



生物安全和 生物安全柜指南



ESCO[®]

WORLD CLASS. WORLDWIDE.

Esco Biotechnology Equipment Division

新加坡艺思高科技有限公司
北京代表处

北京市海淀区苏州街12号A座1903
电话: +86 (10) 8287 2040
传真: +86 (10) 8287 2001
电子邮箱: mail@escoachina.com
公司主页: www.escoachina.com
热线电话: 400 818 3726

Global Offices:

Singapore

Philadelphia, USA

Leiden, Netherlands

Santiago, Chile

Beijing, China

Shanghai, China

Kuala Lumpur, Malaysia

Mumbai, India

Dubai, U.A.E.

Yokohama, Japan



ESCO[®]

WORLD CLASS. WORLDWIDE.

前瞻

这本手册旨在为实验室科研人员和生物安全柜使用人员提供基本的实验室生物安全常识以及生物安全柜选购、使用、维护指南。

一、生物危害和实验室生物安全

“生物危害（Biohazard）”的定义为生物性的传染媒介通过直接感染或间接破坏环境而导致对人类、动物或者植物的真实或者潜在的危险。“实验室生物安全”一词用来描述那些用以防止发生病原体或毒素无意中暴露及意外释放的防护原则、技术以及实践。

目前世界通用生物安全水平标准是由美国疾病预防控制中心(CDC)和美国国家卫生研究院(NIH)建立的。根据操作不同危险度等级微生物所需的实验室设计特点、建筑构造、防护设施、仪器、操作以及操作程序，实验室的生物安全水平可以分为基础实验室-一级生物安全水平、基础实验室-二级生物安全水平、防护实验室-三级生物安全水平和最高防护实验室-四级生物安全水平。

1. 生物安全1级实验室（BSL-1）

BSL-1适合于进行试验研究用的物质都是已知的病源，所有特性都已清楚并且已证明该病源不会经常引发健康成人疾病，对实验人员和环境潜在危险小。实验室没有必要和建筑物中的一般行走区分开。一般按照标准的微生物操作，在开放的实验台面上开展工作。不要求、一般也不使用特殊的遏制设备和设施。实验人员在实验程序方面受过特殊训练，由受过微生物学或相关科学一般训练的科研人员监督实验。

2. 生物安全2级实验室（BSL-2）

BSL-2与BSL-1类似，适合于对人和环境已知的中等程度危险性并且与人类某些常见疾病相关的物质潜在危险的病源，操作者必须经过进行相关研究的操作培训并且由专业科研人员指导。对于易于污染的物质或者可能产生污染的情况进行预先的处理准备。一些可能涉及或者产生有害生物物质的操作过程都应该在生物安全柜内进行，在这些条件下最好使用二级的生物安全柜。与BSL-1的区别在于：

- (1)实验人员均接受过病源处理方面的特殊培训，并由有资格的科研人员指导；
- (2)进行实验时，限制进入实验室；
- (3)对于污染的锐器，要特别注意；
- (4)某些可能产生传染性气溶胶或飞溅物的过程。应在生物安全柜中或其它物理遏制设备中进行。

3. 生物安全3级实验室（BSL-3）

BSL-3应用于临床、诊断、教学、研究、或者生产设施，在该级别中开展有关内源性和外源性病源的工作，若因暴露而吸入该病源，会引发严重的可能致死的疾病。实验人员应在处理致病性的和可能使人致死的病源方面受过专业训练，并由对该病源工作有经验的、有资格的科学工作者监督。

所有与传染源操作有关的步骤，都在二级或者三级生物安全柜或其他物理遏制装置中进行，或由穿戴合适防护服及设施的实验人员进行。实验室经过特殊设计和施工。

然而，应该认识到现有有些设施，不一定满足BSL-3的所有要求(即，双门进入工作区和密封问题)。在这种情况下，在BSL-2设施中开展常规操作(如，诊断程序中用于鉴定；分型、敏感性测试的病源繁殖)，其安全级别也可接受，但还需做到：

- 1)将实验室室内废气排出室外；
- 2)实验室的通风经过平衡以向室内提供定向气流；
- 3)工作时，禁止进入实验室；
- 4)严格遵照或使用BSL-3中推荐的标准微生物操作、特殊操作和安全设备。只有实验室行政主管可作出对BSL-3推荐的修订方法进行补充的决定。

4. 生物安全4级实验室（BSL-4）

进行试验研究的物质是一些非常高危险性并且可以致命的有毒物质，可以通过空气传播并且现今并没有有效的疫苗或者治疗方法来处理。操作者必须经过熟练的关于进行这种非常高危险性物质研究的培训，并且必须很熟悉一些相关操作、保护设施、实验室设计等等方面对于这些高危险性物质的预防。同时也必须由在此研究领域非常有经验、有资格的科研人员进行指导。对于实验室的进出应当严格的进行控制，实验室一定要单独的建造或者建造在一栋大楼中于其他任何地方都分离开的独立房间内，并且要求有详细的关于研究的操作手册进行参考。

在设施的工作区内，所有工作应限制在三级生物安全柜中；假若在二级生物安全柜中进行，必须使用装备生命支持系统的一体正压防护服。

值得特别注意的是，当出现新型不明微生物时，也必须在四级生物安全防护实验室中进行。待有充分数据后再决定此种微生物或毒素应在四级还是在较低级别的实验室中处理。

摘自：*Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories*, U.S. Department of Health and Human Services, HHS publication (CDC) 99-8395, 4th ed. April 1999. p 11-14.

