

生物安全柜

生物安全柜是为操作原代培养物、菌毒株以及诊断性标本等具有感染性的实验材料时，用来保护操作者本人、实验室环境以及实验材料，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。

生物安全柜依据的标准

生物安全柜广泛应用于医疗卫生、疾病预防与控制、食品卫生、生物制药，环境监测以及各类生物实验室等领域，是保障生物安全和环境安全的重要基础，属于“民生”计量的范畴。早在 30 年前，生物安全柜检测已经在海外开展，目前主要依据欧盟或美国的标准。在国内，目前还没有统一的生物安全柜检测国家标准，生物安全柜检测方法十分混乱，既有建设部的标准，又有药监局的标准，还有采用欧盟标准、美国标准或各生产厂的企业标准的。

生物安全柜检测现行的主要标准依据有：

- (1) 欧盟 EN 12469：2000 《Biotechnology-Performance Criteria for Microbiological Safety Cabinets》
- (2) 美国 NSF/ANSI 49—2002 《Class II(Laminar Flow) Biosafety Cabinetry》；
- (3) JG 170-2005 中华人民共和国建筑工业行业标准《生物安全柜》；
- (4) YY 0569-2005 中华人民共和国医药行业标准《生物安全柜》。

鉴于生物安全柜危险的使用环境，在安装时以及以后每隔一定时间，要由国家空调设备质量监督检验中心的专业人员按照规定对每一台生物安全柜的整体运行性能进行性能检测，以检查其是否符合国家及国际的性能标准保证使用者的安全。生物安全柜检测主要包括物理学检测和生物学检测两个方面，根据检测性质可分为首次检测、后续检测。除生物安全柜的一年一度的常规检测外，下列情况之一时，如安装后、移动后、检修后、更换过滤器后，也必须进行现场生物安全柜检测。

生物安全柜优点

WHO《实验室生物安全手册》提出，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。

事实上，生物安全柜更侧重于保护操作人员和环境，防止操作的病原微生物扩散造成人员伤害和环境污染。

生物安全柜级别

根据生物安全防护水平的差异，生物安全柜可分为一级、二级和三级三种类型。一级生物安全柜可保护工作人员和环境而不保护样品。其气流原理和实验室通风橱基本相同，不同之处在于排气口安装有 HEPA 过滤器，将外排气流过滤进而防止微生物气溶胶扩散造成污染。一级生物安全柜本身无风机，依赖外接通风管中的风机带动气流，由于不能保护柜内产品，目前已较少使用。

二级生物安全柜是目前应用最为广泛的柜型。按照《中华人民共和国医药行业标准 YY0569-2005 生物安全柜》中的规定，二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，B1 型和 B2 型。所有的二级生物安全柜都可提供工作人员、环境和产品的保护。

A1 型安全柜前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.38m/s。70%气体通过 HEPA 过滤器再循环至工作区，30%的气体通过排气口过滤排出。

A2 型安全柜前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.5m/s。70%气体通过 HEPA 过滤器再循环至工作区，30%的气体通过排气口过滤排出。

二级 B 型生物安全柜均为连接排气系统的安全柜。连接安全柜排气导管的风机连接紧急供应电源，目的在断电下仍可保持安全柜负压，以免危险气体泄漏如实验室。其前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.5m/s(100fpm)。

B1 型 70%气体通过排气口 HEPA 过滤器排除，30%的气体通过供气口 HEPA 过滤器再循环至工作区。

B2 型为 100%全排型安全柜，无内部循环气流，可同时提供生物性和化学性的安全控制，可以操作挥发性化学品和挥发性核放射物作为添加剂的微生物实验。

三级生物安全柜是为生物安全防护等级为 4 级实验室而设计的，柜体完全气密，工作人员通过连接在柜体的手套进行操作，俗称手套箱(Glove box)，试验品通过双门的传递箱进出安全柜以确保不受污染，适用于高风险的生物试验，如进行 SARS、埃博拉病毒相关实验等。



