速通风，因其利用自然驱动力和大面积的开放通道，同时也可以获得高频率的空气交换次数。对于一个特定的实验室，是否适合采用自然通风方式，取决于气候、实验室设计和实验室人员开展的操作和程序。

机械通风

可在窗户、墙壁或实验室排风管道安装机械扇。使用何种类型的机械通风设备取决于气候类型。机械通风系统不受不同类型的风和周围环境的影响，被认为是可靠的，可以提供想要的空气流动速度。机械通风设备可配以空调系统一起使用，以控制温度和湿度。机械通风还可以通过通风橱实现。

混合（混合模式）通风

混合（混合模式）通风依赖于自然力获取想要的空气流动速度。当自然通风速度太低时，则使用机械通风设备。当仅依靠自然通风不能满足要求时，可以在进行抗酸分枝杆菌镜检的实验室安装排气扇以加强通风效果。但是，需要安装风扇，以使室内空气通过墙壁或者屋顶直接排出室外。排气扇的大小和数量取决于要达到的通风速度，并且在运用此方法之前应该计算出此速度（详见专栏4）。

3. **减少气溶胶的产生**:制备用于直接痰涂片镜检或者Xpert MTB/RIF分析的痰标本时，理论上可能产生气溶胶。但是，由于痰标本通常是黏稠状，通过使用良好微生物技术可以最低限度的减少气溶胶的产生。打开标本盒时要小心，因为标本可能在运输途中经受了晃动。当烘干涂片时，应避免将传染性物质撒落于本生灯明火上。更好的方法是晾干涂片，并只有当涂片完全干燥时，才使用火焰来固定涂片。制作痰涂片时优先使用一次性的涂痰棒或者接种环。

4. **处理泄漏标本的痰盒**:应该在标本到达实验室时立即检查标本盒的完整性。需要废弃已经发生泄漏的标本盒，并要求重新采

集标本。如果在泄漏的痰盒中仍残留有足够的标本，在制备痰涂片之前可以使用适宜的消毒剂来消毒痰盒。运送痰标本时应该使痰盒朝上，以最大限度减少泄漏。

5. **个体防护装备**:每个国家及机构必须进行风险评估，并确定个体防护级别以恰当应对不同操作风险。

在实验室中应该总是穿戴实验服。进行所有涉及直接接触或意外情况可能接触痰液、血液、体液及其他潜在传染性物质的操作时，都应该戴手套。手套应该常规更换，而不应重复使用。员工在离开实验室前应该总是清洁双手。

在制备痰涂片时，不需要佩戴呼吸罩。

专栏4. 如何确定使用机械通风的结核病实验室是否通风充分

结核病实验室通风充分通常被描述为：空气定向流动且每小时换气次数达6-12次。空气定向流动是指空气从实验室清洁区流向可能产生气溶胶的区域，然后安全排出室外。每小时换气次数是指实验室整体空间体积每小时外排并更换清洁空气的次数。当使用机械通风时，衡量每小时换气次数的方法是：

1. 找出一个或多个排气孔
2. 用硬纸板挡住排气孔，纸板上开一个10 cm x 10 cm大小的孔；
3. 通过风向标和风速计衡量外流的空气速度；
4. 计算每个排气口的空气流量

$$Q = V \times A \times 3600$$

Q = 空气流量，以m³/h计算

V = 空气流速，以m/s计算

A = 开口大小，以m²表示，（如10 cm [0.1 m] x 10 cm = 0.01 m²）

3600 = 将秒转换为小时

5. 将房间所有排气口空气流量加和等于房间的空气流量；
6. 计算房间体积；
体积=长x宽x高= m³（以m为单位）
7. 计算每小时换气次数（ACH）。

$$\text{每小时换气次数} = \text{房间空气流量} / \text{房间体积}。$$

当使用自然通风时，衡量ACH的可变因素太多，无法进行可靠的通风测量。相反地，使用定向气流来提供安全的工作条件则更好。确保空气流经技术人员，穿过有潜在传染性物质的工作区域，然后从房间的使用区域流出；这种空气流向可以使人员免受工作区域可能产生的气溶胶的感染。

4. 中等风险结核病实验室

本章建议是在进行具有中等结核病传播风险的特定操作的实验室中限制或减少感染风险所需的最低要求。其他所需措施依据对特定场所的风险评估而定。

满足本章所述最低生物安全要求的中等风险实验室，可以安全地进行某些特定操作，这些操作导致标本气溶胶化，含相对低浓度的传染性颗粒，具有中等风险。中等风险实验室可以：

- 处理用于基本固体培养基接种的标本；
- 进行直接药敏试验（比如，对已经处理的痰标本进行直接线性探针试验、显微镜观察药物敏感性试验[MODS]和硝酸还原试验[NRA]）。

4.1 增加感染风险的因素

除了由第2章所述生物安全措施可解决的一般性风险（比如人员未经授权进入实验室、用口移液、杂乱的工作场所、不正确的废物处理）之外，中等风险结核病实验室同样面临如下可增加感染风险的挑战：

- 工作人员可能在通风不良的区域工作；
- 他们可能在照明条件不佳的环境中工作；
- 生物安全柜可能维护不良或者未经认证；
- 生物安全柜通风管道可能没有正确接通；
- 工作环境可能落满灰尘，且生物安全柜中的高效微粒空气（HEPA）过滤器可能被堵塞；
- 对本标的粗心操作可能导致气溶胶产生；
- 使用涡旋振荡器的防护措施可能不当（比如，可能在生物安全柜外使用）；
- 标本容器在离心时可能破裂或泄漏；
- 可能与在生物安全柜外打开离心桶相关的问题；

- 缺乏充足的生物危害警告信息，突发情况紧急联系人信息可能不够详细；
- 冷却或加热系统可能不正常工作。

为最大程度降低气溶胶化的风险，采用良好微生物技术是必需的。

4.2 具体特征及最基本的生物安全措施

在一个具有中等感染风险的实验室，应有两级防护措施：生物安全柜（首要防护措施）和实验室本身（次级防护措施）。为了应对与中等风险实验室相关的特定风险，应当建立下列缓解或控制措施。

1. 生物安全柜：痰标本处理和消化以及液化痰标本操作的所有过程必须在生物安全柜中进行。当标本进行培养接种或直接DST时，生物安全柜是首要防护措施。因此，采用良好微生物技术以及正确使用生物安全柜是确保工作安全进行的关键。生物安全柜的不正确使用将使气溶胶逸散到实验室中^{wwkq}。（更多关于生物安全柜的信息参加第6章）

生物安全柜应当远离通道摆放，并且应当避开来自门廊和进风系统的空气环流。从正确维护的生物安全柜外排的空气必须经过位于生物安全柜顶部的高效微粒空气过滤器，之后取决于所安装的通风系统的复杂程度，外排空气排入房间或者通过管道排到室外。

生物安全柜和天花板之间需要充足的空间以确保从生物安全柜流出的气流不受阻碍。

推荐使用I级或II级生物安全柜；但生物安全柜必须由认证的厂家设计并且定期维护。生物安全柜必须至少每年一次进行现场认证以确保正常运转。优选II级A2型生物安全柜，因为这种生物安全柜可以同时为工作人员和接种培养基（产品保护）提供保护。

II级B型生物安全柜也适用但是不推荐用于新建结核病实验室，因为它们需要安装硬导管。此外，平衡并维护此种生物安全柜并确保其正常工作更加困难。安装硬导管要求建筑物排风系统必须与厂商的气流需求精确匹配。

