

第一部分——简介

《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）已成为美国生物安全规范的总体指导文件——是解决传染性微生物和危险生物材料安全处理与抑制机制。1984年发布的第一版BMBL¹中介绍的生物安全原则在本版中坚持不变。这些是抑制和风险评估的原则。抑制的基本措施包括微生物学操作规范、安全设备和设施保障措施。这些措施用以保护实验室工作人员、环境和公众免受实验室处理和储存的传染性微生物的影响。风险评估是一个预防实验室相关感染（LAI）的过程，需要选择恰当的微生物学操作规范、安全设备和设施保障措施。BMBL定期发布更新的目的是根据新知识和新经验进一步完善指导文件，以解决实验室工作人员和公共卫生面临新风险的现实问题。这样，BMBL所提供的指导意见也能够继续为微生物学和生物医学界提供相关且有价值的参考。

自上一版BMBL发布以来，有关新的病原体识别以及病原体抑制和安全储存要求的不确定性和变化在不断加剧。新的传染源和疾病已经出现。在公共与个人研究、公共卫生、临床和诊断实验室以及动物护理设施等领域对传染源的研究规模不断扩大。从全球发生的事件可以看出生物恐怖主义会给世界带来新的威胁。由于这些原因，组织机构和实验室主任必须评估和确保其生物安全计划的有效性、工作人员的熟练程度以及设备、设施和管理措施是否有能力为微生物制剂提供抑制和安全保障。同样，处理病原体微生物的个人必须了解安全操作和保护传染源的抑制条件。这些知识的应用及相关技术和设备的使用有利于微生物学和生物医学界研究，有利于个人、实验室和环境免受潜在的传染性病原体或生物危害。

实验室相关感染（LAI）的发生

实验室相关感染（LAI）报告首次出现在20世纪初。到1978年，Pike和Sulkin的四项研究共计确定了4,079例LAI，在1930年至1978年间有168人死亡。²⁻⁵ 这些研究发现，工作人员中最常见的10种显性感染性病原体是布鲁氏菌属、贝纳柯克斯体、乙型肝炎病毒（HBV）、肠沙门氏菌血清型伤寒、土拉弗朗西斯菌、结核分枝杆菌、皮炎芽生菌、委内瑞拉马脑炎病毒、鹦鹉热衣原体和粗球孢子菌。作者承认，4,079例病例并不代表这一时期发生的所有LAI病例，因为许多实验室不报告显性病例或开展监测计划来确定亚临床或无症状感染病例。

此外，有关实验室相关感染（LAI）的历史报告很少提供足以确定发病率的数据，从而使风险的定量评估变得复杂。同样，在1978年之前报告的80%以上的实验室相关感染（LAI）病例中，没有发现明显的事故或接触事件。研究确实表明，在许多情况下，被感染者在工作中接触过微生物制剂，或者与另一个接触过制剂的人在一起。²⁻⁶

在Pike和Sulkin发表论文后的20年里，Harding和 Byers在全球范围内进行了文献检索，发现有 1,267 例显性感染，22 例死亡。⁷ 其中5例死亡是由于母体的实验室相关感染（LAI）导

致胎儿流产。1,267例感染中，有1,074例感染了结核分枝杆菌、贝纳柯克斯体、汉坦病毒、虫媒病毒、乙型肝炎病毒（HBV）、布鲁氏菌属、沙门氏菌属、志贺氏菌属、丙型肝炎病毒和隐孢子虫属。作者还发现了另外663例表现为亚临床感染的病例。与Pike和Sulkin一样，Harding和Byers报告称，只有少数 实验室相关感染（LAI）病例涉及有记录的具体事件。这些作者最常报告的非特异性关联案例发生在使用微生物制剂、在实验室内或周围、或在受感染的动物周围这样的环境中。

Harding和Byers的研究结果表明，临床（诊断）实验室和研究实验室的LAI分别占报告总数的45%和51%。这与Pike和Sulkin 1979年之前报道的LAI存在显著差异，后者显示临床和研究实验室分别占17%和59%。临床实验室中实验室相关感染（LAI）病例相对增加的部分原因可能是员工健康监测程序得到改进，能够发现亚临床感染，或者是由于在培养鉴定的早期阶段使用了不当的抑制程序。

将Harding和Byers最新报告的实验室相关感染（LAI）与Pike和Sulkin报告的LAI进行对比后发现，LAI病例数量正在减少。Harding和Byers指出，抑制设备、工程控制方面的改进以及对安全培训的重视可能是二十年来LAI明显减少的原因。然而，由于缺乏实际感染人数和高危人群的信息，很难确定LAI的真实发病率。

有关实验室相关感染（LAI）发生情况的出版物为微生物和生物医学界提供了宝贵的资源。例如，一份关于与羊布鲁氏菌（一种能够通过气溶胶途径传播的生物体）相关的职业接触的报告中描述了临床微生物实验室的一名工作人员如何意外地在开放式工作台上对羊布鲁氏菌进行了传代培养。⁸ 这一错误和违反抑制操作规范导致26名实验室成员中发生8人羊布鲁氏菌感染的LAI事件，感染率为 31%。