根据生物安全柜的强制性行业标准《中华人民共和国医药行业标准 YY0569-2005 生物安全柜》规定，只有获得国家食品药品监督管理局颁发的三类医疗器械注册证的产品才能真正保护操作人员、实验室环境和操作样本。

生物安全柜提供对人\样品和环境的三重保护。

生物安全柜选购指南

生物安全柜的选择最基本取决于生物试验中所使用的试验品类型：

- 1、如果生物试验中只涉及微生物样品，可以使用基本类型的生物安全柜；
- 2、如果生物试验中涉及了微生物样品和微量化学试剂（非腐蚀性），使用装备外排管道的安全柜是必要的。因为 HEPA 过滤器并不能有效过滤清除化学气体，如果不能外排，将对实验室内工作人员和环境造成威胁；
- 3、如果生物试验中涉及了细胞毒素类药物，例如各类癌症治疗药物，必须使用的细胞毒素安全柜。

另外，需要明确了解生物安全柜与通风柜/超净工作台的区分。通风柜和超净工作台不

属于生物安全柜，不可使用在涉及微生物材料的实验或生产过程中。

通风柜（通风橱）是为在化学实验过程中清除腐蚀性化学气体和有毒烟雾而设计的。由于没有装备 HEPA 过滤器，通风柜不能有效清除微生物介质。放置在通风柜内微生物样品会散播到柜外，污染实验室环境。

超净工作台（超净台）是为了保护试验品或产品而设计的，通过吹过工作区域的垂直或水平层流空气防止试验品或产品受到工作区域外粉尘或细菌的污染。一旦微生物样品放置于工作区域，层流空气将把带有微生物介质的空气吹向前台工作人员而产生危险。

生物安全水平

生物安全柜的选择需要根据所涉及微生物试验品或产品的致命性，传播媒介等因素，这些因素可划分为一至四级生物安全水平(BSL)：

生物安全水平 致命性 媒介 可治愈性 范例

BSL-1 无或极低 液体 可以 BS*

BSL-2 一般 液体 可以 HIV

BSL-3 高 空气 可以 TBC

BSL-4 极高 空气 不可 Ebola

* *Bacillus subtilis* (草芽孢杆菌)

被分类为生物安全水平一级和二级的微生物试验品或产品不会产生气溶胶，因此在开放的实验台面上开展工作；而对于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。二级生物安全水平的试验品或产品是可以通过液体传播，所以操作人员必须对于污染的锐器要特别注意。客户在选购安全柜时，也因注意确保没有突出的锐角，在使用时也需要每天清理工作台面。

在三级生物安全水平的生物实验室中，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中进行，并由穿戴合适防护服的实验人员进行；对于四级生物安全水平，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。

生物安全柜的分类

实验室生物安全等级应用的生物安全柜等级 所能提供的保护

生物安全柜可分为一级、二级和三级三大类以满足不同的生物研究和防疫要求。

一级生物安全柜可保护工作人员和环境而不保护样品。气流原理和实验室通风橱一样，不同之处在于排气口安装有 HEPA 过滤器。所有类型的生物安全柜都在排气和进气口使用 HEPA 过滤器。一级生物安全柜本身无风机，依赖外接通风管中的风机带动气流，由于不能对试验品或产品提供保护，目前已较少使用。

二级生物安全柜是目前应用最为广泛的柜型。

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。

按照 NSF49 的中的规定，二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 B3 型),B1 型和 B2 型。所有的二级生物安全柜都可提供工作人员、环境和产品的保护。

A1 型安全柜前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.38m/s。70%气体通过 HEPA 过滤器再循环至工作区，30%的气体通过排气口过滤排除。A2 型安全柜前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.5m/s。70%气体通过 HEPA 过滤器再循环至工作区，30%的气体通过排气口过滤排除。A2 型安全柜的负压环绕污染区域的设计，阻止了柜内物质的泄漏。二级 B 型生物安全柜均为连接排气系统的安全柜。连接安全柜排气导管的风机连接紧急供应电源，目的在断电下仍可保持安全柜负压，以免危险气体泄漏如实验室。其前窗气流速度最小量或测量平均值应至少为 0.5m/s(100fpm)。B1 型 70%气体通过排气口 HEPA 过滤器排除，30%的气体通过供气口 HEPA 过滤器再循环至工作区。B2 型为 100%全排型安全柜，无内部循环气流，可同时提供生物性和化学性的安全控制。