表1：生物安全水平与易感染物质

| 生物安全水平 | 易感染因子 | 举例 | 操作 | 安全设备 (一级屏障) | 安全设备 (二级屏障) |
|---|--------------------------------------|---|--|---|----------------|
| 1 不会导致健康工作者或动物致病的细菌、真菌、病毒以及寄生虫等生物因子 | 枯草芽孢杆菌, 狂犬病毒, 大肠杆菌 | “BSL-1操作加：限制人员进入生物危害标志“锐器伤”预防明确的生物安全方式，任何污染物需要高压消毒处理或医学监督。” | 标准微生物操作 | 无要求 | 要求开放台面有洗手池 |
| 2 能引起人或动物发病的生物因子。主要通过肌肉注射、食物流转以及粘膜进行传染 | 麻疹病毒, 沙门氏菌, 弓形虫, 乙型肝炎病毒 | “BSL-1操作加：限制人员进入生物危害标志“锐器伤”预防明确的生物安全方式，任何污染物需要高压消毒处理或医学监督。” | 一级屏障包括：对引起感染性材料飞溅或气溶胶的致病因子进行操作所用的I级或II级生物安全柜或其他装备。 | BSL-1加： · 有效的高压灭器 个人防护装备：必需的个人实验室外长服、手套、面罩 | |
| 3 本土的或外来的可能导致气溶胶的传播，致病甚至致命的生物因子 | 结核分枝杆菌, 圣路易脑炎病毒, 伯氏考克斯体, 羟脯劳杆菌(生成阶段) | “BSL-3操作加：控制人员进入所有的污染物品高压灭菌实验室衣服在清洗之前须高压灭菌。实验室人员保留血清本地样品与全身正压供气个人防护装备联合使用的I级或II级生物安全柜。” | 一级屏障包括：对致病因子进行操作时，所用的I级或II级生物安全柜或其他装备。 | BSL-2加： · 通道走廊的物理隔离 · 自动关闭的双开门入口 · 排出的气体不循环 · 负压气流进入实验室 | |
| 4 高危险外来的对生命造成严重威胁的生物因子。 以雾状传导的污染物质或者其他以不可知的传染方式传播生物因子 | 伊波拉萨伊病毒, 辛诺柏病毒, 裂谷热病毒 | “BSL-3操作加：进入之前更换服装在出口有淋浴器进实验室拿出的所有材料需高压灭菌。” | 一级屏障包括：所有程序在I级生物安全柜或个人防护服联合使用的I级或II级生物安全柜。 | BSL-3加： · 独立建筑物或隔离带 · 独立的供气或排气通风系统和除污染系统 · 其他要求详见本书内容 | |

摘自 Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories, U.S. Department of Health and Human Services, HHS publication (CDC) 99-8395, 4th ed. p 52-53.

二、生物安全柜

作为生物安全实验室的一级屏障，生物安全柜（Biological safety cabinets, BSCs）是为操作具有感染性的微生物实验材料时，用来保护工作人员、实验室环境以及实验品，使其避免暴露于上述操作过程中可能产生的感染性气溶胶和溅出物而设计的。当操作液体或半流体，例如摇动、倾注、搅拌，或将液体滴加到固体表面上或另一种液体中时，均有可能产生气溶胶。由于肉眼无法看到直径小于5 μm 的气溶胶以及直径为5~100 μm 的微小液滴，因此实验室工作人员通常意识不到有这样大小的颗粒的生成，并可能吸入或交叉污染工作台面的其他材料。WHO出版的《实验室生物安全手册》中明确说明：“生物安全柜可以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。生物安全柜同时也能保护工作环境”。当然，安全柜有效工作的前提是选购合格的安全柜和正确使用安全柜。

表2：生物安全柜级别

| 安全柜类型 | 进气流速度 V (m/s) | 循环气体 (%) | 外排气体 (%) | 周围压力控制 | 排风选择 | 生物安全水平 |
|-------|--------------------|----------|----------|--------|-------|-------------|
| I | US:0.38 EN:0.70 | 0 | 100 | 外界空气 | 室内/硬管 | 1, 2 & 3 |
| II A1 | US:0.38 EN:0.40 | 70 | 30 | 外界空气 | 室内/套管 | 1, 2 & 3 |
| II A2 | US:0.50 EN:0.40 | 70 | 30 | 负压 | 室内/套管 | 1, 2 & 3 |
| II B1 | US:0.50 EN:0.40 | 30 | 70 | 负压 | 硬管 | 1, 2 & 3 |
| II B2 | US:0.50 EN:NA | 0 | 100 | 负压 | 硬管 | 1, 2 & 3 |
| III | 密闭设计 | 0 | 100 | 负压 | 室内/硬管 | 1, 2, 3 & 4 |

摘自： *Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization. P32.*

1、生物安全柜的分类

I 级生物安全柜

空气从安全柜前窗开口以0.38 m/s 的低速率进入安全柜，空气经过工作台表面，并经排风管排出安全柜。定向流动的空气可以将工作台上可能形成的气溶胶迅速带离工作区。工作人员的双臂可以从前窗下方伸到安全柜内的工作台上，并可以通过前窗观察工作台面的情况。安全柜的前窗可完全抬起来，以便清洁工作台面或进行其他处理。

