

中国科学院
神经科学研究所

BSL-2 实验室安全规范

(基因编辑平台 施霖宇)

目 录

总则.....	1
实验室平面图、紧急出口和撤离路线.....	1
实验室标识系统.....	3
第一章 BSL-2 实验室日常进出流程.....	4
准入规定.....	4
人员进出标准流程.....	4
物品进出的标准流程.....	6
第二章 BSL-2 实验室安全管理流程.....	7
免疫预防制度.....	7
意外事件处理及报告制度.....	7
废弃物处理制度.....	7
BSL-2 实验室人员培训.....	8
违纪处理.....	9
第三章 BSL-2 实验室标准操作技术流程.....	10
第四章 BSL-2 实验室仪器设备运行和使用.....	12
移液管和移液辅助器的使用.....	12
生物安全柜的使用.....	12
超速离心机的使用.....	13
荧光显微镜的使用.....	15
传递窗的使用.....	16
压缩气体钢瓶.....	16
第五章 BSL-2 实验室紧急预案.....	17
消防灭火紧急预案.....	17
病毒操作紧急预案.....	18
停电应急程序.....	20

总 则

1 目的

为确保 BSL-2 实验室工作人员和实验人员熟悉生物安全法律、法规，建立生物安全意识，避免实验室感染，防止实验室事故，特制定此手册。本安全操作规范中列出了最基本的实验操作规范和程序，是所有实验人员进行管理和实验操作的基础，必须严格遵守。

2 依据

国家环保总局《病原微生物实验室生物安全环境管理办法》:

国务院《病原微生物实验室生物安全管理条例》:

GB19489-2008 《实验室生物安全通用要求》;

上海市卫生局《上海市二级生物安全防护实验室管理规范》:

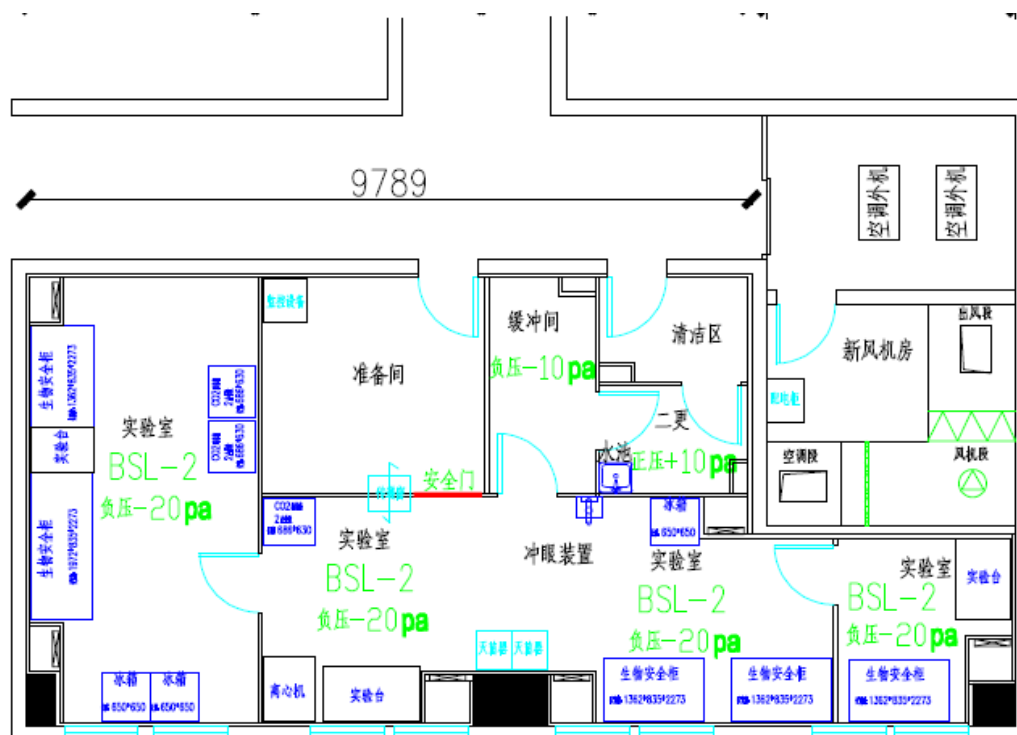
WHO《实验室生物安全手册》。

3 适用范围

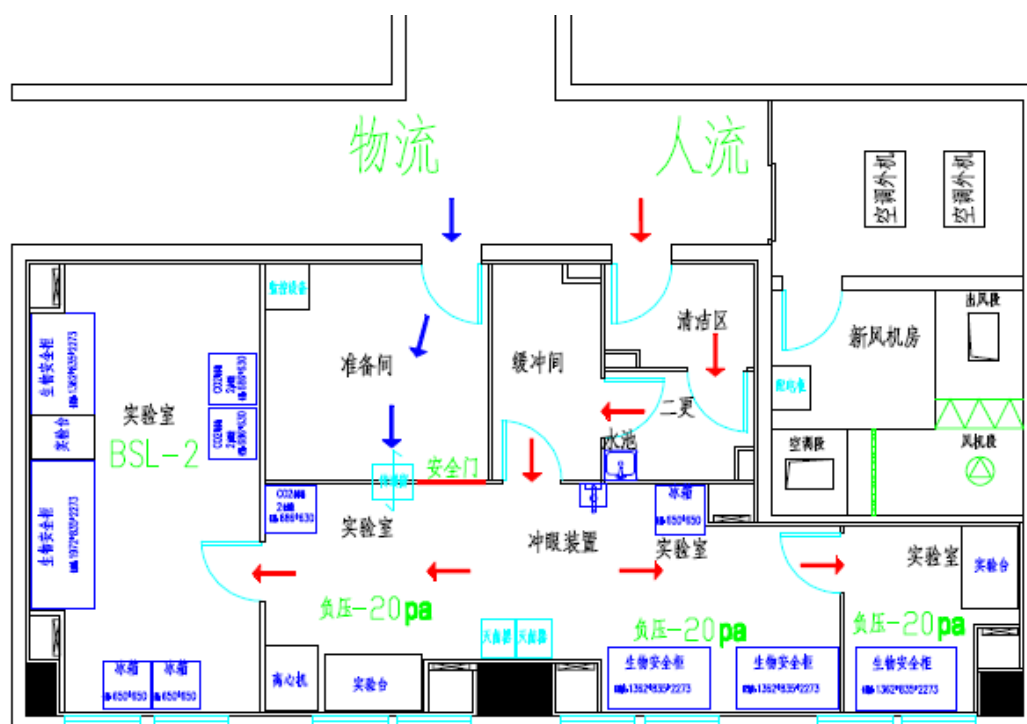
神经所所有进出 BSL-2 实验室的实验操作人员。

4 实验室平面图、紧急出口和撤离路线

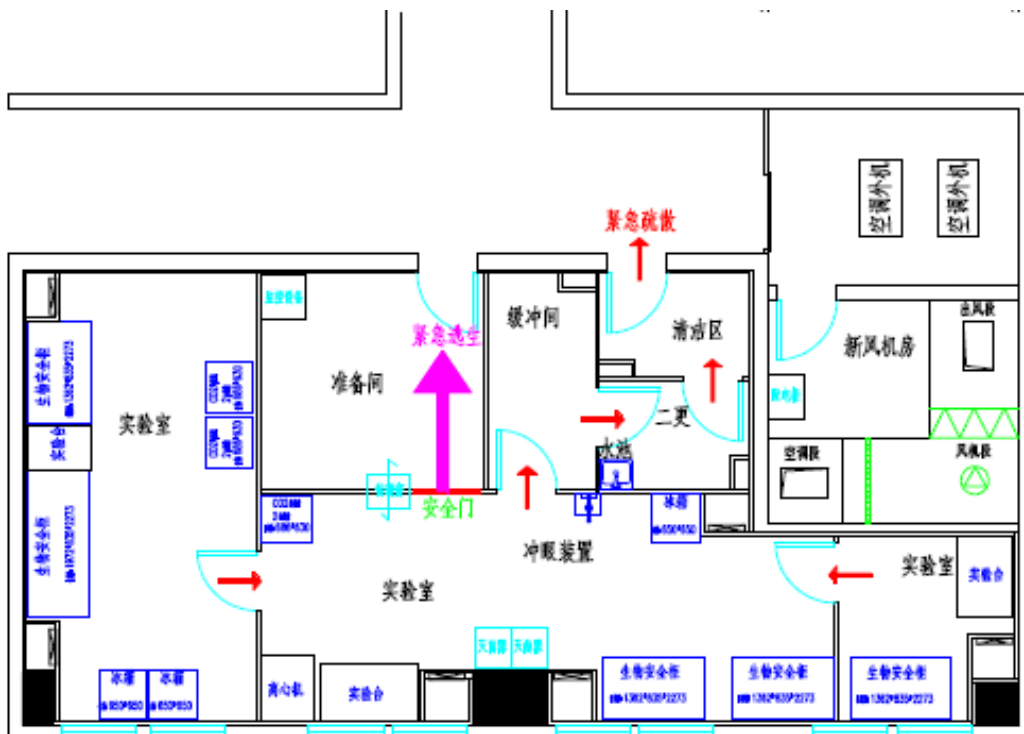
4.1 实验室平面图



4.2 人流物流图



4.3 紧急撤离图



5 从工作区撤离的规定和程序

11.1 突遇突发事件如地震、火灾等，工作区工作人员应及时撤离，可从逃生门使用安全锤敲碎玻璃后，快速离开。

11.2 实验区发生泄漏事件或溢出事件影响到实验人员安全时，实验人员也应及时撤离。撤离路线为：实验区、缓冲间、二更和一更。

11.3 实验室人员在明确撤离指示后不得再进入实验区域。在实验室外人员不得再进入工作区。

6. 实验室标识系统



第一章 BSL-2 实验室日常进出流程

1. 准入规定

1.1 本实验室为神经所操作病毒包装、纯化的场所，进入本实验室进行实验的人员首先向该实验室的管理人员提出申请，由管理人员安排相关培训合格后开通门禁卡方可进入。

1.2 实验前必须在神经所网页 (<http://10.10.168.38/>) 上进行预约相应的生物安全柜或仪器，预约成功后，方可进入。

1.3 使用本人门禁卡进入本实验室，不得借给他人使用。

1.4 非本实验室工作人员、外来合作者、进修和学习人员进入实验室参观学习必须经过相关人员批准，由主管工作人员带领进入实验室。严禁儿童进入 BSL-2 实验室。

1.5 本实验室实行人员，物品通过专用的通道进出。实验人员由人员出入通道进出实验区，实验物品通过传递窗口进出入实验区，实验物品带出实验室时必须保证没有受到污染。

1.6 实验所用器皿，耗材，包括细胞株，包装病毒材料需经批准带入本实验室，实验动物不得带入本实验室。

1.7 所有实验方案必须经过所内所级中心管理委员会（生物安全委员会）通过并备案后方可实施。申请流程为：填写《实验方案申请书》，然后由所级中心管理委员会（生物安全委员会）作出相应的风险评估报告后，决定是否允许执行。禁止操作在本所《上海市病原微生物实验室备案凭证》上的病原微生物范围之外的其他病原微生物实验。