二级生物安全柜各柜体类型性能比

三级生物安全柜是为 4 级实验室生物安全等级而设计的，是目前世界上最高安全防护等级的安全柜。柜体完全气密，100%全排放式，所有气体不参与循环，工作人员通过连接在柜体的手套进行操作，俗称手套箱(Glove box)，试验品通过双门的传递箱进出安全柜以确保不受污染，适用于高风险的生物试验。

在允许循环化学气体的操作条件下，可以使用外接排放管道盖（Exhaust Collar）的 A2 型二级生物安全柜。排放管道盖与一般硬管不同的是有可吸入空气的进气孔；排放管道盖与外排管道连接，然后接到一个外排风机。排放管道盖上的进气孔对于 A2 型二级生物安全柜通过内置风机保持进气流和下沉气流的平衡至关重要。如果使用密封的外接风管，进气流将会过强可能导致安全柜对产品的保护实效；而排放管道盖上的进气孔可以从室内吸入空气，而不会影响安全柜内的气流平衡。此条件只适用于微量有毒化学物质。

如果不允许循环化学气体，则必须使用装备硬管的 B2 型二级生物安全柜。由于 B 型安全柜不是独立平衡系统，它的内置风机只能制造下沉气流，安全柜依赖外排风机制造进气流。这种型号的安全柜在安装和维护时会较为复杂，因为外排风机必须与内置风机保持平衡，否则将导致对操作人员或产品的安全性能的失效。

细胞毒素安全柜

如果生物试验中涉及了细胞毒素类药物，例如一些化学疗法药物，这些细胞毒素类药物有极高的毒性；与微生物产品不同的是，它们不可以被福尔马林或过氧化氢中和。而细胞毒素安全柜是专门高毒性的细胞毒素类药物试验与生产设计的，主要特点之一是在可以在风机运行时更换 HEPA 过滤器，这样负压可以保持，确保了维修人员的安全。

在 2000 年 5 月，欧洲标准化委员会(CEN)颁布了生物安全柜欧洲标准 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。

NSF/ANSI49 和 EN12469 是目前世界上最通用的生物安全柜国际认证，这两种标准对安全柜性能分级、安全性能检测都有详细的说明和要求。安全柜标准对规范安全柜市场，保护研究人员起到重要的作用。客户在选购生物安全柜时，除了了解安全柜各项性能指标，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上两项最主要的国际安全柜认证。

以上两项最主要的国际安全柜认证中，最重要的是测试安全柜保护性能的微生物测试，就是使用细菌芽孢的微生物挑战测试，包括以下三个方面：

- 1、人员保护：细菌芽孢放置在工作区域，它们将不允许从前窗逃逸；
- 2、产品保护：从工作区域外向前窗开口处释放细菌芽孢，通过测试的安全柜将可以防

止细菌芽孢进入工作区域污染试验品；

3、交叉感染：细菌芽孢在安全柜内从一个位置释放，它们将不允许落到超过 20cm 的临近区域；

在微生物测试后，将可以得到安全柜的安全性能范围图 (Performance Envelope)，可以明确显示生物安全柜通过所有以上三种微生物挑战试验的风速设定点(Airflow setpoints)[进气流速率范围和下沉气流速率范围]。为了确保安全柜在不同运行状态下的安全性，用户有必要向厂家索取相应型号安全柜的安全性能范围图。在寻求生产商产品认证的同时，用户也需要注意以下事项：

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。

注意事项

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。

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。

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。

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。

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。

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。

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。

个体防护装备

在使用生物安全柜时应穿着个体防护服。

警报器

可以在两种警报器中选择一种来装备生物安全柜。