安全柜内的空气可以通过HEPA 过滤器按下列方式排出：(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面；(b) 通过建筑物的排风系统排到建筑物外面；(c) 直接排到建筑物外面。HEPA 过滤器可以装在生物安全柜的压力排风系统 (the exhaust plenum) 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，而其他的则是借助建筑物排风系统的排风扇。

I 级生物安全柜理论上能够为人员和环境提供保护，也可用于操作放射性核素和挥发性有毒化学品，适用于生物安全水平1至3级的微生物工作环境。但未经过滤的室内空气通过生物安全柜前窗开口直接吹到工作台上，因此 I 级生物安全柜对试验品不能提供切实可靠的保护。由于性能和用途的局限，I 级生物安全柜在很多场合下已不再使用。

II 级生物安全柜

与 I 级生物安全柜一样，II 级生物安全柜也有气流流入前窗开口，被称作“进气流”，用来防止在微生物操作时可能生成的气溶胶从前窗逃逸。与 I 级生物安全柜不同的是，未经过滤的进气流会再在到达工作区域前被进风格栅俘获，因此试验品不会受到外界空气的污染。

II 级生物安全柜的一个独特之处在于经过HEPA过滤器过滤的垂直层流气流从安全柜顶部吹下，被称作“下沉气流”。下沉气流不断吹过安全柜工作区域，以保护柜中的试验品不被外界尘埃或细菌污染。

II 级生物安全柜是目前应用最为广泛的柜型。按照美国生物安全柜标准NSF49和中国生物安全柜标准YY0569-2005中的规定，II 级生物安全柜依照入口气流风速、排气方式和循环方式可分为4 个级别：A1 型，A2 型(原A/B3 型)，B1 型和B2 型。所有的 II 级生物安全柜都可提供工作人员、环境和产品的保护，适用于生物安全水平1至3级的微生物工作环境。在使用正压防护服的条件下，II 级生物安全柜也可用于4 级的生物安全水平的生物实验室中。由于侧壁正压腔设计的A1型和B1型已逐渐被A2型和B2型的负压腔替代，所以在这里将着重介绍后两种型号的二级生物安全柜。

II 级A2 型生物安全柜

II 级A2型生物安全柜是 II 级安全柜中最普遍的型号，也是目前市面上各级别生物安全柜中最常见的类型。

内置风机将实验室空气（供给空气）经前窗开口引入安全柜内并进入前面的进风格栅。在正面开口处的空气流入速度至少应该达0.50 m/s(NSF49)。同时，安全柜内循环的气体通过供风HEPA/ULPA 过滤器，再向下流动通过工作台面形成下沉层流气流。下沉气流在向下流动到距工作台面大约6 ~ 18cm 处分开，分别通过前排和后排的进风格栅，并将所有在工作台面形成的气溶胶带走。通过前后进风格栅的气流混合并顺着操作台面后面的回流路线向上流动，此混合气流接着通过通风系统到达位于安全柜顶部、介于供风和排风过滤器之间的回风腔内。30%气体通过上方的HEPA/ULPA过滤器后排出，大约70%的空气将经过供风HEPA/ULPA 过滤器重新返回到生物安全柜内的操作区域。

II 级A2型生物安全柜排出的空气可以重新排入房间里；如果进行放射性核素以及挥发性有毒化学品的操作，A2型生物安全柜可以通过连接到专用通风管道上的套管或通过建筑物的排风系统排到建筑物外面。安全柜所排出的经过加热或冷却的空气重新排入房间内使用时，与直接排到外面环境相比具有降低能源消耗的优点。



图1：二级A2型安全柜

II 级B2型生物安全柜

II 级B2型生物安全柜的规格起初是由美国国家癌症研究院(ANCI)确定的。II 级B2型和A2型生物安全柜的主要区别在于B2型安全柜没有气体循环，且工作需要依靠外排风扇，通过专门的排气管道将气体排出室外。II 级B2型生物安全柜广泛使用在使用挥发性化学试剂的生物试验过程中。比起A2型生物安全柜，B2型安全柜提供更高级别的安全防护。通过外排系统将尾气排出室外，可以外排HEPA过滤器失效的情况下仍可为维护实验室人员和环境的安全。

补偿进气气流以大于0.50m/s的额定流速为工作人员提供有效防护，以阻止微生物试验中产生的气溶胶带来的生物危害。补偿进气气流由生物安全柜工作台面前部的进气隔栅进入生物安全柜工作台面下面的底部回风腔道，在顶部风机的作用下进入生物安全柜背部的回风腔，以防止其直接进入操作室污染工作台面上的样品/产品。

HEPA/ULPA滤器过滤后的洁净空气，在内置风机的作用下自上而下形成额定风速大约为0.30m/s的均匀垂直层流，在安全柜工作区域内形成一个层流空气幕罩，从而避免了室内空气的污染和样品间的交叉污染。

生物安全柜内的层降气流在到达工作台面后，拆分为里外两股，和前窗进气补偿气流一起进入背部回风腔。混合气流通过空气循环通道，经过HEPA/ ULPA滤器的过滤之后通过独立的外排系统而排出室外。



