**生物安全柜基本知识**

**1、生物安全柜？**

 生物安全柜是实验室生物安全的一级安全隔离屏障，也是实验室最为关键的安全防护设备。是防止操作过程中含有危险性生物气溶胶散逸负压空气净化排风柜，生物安全柜最主要和关键的部件是高效空气过滤器（HEPA）。

**2、生物安全柜的用途？**

 是用于各类生物安全实验室从事实验诊断和原代培养物、菌毒株及其他检测样本等具有感染性的生物材料的操作，具有保护操作者、实验环境以及实验样品的安全防护设备。

**3、安全柜根据气流及隔离屏障设计结构分为几个等级？**

 分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ三个等级。

 Ⅱ级生物安全柜又分为 A型和B型

 A型又分为A1 型生物安全柜和A2 型生物安全柜
 B型又分为B1 型生物安全柜和B2 型生物安全柜

**4、I级生物安全柜及其用途？**

 I级生物安全柜用于对人员及环境进行保护，对受试样本无保护且能满足危害等级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级致病因子要求的生物安全柜。前窗操作口向内吸入的负压气流保护人员的安全；排出气流经高效过滤器过滤后排出保护环境不受污染。适用于不要求对检测样品的保护。经过样品区的空气，经高效过滤器过滤后100%排放到实验室环境中。

用途：用作特殊的密封设备（如离心、收获设备或小的发酵设备）或可能产生气溶胶的操作过程（如通气培养或组织搅拌）。相当于安全通风柜。

**5、Ⅱ级生物安全柜及其用途？**

 Ⅱ级生物安全柜用于对人员、样本及环境进行保护，且能满足危害等级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级致病因子要求的生物安全柜。有前窗操作口的安全柜，操作者可以通过前窗操作口在安全柜内进行操作，前窗操作口向内吸入的负压气流保护人员；经高效过滤器过滤的垂直下降气流保护产品；污染气流经高效过滤器过滤后排出保护环境。

**6**、**Ⅱ级安全柜按排放气流占系统总流量的比例及内部设计结构分型？**

 Ⅱ级安全柜按排放气流占系统总流量的比例及内部设计结构分为A1、A2、B1、B2四种类型。

**7、Ⅱ级A1型生物安全柜及使用？**

 工作窗口进风气流和工作区垂直气流混合后进入安全柜上部的箱体，前窗操作口流入气流的最低平均流速为0.40m/s；下降气流为安全柜的部分流入气流和部分下降气流的混合气体，经过高效过滤器过滤后送至工作区；污染气流经过高效过滤器过滤后可以排到实验室或经安全柜的外排接口通过排风管排到大气中，70%气体循环使用，30%排到室内或室外；安全柜内的污染部位可以处于正压状态，并且这些正压区域可以没有负压区域包围。不能用于有挥发性有毒化学品和挥发性放射性核素的实验。

**8、Ⅱ级A2型生物安全柜及使用？**

工作窗口进风气流和工作区垂直气流混合后进入安全柜上部的箱体，前窗操作口流入气流的最低平均流速为0.50m/s。下降气流为部分流入气流和部分下降气流的混合，经过高效过滤器过滤后送至工作区。污染气流经过高效过滤器过滤后可以排到实验室或经安全柜的外排接口通过排风管道**(**软连接**)**排到大气中。70%循环使用，30%外排。安全柜内所有污染部位均处于负压状态或者被负压通道和负压通风系统环绕。

用途： 用于进行以微量挥发性有毒化学品和痕量放射性核素为辅助剂的微生物实验时，必须连接功能合适的排气罩。应用最广泛；回风道为负压，并且通过排风管道将安全柜排出的气体引入室外，即使排风HEPA泄露时也不会导致对操作人员造成危险。

**9、Ⅱ级B1型生物安全柜及使用？**

 工作窗口进风气流和工作区垂直气流混合后进入安全柜上部的箱体，前窗操作口流入气流的最低平均流速为0.5m/s，下降气流大部分由未污染的流入气流循环提供，经过高效过滤器过滤后送至工作区。大部分被污染的下降气流经过高效过滤器过滤后通过专用的排气管道(硬连接)排入大气中；70%气流经过滤后外排（要求排到室外）、70%外界空气补充、30%气流经过滤后循环使用。