有关实验室相关感染（LAI）的报告可以作为生物医学和临床实验室牢记安全防护重要性的教训。

美国国家生物安全指南的制订与发展

国家生物安全指南是在微生物学和生物医学界的共同努力下制订的，旨在促进微生物操作规范、安全设备和设施保障措施的使用，以减少实验室相关感染（LAI）并保护公众健康和环境。有关 LAI 的历史记录提高了人们对传染性微生物的危害以及处理这些微生物的实验室工作人员所面临健康风险的认识。许多已发表的文章都提出了可以预防 LAI 的操作规范和方法。⁹ Arnold G. Wedum于1944年至1969年间担任美国陆军生物研究实验室（位于德特里克堡）的工业健康与安全主任。他在生物安全方面的开创性工作为评估处理传染性微生物的风险、认识生物危害以及制定控制生物危害的方法、设备和设施保障措施奠定了基础。德特里

克堡还协助美国农业部（USDA）、国家动物研究中心（NARC）和美国卫生与公众服务部（DHHS）、美国疾病控制与预防中心（CDC）以及美国国家卫生研究院（NIH）制定生物安全计划，从而推动了该领域的发展。这些政府组织随后在第一版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）之前制定了几项国家生物安全准则。

1974 年，美国疾病控制与预防中心（CDC）发布了《病原体危害分类》。¹⁰ 该报告提出了建立抑制递增级别的概念。级别的确立与处理具有类似危险特性的传染性微生物的相关风险相关。根据传播方式和致病严重程度，人类病原体分为四类。第五类包括非本土动物病原体，美国农业部政策限制其进入美国。

美国国家卫生研究院（NIH）于1974年发布了《国家癌症研究所涉及致癌病毒研究的安全标准》。¹¹ 这些准则根据对接触动物致癌病毒或疑似人类致癌病毒分离株导致人类患癌的假定风险的评估，确定了三个抑制级别。^{12,13} 1976 年，美国国家卫生研究院（NIH）首次发布了《美国国家卫生研究院涉及重组DNA分子的研究指南》（《NIH 指南》）。¹⁴ 现行的《NIH 指南》详细描述了微生物操作规范、设备和设施保障措施。这些措施与四个递增的物理抑制级别相对应，并根据对这一不断发展的技术的潜在危害的评估，制定了实验与抑制级别对应的标准。¹⁵ 这些准则的修订为制定微生物和生物医学实验室生物安全操作规范奠定了基础。在美国疾病控制与预防中心（CDC）和美国国家卫生研究院（NIH）的领导下，科学家、实验室主任、职业医生、流行病学家、公共卫生官员以及健康和安全专业人员广泛合作，于1984 年编写了第一版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）。¹⁶ BMBL提供了以前生物安全指南中没有的技术内容，增加概要说明，提供了有关造成LAI的传染性微生物的指导意见。BMBL第六版也是广泛合作倡议的产物，该倡议致力于延续国家生物安全操作规范的价值。

确定分级防护的风险标准

用于界定四个递增的抑制级别（即生物安全1 至 4级）的主要风险标准是传染性、疾病严重程度、传播性和正在进行的工作的性质。引起中度至重度疾病的病原体的另一个重要风险因素是病原体的来源：是本土病原体还是外来病原体。每个抑制级别都说明了与处理病原体相关的相应风险级别的微生物操作规范、安全设备和设施保障措施。与生物安全级别 1 至 4 相关的设施保障措施有助于保护设施的非实验室使用者、公众健康和环境。

生物安全1级（BSL-1）是最基本的防护级别，适用于已确定和有表征的、有活力的生物制剂菌株，这些生物制剂不知道会否导致免疫功能正常的成年人患病。生物安全2级（BSL-2）适用于处理中等风险病原体，这些病原体通过摄入或经皮或粘膜接触导致出现不同严重程度的人类疾病。生物安全3级（BSL-3）适用于已知具有气溶胶传播潜力的病原体、可能导致严

重和潜在致命感染的病原体以及本土或外来病原体。由传染性气溶胶对个人造成致命疾病的高风险且无法进行治疗的外来病原体仅限于符合生物安全 4 级（BSL-4）指南的高抑制实验室。

需要强调的是，大多数实验室相关感染（LAI）的致病事件尚不清楚。^{7,8} 一些不太明显的接触，例如吸入传染性气溶胶、破损皮肤或粘膜直接接触含有传染性微生物的飞沫或被飞沫污染的表面，可能是造成一些 LAI 的原因。微生物液体悬浮液的处理可能会产生气溶胶和飞沫。小颗粒气溶胶具有可吸入的颗粒，其中可能含有一种或多种微生物。这些小颗粒会悬浮在空气中，并很容易扩散到整个实验室。被吸入后，人的肺部会保留这些颗粒。较大的飞沫颗粒会迅速从空气中飘落，污染手套、直接工作区以及未受保护工人的粘膜。某个程序步骤可能将微生物以气溶胶和飞沫的形式释放到空气中，这是最重要的操作风险因素，也是需要抑制设备和设施防护措施的原因。

病原体概要声明

与之前所有版本一样，第六版也包含了病原体概要声明，描述了在实验室和饲养实验脊椎动物的设施中处理特定人类和人畜共患病病原体的危害、建议的预防措施和合适的抑制级别。符合以下三个标准中的一个或多个标准的病原体都需要病原体概要说明：