图2：二级B2型安全柜

III 级生物安全柜

III 级生物安全柜用于四级生物安全实验室，可以提供最好的个体防护。III 级生物安全柜的所有接口都是“密封的”，其送风经HEPA/ULPA 过滤，排风则经过两个HEPA/ULPA 过滤器。III 级生物安全柜由一个外置的专门的排风系统来控制气流，使安全柜内部始终处于负压状态(> 124.5 Pa)。通过连接在安全柜上的结实的橡胶手套，试验人员可以在工作台面进行操作。III 级生物安全柜应该配备一个以供试验物品的进出安全柜工作区的传递箱。III 级生物安全柜也可以与一个双开门的高压灭菌器相连接，并用它来清除进出安全柜的所有物品的污染。可以将几个手套箱连在一起以增大工作面积。

三级安全柜可通过两个HEPA过滤器直接排放，也可以通过外接的排气管道直接排到外界环境。当使用排气管道系统的时候，三级安全柜也适用于在试验中需要添加有毒化学品的微生物操作。三级生物安全柜都可在涉及一至四级生物安全水平的微生物因子实验中使用。尤其适用于产生致命因子的生物试验。



图3：三级生物安全柜

2、生物安全柜的性能解疑

一些人或许认为，生物安全柜不过是一个装有风机和一些HEPA过滤器的铁箱子；事实上生物安全柜要复杂的多。同样，保持生物安全柜的安全性能也远比“定期更换过滤器”复杂得多。

下文旨在为大家在安全柜安全性能原理上破疑解惑，为实验室工作人员、管理人员和其他涉及安全柜使用维护的相关人员的工作中给予指导。

1) 过滤器

过滤器是生物安全柜中的关键组成，主要起到过滤细菌和灰尘颗粒的作用，以净化吹入安全柜工作区和排放出的气体。安全柜里所使用的过滤器一定要有足够的过滤效率，否则就起不到防护生物危害的作用。过滤器材料应采用硅酸盐玻璃纤维。目前安全柜中通常采用的是截流效率为99.99%的HEPA高效过滤器，ESCO率先采用的微褶皱无隔板ULPA超高效过滤器对0.3微米的尘埃微粒拥有99.9999%的截流效率，并拥有更紧密的结构和更大的过滤面积，可在工作区域内提供相当于ISO标准中3级的洁净度。

HEPA & ULPA 过滤器的构造

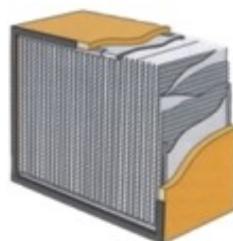


图4：分离式过滤器



图5：一体式过滤器

HEPA/ULPA 过滤器是专门为去除多种空气中污染成分而设计的，可以去除的成分包括：

- ◆ 标准粉尘
- ◆ 卷烟烟气
- ◆ 细菌（细菌大小：500到0.3微米）
- ◆ 煤灰
- ◆ 花粉
- ◆ 放射性微粒
- ◆ 杂质离子 – 会影响到集成电路的速度

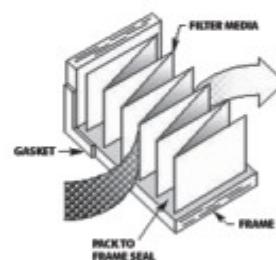


图6：包装物粘合成过滤网外框----外框与气密垫片组装成最终过滤箱体

2) 风机系统

作为一台符合安全柜国标标准的风机系统，应具有以下功能：

风量自动补偿功能，可以在过滤器负载风压下降至一定范围内，可自动补偿风量以维持气流速恒定；电机拥有热保护功能，可以在1.15倍额定电压值条件下稳定工作。

作为拥有超过25年洁净设备和工程经验的ESCO公司，我们在生物安全柜中采用的是免维护离心式外转子风机。已经被洁净行业广泛认可的离心式外转子风机和普通风机相比，无需添加润滑油，另外拥有结构紧密，重量轻，平衡好、散热好和100%速度控制的特色，并拥有良好的稳定性和更长的使用寿命。

对于B2型二级生物安全柜，内置和外排风机需要拥有连锁警报系统，这个将在下文详细介绍。

3) 气流控制与“气流安全性能区”的概念

气流控制是生物安全柜的核心技术。作为一台合格的生物安全柜，除了气流速度需要达到要求，气流也需要达到定向性、稳定性和均匀性以满足生物危害性试验的要求。

国际生物安全柜标准都有规定基本的气流安全范围，例如美国NSF49标准规定，二级生物安全柜进气流最低为0.5m/s；欧盟EN12469规定的进气流最小值为0.40m/s。安全柜的气流速度一定要处在一个合适的数值。既不要太高也不要太低：气流速度太高就容易引起湍流，导致试验品失去保护；太低就不能发挥足够的保护作用（柜内的污染物很容易逃逸出工作区）。不同的生物安全柜的速度最佳设定值是不同的，最佳设定速度可使安全柜发挥最大的防护作用。生产厂商应该对其生产的所有型号安全柜进行气流测试以确定气流安全性能区和气流设定最佳值，并提供给用户以供参考。

4) 控制和警报系统

进入了微电脑控制时代的控制系统用于监控生物安全柜的各项操作数值，及时发现任何故障和误操作，以声光警报通知用户采取措施，并自动采取相应的连锁安全措施。

操作特点：

带有温度补偿功能的流速传感器，可以测定真实的气流流速，包括进气流、下沉气流和外排气流(B2)；LCD液晶显示屏实时显示气流流速/流量。

声光警报功能：对气流流速过低或不安全前窗高度，系统都会发出声光警报。

自动预热和关机程序的设定：WHO实验室生物安全手册第三版要求“在开始工作以前以及完成工作以后，应至少让安全柜工作5min 来完成“净化”的过程，亦即应留出将污染的空气排出安全柜的时间。”生物安全柜需要有相应的预热和关机程序，并可由用户根据实际需要自主设定时间。