在电力不稳定的地区，为生物安全柜和排风扇提供不间断电源很有必要；不间断电源为实验室人员留出充足时间安全地完成任何具有危害性的工作，并且将生物安全柜中残留的污染空气排出室外。阻止空气回流的装置应当安装于生物安全柜的管道内，以在突然停电时阻止潜在污染的空气回流至实验室。为生物安全柜及其他诸如培养箱和冰箱等必要设备配置备用发电机将很有益处。

2. 通风设备：除了生物安全柜（首要防护），还要通过维持进入实验室的气流是单向流动状态并确保每小时换气次数最低达6-12次来实现次级防护（由实验室本身提供）。

制造单向气流的简单方法是设置一个允许空气进入实验室清洁区的通风口，并且连续操作一台或更多使用套管固定的生物安全柜，从而使空气流入污染区，并将空气从实验室排出，最终外排到建筑物外。应当安装一套带有或不带有报警器的视频监控设备以便工作人员能够随时确定实验室均维持正确的单向气流（见专栏5）。

使用套管将生物安全柜的管道连接到室外，有助于制造流入实验室的单向气流，并且生物安全柜中所有的污染空气将通过生物安全柜顶部的高效微粒空气过滤器排出实验室外。当开启生物安全柜时，排风扇从生物安全柜和房间内同时抽气。当关闭生物安全柜时，仅从房间抽气外排。排风扇可以与生物安全柜的状态（运行或待机）建立或不建立关联。最好排风扇具有一个与生物安全柜分开的独立开关，或者可以选择为排风扇耦联继电器电路以便于排风扇在生物安全柜关闭后在给定时间内持续工作，

从而确保所有从生物安全柜中排出的空气排放到室外。使用套管连接的生物安全柜的最大优点是不需要调整生物安全柜，并可维持实验室到室外的单向气流。

此外，也可将通过生物安全柜内高效微粒空气过滤器外排的空气释放到实验室中。然而，在此种情况下，建筑物必须有独立排风系统以确保实验室每小时换气次数最低达到6-12次。建筑物的通风系统必须按照如下方式安装：从中等风险实验室排出的空气不会再循环到建筑物内的其他区域。

当实验室外排的空气被排放到建筑外时，必须使其远离有人员的建筑和进风口。

中等风险和高风险结核病实验室的窗户必须时刻保持紧闭。

- 个人防护装备：每个实验室必须对其风险情况进行评估（比如，通过评估实验室活动和工作量、结核患病率和耐药菌株流行率）并确定适用于工作人员的个体防护级别。在中等感染风险的实验室中必须随时穿戴具有防护性能的隔离服和手套。

在标本处理过程中样品被液化；此过程很容易产生气溶胶，所以采取最大程度减少气溶胶产生的措施是必要的。

手套应当经常更换。工作人员在离开实验室之前必须洗手。

如果在正确维护的生物安全柜中采用良好微生物技术处理标本，那么就不需要呼吸罩。呼吸罩不应当被视为生物安全柜的替代品。

- 实验室设计：实验室必须与建筑物中不限人员进出的区域分开。洗手池应当安装在实验室出口附近。
- 去污染及废弃物处理：所有传染性废弃物必须从中等风险实验室中移走以进行合理的清理。根据相应的地方法规，

废弃物必须在密封的塑料袋或容器中运输。任何可重复利用的材料在从实验室移除之前，必须经适宜的消毒剂或高压灭菌器消毒。

- 最大程度减少气溶胶的产生：工作人员培训应该总是包括最安全地进行培养操作的相关信息，以防止吸入使用接种环、移液、开启标本容器、处理破损或倾斜的容器、离心及涡旋振荡时产生的

气溶胶。应当使用密闭的电子微型灼烧器对重复使用的接种环进行灭菌，以避免使用本生灯明火时溅射传染性材料的可能性。推荐使用灭菌的一次性接种环或移液管。

离心机需要配备安全桶或者防污染转子。如果有封闭离心机安全杯，那么传染性材料可在开放实验室中进行离心，装卸离心桶必须在生物安全柜中进行。

专栏5. 如何计算使用套管连接生物安全柜的实验室中的每小时换气次数

- 确定实验室房屋的体积（地板面积 \times 房屋高度）。
- 确定所需每小时换气量（房屋体积乘以6为最小换气量，房屋体积乘以12为最大换气量）。
- 确定生物安全柜的数目，以及来自每个生物安全柜的外排空气量。一个150 cm宽的生物安全柜外排空气量约为500 m³/h，（即进气面积1.50 m \times 0.2 m \times 气流速度0.38或0.5 m/s \times 3600 s = 410~540 m³/h）。计算所用每种类型生物安全柜的外排空气量。
- 确定在管道末端安装的排风扇的功率，它应当超出每台生物安全柜的体积流量，超出比例大约在30-50%，并且应当可控且与不间断电源相连。来自生物安全柜的空气应当通过直径大于20 cm的通风管导出。

比如：一个地面5 m \times 10 m，房顶高度2.5 m的实验室需要介于750 m³和1500 m³ The ventilation system for the laboratory should be planned with a qualified specialist engineer.

之间的每小时排气量，以满足6-12倍房屋体积的气体交换。所以两个套管连接的生物安全柜每小时能够从实验室外排1300~1500 m³的空气。

- 实验室的通风系统应由有资质的专业工程师设计。

5. 高风险结核病实验室（结核病防护实验室）

术语“结核病防护实验室”是指具备安全操作结核杆菌培养物所必需的最低设计要求的实验室。这类实验室可能或不能满足世界卫生组织《实验室生物安全手册》²中3级生物安全实验室的全部要求。所有实验室设施必需符合国家或地方规范。

本章建议是在进行具有高等结核病传播风险的特定操作的实验室中限制或减少感染风险所需的最低要求。其他所需措施依据对特定场所的风险评估而定。

满足本章所述最低生物安全要求的高风险实验室（又称“结核病防护实验室”）用于处理高剂量和高浓度的结核分枝杆菌，并且进行可增加气溶胶传播风险的操作。高风险结核病实验室能够：

- 进行培养以鉴定结核分枝杆菌；
- 处理结核杆菌培养物或悬液以进行间接DST或分子检测。

5.1 增加感染风险的因素

除了在第4章所述中等风险结核病实验室的危害和第2章所述生物安全措施所应对的一般性风险之外，高风险的结核病实验室还面临如下增加风险的挑战：

- 工作人员必须开启阳性培养管；
- 工作人员必须准备阳性培养物涂片；
- 必须从阳性培养物中提取DNA；
- 处理培养物以进行菌种鉴定和间接DST；
- 必须处理已破碎的盛培养物的容器；
- 必须对培养物以及溢撒区域进行消毒。

5.2 具体特征及所需的生物安全措施

与中等风险实验室类似，高风险实验室中有两级防护措施：生物安全柜（首要防护措施）和实验室自身防护措施（次级防护措施）。

在高风险结核病实验室中，用于菌种鉴定、间接DST和分子试验的活结核分枝杆菌培养物和结核杆菌悬液的所有操作均必须在生物安全柜中进行。

除了中等风险实验室所需的安全设施外，高风险（或结核病防护）实验室需要如下加强安全防护的额外设施。

1. 实验室设计：必须是两组入口门以给防护实验室创造出缓冲间。这种设计为实验室防护区域和实验室外部区域之间提供了物理隔离。该设计还可制造进入实验室的单向气流。

缓冲间应当提供用于分离清洁衣物和污染衣物的设施。缓冲间的门应该自动关闭且互锁，以便于在同一时间仅有一扇门开启。在紧急出口处可以提供一突破嵌板。空气可以通过缓冲间进入结核病防护实验室；带有预过滤器的格栅可以安装在缓冲间门的下侧以确保仅有清洁气流进入结核病防护实验室。