1. 经证实，病原体对接触传染性材料的实验室人员具有危害性；
2. 尽管没有记录在案的病例，但人们怀疑这种病原体极有可能导致实验室相关感染（LAI）；并且
3. 病原体导致严重疾病或对公众健康造成重大危害。

科学家、临床医生和生物安全专业人员在发布概要说明时，采用了许多实验室普遍遵循的标准规程，对处理病原体的风险进行评估。**任何人都不得得出这样的结论：没有针对人类病原体的概要说明就意味着该病原体可以根据BSL-1级进行处理是安全的，或未经风险评估并确定抑制级别的情况下进行处理是安全的。**实验室主任在实验室开始使用新的病原体或使用新的操作程序之前，即使已经有了病原体概要说明，也应进行独立的风险评估。在某些情况下，实验室主任应考虑修改病原体概要说明中所述的预防措施或建议的操作方法、设备和设施保障措施。此外，实验室主任在进行风险评估时应寻求指导。知识渊博的同事、机构安全委员会、机构生物安全委员会、生物安全官员以及公共卫生、生物安全和科学协会都是极好的资源。

在编写第六版的过程中，查阅了第五版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）中的病原体概要说明。有新的和更新的病原体概要说明，包括那些被列为“精选病原体”的病原体概要说明。例如，关于虫媒病毒和相关人畜共患病病毒的部分已经更新，包括新的病

原体概要说明以及最近出现的病原体（如中东呼吸综合征冠状病毒（MERS-CoV）的说明。

第六版对风险评估部分进行了大幅修订，强调了这一过程在选择适当的操作方法和抑制级别方面的至关重要性。该章节有意沿用本简介，因为风险评估是支持微生物和生物医学实验室安全处理传染性病原体操作规范的核心原则。

实验室生物安全

国家在保障公众健康免受潜在的国内或国际生物恐怖主义危害方面还在面临着挑战。现有的标准和操作规程可能需要调整，以确保免受此类敌对行动的影响。联邦法规要求加强微生物和生物医学领域的安全，以避免后果严重的生物病原体和毒素被窃、丢失或滥用。第六版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）包括实验室生物安全的最新内容——涉及微生物制剂和毒素的安全，以及蓄意滥用或释放对人类和动物健康、环境 and 经济造成的威胁。对所有实验室工作人员来说，仔细阅读第VI部分中的实验室生物安全概念和指导原则至关重要。

《微生物和生物医学实验室的生物安全手册》使用指南（BMBL）

《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）既是操作规范，也是权威参考资料。要充分了解如何安全地使用危险微生物，就必须仔细阅读 BMBL 的多个章节。这样读者才能了解生物安全原则，而且本参考资料中的概念和建议就是基于这些安全原则的。即使是经验丰富的实验室工作人员只阅读部分章节也是无法安全处理潜在传染性病原体的。

《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）中所推荐的操作规程、安全设备和设施保障措施都是建议性的。其目的是为了建立自愿遵守的操作规范，实验室的所有成员都要共同遵守这套规范，以保护自己和同事的安全，并保护公众健康和环境。

第六版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）增加了其他附录，包括：附录K——灭活与验证；附录L——可持续性；附录M——大规模生物安全；附录N——临床实验室。在附录K中，增加了关于灭活验证的内容，因为从最近发生的事件可以看出，仅依据已公布的灭活程序不足以假定该程序能够完全灭活样品中存在的所有病原体。在附录L中，增加了一些内容以帮助实验室找到降低与实验室相关重要运营成本的方法。在附录M中，考虑到人们对使用生物制剂生产生物药品比较感兴趣，增加了大规模制剂生产的生物安全考虑因素。

最后，在附录N中，增加了关于临床实验室安全处理生物材料的内容，因为处理带有未经证实但疑似高风险病原体标本的风险评估可能与传统上在微生物实验室进行的评估有很大不同。

《微生物和生物医学实验室生物安全手册》(BMBL)不应被用作生物安全信息的单一来源；它为机构主管利益相关方制定和审查合理的风险评估提供了基础。所有利益相关方，包括生物安全办公室或官员、动物护理人员、设施工作人员、管理层和机构生物安全委员会或同等专家资源，都必须参与其中，以确保所有相关方都能提出意见并就风险评估达成共识。

展望

尽管与实验室相关的感染(LAI)并不常见，但至关重要，微生物和生物医学界必须持续保持警惕，不能自满。从过去几年中广泛报道的意外运输事件或潜在接触高危病原体的事件中可以看出，意外和不明情况接触仍时有发生。大多数有记录的LAI事件缺乏明确的传播途径证据，这应促使处于风险中的人员对所有潜在的接触途径保持警惕。微生物气溶胶的意外泄露可能是导致许多LAI的原因，¹⁷ 说明对工作人员进行培训以及识别潜在危害和纠正不安全习惯能力非常重要。关注并熟练使用工作规范、安全设备和工程控制措施也至关重要。了解生物安全原则、使用执行良好的风险评估以及遵守《微生物和生物医学实验室生物安全手册》(BMBL)中所述的微生物操作规范、抑制和设施保障措施，会继续为实验室工作人员、邻近人员和社区创造更安全、更健康的工作环境。

