



实验室生物安全培训

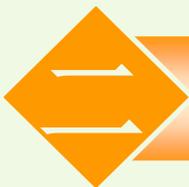
生物实验室



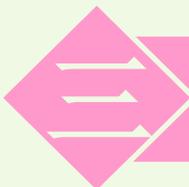
目录



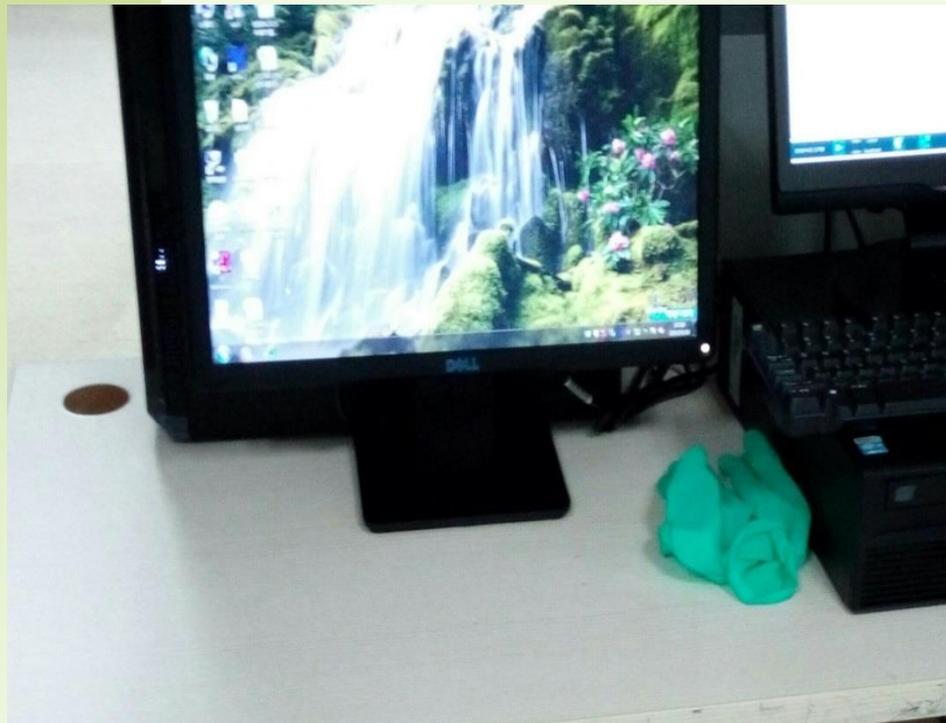
实验室生物安全危害



实验室生物安全防护



手卫生







一、实验室生物安全危害

(一)、实验室感染事件

(二)、气溶胶与实验室感染

(一)、实验室感染事件



1、美国CDC医务人员感染HIV数据统计

污染源情况	暴露途径	利器类型
47 HIV ⁺ 血液	45 针刺或割伤	41 中空针头
1 HIV ⁺ 带血体液	5 黏膜暴露	2 破玻璃
1 HIV ⁺ 其他体液	1 针刺+黏膜	1 解剖刀
3 HIV ⁺ 病毒液 (实验室)	1 不清	1 不清