应当安装玻璃嵌板以便从实验室外部观察防护实验室。

2. 个人防护装备：每个设施必须对其风险进行评估，并确定适用于工作人员的个人防护级别。

必须穿戴具有防护性能的实验室隔离服。隔离服应当具有硬朗的前幅，并且可防水。实验室隔离服应当为长袖、袖口处有弹性（至少30 mm长）并且在身体背面收紧。

必须佩戴手套。工作人员在离开实验室之前必须洗手。

可选择使用帽子、鞋套或专用鞋；它们可作为附加防护措施。然而，在结核病防护实验室中所使用的所有保护性隔离服不能在实验室其他区域穿着。

呼吸设备可为产生含高浓度传染性颗粒气溶胶的高风险操作过程——诸如处理用于菌种鉴定和DST的液体培养物等——提供额外保护。呼吸防护设备不应成为不能正常运行或未经认证的生物安全柜的替代品。在任何情况下，必须采用良好微生物技术以最大程度降低实验室获得性感染的风险。

3. 消毒及废物处理：在结核病防护实验室附近应当现场配备高压灭菌器，以便

于装有结核分枝杆菌培养物的培养管和培养瓶在移出实验室进行处理之前进行灭菌。所有其他传染性废弃物也需要从结核病防护实验室中移出以进行正确的处理。必须依照相应的当地条例，在封闭的塑料袋或容器中运输废弃物。任何要重复利用的材料必须在移出实验室之前使用合适的消毒剂或高压蒸汽进行消毒。

专家组建议

世卫组织出版的《实验室生物安全手册》²建议，防护实验室应当是密闭的以便于采用熏蒸法进行消毒。专家组发现，考虑到由细菌衍变的传染性颗粒已经干化并降落到实验室物体表面，不大可能气溶胶化，因而结核病防护实验室不必具有封闭消毒能力。专家组因此推断，表面消毒程序对于结核病防护实验室已足够，不应强制对结核病防护实验室进行熏蒸消毒。

6. 安全设备

在结核病实验室中可以使用安全设备来消除或降低某些风险（见表4）。操作者必须训练有素并采用正确的方法，才能确保安全设备起到保护作用。同时还应定期对设备进行测试，以保证其持续安全运行。

6.1 生物安全柜

一些实验操作可能产生飞沫核气溶胶，由于其颗粒很小，所以实验室工作人员可能都无法察觉。这可能会导致感染性物质的吸入或工作台面及实验材料的交叉污染。生物安全柜（BSC）是为避免人员和环境暴露于感染性病原而设计的，并根据其级别不同而提供不同程度的保护，使其免受样本和培养物污染。

生物安全柜排风系统内的HEPA过滤器可以有效截留感染因子，确保从安全柜排出完全不含微生物的空气。在工作台面上方，安全柜中安置的HEPA过滤器保护工作台面和台面上的物品不受污染。这通常称作操作对象保护（产品保护）。

生物安全柜分为I、II、III三级（依据AS/NZS2252.1:1994、AS/NZS 2252.2:1994和NSF/ANSI 49-2008等标准）^{18,19,20}。根据NSF/ANSI 49-2008标准，II级生物安全柜有A1、A2、B1、B2四种不同类型，每种类型的气流模式、速度、安全柜内HEPA过滤器的位置、换气率以及排气方式各有所不同。

6.1.1 结核病实验室生物安全柜的选择

下述两种生物安全柜最适合在中等风险及高风险实验室（结核病防护实验室）中使用。

I级

- 这种类型的生物安全柜能对人员和环境提供保护，但不能对操作对象提供保护。缺乏对操作对象的保护可能导致污染率增加，尤其是在进行培养物的制备及接种操作时（见图1）。

II级

- II级生物安全柜能为人员、环境和操作对象提供保护，其中A2型生物安全柜的所有生物污染管道都处于负压状态、或者

由负压管道环绕（见图2）。（A2型生物安全柜是首选类型）。

- II级A1型生物安全柜不是一个好的选择，因为其管道可能被污染，并且其气室相对室内为正压。
- II级B1型和B2型生物安全柜必须通过硬管与建筑物外相通，这意味着实验楼体的排气系统必须和制造商规定的气流需求（包括流量和静态压力）完全匹配。因而这些类型生物安全柜的认证、操作和维护也相应更困难一些。因此，新建的结核病实验室不推荐配备这些类型的生物安全柜。

生物安全柜应当配置满足相应国际标准（如《欧洲规范标准EN12469》或《美国NSF/ANSI标准49-2008》）的HEPA过滤器^{20,21}。

在新采购生物安全柜时，推荐带有可活动的垂直推拉窗的II类A2型安全柜。

选择生物安全柜的主要依据是明确安全柜所需保护的對象：是保护操作对象（产品）还是保护人员免受感染风险。选择正确类型的生物安全柜、正确安装并正确使用、同时每年进行认证，这是一个复杂的过程。强烈推荐由经过良好培训并熟悉生物安全柜各方面特性的有经验的专业人员来完成上述工作。

生物安全柜应连接不间断电源，以确保工作人员在电力供应中断时有足够的时间来完成当前操作。

生物安全柜在安装和每次移动、维修或者更换过滤器后，都必须进行认证。同时安全柜需要定期（每年）维护，以确保运行正常。不及时维护或由不合格人员进行维护都可能将实验室工作人员置于风险之中（见第6.1.5节）。

6.1.2 I级生物安全柜

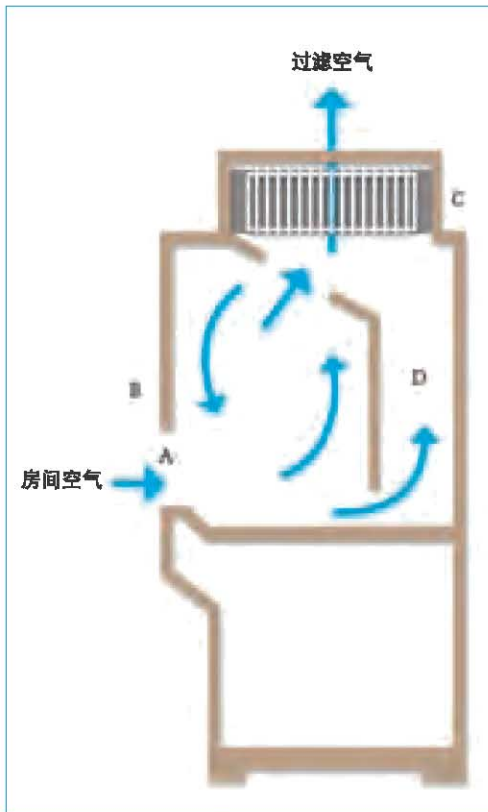
I级生物安全柜工作时，把未经过滤的房间空气从前开口处抽进安全柜。空气经过工作台面，然后经排风管排出安全柜。