第 II 部分——生物风险评估

不断进行生物风险评估是实验室安全运行的基础。风险评估需要谨慎判断，是微生物和生物医学实验室主任和首席研究员(PI)的重要职责。机构领导和监督资源，如机构生物安全委员会(IBC)或同等专家资源、动物护理和使用委员会、生物安全专业人员、职业健康人员和实验动物兽医也需要分担这一责任。在评估风险时，必须让利益相关方(包括实验室和设施的工作人员以及主题专家)广泛参与委员会的工作审查以及对实验室相关感染(LAI)以往研究和其他已发表研究结果的讨论。生物风险评估程序用于确定传染性或潜在传染性病原体或材料(如果已知)的危险特性、可能导致个人接触病原体的行为、这种接触引起LAI的可能性以及这种感染的可能后果。风险评估所确定的信息将为选择适当的缓解措施提供指导意见，包括生物安全等级和良好微生物操作规范、安全设备和设施保障措施的应用，以帮助预防LAI。

通过将风险管理流程融入实验室的日常运作中来，促进阳性培养安全，从而不断识别危害，确定风险的优先次序，并根据具体情况制定风险缓解方案。要想取得成功，这一过程必须包括所有利益相关方并与他们进行合作。此外，还必须认识到控制的层次性，从消除或减少危害开始，进而实施适当的工程和/或行政控制措施来应对残余风险，必要时，确认使用个人防护设备(PPE)来保护工作人员。¹

在本部分中，危害被定义为能够对健康或安全造成不利影响的物质或情况。² 当人们与危害相互作用时就会产生风险，风险是不利事件的概率和潜在事件的预期后果的函数。² 概率和后果估值的乘积为确定风险优先级别提供相对值。由于不可能消除所有风险，除非消除了相关的危害，因此风险评估要评估与特定危害相关的已知风险，并加以记录，将风险降低到机构可接受的水平。对于生物实验室来说，这一过程通常是定性的，从高风险到低风险进行分类。本部分就如何进行风险评估、实施风险缓解计划、在评估期间和之后的传播、以及制定操作规范来支持风险评估流程的进一步应用提供指导。

降低风险的最佳方式是将风险管理操作规范和风险缓解控制措施结合起来并相互叠加，为工作人员、社区和环境提供冗余保护。通过风险评估过程，可以确定最佳生物制剂操作规范、如何整合多种抑制或保护策略，以及在出现意外时如何应对。如果进行全面评估，还要考虑到随着工作进程的发展而不断变化的方法、程序和法规。

如果风险未被确定或被低估，则更有可能发生实验室相关感染（LAI）等不良后果。相比之下，实施比工作需要更严格的保障措施可能会给实验室带来额外的费用和负担，而实验室安全却几乎没有提高。然而，如果没有足够的信息来明确确定风险，需要考虑是否采取额外的保护措施，直到获得更多数据来明确确定风险。

风险管理流程

第六版《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）提供了有关风险缓解措施的指导意见，以应对常见的病原体和规程风险。由于无法预测所有可能发生的不利事件，因此有时需要根据不完整的信息来判断和决定控制措施。与特定类型实验室相关的特殊风险可能在风险评估中需要更加谨慎对待。例如，临床实验室很少能从病原体信息中获益，因为它们通常是为了确定医学诊断的致病病原体。有关临床实验室的更多信息，请参阅附录N。

本部分介绍了六步方法。该方法使风险管理过程结构化，并进一步巩固阳性培养安全。其他方法也可能有用，包括《世界卫生组织实验室生物安全手册》中介绍的过程。

风险评估最初要考虑的因素分为两大类：病原体危害和实验室程序危害。在对固有风险进行评估后，确定生物安全等级和任何其他指定的缓解策略。在实施控制措施之前，应与生物安全专业人员、主题专家和国际生物安全委员会（IBC）或同等专家资源一起审查风险评估和选定的保障措施。然后，作为风险管理评估持续进行的一部分，对工作人员在安全操作和安全设备一体化方面的熟练程度进行评估，并解决培训或能力差距问题。最后，定期重新审查管理策略，以重新评估风险和缓解措施，并在适当时机予以更新。

首先，确定病原体的危害特性并对固有风险进行评估，这是在没有缓解因素的情况下的风险。考虑该病原体的主要危害特性，包括其感染易感宿主并引起疾病的能力、疾病的严重程度以及预防措施和有效治疗的可用性。还需要考虑实验室中可能存在的感染传播途径、感染剂量 (ID)、环境稳定性、宿主范围、病原体对于当地环境来说是本土的还是外来的，以及病原体的遗传特征。³⁻⁶

有几种极好的资源可为初步风险评估提供信息和指导。《微生物和生物医学实验室生物安全手册》(BMBL) 第八部分提供了许多与实验室相关感染 (LAI) 相关或公众日益关注病原体的病原体概要说明。病原体概要说明还确定了LAI的已知和可疑的传播途径，并提供了有关感染剂量、宿主范围、病原体在环境中的稳定性、保护性免疫以及病原体减毒株的信息(如果有)。来自可靠来源的安全文件也很有价值，如加拿大公共卫生局 (PHAC) 编制的病原体数据安全表；病原体数据安全表可在网址 <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html> 上查阅。当病原体的预期用途与病原体概要说明中描述的一般条件不一致或没有病原体概要说明时，有必要对病原体的危害进行彻底检查。此外，可以向处理该病原体有经验的同事和生物安全专业人员寻求指导。