1.8 实验室人员在下列情况进入 BSL-2 实验室内需经实验室负责人同意：

1.8.1 身体出现开放性损伤；

1.8.2 呼吸道感染或其他导致抵抗力下降的情况；

1.8.3 正在使用免疫抑制剂或免疫耐受；

1.8.4 妊娠期人员；

1.8.5 连续工作或者其他原因导致的疲劳状态。

2. 人员进出标准流程

2.1 进出 BSL-2 实验室流程：

2.1.1 进入实验室，打开日光灯，在更衣室入口处《BSL-2 实验室人员进出登记表》上登记日期、姓名、进入时间以及是否使用超速离心机。

2.1.2 在一更内换下自己的外套，并且按以下顺序依次穿戴隔离防护用品：一次性口罩、帽子、鞋套（一更）→一次性乳胶手套（一更）→实验服（二更）→一次性隔离服（二更），用 75%乙醇喷雾消毒手部。注意：头发必须完全包裹在帽子内，长发的人员应将头发盘在脑后，以防止头发接触到污染物；口罩佩戴必须规范；必要时戴安全护目镜，面罩或者其他防护设备；实验过程中可能接触到感染性材料，必须戴合适大小的手套操作；严禁在实验室内穿露脚趾的鞋子。完全穿戴好后方可进入。

2.1.3 进入实验区，必须再戴一层手套进行实验操作。实验中手套破损应立即更换。

2.1.4 每次实验开始前和完成后，必须清洁和整理操作台面。实验室台面和器械应在每次实验操作完成后及时用 75%乙醇消毒液擦拭表面。

2.1.5 有病原体污染的废弃物不可拿出生物安全柜，必须放在生物安全柜台面上的医废盒。尖锐的注射器针头等丢弃于台面上的专用利器盒中。其他未接触病毒的固体废物可弃于安全柜下方的废纸篓中，不可随意丢弃。

2.1.6 完成实验后，必须先用 75%乙醇喷雾消毒双手，再脱去隔离服，放入专用灭菌袋，待工作人员进行高温高压灭菌处理。

2.1.7 摘除外层手套，丢弃于垃圾桶内，做好仪器使用记录。离开实验区须核实所有未设定继续运转的设备是否已关闭，所有实验物品放回原位。

2.1.8 在二更内脱去实验服，把一次性口罩、帽子、鞋套、手套等丢入专用的黄色垃圾桶中。在一更内消毒手部，并且在《BSL-2 实验室人员进出登记表》上登记离开时间，关闭照明灯，然后离开 BSL-2 实验室。

2.1.9 狂犬病毒实验人员，在离开狂犬病毒专用房间后，应额外定时对该房间进行紫外照射 1 小时。

2.2 其他注意事项

2.2.1 BSL-2 实验室内全面禁烟，实验室内严禁进食、饮水、处理隐形眼镜、使用化妆品、储存食品和饮料。严禁将手机、平板等电子产品带入实验区，需要与外界联系请使用实验区内的壁挂电话机拨打。

2.2.2 进出 BSL-2 实验室，必须随手迅速关闭每一道门，禁止同时打开内外两门，以保证室内处于正常的压力范围。

2.2.3 在实验室工作时，任何时候都必须穿实验服。

2.2.4 严禁戴着可能已被污染的手套的手触摸门把手、电灯开关、电话和其他公共设施。

2.2.5 严禁穿实验防护服离开实验室。（如去餐厅，图书馆，休息室和卫生间等）

2.2.6 严禁将无关的动植物带入实验室。

3. 物品进出的标准流程

3.1 实验物品进出 BSL-2 实验室的流程

3.1.1 刷卡进入外准备间，打开传递窗，放入实验物品。

3.1.2 实验物品需经过消毒后才可带入实验区。根据物品的性质，将物品表面喷洒 75%乙醇消毒后放入后，并且打开传递窗门旁边的紫外灯开关进行紫外消毒。若物品不能照射紫外（如细胞和培养基等），必须表面喷洒 75%乙醇消毒后放入传递窗。