 用途：安全柜内所有生物污染部位均处于负压状态或者被负压通道和负压通风系统包围。如果挥发性有毒化学品或放射性核素随空气循环不影响实验操作或实验在安全柜的直接排气区域进行，B1型安全柜可以用于以微量挥发性有毒化学品和痕量放射性核素为辅助剂的微生物实验。

**10、Ⅱ级B2型生物安全柜（全排式）及使用？**

 工作区域气流全部来自实验室或室外，排风经过高效过滤器过滤后直接排至室外，前窗操作口流入气流的最低平均流速为0.50m/s；下降气流来自经过高效过滤器过滤的实验室或室外空气(即安全柜排出的气体不再循环使用)；流入气流和下降气流经过高效过滤器过滤后通过专用排气管道(硬连接)排到大气中， 不允许回到安全柜和实验室中；100%气流经过滤后外排；100%外界空气补充；无循环使用的气流。

 用途：所有污染部位均处于负压状态或者被直接排气（不在工作区循环）的负压通道和负压通风系统包围。B2型安全柜可以用于以挥发性有毒化学品和放射性核素为辅助剂的微生物实验。适用于生物安全1、2、3级的样品。

**11、A型和B型生物安全柜的区别和使用？**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 类型 | 流入气流 | 下降气流构成 | 排风方式 | 循环风比例 | 用途 |
| A1 | 0.4 | 部分流入气流和部分污染气流 | 室内或室外 | 70% | 不能用于有挥发性有毒化学品和挥发性放射性核素的实验 |
| A2 | 0.5 |  | 室外 | 微量挥发性有毒化学品和痕量放射性核素为辅助剂的微生物实验，必须连接功能合适的排气罩。 |
| B1 | 0.5 | 大部分流入气流 | 30% | 微量挥发性有毒化学品和痕量放射性核素为辅助剂的微生物实验 |
| B2 | 0.5 | 全部流入气流 | 无全排 | 以挥发性有毒化学品和放射性核素为辅助剂的微生物实验。适用生物安全1、2、3级的样品 |

**12、Ⅲ级生物安全柜及用途？**

 完全密闭、不泄露结构的通风柜能满足操作生物危害等级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级致病因子要求的生物安全柜。没有开放式观察窗，人员通过与柜体密闭连接的手套在安全柜内实施操作；安全柜内对实验室的负压应不低于120Pa；下降气流经高效过滤器过滤后进入安全柜。排出气流经两道高效过滤器过滤后排至室外。100%气流经过滤后外排进入环境、100%外界空气补充、无循环使用的气流。流入风速：≥0.7m/s，Ⅲ级生物安全柜为操作4级生物安全水平的微生物病原体设计。Ⅲ级安全柜通常只是在最高围护功能的实验室内安装，这些实验室具有控制出入和特殊通风要求或其它支持系统（例如高压蒸汽）。

 用途：用于操作危险度4级的微生物材料，可以提供最好的个体防护。所有接口都是密封的（只有通过连接在柜上的结实的橡胶手套，手才能伸到工作台面），其送风经HEPA过滤，排风则经过两个HEPA过滤器。

**13、如何正确使用生物安全柜？**

（1）生物安全柜的垂直可移动窗开启与关闭应轻便，在行程范围内的任何位置不产生卡死现象，不应有明显的左右或前后晃动现象，滑动应顺畅。开关、按键的操作应灵活可靠，零部件应紧固无松动，指示正确。