前车之鉴



2、我国实验室感染SARS事件

(一)、实验室感染事件

中国CDC实验人员感染非典病毒事故

2004年4月中国CDC病毒所腹泻病毒室两名研究生在做病毒实验时感染sars 病毒。

事故调查：事故起因系该所实验人员多次违规将未完全灭活的sars病毒从P3实验室带出至普通实验室操作而引起。

处理措施：中国疾控中心主任李立明引咎辞职。

台湾实验人员感染非典病毒事故

2003年12月台湾一位实验人员在 P3 实验室做病毒实验时，因清理废弃物操作疏忽，安全程序处理不当而感染病毒。



实验室感染途径

亲切握手——手口传播

热烈交谈——空气传播

粗心与意外——针刺、器皿破碎、离心、穿拖鞋

无知最危险——
穿白褂到处走
戴手套随意开手柄
台面/器皿不清洁
不做善后工作
清洁区与污染区不分



(二)、气溶胶与实验室感染

对**3921**例实验室相关感染统计分析结果发现，已知原因的实验室感染只占全部感染的**18%**，不明原因的实验室感染却高达**82%**。

对不明原因的实验室感染的研究表明，大多数可能是病原微生物形成的感染性气溶胶在空气扩散，实验室内工作人员吸入了污染的空气感染发病的。



018000



气溶胶的特点



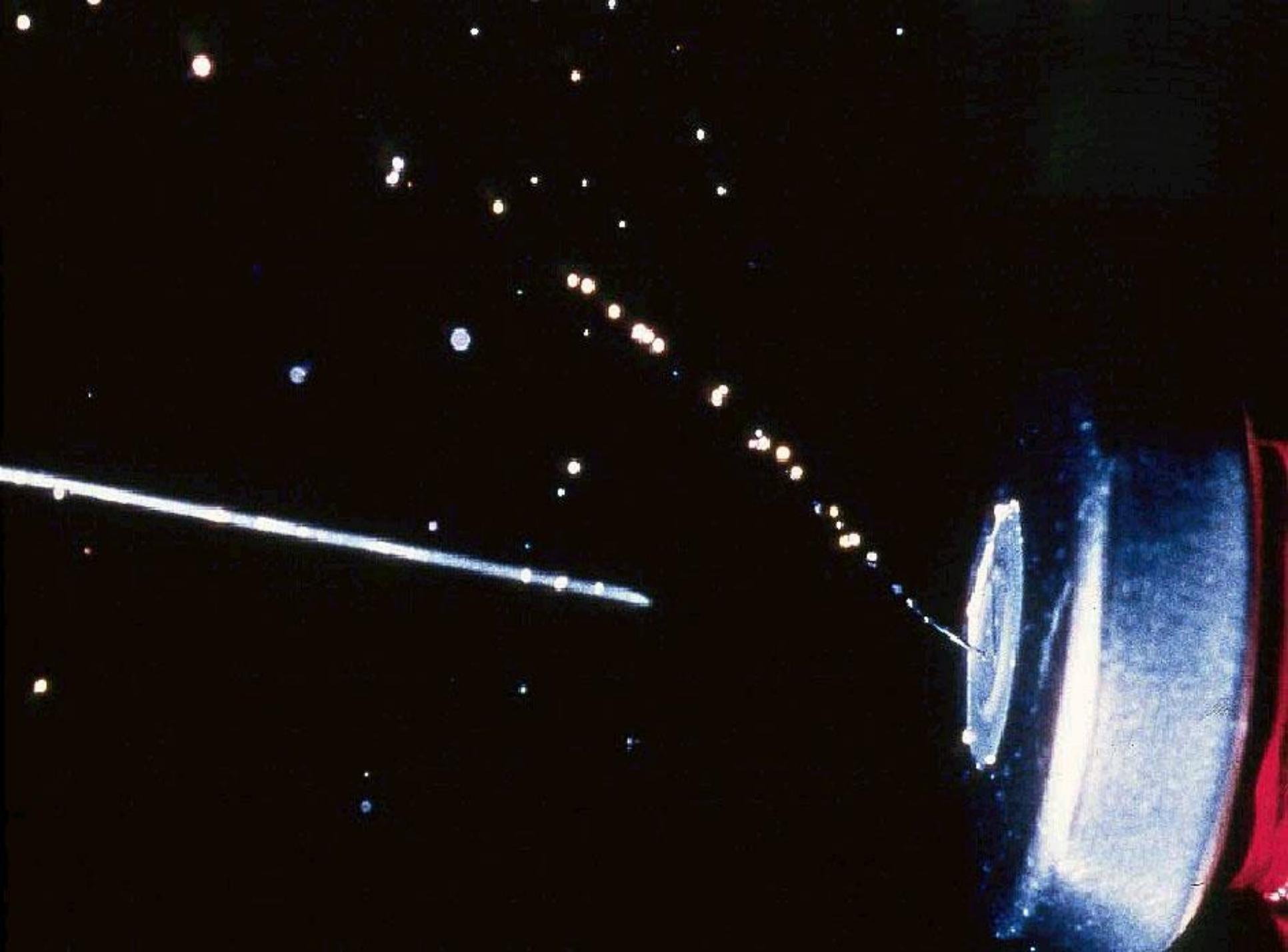
- 生物气溶胶无色无味、无孔不入，不易发现，实验人员在自然呼吸中不知不觉吸入而造成感染。若治疗控制不及时会造成严重后果。
- 呼吸道传播的传染病的微生物特别是高致病性病毒常常发生变异，尤其是其抗原性、致病性都可能发生改变，在空气中存活力增强。
- 可以远距离或较远距离传播，这是其与其他传播途径的显著区别，也是气溶胶传播难以预防的另一重要原因。



可产生各种严重程度微生物气溶胶的实验室操作

轻度(<10 个颗粒)↕	中度(11~100 个颗粒)↕	重度(>100 个颗粒)↕
玻片凝集试验; ↕	腹腔接种动物, 局部不涂消毒剂; ↕	离心时离心管破裂; ↕
倾倒毒液; ↕	实验动物尸体解剖; ↕	打碎干燥菌种安瓿; ↕
火焰上灼热接种环; ↕	用乳钵研磨动物组织; ↕	打开干燥菌种安瓿; ↕
颅内接种; ↕	离心沉淀前后注入、倾到、混悬毒液; ↕	搅拌后立即打开搅拌器盖; ↕
接种鸡胚或抽取培养液; ↕	毒液滴落在不同表面上; ↕	小白鼠鼻内接种; ↕
	用注射器从安瓿中抽取毒液; ↕	注射器针尖脱落喷出毒液; ↕
	接种环接种 <u>平皿</u> 、试管或三角烧瓶等; ↕	刷衣服、拍打衣服; ↕
	打开培养容器的螺旋瓶盖; ↕	
	摔碎带有培养物的 <u>平皿</u> ; ↕	