3.1.3 待人进入实验室后，关闭传递窗的紫外灯，开门取出物品。

3.1.4 实验结束后，所有实验废弃物不准带离实验室，放入专用的垃圾桶后待工作人员处理。

3.1.5 实验物品带离实验室，必须经由传递窗传出。带出的物品必须经过消毒处理，可在传递窗经紫外消毒后带出，或者在表面喷洒 75%乙醇消毒后，放入传递窗带出。

3.2 其他注意事项

3.2.1 严禁同时打开传递窗的两扇门。

3.2.2 实验废弃物严禁随意丢弃，必须放入专用的垃圾桶内。

3.2.3 物品有明显病原体污染时，随时喷洒 75%乙醇消毒或 84 消毒，再放入专用灭菌袋中，进行高温高压蒸汽灭菌处理。

第二章 BSL-2 实验室安全管理流程

1. 免疫预防制度

- 1.1 实验人员要在身体状况良好的情况下从事相关工作，发生发热、呼吸道感染、开放性损伤、怀孕等或因工作造成疲劳状态免疫耐受及使用免疫抑制剂等情况时，不宜进入 BSL-2 实验室进行相关工作。
- 1.2 实验室工作人员根据岗位需要进行免疫接种和预防性服药，免疫接种时应考虑适应症、禁忌症、过敏反应等情况。
- 1.3 发生实验室意外事件或生物安全事故后应根据需要进行必要的应急免疫接种或预防性服药。

2. 意外事件处理及报告制度

- 2.1 实验室发生病原体泄漏按照该种病原体的生物安全危害评估结果，快速有效地对意外接触人员进行紧急医学处置。
- 2.2 对污染区进行有效控制，最大限度的清除和控制污染物对周围环境的污染和扩散。
- 2.3 一般性的小型事故可在紧急处置后，立即向实验室主任和所级中心管理委员会(生物安全委员会)报告事故情况和处理方法，以及时发现处理中的疏漏之处，使处理尽量完善妥当。
- 2.4 当重大事故发生时，在进行紧急处置的同时，要立即向实验室主任和所级中心管理委员会(生物安全委员会)报告情况；实验室主任和所级中心管理委员会(生物安全委员会)要立即协调现场紧急处理和周围环境污染防控。
- 2.5 建立意外事故登记，详细记录事故发生的时间、地点及经过，暴露方式；损伤程度；接触物种类；处理方法及处理经过等。

3. 废弃物处理制度

- 3.1 实验耗材：
 - 3.1.1 BSL-2 实验室使用过的可能接触病原体的感染性废弃物，统一放入生物安全柜台面上的医废盒中，并由工作人员在装满 3/4 前及时处理。
 - 3.1.2 锋利尖锐的实验耗材，如废弃针头、玻璃、刀片等垃圾，需收集在生物安全柜台面上专门的利器盒中，严禁乱放入其他的废弃物收集桶中，并由工作人员在装满 2/3 前及时处理。

3.1.3 实验过程中产生的未接触病原体的废弃物弃于生物安全柜下方的废纸篓中。

3.1.4 医废盒中的废弃物需经高温高压灭菌后，套双层专用病毒垃圾袋，再带出BSL-2实验室，并由实验室工作人员带到医废垃圾回收处，由医疗废弃物处理单位统一回收处理。

3.1.5 装盛固体垃圾的垃圾桶应用脚踏式并加盖。

3.2 实验废液

3.2.1 实验过程中产生的有病毒的废液即可弃于废液缸中，无病毒的废液可通过真空泵吸走。若弃于生物安全柜台面上的废液缸中，缸中废液不可超过2/3，处理时加入15%的84消毒液（约0.68%的次氯酸钠），或按4片/升消毒片投放，有效氯浓度为2000mg/L。再倾倒入废水槽中。

3.2.2 若将废液通过真空泵吸至废液瓶中，不可让废液瓶内废液过满，当废液瓶内废液达到约2/3满时就需要清理废液。当干燥瓶内变色硅胶变为红色时就需要更换。

4. BSL-2 实验室人员培训

4.1 所有神经所学生或工作人员必须经过培训合格后方可获得BSL-2实验室的准入权。

4.2 培训内容：生物安全相关法律、法规，本实验室生物安全手册、应急预案、紧急事件的上报和处置程序，生物安全风险评估，生物安全操作规程，仪器设备的使用、保养、维护，个人防护用品的正确使用，实验室消毒与灭菌、感染性废物的处置等。