（2）工作前预先放好实验材料、不要放置过多器材。

（3）从清洁区到污染区平行摆放、标本放左试剂等放右。

（4）在开始工作前到完成工作后，应至少让安全柜工作4分钟来完成“净化”过程。

（5）在工作区域工作、生物安全柜处于正常工作状态时，不应有明显的机震声。

（6）不阻断前后空气格栅、减少干扰气流。

（7）及时清洁和消毒溢出。

（8）最好用一次性接种环、电加热器灭菌接种环。

（9）操作过程中废弃物放在生物安全柜内。

（10）不宜在生物安全柜内使用明火，明火易造成气流动荡，破坏高效过滤（HEPA）起源吹向台面的模式。

（11）按照使用说明书指导正确使用和维修。

**14、如何进行工作前的自净和消毒？**

（1）在工作前要让生物安全柜的风机至少运行**3-5**分钟，使柜内的空气实现自净。

（2）安全柜的工作台面、内壁（不包括送风滤器扩散板）和观察窗的内表面用消毒剂擦拭。消毒后再用无菌蒸馏水进行擦拭以清除残余消毒剂。

（3）放到安全柜的容器和材料的表面使用70%乙醇擦拭，以减少将环境的杂菌带到安全柜内。

（4）定期对孵箱和冰箱进行消毒。

**15、如何对工作结束时的表面消毒？**

工作完成时，所有的容器和设备应该进行表面消毒并拿出安全柜。 在每天工作结束时，应该对安全柜进行最后的表面消毒，包括工作台面、安全柜的边壁、后壁和观察窗玻璃内部的擦拭。如果必要，安全柜也应进行放射性检测并进行必要的消毒。作为安全的微生物学操作的最后步骤，操作者应该摘下手套、脱下工作服并且洗手。

**16、发生少量喷洒时的如何消毒？**

 在生物安全柜内发生少量的喷洒时，应用污吸湿材料立即进行处理，并将使用过的纸巾放到生物危害包里。对安全柜内的所有物品和安全柜内部，用浸满消毒液的毛巾立即进行擦拭消毒。

**17、发生大量溢出时的如何消毒？**

 当发生大量的溢出时，液体会通过前面或后部的格栅流到下面去，这时要求更广泛的消毒。安全柜内的所有的物品应该进行表面消毒并拿出安全柜。使消毒液维持30分钟的适当接触时间。如果溢出的液体含有放射性材料，可采取类似的程序。并应该与辐射安全人员联系，寻求特殊的指导。

**18、生物安全柜的如何日常维护？**

（1）定期清洁操作台面和前窗玻璃；

（2）保持室内空气质量,延长高效过滤器使用寿命；

（3）定期检测紫外灯的照射强度,及时更换灯管；

（4）长期不用应定期进行维护性运行；

（5）高效过滤器应定期检测，及时更换；

（6）做好使用和维护记录。

**19、生物安全柜的检测要求？**

根据WS 233-2002《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》的相关规定：有下列情况之一时，必须对Ⅱ级生物安全柜进行现场检测 :

（1）实验室施工时，Ⅱ级生物安全柜搬放到指定位置后。

（2） Ⅱ级生物安全柜被移动位置后。

（3） 对Ⅱ级生物安全柜进行检修后。

（4） Ⅱ级生物安全柜更换高效过滤器后。

（5） Ⅱ级生物安全柜一年一度的常规现场检测。

**20、生物安全柜分类比较**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **级别** | **类型** | **排风** | **循环空气比例** | **柜内气流** | **工作窗口进风平均风速** | **保护对象** |
| Ⅰ级 | - | 可向室内排风 | 0 | 乱流 | ≥0.40 | 使用者和环境 |
| Ⅱ级 | A1 | 可向室内排风 | 70 | 单向流 | ≥0.40 | 使用者、受试样本和环境 |
| A2 | 可向室内排风 | 70 | 单向流 | ≥0.50 |
| B1 | 不可向室内排风 | 30 | 单向流 | ≥0.50 |
| B2 | 不可向室内排风 | 0 | 单向流 | ≥0.50 |
| Ⅲ级 | - | 不可向室内排风 | 0 | 单向流或乱流 | 无工作窗进风口，当一只手套筒取下时手套风速≥0.70 | 主要是使用者、受试样本和环境，有时兼顾受试样本 |