微生物气溶胶的控制



实验室空气传播与感染主要有三个过程：

- ◆ 一是微生物气溶胶的**产生**
- ◆ 二是微生物气溶胶的**扩散**
- ◆ 三是微生物气溶胶人体**暴露和吸入**

因此，要控制或减少实验室空气传播和感染，要有相应得生物安全措施，以控制实验室微生物气溶胶感染的三个过程。

微生物气溶胶的控制



- ✚ 安全操作
- ✚ 规范和改进操作过程和操作技术，
尽量避免操作失误。

例如：

- ✚ 用冷却接种环沾取菌液进行接种-----气溶胶减少效果可达91%。



使用生物安全柜

各种产生感染性气溶胶的操作尽量在生物安全柜内操作。正确使用生物安全柜，以有效地减少实验室获得性感染和由于气溶胶暴露而导致的培养物的交叉感染，并能保护环境。



个人防护与实验室通风系统

- ❖ 实验室工作人员在进行微生物检验时，应进行个人防护。操作时应穿戴防护服、口罩、面罩、帽子和手套。
- ❖ 对实验室以外区域应形成一个相对密闭的系统，对实验室内部则是一个气流定向流动的系统，清洁区、缓冲区、低污染区、严重污染区，每个区域之间保持一定压差，防止空气倒流。

做完的标本可以这样处理!



二、实验室生物安全防护



- ✓ (一) 防护设备设施
- ✓ (二) 个人防护用品
- ✓ (三) 医疗垃圾处置



安全防护的基本要求

- ✦ 在实验室工作时，必须穿着合适的工作服或防护服。
- ✦ 在进行可能接触到血液、体液以及其他具有潜在感染性的材料的操作时，应戴上合适的手套。手套用完后，应先消毒再摘除，随后必须洗手。
- ✦ 在处理完感染性实验材料后，以及在离开实验室工作区域前，都必须洗手。
- ✦ 为了防止眼睛或面部受到喷溅物的污染、碰撞或人工紫外线辐射的伤害，必须戴合适的安全眼镜、面罩（面具）或其他防护设备。



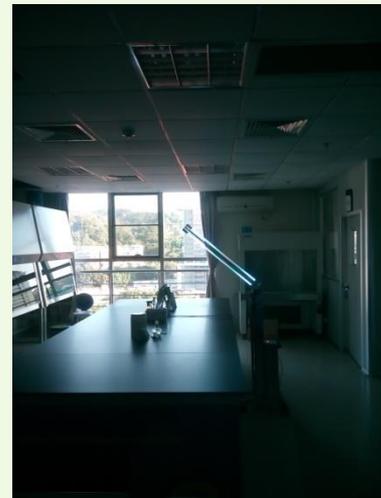
安全防护的基本要求

- ❖ 严禁穿着实验室防护服离开实验室工作区域。
- ❖ 不得在实验室内穿露脚趾的鞋。
- ❖ 禁止在实验室工作区域进食、饮水、吸烟、化妆和处理隐形眼镜。
- ❖ 禁止在实验室工作区域储存食品和饮料。
- ❖ 在实验室内用过的防护服不得和日常服装放在同一柜子内。



(一) 防护设备设施

- 生物安全柜
- 压力蒸汽灭菌器
- 可移动紫外灯
- 红外加热灭菌器
- 酒精灯
- 洗眼冲淋装置



生物安全柜



- ❁ 主要的保护屏障，防止生物有害气溶胶逃逸。
- ❁ 保护操作人员-负压
- ❁ 保护周边环境-HEPA
- ❁ 可以保护样品-层流





生物安全柜

▶ 实验室操作都可能产生感染性气溶胶。

直径小于 $5\mu\text{m}$ 的气溶胶、直径为 $5\sim 100\mu\text{m}$ 的微小液滴亦可能产生吸入或交叉污染工作台面的其他材料。

▶ 正确使用生物安全柜——将有效减少由于气溶胶暴露所造成的实验室感染以及培养物交叉污染。



CLASS II 二级生物安全柜

层流负压柜

CLASS II 级生物安全柜适用于1、2、3级生物安全水平的实验。它们可以安全的保护样品、人员和环境。

CLASS II 级生物安全柜根据结构以及气流分配的不同，主要是外排气流，分为：

A型 (30%排在实验室内)

B型 B1 (70%接管道外排)

B2 (100%接管道外排)

B3 (30% 接管道外排)

HEPA (高效微粒子空气，能99.99%地去除0.3微米以上颗粒)



在生物安全柜上工作

- **理想的工作台摆放原则（清洁→污染区）**

在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



在生物安全柜上操作

- 避免使用明火，用适当的灭菌措施
- 避免使用干扰安全柜内层流的实验手段
- 如使用中有遗洒，所有物品被拿走前必须经去污染处理
- 安全柜必须处于操作状态时，才能彻底消毒内壁