I级生物安全柜可以保护操作人员，但不能保护操作对象（如样品或培养物）免受污染，因为未经消毒的房间空气是经过工作台面抽入安全柜内的。

图1为I级生物安全柜的示意图。房间空气从前开口处以 0.38 m/s (NSF/ANSI)²⁰或 0.4 m/s (EN12469)²¹最低速率进入安全柜，然后经过工作台面，并经排气管排出安全柜。定向流动的空气将工作台上可能形成的气溶胶颗粒带离工作人员、并送入排风管内。操作者的双臂可以从前开口处伸到安全柜内的工作台面，并可通过玻璃窗观察工作面的情况。安全柜的玻璃窗还能完全抬起来，以便清洁工作台面或进行其他处理。

图1. I级生物安全柜示意图。

A: 前开口; B: 垂直推拉窗; C: 排风HEPA过滤器; D: 排风气室



安全柜内的空气可通过HEPA过滤器按照以下方式排出：(a)排到实验室中，然后再通过实验室排风系统排到建筑物外；或(b)通过建筑物的排风系统排到建筑物外；或(c)直接排到室外。HEPA过滤器可以装在生物安全柜的排风气室里，也可以装在建筑物的排风系统里。有些I级生物安全柜装有一体式排风扇，而其它I级生物安全柜则是依赖于建筑物排风系统的排风扇。

6.1.3 II级A2型生物安全柜

不同于I级生物安全柜，II级生物安全柜只允许经HEPA过滤器过滤（无菌）的空气流过工作台面。

II级A2型生物安全柜如图2所示，内置风机将房间空气（供气）经前开口抽入安全柜、继而抽入前进风格栅，在前开口处的空气流入速度至少应达到 0.38 m/s 。然后，在进入进风格栅之前，供气先向上通过HEPA过滤器，再向下流过工作台面。

空气向下流动至工作面上方大约 $6\text{--}18$ 厘米处分开，其中约一半空气通过前排风格栅，而另一半通过后排风格栅排出。在工作台面形成的所有气溶胶颗粒立即就被这一向下的气流带走，并经前或后排风格栅排出，从而为操作对象提供最好的保护。气流接着通过后气室到达位于安全柜顶部的供气过滤器和排风过滤器之间的空间。由于过滤器大小的相对差异， $60\text{--}70\%$ 的空气经过供气HEPA过滤器重新返回到生物安全柜内的操作区域，而剩余的 $30\text{--}40\%$ 则经过排风过滤器进入房间或被排到室外。

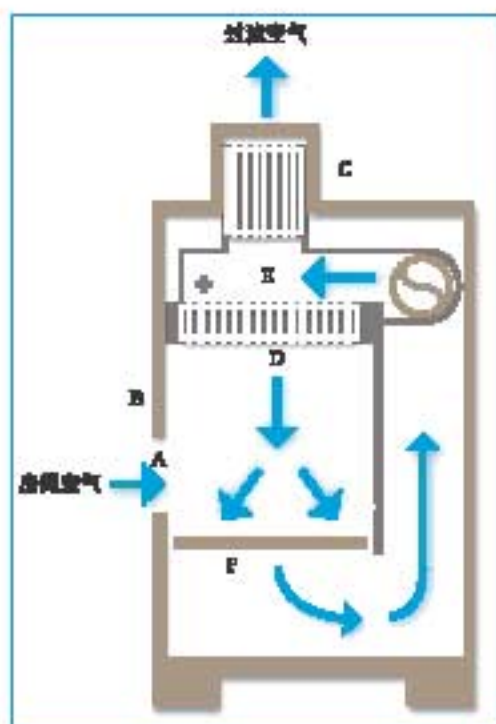
从II级 A2型安全柜排出的空气可以重新循环到房间，也可通过专用通风管道上连接的套管排到建筑物外面。但绝不能通过建筑物的排风系统排到室外。

在将II级生物安全柜排出的空气再次循环到房间里的防护实验室中，需要一个独立的专用通风系统，以确保进入实验室的单向气流每小时换气次数达到 $6\text{--}12$ 次。将安全柜排出的、经过加热或冷却的空气重新排入房间里循环使用，与排到室外相比具有降低建筑物能耗的优点。

图2. Ⅱ级A2型生物安全柜示意图。

A: 前开口; B: 垂直排风管; C: 排风HEPA过滤器; D: 供风HEPA过滤器; E: 正压气流; F: 负压气流

HEPA filtered air: HEPA过滤空气; Room air: 房间空气



使用软管连接的一个优点是不得对生物安全柜做任何调整,而且房间压力保持在几乎恒定的水平。要在防护实验室内保持可控、恒定、较低的压力,通常需要在排风系统安装一个排风阀,其能使通过软管的 airflow 与排风管末端风口的排风能力达到平衡。使用软管连接的另一优点是,一旦发生电力供应中断,向处于较低压力的房间回流的空气几乎全部由软管的进气口回流,从而使HEPA过滤器上的颗粒不会被冲下来。若在排风管内安装一个防止逆流的阀门,则可确保空气是从排风空气进风口流入的。

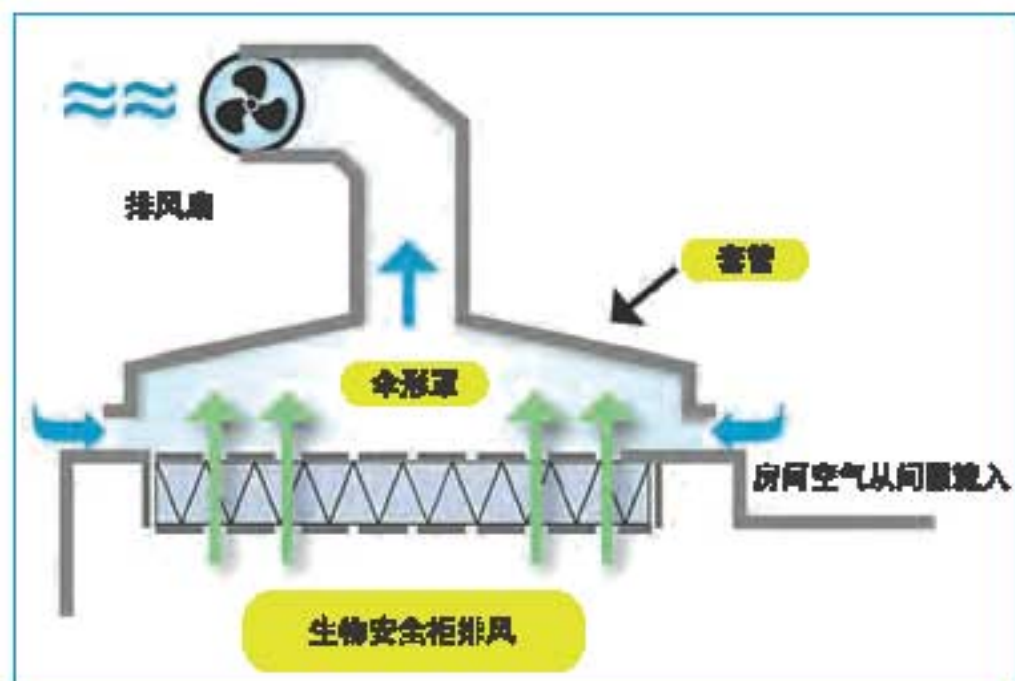
4.1.4 软管连接

软管连接(见图3)用于通过管道与外界流通的Ⅱ级A2型生物安全柜。软管安装在安全柜的排风管上,将安全柜排出的空气接入通往外部的排风管中。在软管和安全柜排风管之间有一个小开口(通常为5cm宽的),以便让房间空气也可吸入到建筑物排风系统中。排风系统必须足够保证房间排风和排风管的要求。软管必须是可拆卸的,或者设计成便于安全柜的运行测试。一般而言,建筑物气流的波动对软管连接Ⅱ级生物安全柜不会产生太大影响。