《美国国家卫生研究院涉及重组或合成核酸分子的研究指南》(《NIH 指南》) 纳入了实验室使用的病原体风险组 (RG) 分类。根据这些主要特征和自然疾病的传播途径归纳了四个一般风险组。该列表请见《NIH 指南》的附录B。此外，美国生物安全协会国际组织 (ABSA International) 还将一些国家和组织的生物和风险组任务分配进行汇编，可到网址 <https://my.absa.org/Riskgroups> 进行查询。病原体风险组任务分配有助于对病原体的风险进行初步评估；必须根据每个实验室在具体工作中面临的独特风险对评估进行适当修改。**这四个组别涉及对实验室工作人员和社区的风险，与生物安全等级相关，但不等同于生物安全等级。**有关风险组和生物安全等级的更多信息，请参见第三部分。

转基因制剂的危害特性 转基因制剂危害特性的确定和评估需要考虑到的因素与对野生生物体进行风险评估时所考虑的因素相同。尤其重要的是，要考虑到转基因可能会增加或减少病原体的致病性，或影响其对抗生素或其他有效治疗方法敏感性的可能性。风险评估可能很困难或不完整，因为可能无法获得新型工程制剂的重要信息。一些研究人员报告说，他们在最近的工程制剂研究中观察到了意料之外的毒力增强；⁷⁻¹⁰ 这些发现使我们有理由对毒力基因的实验性改变保持警惕。这些改变可能导致风险改变，使风险评估变成一个持续的过程，并且随着研究的推进而需要不断更新。

《NIH指南》是评估涉风险及为重组 DNA 分子工作确定适当生物安全级别的主要参考依据。

有关《NIH指南》和 NIH 科学政策办公室 (OSP) 的更多信息, 请参阅附录J。《NIH指南》可在网址https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/NIH_Guidelines.pdf 查阅。¹¹

细胞培养 处理或使用人类或动物的细胞和组织的工作人员有可能面临接触到这些细胞和组织中可能存在的潜在传染性潜伏病原体和外源病原体的风险。这些风险表现在疱疹病毒潜伏期重新激活、^{12,13} 疾病无意中传染给器官接受者^{14,15} 以及人体免疫缺陷病毒 (HIV)、乙型肝炎病毒 (HBV) 和丙型肝炎病毒 (HCV) 在美国人群中的感染个体中持续传播。¹⁶ 此外, 特性不明确或从二手来源获得的人类和动物细胞属可能会给实验室带来感染性危害。例如, 在处理接种了肿瘤细胞属的裸鼠时, 在不知情的情况下感染了淋巴细胞性脉络膜炎病毒, 导致多例实验室相关感染 (LAI)。¹⁷ 想要了解更多信息请参阅附录 H。

病原体的其他危害特征包括在实验室中的可能传播途径、感染剂量、在环境中的稳定性、宿主范围及其流行性质。此外, 有关实验室相关感染 (LAI) 的报告是一个明确的危险信号。该信号通常是有助于确定病原体和程序性危害的信息来源, 也是控制预防措施的信息来源。没有报告并不表示风险很小。单一制剂的报告感染数量可能是使用频率和风险的提示。鼓励实验室主任在科学与医学文献中报告有关LAI的情况。《微生物和生物医学实验室生物安全手册》(BMBL) 中的病原体概要说明中包括可以参考的有关 LAI 情况报告的具体资料。一旦需要考虑到与病原体相关的固有风险, 下一步就需要解决病原体传播的可能性。实验室中最有可能的传播途径是:

1. 皮肤、眼睛或粘膜直接接触制剂;
2. 通过注射器针头或其他被污染的锐器进行肠道外接种, 或被受感染的动物和节肢动物载体叮咬;
3. 摄入传染性病原体的悬浮液, 或通过受污染的手口接触; 以及
4. 吸入传染性气溶胶。

了解人类自然疾病的传播途径有助于确定实验室中可能的传播途径以及对公共健康造成的潜在风险。例如, 传染性病原体可以通过直接接触感染者呼吸道粘膜的分泌物而传播, 这就清楚地表明实验室工作人员在处理该病原体时有可能因粘膜接触飞沫而受到感染。用于确定自然传播和常见的实验室传播模式的其他信息请参阅《传染病控制手册》。³ 需要牢记的是, 实验室相关感染 (LAI) 引起的疾病性质和严重程度以及感染原在实验室中的传播途径可能不同于自然感染疾病的传播途径和严重程度。¹⁸

有的病原体能够通过呼吸接触传染性气溶胶传播疾病, 而对处理这类病原体的人员和其他实验室使用者都是一种严重的实验室危害。对于确定通过空气传播疾病的风险来说, 感染剂量和病原体的稳定性尤为重要。例如, 有报告称, 实验室中存在的多重感染与使用贝纳柯克斯

体有关。其原因是吸入感染剂量低(估计为10个吸入感染性颗粒)及其对环境压力的抵抗力,致使病原体能够在活的宿主或培养基之外存活足够长的时间,从而成为一种气溶胶危害。¹⁹