明火：

在生物安全柜内所形成的几乎没有微生物的环境中应避免使用明火。

--使用明火会对气流产生影响

--特别在处理挥发性物品和易燃物品时，也易造成危险

--在对接种环进行灭菌时，可以使用微型燃烧器或电炉，而不应使用明火。



安全柜的维护保养

- 用消毒剂清洁所有内壁，待其干燥
- 定期抬起工作面清洁下面的区域；洗净抹布
- 每天关机后，打开安全柜内部的紫外灯消毒60分钟
- 安全柜每年需要进行性能检测
- 第三方机构（个体防护能力、样品保护能力、交叉污染防护能力）



淋浴装置和应急消毒喷淋装置

- **1、规定：**
 - --BSL-2实验室在必要时应有应急喷淋装置。
 - --BSL-3实验室应设置淋浴装置（清洁区），必要时在半污染区设置应急消毒喷淋装置。
- **2、要求：**
 - ▶ 保持管道的通畅、必须告知工作人员应急消毒。
 - ▶ 喷淋装置的摆放位置、培训其操作方法。
 - ▶ 应急消毒喷淋装置。
 - ▶ 在使用中可用大量冷水淋洗污染的部位，淋洗时间至少需要20分钟。如果为化学物品溅出污染，用大量急水冲洗。
 - ▶ 当使用紧急淋浴装置后必须立刻填写事故报告单并立即报告主管领导。



(二) 个人防护用品

- 护目镜
- 口罩、帽子
- 防护衣 (实验服、隔离衣)
- 手套
- 鞋套

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，戴医用口罩。
- 工作人员手上有皮肤破损或皮疹时应戴手套。



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：

- 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。
- 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。



正确使用手套



1、**手套的选择**：生物安全实验室一般使用乳胶橡胶或聚腈类或聚氯乙烯手套用于对强酸、强碱、有机溶剂和生物危害物质的防护。

2、**手套的检查**：在使用手套前应该检查手套是否退色、穿孔（漏损）或有裂缝。可以通过充气试验，将其浸入水中观察是否有气泡来检查手套的质量。



乳胶手套



聚脂手套

3、**手套的使用**：

- 一般情况下，佩戴一副手套即可（BSL-1实验室），
- 若在生物安全柜中操作感染性物质时（BSL-2和BSL-3实验室）应该佩戴两副手套。

正确使用手套



- c) 在操作过程中，外层手套被污染，立即用消毒剂喷洒手套并脱下后丢弃在生物安全柜中的高压灭菌袋中并立即戴上新手套继续实验。
- d) 戴好手套后应完全遮住手及腕部，如必要可覆盖实验服袖口。

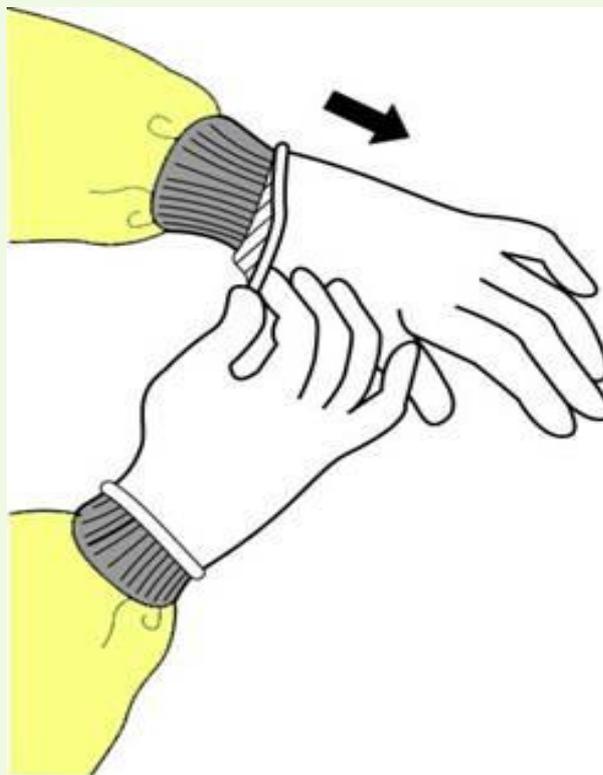
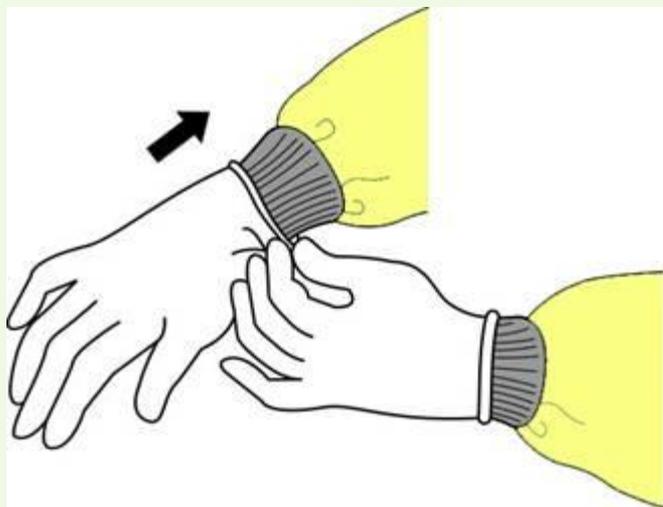
4、手套的清洗和更换：