拥有硬件故障智能诊断系统可以提示故障信息。

拥有管理员密码功能，防止非授权人员修改参数和非法操作。

带有计时器的“安全失效控制系统”可以使得生物安全柜的电子控制硬件在故障的情况下也不破坏其安全性能。在失效时，生物安全柜将自动重新启动并将各项参数设定在安全范围内。

在操作面板上调控所有的功能时，也可以通过一个RS232电脑接口来设定参数、更新控制软件和故障分析。用户的投资得到保护：Sentinel™控制系统的控制软件可以通过网站下载并更新。

一个“风机时间计时器”可以用来计时安全柜的实际使用时间，便于监控ULPA滤器的工作时间，便于及时更换。一个“紫外灯时间计时器”用来计时紫外灯的工作时间，便于及时更换。

特殊的“维修模式”可以用于维修目的。其可以绕过安全柜所设定的参数、控制及锁定功能，所有的输入和输出参数都可以观察用于故障分析。

安全柜连锁功能：

外排流量报警联锁系统(B2型)：如果外排气流低于最低警戒水平，或下降气流高于最高警戒水平，微电脑控制系统将立即声光警报并关闭安全柜的下降气流供气风机，外排风机继续运转，将防止由于进气流的减少对操作人员所带来危险。

前窗高度报警联锁系统：一旦安全柜前窗偏离工作高度，为防止对操作人员所带来危险，系统以声光警告用户(B2型还将通过联锁系统关闭内风机以确保进气流的稳定)；

紫外灯联锁功能：为了防止工作人员暴露在紫外线辐射下，安全柜都应拥有紫外灯联锁功能。只有完全将玻璃前窗关闭紫外灯才能激活；如果紫外灭菌过程中前窗被意外升起，紫外灯将自动关闭。

5) 洁净工程学设计理念

安全柜作为一种洁净空气净化设备，设计中也凝结了洁净工程学的理念。融入在生物安全柜设计中的洁净工程学的特色包括：

工作台面和工作区内腔采用304级不锈钢一体成型，边缘经圆弧处理，表面没有螺丝、接缝方便清洁；排液槽也采用一体成型设计，并有底面引流弧度设计；凸形进气隔栅和引流孔设计确保工作区内没有气流死角；机体表面采用的抗菌涂层；另外安装在安全柜顶部的外置排气调节板可以提高气流的稳定性。

6) 人体工程学设计理念

人体工程学是一项新兴学科，是研究“人—机—环境”系统中人、机、环境三大要素之间的关系，为解决该系统中人的效能、健康问题提供理论与方法的科学。人体工程学的应用为生物安全柜设计带来了人性化因素，安全柜设计中的尺寸、构造都结合了人体的体形、肢体姿态、视野、光照噪音适应性的考量，并带来了人体工程学设计特色，包括：

前窗操作面10度倾斜角设计，搁手架的采用，LCD控制面板的人性化倾角，电源插座和气液阀的安装位置，无框式前窗设计等

7) 附加安全设计特色

经过生物安全柜几十年来的使用经验，安全柜的机构设计也进行了改进。在改型后的A/B3型和B2型生物安全柜都引入了“负压包围正压”的设计：就是安全柜内所有的正压区(污染区)都在负压包围，防止因过滤器泄漏，密封失效等原因造成的泄漏。

ESCO Labculture系列安全柜采用了更为可靠的“三层侧壁设计”：内侧第一层和第二层之间空间属于负压，而外侧附加的第三层也可以起到保护作用。即使一层测壁破损，也不会发生污染物泄漏造成危险。相对同类产品的玻璃边窗和双层侧壁设计，ESCO的三层侧壁设计具有更好的安全性。

作为前窗设计的附加安全考量，ESCO Labculture系列安全柜采用了双层贴膜安全防爆玻璃。该安全玻璃在双层钢化玻璃间再加入一层高强度PVB材料。在玻璃被大强度撞击的情况下，这层PVB材料可以牢牢粘住破碎玻璃，防止玻璃飞裂，一方面可以防止对操作者可能造成的物理伤害；另一方面仍可以维持前窗气流的可靠性，从而保护操作者和环境的安全，并有极佳的抗紫外线功能。

8) 电气安全检测与认证

生物安全柜的电气系统需要满足以下一项或多项国际标准：国际电工委员会IEC 61010-1，欧盟EN61010-1，美国UL 3101-1，加拿大CSA C22.2 No. 1010.1-92以及中国国家电气设备安全标准BG4793.1。所有的安全柜在出厂前都需经过电子安全检测并附上检测报告。

3、生物安全柜权威国际认证标准

确保你的安全柜安全可靠，除了要了解上述相关因素外，最好最快最方便鉴别安全柜安全性能的方法是了解您购买的安全柜是否获得过以下几项主要的国际安全柜认证：

SFDA YY0569-2005 (中国国家食品药品监督管理局医药行业生物安全柜标准)
EN12469:2000 (欧盟生物安全柜统一标准)
NSF49:2002 (美国生物安全柜标准-二级生物安全柜)
JIS K3800:2000 (日本生物安全柜标准)