图3. 直接排至室外的Class A2型生物安全柜风管管路指示原理

Extractor fan: 排风扇; Thimble: 套管; Canopy: 伞形罩; Room air flow through gap: 房间空气从间隙流入;

Exhaust of BSC: 生物安全柜排风



6.1.5 实验室中生物安全柜的使用

位置

室内气流的状态极易受到多种因素的干扰，包括人员靠近生物安全柜时形成的气流、打开窗户或调整送风系统以及开关门等都可能造成影响。因此，最为理想的是将生产间的废液，生物安全柜应位于远离人员活动和可能产生干扰气流的地方。在安全柜后方及每一侧面都要尽可能留有30cm的空间，以利于安全柜的维护操作。有时要求在安全柜上方也要有30-35cm的空间，以便准确测量空气流过排风过滤器的速度，并便于排风过滤器的更换。

操作人员

生物安全柜如果使用不当，其防护作用就可能大受影响。某些使用不当的情况甚至可能增加实验室工作人员的风险。应该给实验室工作人员发放操作规范及生物安全手册，而且他们应签署一个表单来确认已阅读并理解了相

应操作规范。使用生物安全柜的每个人都应受到教育，以确保他们在开始使用安全柜进行常规检测工作之前已能按照正确的操作规范进行操作。操作人员的取臂进出安全柜时，需要保持前开口处气流的正常状态，取臂应与安全柜前开口垂直、缓慢地进出前开口。手和取臂伸入安全柜中先等待约2分钟，使安全柜内气流调整完毕，并让里面的空气扫过手和取臂，才可以开始对实验物品进行处理。在开始实验操作之前，应将所有必需物品放置于安全柜内，以尽量减少取臂进出前开口的次数。

物品摆放

远离生物安全柜的前挡风玻璃不要放纸、衣物设备或其他物品阻挡。建议所有操作都在铺好的、用酒精彻底浸湿的吸附性毛巾上进行，以吸收可能溅出的液滴。所有物品应尽可能靠近工作台面摆放，并且不要阻挡格栅。可产生气溶胶的设备（如涡旋振荡器和离心机）应靠近安全柜后部放置。体积较大的物品（如

生物危害性废弃物、废弃培养基等），应该摆放在安全柜内的某一侧。工作台面上的实验操作应该按照从清洁区到污染区的方向进行。

不要在生物安全柜内放置实验记录等。安全柜也不应该放入太多物品，否则超量可能影响气流的效率（见图4）。

图4. II级生物安全柜内从清洁区到污染区的典型工作布局。清洁物品摆放在安全柜左侧；样品接种在安全柜中间进行；污染的移液管和其它物品放在安全柜右侧的废弃物桶里。左利手人员可以采用与之相反的工作布局。



紫外灯

在结构实验室，生物安全柜内不建议使用紫外灯。

明火

生物安全柜内应避免使用明火，因为使用明火会对安全柜内的气流产生干扰。对接种环进行灭菌时，可使用微量的烧瓶或电炉，而不应用明火。选用一次性的接种环和移液管更好。

溢漏

实验室中要张贴如何处理溢漏的实验室操作章程。所有实验室成员都要阅读并理解这些章程。一旦在生物安全柜中发生溢漏，应在安全柜处于工作状态时立即进行清理。要使用有效的消毒剂，并在处理过程中尽可能减少气溶胶的产生。所有沾染溢漏物的材料都要适当进行消毒和废弃处理。

认证

在每次安装、变动位置时以及其后每隔一段时间（至少每年），应由具备资质的专业人员按照生产商的规范对每一台生物安全柜的运行性能及完整可靠性进行认证，以确认其是否符合国家及国际的相关性能标准。安全柜防护效果的有效性评价应包括对安全柜的完整可靠性、HEPA过滤器的范围、下行气流的速度、迎面风速、负压及换气次数、气流的烟雾模式以及报警和联动装置等方面的测试和评价。

经前开口进入生物安全柜的气流速度应满足生产商的规范。另外，还可以选择性地进行测试，如照度、紫外光强度、紫外光强度和噪声水平以及震动性测试。进行这些测试的人员要经过专门培训、具备专业技术和仪器设备。测试应由有资质的专业人员进行测试。专业测试人员应

该熟悉生物安全柜的方方面面，并接受过所有培训。

工作区的清洁和消毒

在工作结束后，生物安全柜里包括仪器设备在内的所有物品都应进行表面消毒并移出安全柜。

在每次使用前，都要对生物安全柜的内表面进行消毒。工作台面和内壁要用消毒剂进行擦拭，所用消毒剂要能杀灭安全柜内可能发现的所有微生物。在每天实验结束后，终末表面消毒应包括擦拭安全柜的工作台面、四周以及玻璃的内外侧。在使用漂白剂等腐蚀性消毒剂后，还必须用无菌水再次进行擦拭。

在完成工作后，应让生物安全柜继续运转15分钟以净化安全柜内的空气，然后再关闭安全柜。

消毒

生物安全柜在移动位置及更换过滤器之前，必须进行彻底消毒，而且消毒对象应包括气室及过滤器。消毒程序请参阅标准NSF/ANSI 49-2008。应该由具备资质的专业人员进行生物安全柜的消毒。

报警器

生物安全柜可以在两种报警器中选择一种安装。窗式报警器只能装在带有可滑动的垂直推拉窗的安全柜上。当实验室操作人员将垂直推拉窗移到了不当位置时警报就会响起。当警报响起时，必须将垂直推拉窗移回适当位置。而气流报警器的响起则表明安全柜内的正常气流模式受到干扰，操作者或操作对象已处于危险状态。当气流报警器响起时，应立即停止工作，并通知实验室主管。制造商的说明手册中应就如何处理这种报警提供了更详细的说明，在生物安全柜的使用培训中也应包括这方面内容。

6.2 带有安全桶的离心机

离心过程可能产生气溶胶。因此，离心机操作要严格执行安全措施。

离心机在运转时，机盖必须完全密封。使用宽的无孔密封圈可以确保机盖盖严。在离心转子完全停止前，严禁打开机盖。转子的每个槽都应配有安全帽。离心机运转之前，每个离心桶及离心管的盖子必须封盖严密。为控制气溶胶传播，每个密封离心桶的装卸操作都应在生物安全柜内完成。在处理结核杆菌培养物时，建议使用悬筒式冷冻离心机（水平转子离心机）。

在使用微型离心机进行DNA提取时，应使用带有密封盖的安全转子。微型离心机的装卸操作都应在生物安全柜内进行。

应定期检查离心机的磨损状态，且必须遵循制造商的规定对离心机进行维护。

6.3 高压灭菌器

在常规的结核病实验室进行诊断性检测时，压力饱和蒸汽型高压灭菌器是仪器设备、玻璃器皿及培养基灭菌的最为有效方式，其也可用于生物材料（如分枝杆菌培养物）的消毒灭菌。高压灭菌器的有效运转依赖两个重要条件：(1)高压腔内的空气完全被蒸汽置换；(2)温度必须达到121°C。