- a) 使用一次性手套，不可再次使用。用后立即进行高压灭菌消毒然后丢弃。
- b) 不得戴着手套离开实验室区域。



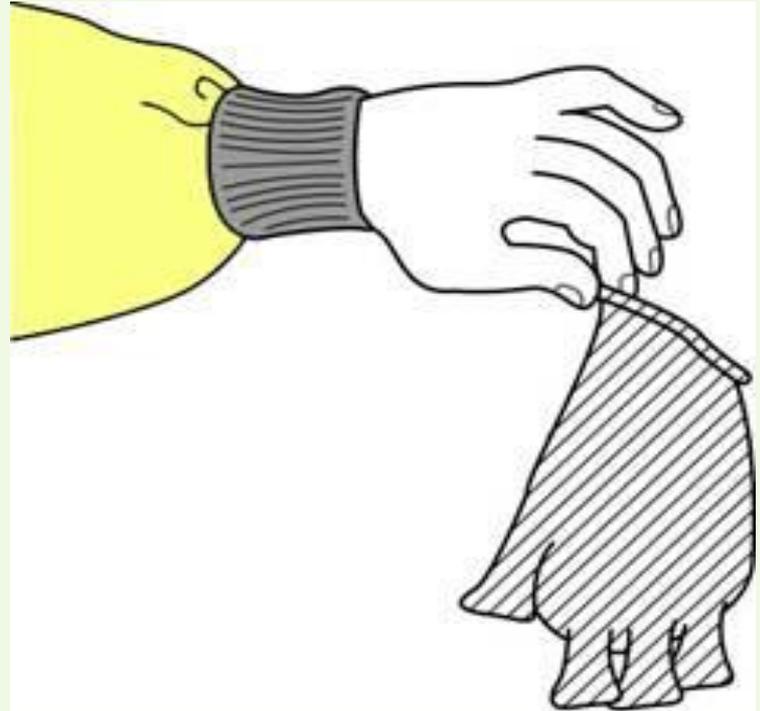
戴手套注意要点:

- 1) 在实验室工作中要一直保持戴手套状态并选择正确类型和尺寸的手套;
- 2) 将手插入手套后将手套口遮盖实验服袖;手套的手要远离面部。



脱手套过程及注意要点:

- ◆ 用一手捏起另一近手腕部处的手套外缘,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;
- ◆ 用脱去手套的手指插入另一手套腕部处内面;
- ◆ 脱下该手套使其内面向外并形成一个由两个手套组成的袋状;
- ◆ 丢弃在高温消毒袋中并进行消毒处理。





(三) 医疗垃圾处置

- 黄色垃圾袋——医疗垃圾
- 黑色垃圾袋——生活垃圾
- 红色垃圾袋——放射性垃圾
- 黄色锐器盒——损伤性垃圾



医疗废物分类



● 感染性废物

● 病理性废物

● 损伤性废物

● 药物性废物

● 化学性废物

感染性废物



- **特征：**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。
- **常见：**1、被病人血液、体液、排泄物污染的物品，包括：棉球、棉签、引流面条、纱布及其他各种敷料；一次性使用卫生用品、一次性使用医疗用品；一次性医疗器械；废弃的被服；其它被病人血液、体液、排泄物污染的物品。2、医疗机构收治的隔离传染病病人或者疑似传染病病人产生的生活垃圾。3、病原体的培养基、标本和菌种保存液。4、各种废弃的医学标本。5、废弃的血液、血清。

病理性废物

- **特征：**诊疗过程中产生的人体废弃物和医学实验动物尸体等。
- **常见：**1、手术及其它诊疗过程中产生的废弃的人体组织、器官等。2、医学实验动物的组织、尸体。3、病理切片后废弃的人体组织、病理腊块等。



● 损伤性废物

- **特征：**能够刺伤或者割伤人体的废弃的医用锐器。
- **常见：**1、医用针头、缝合针。2、各类医用锐器，包括：解剖刀、手术刀、备皮刀、手术锯等。3、载玻片、玻璃试管、玻璃安瓿等。



药物性废物

- **特征：**过期、淘汰、变质或者被污染的废弃的药品。
- **常见：**1、废弃的一般性药物，如：抗生素、非处方类药品等。2、废弃的细胞毒性药物和遗传毒性药物，包括：致癌性药物，如环孢霉素、环磷酰胺等；可疑致癌性药物，如：顺铂、丝裂霉素、阿霉素等；免疫抑制剂等。3、废弃的疫苗、血液制品等。