在2000年5月，欧洲标准化委员会(CEN)颁布了生物安全柜欧盟标准EN12469:2000，正式替代了德国DIN 12950、英国BS5726 和法国NF X-44-201 等欧盟成员国生物安全柜的标准，成为欧盟区域内生物安全柜的统一标准。

NSF49 在上世纪70年代就已经出现，被公认为目前生物安全柜领域最完善的标准。在2002年，ANSI/NSF49 正式获得了美国国家标准学会 (American National Standard Institute, ANSI) 的官方认可，成为美国生物安全柜的统一标准。

由日本空气净化协会(JACA)颁布于1994年的日本生物安全柜标准JIS K3800:2000是以美国NSF49标准为基础，在微生物挑战方面有更加严格的要求。

中国国家食品药品监督管理局在2005年7月建立并颁布了生物安全柜标准YY0569-2005。此标准以美国标准NSF49:2002为基础，并结合了欧盟标准EN12469:2000的逐项特色，例如KI Discuss快速生物挑战测试以及对气流显示和警报系统的要求。YY0569-2005标准已于2006年6月1日开始实施，成为中国医药卫生行业强制标准。

在寻求生产商产品认证的同时，用户也许注意以下事项：

- 1) 当生产商声称自己生产的安全柜符合某项国际标准时，可要求其出示证明-合法的认证机构所签署的独立检测报告；
- 2) 一些标准可能与安全柜安全性能无直接关联，例如生物安全柜生产商声称获得ISO9001质量认证，而ISO9001并不会对安全柜性能进行以上国际安全柜标准的检测；
- 3) 认证必须是由独立、合法的安全柜认证机构测试和颁布的；

三、生物安全柜的选择、安装和操作规范

生物安全柜的选择

主要根据下列所需保护的类型来选择适当的生物安全柜：

表3：生物安全柜的选择

| 保护类型 | 生物安全柜的选择 |
|-------------------------|--------------------------------|
| 个体防护，针对危害程度二、三、四类的病原微生物 | I, II, III级生物安全柜 |
| 个体防护，针对一类病原微生物，手套箱型实验室 | III级生物安全柜 |
| 个体防护，针对一类病原微生物，防护服型实验室 | I, 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/有毒化学品的防护 | II级B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/有毒化学品的防护 | I级, II级B2型, III级生物安全柜 |

摘自：*Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization. P29.*

实验室中生物安全柜的使用

位置

空气通过前面开口进入生物安全柜的速度大约为0.5 m/s。这样速度的定向气流是极易受到干扰的，包括人员走近生物安全柜所形成的气流、打开窗户、送风系统调整以及开关门等都可能造成影响。因此，最为理想的是，生物安全柜应位于远离人员活动、物品流动以及可能会扰乱气流的地方。在安全柜的后方以及每一个侧面要尽可能留有30 cm 的空间，以利于对安全柜的维护。在安全柜的上面应留有30~35 cm 的空间，以便准确测量空气通过排风过滤器的速度，并便于排风过滤器的更换。

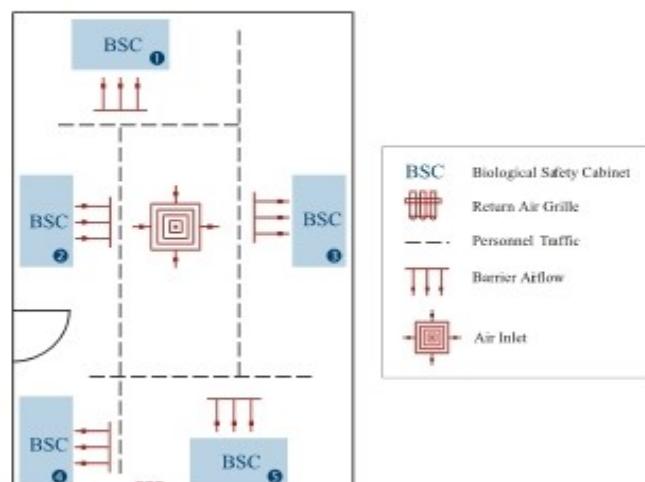


图7：典型II级生物安全柜的安装

操作者

生物安全柜如果使用不当，其防护作用就可能大大受到影响。操作者在移动双臂进出安全柜时，需要小心维持前面开口处气流的完整性，双臂应该垂直地缓慢进出前面的开口。手和双臂伸入到生物安全柜中等待大约一分钟，以使安全柜调整完毕并且让里面的空气“扫过”手和双臂的表面以后，才可以开始对物品进行处理。要在开始实验之前将所有必需的物品置于安全柜内，以尽可能减少双臂进出前面开口的次数。

物品放置

II 级生物安全柜前面的进气格栅不能被纸、仪器设备或其他物品阻挡。放入安全柜内的物品应采用70%酒精来清除表面污染。可以在消毒剂浸湿的毛巾上进行实验，以吸收可能溅出的液滴。所有物品应尽可能地放在工作台后部靠近工作台后缘的位置，并使其在操作中不会阻挡后部格栅。可产生气溶胶的设备（例如混匀器、离心机等）应靠近安全柜的后部放置。像有生物危害性的废弃物袋、盛放废弃吸管的盒子以及吸滤瓶等体积较大的物品，应该放在安全柜内的某一侧。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。