当涉及使用实验动物时,在完成风险评估时需要仔细考虑人畜共患病病原体的危害。有证据表明,实验动物的唾液、尿液或粪便中可能含有人畜共患病病原体和其他正在研究的传染性病原体,这是一个重要的危害指标。灵长类动物中心的一名实验人员因眼部接触到喷溅的恒河猕猴生物材料而感染1型猕猴疱疹病毒(MHV-1,又称猴B病毒)后死亡,从中可以看出这种危害的严重性。²⁰ 实验表明,受感染的动物将疾病传染给同笼饲养的正常动物,这是可靠的危害提示。但是,如果实验不能证明其传播的特性就不能排除其危害。例如,实验动物感染了土拉弗氏菌、贝纳柯克斯体、粗球孢子菌或鹦鹉热衣原体——这些曾引起许多实验室相关感染(LAI)的病原体——却很少感染笼内动物。²¹

在进行风险评估时,病原体的来源也很重要。需要特别关注的是非本地病原体,因为这些病原体可能将传染病从外国传播或扩散到美国。人类疾病病原体的进口需要获得美国疾病预防控制中心(CDC)的许可。许多牲畜、家禽和其他动物疾病病原体的进口需要获得美国农业部动植物卫生检验局(APHIS)的许可。更多详情请参阅附录 C。

通常情况下,没有足够的信息来进行适当的风险评估。例如,在完成病原体识别和分型程序之前,可能无法知道标本中未知制剂可能存在的危害。谨慎的做法是假定标本中含有未知制剂,其危险等级最低与 BSL-2 抑制级别相似,除非有更多信息表明制剂存在更高风险。对新出现病原体相关制剂的危害鉴定也需要根据不完整的信息做出判断。

在这些情况下,流行病学研究结果往往是最好的信息来源。在评估新减毒病原体的危害时,实验数据的评价结果应该是减毒病原体的危害低于野生型母体病原体的危害,才能降低对该病原体的建议抑制级别。

第二,确定实验室程序的危害。实验室程序的主要危害是制剂浓度、悬浮液量、产生小颗粒气溶胶和较大空气颗粒(液滴)的设备和程序,以及锐器的使用。涉及动物的操作程序会带来许多危害,如咬伤和抓伤、接触人畜共患病病原体以及处理实验产生的传染性气溶胶。

对实验室相关感染(LAI)的调查发现了以下传播途径:使用注射器针头或其他受污染的锐器进行肠外接种、溢出或喷溅到皮肤和粘膜上、通过口吸管摄入、动物咬伤和抓伤以及吸入传染性气溶胶。前四种实验室传播途径很容易被发现,但在 1979 年Pike的回顾研究报告中 LAI 中仅占不到 20%。²² 随后对实验室相关感染(LAI)的研究证实,可能的感染源往往不为人知。²³

气溶胶和飞沫 气溶胶是一种严重危害，因为气溶胶在实验室程序中无处不在，通常不容易发现，且极易扩散。这样，按程序规范操作的实验室工作人员和实验室中的其他人员都有接触气溶胶的风险。生物安全专业人员、实验室主任和调查过实验室相关感染（LAI）的首席研究员普遍认为，由实验程序和操作产生的气溶胶可能是许多LAI的来源，特别是涉及到工作人员的情况。他们唯一已知的风险因素是他们曾接触过某种制剂或曾在进行过该工作的区域工作。

向微生物悬浮液提供能量的程序会产生气溶胶。实验室中用于处理和分析传染性病原体的设备都是气溶胶的潜在来源，如移液器、搅拌器、离心机、超声仪、旋涡混合器、细胞分选仪和基质辅助激光解吸/电离飞行时间（MALDI-TOF）质谱仪。^{24,25} 这些程序和设备会产生可入肺微粒，并长期滞留在空气中。如果吸入这些微粒，它们会残留在肺部，或对实验室的同事或在实验室气流邻近空间的人带来接触风险。一些研究人员已经确定了常见实验室程序的气溶胶输出量。此外，研究人员还提出了一种估算实验室气溶胶源吸入剂量的模型。确定气溶胶危害特征的参数包括病原体的吸入感染剂量、其在气溶胶中的存活率、气溶胶浓度和颗粒大小。²⁶⁻²⁸

细心和熟练的工作人员会最大限度减少气溶胶的产生。例如，匆忙的工作人员可能会以最大通气量操作超声波均质器，但细心的工作人员会平稳持续地操作设备，以确保最小通气量。实验表明，最大通气量下的气溶胶负荷大约是最小通气量下气溶胶负荷的200倍。²⁶ 产生气泡的不当移液操作与产生最少气泡的移液方法也会有类似的结果。

产生可入肺微粒的程序和设备也会产生较大的飞沫，这些飞沫会迅速从空气中沉降下来，污染手和工作表面，并可能污染进行程序操作人员的粘膜。对实验室操作中释放的可入肺微粒和飞沫进行评估后发现，可吸入成分相对较小；相比之下，手和工作表面的污染可能性很大。²⁹ 在风险评估中，需要像关注气溶胶中的可吸入成分一样，关注接触飞沫污染的潜在风险。