化学性废物

- **特征：**具有毒性、腐蚀性、易燃易爆性的废弃的化学物品。
- **常见：**1、医学影像室、实验室废弃的化学试剂。2、废弃的过氧乙酸、戊二醛等化学消毒剂。3、废弃的汞血压计、汞温度计。





医疗废物严格按照分类分别置于黄色有警示标识的防渗漏、防破裂、防穿孔的专用垃圾袋/盒中，并贴好标签。



解放军第一七四医院

 科室：检验科

损伤性医疗废物

感染性医疗废物

交接人：梅俊更

日期：2014年7月22日



医疗垃圾的收集处置

- 医疗垃圾由**卫生员**收集，并填写相应**医疗垃圾收集处置登记本**，再由指定的人员转运至医院医疗垃圾储存处。
- 微生物培养基、鉴定药敏卡、菌毒株等医疗垃圾移交前需进行**预处理（高压灭菌）**
- 血液、血清以及体液等标本移交前需用**有效氯2000mg/L**的消毒液浸泡30分钟以上。
- 针头、玻片等损伤性垃圾要放入**黄色锐器盒**中。



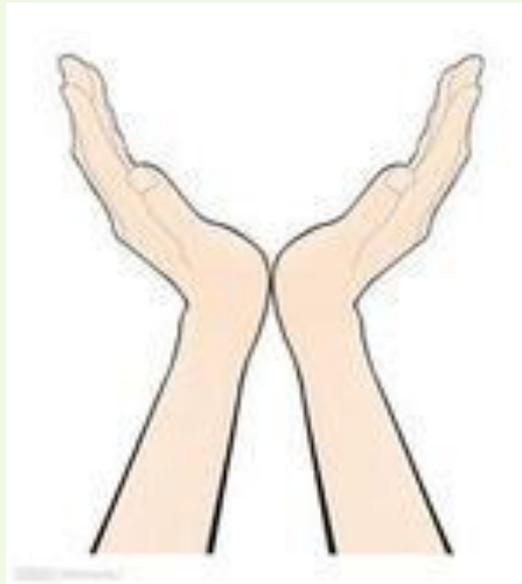


三、手卫生



手卫生

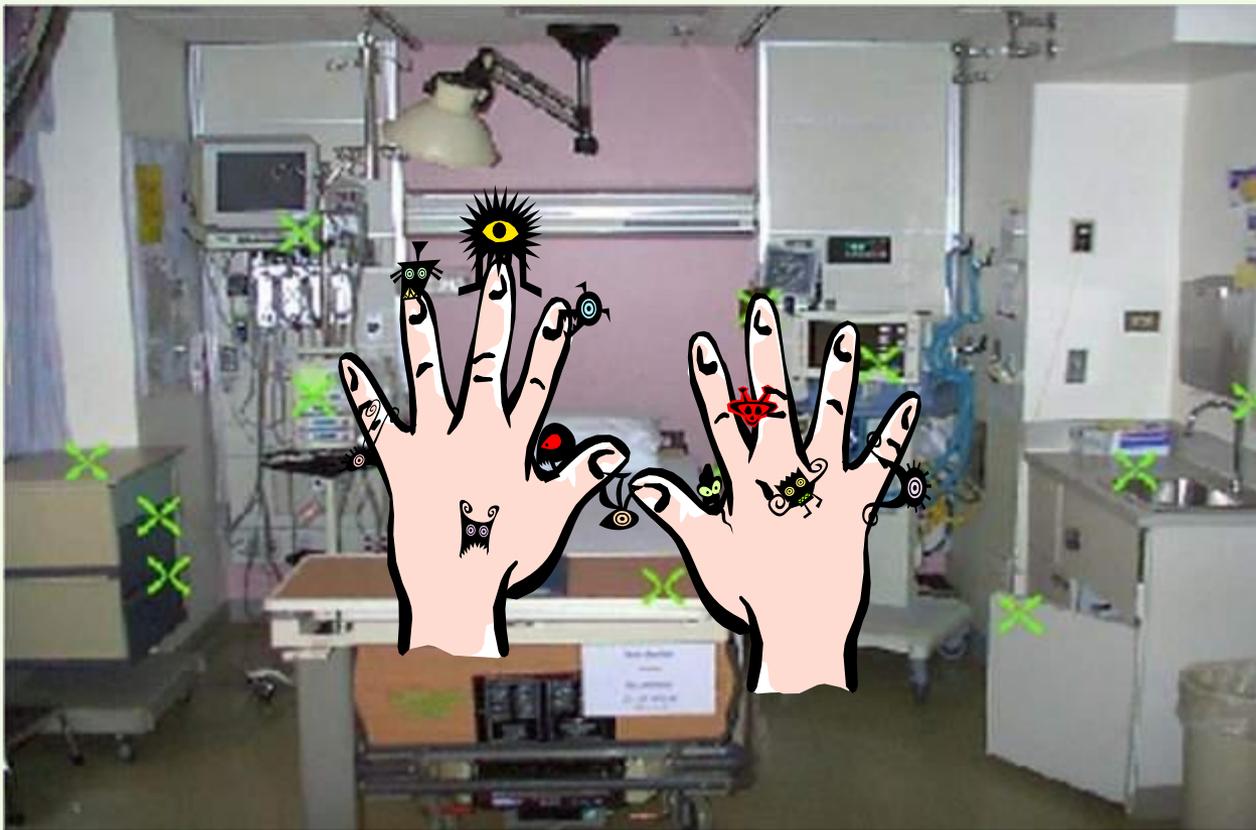
- 手的清洁与消毒是控制医院感染**最重要、最简便**的措施之一。
- 全球洗手日 每年10月15日