耐高压灭菌的生物危害性废弃物袋以及吸管盛放盒不应放在安全柜的外面，否则在使用这些物品时双臂就必须频繁进出安全柜，这样会干扰安全柜空气屏障的完整性，从而影响对人员和物品的防护。

操作和维护

大多数生物安全柜的设计允许整天24 h 工作。研究人员还发现，连续工作有助于控制实验室中灰尘和颗粒的水平。向房间中排风或通过套管接口与专门的排风管相连接的 II 级A1型及A2型生物安全柜，在不使用时是可以关闭的。其他如 II 级B1型和B2型生物安全柜，是通过硬管安装的，就必须始终保持空气流动以维持房间空气的平衡。在开始工作以前以及完成工作以后，应至少让安全柜工作5min 来完成“净化”的过程，亦即应留出将污染的空气排出安全柜的时间。

生物安全柜的所有维修工作应该由有资质的专业人员来进行。在生物安全柜操作中出现的任何故障都应该报告，并应在再次使用之前进行维修。

紫外灯

生物安全柜中不需要紫外灯。如果使用紫外灯的话，应该每周进行清洁，以除去可能影响其杀菌效果的灰尘和污垢。在安全柜重新认证时，要检查紫外线的强度，以确保有适当的光发射量。房间中有人时一定要关闭紫外灯，以保护眼睛和皮肤，避免因不慎暴露而造成伤害。

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，并且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。

溢出

实验室中要张贴如何处理溢出物的实验室操作规则，每一位使用实验室的成员都要阅读并理解这些规程。一旦在生物安全柜中发生有生物学危害的物品溢出时，应在安全柜处于工作状态下立即进行清理。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生成。所有接触溢出物品的材料都要进行消毒和 / 或高压灭菌。

认证

在安装时以及每隔一定时间以后，应由有资质的专业人员按照生产商的说明对每一台生物安全柜的运行性能以及完整性进行认证，以检查其是否符合国家及国际的性能标准。安全柜防护效果的评估应该包括对安全柜的整体性、HEPA / ULPA过滤器的泄漏、向下气流的速度、正面气流的速度、负压 / 换气次数、气流的烟雾模式以及警报和互锁系统进行测试。还可以选择进行漏电、光照度、紫外线强度、噪声水平以及振动性的测试。在进行这些测试时，检测人员要经过专门的培训，采用专门的技术和仪器设备。强烈建议由有资质的专业人员来进行测试。

清洁和消毒

由于剩余的培养基可能会使微生物生长繁殖，因此在实验结束时，包括仪器设备在内的生物安全柜里的所有物品都应清除表面污染，并移出安全柜。在每次使用前后，要清除生物安全柜内表面的污染。工作台面和内壁要用消毒剂进行擦拭，所用的消毒剂要能够杀死安全柜里可能发现的任何微生物。在每天实验结束时，应擦拭生物安全柜的工作台面、四周以及玻璃的内外侧等部位来清除表面的污染。在对目标生物体有效时，可以采用漂白剂溶液或70%酒精来消毒。在使用如漂白剂等腐蚀性消毒剂后，还必须用无菌水再次进行擦拭。

推荐将安全柜一直维持运行状态。如果要关闭的话，则应在关机前运行5min以净化内部的气体。

清除污染

生物安全柜在移动以及更换过滤器之前，必须清除污染。最常用的方法是采用甲醛蒸气熏蒸。应该由有资质的专业人员来清除生物安全柜的污染。

个体防护装备

在使用生物安全柜时应穿着个体防护服。在进行一级和二级生物安全水平的操作时，可穿着普通实验服。前面加固处理的反背式实验隔离衣具有更好的防护效果，应在进行三级和四级生物安全水平（防护服型实验室除外）的操作时使用。手套应套在隔离衣的外面，可以戴加有松紧带的套袖来保护研究人员的手腕。有些操作可能还需要戴口罩和安全眼镜。

警报器

可以在两种警报器中选择一种来装备生物安全柜。窗式警报器只能装在带有滑动窗的安全柜上。发出警报时表明操作者将滑动窗移到了不当的位置。处理这种警报时，只要将滑动窗移到适宜的位置就可以了。气流警报器报警时，表明安全柜的正常气流模式受到了干扰，操作者或物品当即处于危险状态。当气流警报响起时，应立刻停止工作，并通知实验室主管。生产商的说明手册中将提供更详细的资料，在生物安全柜的使用培训中也应包括这一方面的内容。

补充资料

选择正确类型的生物安全柜，进行安装并正确使用，同时每年进行认证。这是一个复杂的程序。强烈推荐在经过良好培训并具有丰富生物安全操作经验的专家监督下来进行上述工作。该专家应非常熟悉“参考文献”部分中所列出的相关文献，并且经过了有关生物安全柜各方面的培训。操作者应接受生物安全柜操作和使用的正规培训。

四、生物安全柜操作规范

1) 不要把超净工作台与生物安全柜混淆

虽然超净工作台与生物安全柜外形相似，但是功能大不相同：超净工作台为操作与内的产品提供保护；而生物安全柜可以同时为工作人员、产品和工作环境提供保护。请选购时确认产品性能。