高压灭菌器运行时可能会产生噪音、发热及释放蒸汽，因此其摆放位置应远离实验室的主要工作区。对传染性物质进行消毒时，高压灭菌器应安装带有细菌过滤器的排气阀。这种可经受高温高压的无菌过滤器具有抗压外壳，其中装有一个带膜（孔径0.2μm）滤筒。过滤器应当便于更换。在每次消毒过程中，过滤器可自动灭菌。进行结核杆菌培养的每个机构都须配置一台高压灭菌器，且最好置于结核病防护实验室内。

高压灭菌器的操作和清洗必须严格按照制造商的说明进行。

表4. 结核病实验室样本处理设备、潜在危险及相关安全特征

设备	潜在危险或风险	安全特征
生物安全柜		
I级	气溶胶和喷溅	<ul style="list-style-type: none"> 生产商所建议的操作口处最低进风气流（迎面风速）、排风经过HEPA过滤器 对人员和环境提供保护
II级	气溶胶和喷溅	<ul style="list-style-type: none"> 生产商所建议的操作口处最低进风气流（迎面风速）、排风经过HEPA过滤器 对人员、操作对象和环境提供保护
通风橱	气溶胶和喷溅	<ul style="list-style-type: none"> 不能替代生物安全柜 规定的操作口处最低进风气流（迎面风速） 无HEPA过滤器 对人员提供有限保护
带有安全桶或密封转子的离心机	气溶胶和溢洒	<ul style="list-style-type: none"> 防止产生气溶胶
移液辅助器	口吸操作产生的危害（如食入病原体、吸入由于口吸移液产生的气溶胶、从移液器中吹出或滴出液体、移液器的上口污染等）	<ul style="list-style-type: none"> 便于使用 控制移液器上口的污染，保护移液辅助器、操作者和真空管 可以灭菌 控制移液器末端的滴漏
微型接种环灼烧器、一次性接种环	接种环接种过程中的喷溅	<ul style="list-style-type: none"> 微型灼烧器将接种环封装在开口的玻璃或陶瓷管内，采用气体或电加热 一次性接种环不需灼烧
设施内用于收集并运送感染性物质进行灭菌的防漏容器	气溶胶、溢洒和滴漏	<ul style="list-style-type: none"> 有盖或帽的防漏结构 耐用 耐高压灭菌
盛放废弃锐器的容器	刺伤	<ul style="list-style-type: none"> 耐高压灭菌 坚固，防刺破
实验室之间或单位之间运送物品的容器	微生物泄漏	<ul style="list-style-type: none"> 坚固 防渗漏的一级和二级容器 防止溢出的吸附材料
高压灭菌器（手动型或自动型）	运出实验室之前阳性培养物已消毒	<ul style="list-style-type: none"> 获得批准的设计 有效的加热灭菌

HEPA, 高效微粒空气(过滤器); BSC, 生物安全柜。

7. 个人防护装备与服装

个人防护装备与服装是减少操作人员暴露于气溶胶、飞溅物和意外接种风险的屏障。应根据实验的性质选择防护装备与服装。任何实验室操作都必须穿着防护服（见框6）。离

开实验室前，实验人员应脱去防护服并洗净双手。表5总结了实验室个人防护装备的类型及其安全特征。

表5. 结核实验室可用的个人防护装备和服装

装备	潜在危险	安全特征
实验室工作服	便服污染	<ul style="list-style-type: none"> 实验室工作服一般为长袖，前系扣覆盖便服 进行结核感染风险较低的操作时着工作服
隔离衣	便服污染	<ul style="list-style-type: none"> 隔离衣应为长袖，有弹性袖口（长度至少30毫米） 隔离衣应为后开口 隔离衣应覆盖便服
呼吸罩	气溶胶吸入	<ul style="list-style-type: none"> 现有设计包括N95（美国标准）和FFP2（欧洲标准）；全面或半面型空气净化模型；
手套	直接接触微生物	<ul style="list-style-type: none"> 经过微生物防护认证的一次性乳胶、乙烯基、丁腈手套

7.1 隔离衣

隔离衣应为长袖，开口在后。实验室技术员站立时，隔离衣的长度必须到达工作台以下；端坐时，隔离衣应完全覆盖膝盖。重复使用的隔离衣应在清洗前进行高压蒸汽消毒。隔离衣不得带回家清洗；应在实验室及其附近设清洗点。隔离衣应至少每周更换一次，如有明显污染则应立即更换。

隔离衣不得穿离实验室区域。应设立更衣区存放隔离衣。全部实验室人员，包括进入实验室的其他人员，均必须穿隔离衣。实验室防护服装不能与便服放在同一衣柜或橱柜内。应准备充足的防护服以在发生污染时备用。

7.2 呼吸罩

结核病实验室一般无须使用呼吸罩。但如果是在结核病防护实验室进行结核杆菌培养实验，经风险评估可能会建议佩戴。即使不常使用，进行结核杆菌培养的实验室也必须准备呼吸罩，以防生物安全柜外出现生物危害事件（如溢洒）。应将呼吸罩纳入实验室溢洒处置包。

呼吸罩不能代替维护和运行良好的生物安全柜。

经风险评估，必要时应佩戴N95（美国职业安全与健康研究所[NIOSH] N95标准）或FFP2（欧洲EN149:2001标准）呼吸罩。这两种呼吸罩较轻、为一次性设计，能够遮住口鼻部，滤过94-95%的直径大于等于0.3-0.4微米的颗粒。

如需在实验室佩戴呼吸罩，应指导和训练所有工作人员正确使用和佩戴，并了解呼吸罩的局限性。理论上，所有人均应进行呼吸罩密合性试验，以保证不会漏气。蓄须者不能佩戴呼吸罩。应将呼吸罩放在方便取用、洁净、干燥的清洁场所，不能戴离实验室区域。使用者一旦戴上呼吸罩，无论在任何情况下都不能触碰呼吸罩的外侧。工作人员不能在打电话或交谈时将呼吸罩移至下颌或头顶。

在每次使用前应检查呼吸罩，确保除装订小孔外无其他孔洞，确保呼吸罩无损坏（因撕扯导致过滤材料装订处小孔扩大视为损坏）。同时须检查带子和呼吸阀。应立即更换并丢弃损坏的呼吸罩。

外科口罩不属于呼吸罩，未经相关认证，对进行可能产生气溶胶的结核病诊断实验的人员而言，不能提供必要的保护。外科口罩并非为使佩戴者避免吸入传染性小颗粒物气溶胶而设计，因此不能在结核病防护实验室使用。

7.2.1 佩戴呼吸罩

呼吸罩使用者必须经过相应培训，应教会他们：

- 将一只手拱成杯状，握住呼吸罩，捏住鼻梁处；带子自然垂下；
- 将呼吸罩放在下颌的下方，鼻梁处在上；将带子拉过头顶，套住脖子，贴近耳朵下方；
- 将两手的指尖置于鼻梁的金属条上；用双手调整呼吸罩以适应鼻部形状，一边从中间向外侧移动手指一边向内推；只用一只手捏鼻梁处的金属条可能会导致呼吸罩密合不严，保护性降低；应始终使用双手操作。