手卫生

无生命的环境是病原体的储存库!



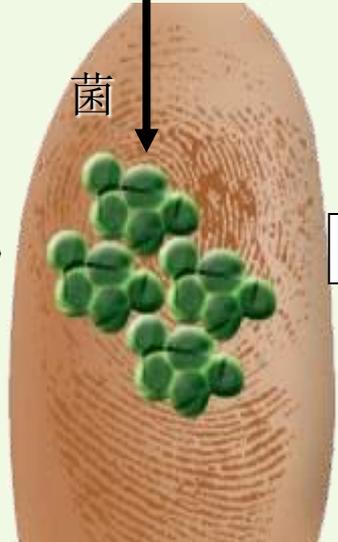
沾满各种病原菌的双手





手卫生的重要性

• 接触 → 病菌 → 洗手



尽可能减少你手上
微生物的窍门：



指甲短

不染指甲



不戴假指甲

不戴戒指、腕
表和手镯



2003年我国某市调查结果：

医院使用中的固体肥皂，54.0%存在极严重细菌污染，每克肥皂带菌量超过**100万个**(如下图)，

而卫生部规定工作人员手指皮肤带菌量不应超过15/cm²。固体肥皂的二次污染已经成为医院感染控制的严重隐患。



- 指甲下面极易隐藏污垢，所以手部清洁要彻底
- 戴假指甲或指甲套更容易携带更多细菌
- 戴戒指也会增加被病原体污染的机会
- 医护人员的正常指甲长度不要超过1/4英寸



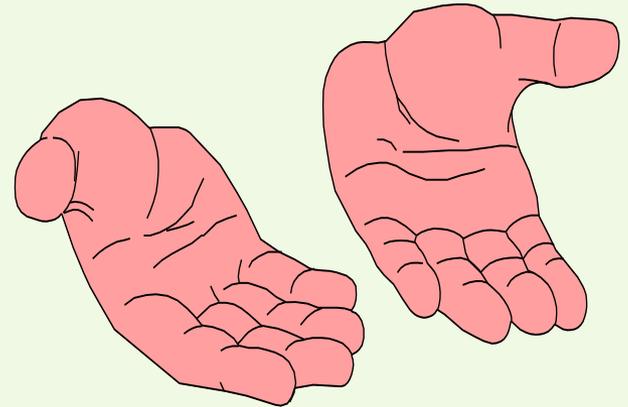
上海市院内感染质量控制中心
医院感染控制宣传园地



手部卫生
Hand Hygiene Initiative

什么时候洗手?

- ▶ 直接接触病人前后
- ▶ 摘手套后 (戴手套不能代替洗手)
- ▶ 不论是否戴手套, 进行侵袭性操作前



什么时候洗手?



- ▶ **接触体液或排泄物、粘膜、非完整皮肤或伤口敷料后**
- ▶ **护理病人从污染部位移到清洁部位时**
- ▶ **接触紧邻病人的物品后（包括医疗设备）**