个人防护设备（PPE）和安全设备危害 除了安全眼镜、实验服和手套之外，可能还存在一些危害需要专门的个人防护设备去防备。例如，会出现喷溅危害的操作程序可能需要使用口罩和面罩来提供足够的保护。如果在正确使用个人防护设备方面的培训不足，可能会降低其有效性，使人产生自己非常安全的错觉，并可能增加实验室工作人员的风险。例如，呼吸器错误佩戴方式可能会给佩戴者带来风险，而与所操作的制剂无关。

生物安全柜（BSC）、离心机安全杯和密封转子等安全设备可为实验室工作人员提供更高级别的保护，防止他们接触微生物气溶胶和飞沫。工作状态不正常的安全设备是有危害的，尤

其是在使用者没有意识到安全设备存在故障的情况下。位置不佳、室内气流不畅、气流减弱、过滤器泄漏、窗扇凸起、工作表面拥挤以及使用者技术不佳，都会影响生物安全柜（BSC）的抑制能力。只有正确操作设备，现代离心机的安全特性才会有效。

设施控制危害 设施保障措施有助于防止制剂在实验室意外泄漏。例如，定向气流就是一种设施保障措施，它有助于防止气溶胶从实验室传播到建筑物的其他区域。定向气流取决于实验室供暖、通风和空调（HVAC）系统的整体运行。

暖通空调系统（HVAC）需要认真监测和定期维护，以保持其整体运行。失去定向气流可能会影响实验室的安全运行。BSL-4 抑制设施提供了更为复杂的保障措施，需要大量的专业知识来设计和操作。

设施保障措施是风险评估不可分割的一部分。生物安全专业人员、建筑和设施工作人员以及国际生物伦理学委员会或类似的安全委员会应帮助评估设施是否有能力为计划开展的工作提供适当保护，并在必要时提出修改建议。风险评估可满足在建造新设施或翻新旧设施时增加额外的设施保护措施的要求。

第三，确定适当的生物安全级别，并选择风险评估所指出的其他预防措施。选择适当的生物安全等级及任何其他实验室预防措施都需要全面了解本出版物第 III、IV 和 V 部分所述的操作规范、安全设备和设施保障措施。

在某些情况下，病原体的使用要比病原体概要说明采取更多的预防措施。在这些情况下，需要认真选择其它的预防措施。一个明显的例子是将动物暴露于实验产生的传染性气溶胶的程序。

风险评估提示有必要改变为已定的生物安全级别指定的推荐设施保障措施，这种情况并不多见。如果确实出现这种情况，在增加任何设施的二级屏障之前，生物安全专业人员必须验证这一判断。

虽然实体的生物安全计划以风险评估为基础，但生物安全计划可能会受到联邦法规和指导方针的影响。例如，美国国家科学基金会（NSF）2017 年发布的通告定义了联邦研究补助金的标准条款和条件。³⁰ 更新后的国家政策需求矩阵附录C提供了一份法定、监管和行政需求清单。³¹ 联邦管制性病原体 and 毒素条例（9 CFR第121部分，42 CFR第73部分）要求的生物安全计划必须以风险评估为基础，评估管制性病原体或毒素的预期使用风险，并酌情考虑《美国国家卫生研究院涉及重组或合成核酸分子的研究指南》。同样重要的是，要认识到实验室

中的个体对疾病的易感性可能不同。原有疾病、药物、免疫力受损以及怀孕或哺乳可能会增加婴儿对某些病原体的接触，这些情况可能会增加个体感染实验室相关感染（LAI）的风险。在这种情况下，建议咨询了解传染病的职业医疗服务提供者。

实验室主任和首席研究员或其指定人员负责确保已确定的控制措施（设备、管理和个人防护设备（PPE））已经到位，并符合要求或正常运行。例如，未经认证的生物安全柜（BSC）对使用该 BSC 的实验室工作人员和实验室中的其他人都可能构成严重危害。实验室主任应在开始使用制剂前纠正所有设备缺陷。

根据安全性和可用性，可建议实验室人员接种疫苗；但疫苗对个人的保护作用取决于疫苗的有效性和免疫持续时间。接种疫苗并不能替代工程和行政风险的缓解控制措施。

机构必须通过设定风险承受限度或对项目要素和设备的性能预期来解决风险感知问题，这些项目要素和设备的认定对操作至关重要。^{32,33} 要降低风险，就必须找到一种平衡的方法，包括不断确定危害和审查控制措施，并必须在各个层面将已确定的风险降低到机构可以承受的水平。接受风险并不等同于接受所有风险；一定程度的生物风险可能是开展研究的必要条件，而接受学术不端行为的同等风险则并非如此。

第四，在实施控制措施之前，与生物安全专业人员、主题专家和国际生物安全委员会（IBC）或同等专家资源一起审查风险评估和已选定保障措施。强烈建议进行这种审查，监管机构或资助机构可能会要求进行这种审查。国际生物安全委员会（IBC）对潜在高风险方案的审查应成为标准做法。自愿采取这一步骤将促进微生物和生物医学实验室在使用危险制剂时采用安全的操作方法。