2) 正确选择生物安全柜的放置地点

安全柜应当尽量远离外部气流干扰因素，例如门窗、空调通风口，人员过道以及其他实验室气流干扰设备（安全柜、通风橱等）。

3) 请不要在生物安全柜内使用易燃易爆强腐蚀性的材料

请注意：安全柜虽然可以有效对生物有害物质进行控制，但是并不能处理易燃易爆和强腐蚀性的材料，操作这些可能会对柜体和工作人员带来意想不到的伤害。

4) 合理准备您的实验操作

在开始操作前，应认真计划试验操作步骤，并列出试验用品明细表。实验操作一旦开始后，在安全柜内移入或取出任何物品都是不允许的。

5) 正确着装可为操作者提供必要的保护

当进行高危险性操作，例如生物安全水平2+到3级操作时，应选用长袖、背面开口的隔离衣和两副手套，并确保外层手套套住隔离衣袖口。不能有暴露在外的肌肤。

6) 安全柜自净周期

开启关闭安全柜时，让安全柜自主运行3–5分钟的自净周期。这个自净程序可以清除安全柜工作区域内可能存在的经空气传播的污染物。

7) 警报被激活时，请不要使用安全柜

在警报发生时，请立即联系您的代理商或ESCO中国售后服务中心获得技术支持。

8) 不要在生物安全柜内使用本生灯

因为本生灯产生的热效应会干扰生物安全操作区内的气流稳定，且火焰热气会影响滤器的寿命。若确实必须使用明火时，可根据用火需要选取即用即燃式灭菌器具或微型接触式燃烧器。

9) 不要在生物安全柜内摆放过多的实验物品

在工作区内摆放过多的实验材料会影响安全柜气流和安全性能。

10) 确保生物安全柜的连续使用

这将确保气流屏障的稳定，以避免污染物的外泄。

11) 正确的生物安全柜工作高度

请确保安全柜在工作时前窗处于正确的额定操作高度。

12) 遵循清洁区到污染区的操作原则

安全柜的工作区应该被依次划为三个区域：洁净区、工作区和污染区。生物危害性废弃物袋应放置在污染区内；实验仪器和样品应放置在工作区域；而实验供给品应放置在洁净区内。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。

13) 减少对气流屏障的干扰

请遵循缓慢移动原则，操作时手臂应该尽量平缓移动，为了避免影响正常的气流状态；尽量减少手臂的水平横向移动，当手臂进入和离开工作区域尽量采用水平纵向姿态。

14) 日常表面除菌

紫外灯灭菌无法代替安全柜的日常表面除菌。因此在安全柜使用前后，请按照程序为安全柜进行表面除菌。使用适当的消毒剂，例如70%的异丙醇溶剂擦拭安全柜的工作区表面，包括前后的进气隔栅。

15) 禁止非授权或受训人员操作生物安全柜

只有通过培训且得到授权的技术人员才能操作生物安全柜，并需要认真履行上述安全柜操作规范和日常维护守则。

16) 生物安全柜必须进行年度认证

根据国际和中国相关生物实验室和生物安全柜标准，安全柜在移位、更换过滤器或者内部维修后，都需要进行性能认证检测，而认证检测需要至少每年一次。请联系您的代理商或ESCO中国售后服务中心获得有关认证检测的详细信息。

五、生物安全柜日常维护规范

合理定期的维护对维护任何设备的正常工作都是至关重要地，这一点对生物安全柜也不例外。按照下面推荐的维护日程表对安全柜进行维护，保持其最佳性能。

每日维护

- 1、用70%的酒精（其他杀菌剂视用户使用的材料而定）彻底对安全柜内部工作区域表面、侧壁、后壁、窗户进行表面净化。不要用含有氯的杀菌剂，因为它可能对安全柜的不锈钢结构造成损坏。也要对紫外灯和电源输出口表面进行清洁。当清洁安全柜内部区域时，操作人员除了手部以外，身体的其他任何部位不能进入安全柜
- 2、检查警报并检测基本气流

每周维护

- 1、用70%的酒精（其他杀菌剂视使用的材料而定）彻底对排水槽进行清洗
- 2、检查俘获纸孔处的残留物质

每月维护

- 1、用湿布对安全柜外部表面进行擦拭，尤其是安全柜的前面和上部，把堆积的灰尘打扫干净。
- 2、检查所有的维护配件的合理使用情况。
- 3、上述每日工作中的条目

每季维护

- 1、检查安全柜的任何物理异常或故障。检查荧光显像管确保它们工作正常
- 2、当不锈钢上表面有难以去除的斑点时，可以使用MEK(methyl-ethyl-ketone)。使用WEK后，快速用清水和液体清洁剂冲洗不锈钢板，并且用聚亚安酯布或者海绵进行擦拭。定期清洁不锈钢表面会使之保持表面的光滑美观

每年维护

- 1、具备资格的认证技术人员对安全柜进行性能认证。
- 2、更换紫外灯
- 3、上述每季维护中的条目

著者不保证本手册中所含信息的完整性和准确性，对因使用这些信息造成的任何损失概不负责

参考资料：

1. *User & Service Manual. Labculture® Class II Type A2 Biohazard Safety Cabinet: Esco Micro Pte Ltd.*
2. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories® (BMBL). 4th Edition. Office of Health and Safety (OHS), Centers for Disease Control and Prevention (CDC). US Department of Health.*
3. *Laboratory Biosafety Manual. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization.*
4. *UCSD Biosafety handbook, UCSD EH&S Research Community for Biosafety. 1996.*