预防疾病从正确洗手开始

七步洗手法

①



掌心相对，手指并拢相互搓擦

②



手心对手背沿指缝相互搓擦，交换进行

③



掌心相对，双手交叉沿指缝相互搓擦

④



双手指相扣，互搓

⑤



一手握另一手大拇指旋转搓擦，交换进行

⑥



将五个手指尖并拢在另一手掌心旋转搓擦，交换进行

⑦



螺旋式擦洗手腕，交替进行

**第一步：
掌心相对，手指并拢相
互摩擦**



手卫生技术



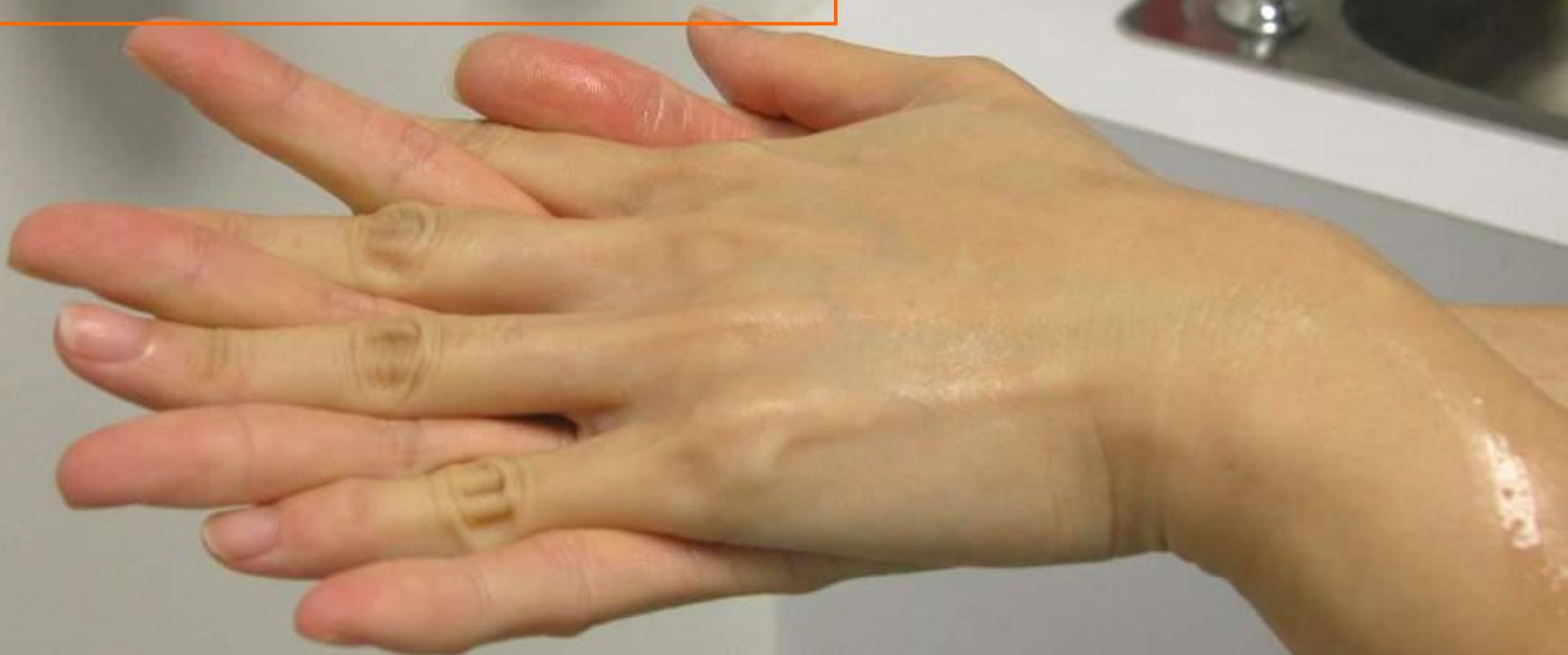
第二步：
手心对手背沿指缝相
互搓擦



手卫生技术



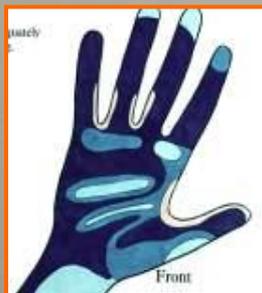
第三步：
掌心相对，双手交叉沿指缝
相互摩擦



手卫生技术

第四步：

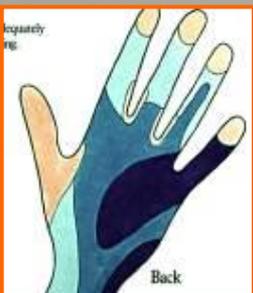
双手指交锁，指背在对侧掌心



手卫生技术

第五步：

一手握另一手大拇指旋转搓擦，
交换进行

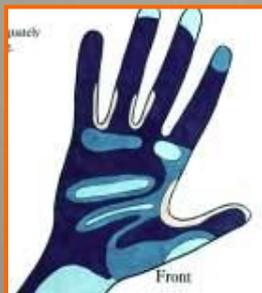


手卫生技术

第六步

指尖在对侧掌心前

后擦洗

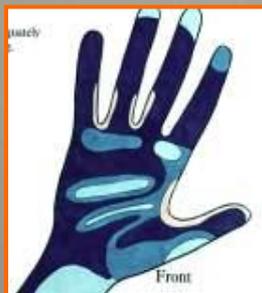


手卫生技术

第六步

指尖在对侧掌心前

后擦洗



手卫生技术



必要时清洗手腕及手臂





手卫生

医务人员手卫生要求

- ◆卫生手消毒后医务人员手表面的菌落总数应 $\leq 10\text{cfu}/\text{cm}^2$ 。
- ◆外科手消毒后医务人员手表面的菌落总数应 $\leq 5\text{cfu}/\text{cm}^2$

保护我们的双手



■ 冲净洗手液

■ 正确的干手

■ 不长时间戴手套

■ 接触污染物和腐蚀性物品时
戴手套

特别提醒



所有的化学消毒剂都有
毒性！
不能过度使用！