第五，作为完整过程的一部分，对工作人员的安全操作熟练程度和安全设备的整体运行进行评估。对实验室工作人员、与实验室有关的其他人员和公众的保护最终需要依赖实验室工作人员本身。实验室主任或首席研究员要确保实验室工作人员已熟练掌握安全处理病原体所需的微生物操作技能和安全设备的使用技术，并已养成良好习惯，能够持续出色地执行这些操作规范。所有具有不同技术水平的工作人员都需要了解如何识别实验室中的危害以及如何获得帮助来保护自己和实验室中的其他人员。对工作人员的培训、处理传染性病原体的经验、对微生物学进行正确操作的熟练程度、安全设备的正确使用、特定实验室活动标准操作程序（SOP）的连贯使用、应对紧急情况的能力以及承担保护自己和他人责任意愿的评估，是实验室工作人员是否有能力进行安全工作的重要标志。

评估应确定实验室工作人员在知识、能力和实践方面存在的任何潜在缺陷。粗心是一个严重

的问题，因为它会损害实验室的任何保障措施，并增加同事的风险。疲劳及其对安全的不利影响也都有记录。³⁴ 减少与危险制剂有关的工作风险的先决条件是对实验室工作人员进行培训，让他们了解制剂和操作程序的危害、良好习惯、谨慎、细心、关心同事健康等的相关知识，并积累相关经验。并非所有加入实验室的工作人员都具备这些先决条件，即使他们可能拥有出色的学术背景。实验室主任或首席研究员应考虑使用能力评估对新员工进行培训和再培训，使无菌技术和安全预防措施成为他们的第二天性。

第六，定期重新审查和核实风险管理策略，并确定是否有必要进行修改。继续执行风险管理周期，必要时进行调整使其适应新情况。包括在程序或设备发生变化时定期更新生物安全手册和标准操作程序（SOP）。循环的、适应性强的风险管理流程构成了生物实验室安全文化的坚实基础。

风险沟通

有效的安全文化取决于以非惩罚性的方式对风险提示（包括事故和险情）进行有效的沟通和汇报。³⁸ 传达安全计划基本要素是这种文化的重要组成部分，也是风险评估的基础；这包括向所有利益相关方传达危害信息。³⁹ 机构领导可以通过与机构安全计划合作，致力于并支持安全的工作环境，来吸引不同层次的工作人员参与进来。

处理传染性病原体和毒素的机构需要适当的组织和治理架构，以确保遵守生物安全、生物抑制和实验室生物安全规则和准则，并通报风险。⁴⁰ 特别是，首席研究员或实验室的对等人员对通报实验室的危害和风险负有主要责任。员工必须具备报告问题（包括事故和险情）的能力，而不需要担心遭到报复。实验室工作人员、国际生物安全委员会（IBC）或同等专家资源、生物安全专业人员、机构动物护理和使用委员会（IACUC）以及实验动物兽医也有责任确定与实验室工作相关的生物风险，并传达整个机构的风险管理措施规范。生物安全官员（BSO）和/或其他安全人员可协调机构的安全计划，并可协助制定风险交流文件，包括事故趋势和缓解措施、标准操作程序（SOP）、生物安全手册、危害控制计划和应急响应计划。风险管理可以发现实验室工作人员在工作表现或机构政策方面的不足，并协助负责的机构领导对安全计划进行必要的修改，以弥补这些不足。促进安全文化建设的生物安全计划变更，可通过多种交流途径在整个机构内进行最有效的沟通，以确保所有员工都能了解情况。良好的沟通方式包括必要时的领导层的信息、风险管理文件、国际生物安全委员会（IBC）或同等专家资源以及其他委员会审查。

通过风险评估促进安全文化建设

风险评估的目标是解决所有现实的、可感知的风险，以保护人员、社区和环境的安全。随着时间的推移，研究的进展、人员的变动和规则的变化都会推动方案的改变，并要求定期对所

有因素进行必要的重新考虑。风险评估是一个持续的过程，所有人员都要为评估的成功发挥作用。

需要面临的挑战是在领导的支持下，通过培训和能力核查培养良好的习惯和程序。这些操作规范一旦确立，就要坚持下去，进一步培养安全文化。完善的风险沟通策略对于确定危害和成功实施也至关重要。虽然政策和计划是风险评估过程中产生的有形资产，但衡量最终成功与否的标准是你是否建立、加强和保持了一种安全文化，同时鼓励管理层和员工之间就风险进行沟通，防患于未然。

对所有危害定期审查、风险的优先级排序、对重点风险进行多学科审查以及制定风险缓解措施，这些都表明了机构致力于建立安全可靠的工作环境，并构建生物安全计划的基石。上一部分概述的风险评估方法不是一成不变的，需要所有利益相关方的积极参与。力求持续评估和定期调整，以适应机构不断变化的需求，并保护所有人员免受实验室及相关设施中生物材料的潜在危害。

总结

《微生物和生物医学实验室生物安全手册》（BMBL）旨在协助各组织机构保护生物实验室及相关设施的工作人员免受实验室相关感染（LAI）。风险评估是美国疾病预防控制中心（CDC）、美国国家卫生研究院（NIH）以及微生物和生物医学界制定保障措施的基础，目的是保护实验室工作人员和公众的健康，使其免受在实验室使用危险生物制剂带来的风险的影响。经验表明，这些既定的安全操作规范、设备和设施保障措施是有效的；新的知识和经验会证明是否可以改变这些保障措施。