7.2.2 摘下呼吸罩

- 工作人员在摘下呼吸罩前应脱下手套彻底洗手。仅接触呼吸罩的带子；避免接触呼吸罩的外侧。

7.3 手套

进行任何直接接触或可能意外接触痰、血液、体液和其他有潜在传染性的材料的操作，均应佩戴手套。使用后应以无菌方式摘掉手套并洗手。

如果污染的手套（和未清洗的双手）接触或操作其他实验室设备（如离心机或电话），则可能成为其他工作人员的传染源。

定期洗手是非常重要的，可以预防多种类型的实验室获得性感染，包括经血传播的病原体引起的感染。

可以使用一次性的乳胶、无乳胶乙烯基（透明）或丁腈手套，应为每个人准备正确的尺码（大、中或小）。手套应尽量舒适，遮盖手腕。

一次性手套决不能重复使用，一旦使用，应随实验室的传染性废弃物一同丢弃。必须有可靠的机制保证手套的供应。手套不能戴离实验室。

在接触有传染性的物质或进行生物安全柜操作后，以及离开实验室前，实验室人员均应摘去手套，用清水和香皂彻底洗手。

7.3.1 摘手套

实验室人员应接受培训，按如下步骤摘去手套：

1. 先脱掉一只手套，方法是捏起近手腕处的边缘一边脱一边将手套翻转，内侧朝外。这样可以使大部分污染物留在手套里面。
2. 用对侧仍戴着手套的手抓住已取下的手套。小心的将暴露出来的手指插入戴着的手套内侧近手腕处，小心不要接触污染手套的外侧。以内侧翻转的方式脱去手套，并套在另一只用过的手套上，两只手套形成一个袋子，污染物在内。
3. 用合适且安全的方法处理用过的手套。

专栏6. 不同风险级别的结核病实验室手套和呼吸罩使用指南

本指南概括了手套和呼吸罩在不同生物安全级别的结核病实验室使用时的最低要求。

呼吸罩

结核病实验室通常不要求戴呼吸罩，但是应根据国家或地方的风险评估结果决定是否应该佩戴呼吸罩。进行结核杆菌培养或药物敏感性实验的实验室经风险评估可能会要求使用呼吸罩。不能认为佩戴呼吸罩可以取代生物安全柜的使用。

手套

在接触任何有潜在传染性的标本或进行结核杆菌培养时必须戴手套。

个人防护装备	低风险 结核病实验室	中等风险 结核病实验室	高风险结核病实验室 (防护实验室)
呼吸罩	不要求	不要求	经风险评估可能要求使用
外科口罩	并非针对防止使用者吸入传染性小颗粒物的气溶胶而设计，因此不能用于呼吸防护。		
手套	要求使用	要求使用	要求使用

8. 应急准备与应对方案

应在所有储存或使用结核分枝杆菌分离株的实验场所拟定书面应急准备预案，这对于处理实验室意外事件和实验室事故是十分必要的。

8.1 应急准备预案

预案需制定切实可行的操作步骤，以：

- 应对自然灾害，如火灾、洪水、地震或爆炸
- 对所有新的或重新修订的操作进行风险评估
- 进行暴露和消毒处理
- 完成现场人员紧急疏散
- 进行暴露和受伤人员的紧急救治
- 对事故暴露人员进行医学监测
- 对事故暴露人员进行临床管理
- 进行流行病学调查
- 保证事故发生后的继续运行

制定预案需考虑纳入如下内容：

1. 确定高危区域，如实验区和存储区
2. 明确受威胁的人员或群体
3. 根据风险水平决定所采取的措施
4. 明确事故应对相关人员及其职责，如生物安全官员、安全人员、当地卫生行政机构、临床医生、微生物学家、兽医、流行病学家、消防机构、公安部门等
5. 能够接收暴露或受感染人员的医疗机构或随访机构
6. 暴露或受感染人员的运送
7. 应急用品如何供应，如防护服、消毒剂、化学和生物溢洒处置包、消毒设备和生活必需品。

8.2 结核病实验室应急响应步骤

8.2.1 传染性溢洒（生物安全柜外）

传染性物质溢洒在生物安全柜外属于重大事件。溢洒的传染性液体会产生有传染性的气溶胶。受影响的实验室区域内的所有人员均应立即撤离，并立即通报实验室管理者，利用实验室的通风系统去除气溶胶，使大颗粒物质充分沉降，时间至少为1个小时，期间防止再有工作人员进入实验室。

清理期间应张贴明显标识禁止进入实验室。应穿着适当的防护服并进行呼吸防护。

应使用下列溢洒清理步骤：

1. 戴手套、穿戴合适的隔离衣和呼吸罩。
2. 重新进入受影响的区域。
3. 用布或纸巾覆盖和吸收溢洒物。
4. 将合适的消毒剂倒在纸巾及紧邻的周边区域（一般来说，5%的漂白粉溶液即可）。
5. 向心性使用消毒剂，从溢洒物的外围向中心倾倒。
6. 使消毒剂有充分的作用时间，随后移除并处理传染性物质。如存在碎玻璃或其他尖锐物品，用簸箕或硬纸板进行收集，将其放入防刺容器内等待处理。
7. 将其他受污染的材料装入密封袋以进行适当的处理。
8. 溢洒区域清理和消毒。

任何暴露于溢洒物的人员均转诊进行医疗咨询；应对事故进行记录。

8.2.2 传染性溢洒（局限于生物安全柜内）

当生物安全柜内发生传染性溢洒时，应立即开始清理程序，安全柜应继续运行。

1. 用吸水纸覆盖溢洒区域，再倒上消毒溶液。
2. 如生物安全柜的侧壁溅上溢洒物，用浸了消毒液的吸水纸巾覆盖清洁。
3. 让消毒液在受影响的区域作用30分钟到1小时。
4. 小心收集受污染的尖锐物品，置入防刺容器待处理。
5. 任何溅上污染物的设备或重复使用的材料（例如离心桶）都需要用相同的消毒剂进行处理。
6. 使用前仔细检查电子设备，如断路器和接地故障断路器是否完好。
7. 用密封袋收集其他受污染的材料以进行适当处置。

8.2.3 试管在封闭的离心桶（安全杯）内破碎

始终使用封闭的离心桶，并在生物安全柜进行装卸。如在离心过程中试管发生破碎，碎片必须丢弃在防刺容器内并立即进行处置。

将离心桶浸入合适的消毒剂中去污化，不要使用漂白剂消毒金属部件，因其可能导致锈蚀。可以选择高压蒸汽灭菌法消毒离心桶。

8.3 溢洒处置包

实验室管理者应负责溢洒处置包的维护。准备两个处置包，分别放在生物安全防护实验室内部和外部。处置包内应包含下列物品。

溢洒处置包：

- 装在不透明瓶子里的次氯酸盐溶液^o（或其他合适的消毒剂）
- 呼吸罩（1盒）
- 手套（1盒）
- 隔离衣（4-6件一次性隔离衣）
- 簸箕、刷子（必要时可消毒处理）
- 氯胺片剂（10片）
- 纸巾
- 香皂
- 尖锐物品容器
- 生物危害物回收袋
- 护目镜（2副）

^o次氯酸盐溶液保存期短，在发生大量溢洒时，最好是在清理时临时配制消毒液。

9. 参考文献

1. WHO handbook for guideline development. Geneva: World Health Organization, 2012.
2. Laboratory biosafety manual, 3rd edition. Geneva: World Health Organization, 2004 (WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11). (Also available from <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf>.)
3. Laboratory biorisk management standard: CEN workshop agreement. Brussels, European Committee for Standardization, 2008 (CWA 15793:2008). (Also available from <ftp://ftp.cenorm.be/public/CWAs/wokrshop31/CWA15793.pdf>.)
4. Styblo K. *Epidemiology of tuberculosis*. The Hague, Royal Netherlands Tuberculosis Association, 1991.
5. Olsen AM et al. Infectiousness of tuberculosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1967, 96:836–870.
6. Qian Y et al. Performance of N95 respirators: re-aerosolization of bacteria and solid particles. *AIHA Journal*, 1997, 58:876–880.
7. Segal-Maurer S, Kalkut GE. Environmental control of tuberculosis: continuing controversy. *Clinical Infectious Diseases*, 1994, 19:299–308.
8. Miller JM et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories: recommendations of a CDC-convened, biosafety blue ribbon panel. *MMWR Surveillance Summaries*, 2012, 61(Suppl.):1-102.
9. Rieder L et al. *Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries*, 2nd ed. Paris, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 2007.
10. Kim SJ et al. Risk of occupational tuberculosis in national tuberculosis programme laboratories in Korea. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2007, 11:138–142.
11. *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy*. Geneva, World Health Organization, 2008 (WHO/TB/98.258).
12. *Acid-fast direct smear microscopy training package*. Atlanta, GA, Centers for Disease Control and Prevention, 2006 (<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining>, accessed 12 October 2012).
13. *Five steps to risk assessment*. London, Health and Safety Executive, 2011. (Also available from <http://www.hse.gov.uk/risk/expert.htm>.)
14. Collins HC. *Laboratory-acquired infections*, 2nd ed. London, Butterworth, 1988.
15. Rieder HL et al. *The public health service national tuberculosis reference laboratory and the national laboratory network: minimum requirements, role and operation in a low-income country*. Paris, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1998.

16. *Tuberculosis infection-control in the era of expanding HIV care and treatment: addendum to WHO guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings*. Geneva, World Health Organization, 1999 (Also available from http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_TB_99.269_ADD_eng.pdf.)
17. *Ventilated workstation manual for AFB smear microscopy: manufacturing, validation and user guide*. Silver Spring, MD, Association of Public Health Laboratories, 2011 (http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf, accessed 12 October 2012).
18. Standards Australia International. AS/NZS2252.1:1994, *Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personal and environment protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994.
19. Standards Australia International. AS/NZS 2252.2:1994, *Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection*, Sydney, Standards Australia International, 1994.
20. NSF/ANSI 49 – 2008. *Biosafety cabinetry: design, construction, performance, and field certification*. Ann Arbor, MI, NSF International, 2008. (Also available from http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/3604/NSF_49-08e-rep-watermarked.pdf.)
21. BS EN 12469:2000. *Biotechnology: Performance criteria for microbiological safety cabinets*. London, British Standards Institution, 2000.

附录1：参会人员名单

专家组

Jenny Allen

Medical Research Council
491 Ridge Road, Durban 4000
South Africa

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Daniela Cirillo

Emerging Bacterial Pathogens Unit
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR)
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italy

Philippe Dubois

Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence
Institut Pasteur
25 rue du Docteur Roux
75015 Paris
France

Jean Joly

Centre de Santé et de Services Sociaux de la
Haute-Yamaska
250 boulevard Leclerc Oeust
Granby, QC J2G 1T7
Canada

Scott Kreitlein

CUH2A
120 Peachtree Street, NE
Atlanta, GA 30303
United States of America

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Christopher Gilpin

International Organization for Migration
Route de Morillons
Geneva 1211
Switzerland

Sang Jae Kim

International Union Against Tuberculosis and
Lung Disease (IUATLD)
101-703 Unjeongmaul, 621 Mabukri
Guseongup, Yonginsi
449-560- Kyeonggido
Republic of Korea

Moses Joloba

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Paul Jensen

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Shana Nesby

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

John Ridderhof

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE

Atlanta, GA 30333
United States of America

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Peter van't Erve

Particle Measurement and Validation (PMV)
Kuipersweg 37
3446 JA Woerden
The Netherlands

世卫组织总部员工

May Chu, International Health Regulations
Sébastien Cognat, International Health
Regulations

Nicoletta Previsani, International Health
Regulations

Jean Iragena, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

Veronique Vincent, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

Karin Weyer, Stop TB Unit for Laboratory
Strengthening

世卫组织热带疾病研究与培训特别规划(TDR)

Andy Ramsay

附录2: 利益关系声明

未声明

John Ridderhof
Thomas M Shinnick
Knut Feldmann
CN Paramasivan
Daniela Cirillo
Sang Jae Kim
Christopher Gilpin
Moses Joloba
Shanna Nesby
Jenny Allen
Philippe Dubois

声明, 非重要利益关系 (观察员身份)

Jean Joly: 2007年担任世卫组织热带疾病研究与培训特别规划关于梅毒领域的咨询员。

Paul Jensen: 自1987年以来一直是美国疾控中心的职员。生物安全是他在美国疾控中心的主要职能, 并且他已经出版了相关的研究成果。他从未向涉及生物安全的商业实体获取过财政或实物支持。

声明, 重要利益关系 (观察员身份)

Peter van't Erve: 自1989年以来, 受雇于粒子测量和验证公司。该公司是一个致力于验证洁净室、实验室、生物安全柜和层流柜的公司。

Scott Kreitlein: 自2001年以来, 受雇于CUH2A。CUH2A是一个实验室建筑和工程公司。他宣布曾参与生物安全指导方针的制定过程。

附录3：同行审查小组人员名单

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Pawan Angra

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Daniela Cirillo

Emerging Bacterial Pathogens Unit
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR),
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italy

Gerrit Coetzee

National Tuberculosis Reference Laboratory
National Health Laboratory Service
P.O. Box 1038
Cnr Hospital De Karte Street
Braamfontein 2000 Johannesburg
South Africa

Edward Desmond

Mycobacteriology and Mycology Section
Microbial Diseases Laboratory
California Dept. of Public Health
850 Marina Bay Parkway
Richmond, CA 94804
United States of America

Sara Irène Eyangoh

Chargé de recherche
Chef de service de Mycobactériologie
INR du PNLT
Centre Pasteur du Cameroun
BP 1274 Yaoundé
Cameroon

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Rumina Hasan

Department of Pathology and Microbiology
Aga Khan University
Stadium Road
P.O. Box 3500
Karachi, 748000
Pakistan

Moses Jobo

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Satoshi Mitarai

Research Institute of Tuberculosis
3-1-24 Matsuyama
Kiyose-Shi
204-8533 Tokyo
Japan

Rick O'Brien

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Daniel Orozco

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Leen Rigouts

Institute of Tropical Medicine
Nationalestraat 155
B-2000 Antwerp
Belgium

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
United States of America

Akos Somoskovi

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Switzerland

Maria Alice da Silva Telles

TB National Reference Laboratory
Centro de Referência Prof. Hélio Fraga
Estrada de Curicica no. 2000
Jacarepaguá
RJ 22780-192 Rio de Janeiro
Brazil

Elsie Van Schalkwyk

African Centre for Integrated Laboratory Training
(ACILT)
National Health Laboratory Service
National Institute for Communicable Diseases
1 Modderfontein Rd
Private Bag X8
Sandringham 2131
Johannesburg
South Africa

WHO Headquarters staff

Nicoletta Previsani,
International Health Regulations

Magdi Samaan,
International Health Regulations

Jean Iragena,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Fuad Mirzayev,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Wayne van Gemert,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening

Christopher Gilpin,
Stop TB Unit for Laboratory Strengthening