4.3 每年组织一到两次全员（包括实验室管理人员和实验人员）的生物安全培训。所有人员必须参加，并实行签到制度。签到记录由生物安全管理员保存。

4.4 不定期举办新进人员培训。新人准备使用BSL-2实验室前，需提前与BSL-2实验室主任联系，由生物安全管理员对新人进行培训。

4.5 培训合格后，方可开通BSL-2实验室门禁。曾经在其他高级生物安全防护实验室的工作经验并不代表已获得BSL-2实验室的准入权。

4.6 BSL-2实验室培训使实验操作人员达到如下水准：熟悉相关生物安全法律、法规；学会必要的安全操作技术；学会如何应对紧急事件。

4.7 当有关部门新颁发、修订生物安全相关法律、法规、规范、标准等，实验室生物安全手册进行修改后，组织开展相关内容的培训。

4.8 生物安全管理员保存好人员培训记录和培训模块的详细信息。

5. 违纪处理

5.1 不遵守更衣程序。如不穿专门的防护服和鞋子，以及一直不戴呼吸保护装置。

5.2 无视实验室和个人卫生的相关规定。如在实验室内吃东西或喝饮料，每次使用生物安全柜后不进行消毒。

5.3 不遵守来访者的规定。如在未经 BSL-2 实验室主任许可的情况下，让朋友、家人或服务人员进入实验室。使来访者脱离监督留在实验室也属于此范畴。

5.4 不及时向管理人员或实验室主任报告意外事故或感染性材料的溢出。

5.5 在因安全原因关闭实验室期间进入实验室。

5.6 操作 BSL-3 或 BSL-4 级别的病原体微生物实验，或者在本所《上海市病原微生物实验室备案凭证》上的病原微生物范围之外的其他病原微生物实验。

5.7 严重违反生物安全标准操作规程，包括但不限于以上情况。

第三章 BSL-2 实验室标准操作技术规程

1. 主体内容

- 1.1 BSL-2 实验室的开放时间为 9:00—18:00，周末正常开放。
- 1.2 实行实验预约制度，在进行实验前请先在预约网站上进行预约，按照预约时间准时开始实验。
- 1.3 BSL-2 实验室包括清洁区、半污染区和污染区。在清洁区不能操作病原体；只有密封在已消毒过的容器中的污染材料才可拿到半污染区；污染区可操作第三类病原体（慢病毒、腺病毒、腺病毒伴随病毒、狂犬病毒）。
- 1.4 任何有活性的第三类病原体的操作都应在二级生物安全柜中进行。开放式的实验台不允许操作此类病原体。
- 1.5 在 BSL-2 实验室中操作有活性的第三类病原体时，必须遵守所有 BSL-2 实验室操作准则。
- 1.6 在二级生物安全柜外操作有活性的第三类病原体时（如：将接种了病毒的细胞培养瓶放到培养箱的过程中），要遵守双层防护的原则。
- 1.7 在操作过程中要避免产生气溶胶。离心要在防气溶胶的转头中进行。转子只允许在生物安全柜中打开、装载和卸载。
- 1.8 实验室应保持干净整洁。只有当前正在使用的仪器和物品才可放在实验台上。耗材应贮存在缓冲间处指定的架子上，随用随取。
- 1.9 禁止用嘴吸液；必须使用辅助移液装置。
- 1.10 注射器和针头只有在绝对需要时才可使用。用过的针头绝不要重新盖帽或弯折，必须放到专用的利器盒中。
- 1.11 在 BSL-2 实验室应使用塑料耗材，玻璃制品只有实验步骤中为必需的方可使用。
- 1.12 BSL-2 实验室的仪器或器材只有经所所级中心管理委员会（生物安全委员会）批准才能拿出实验室。如果无法对仪器进行彻底消毒，则该仪器不能拿出 BSL-2 实验室。报废仪器必须消毒后才可处理。
- 1.13 实验完成后，所有物品还原至原来位置。废液不得倒入水池，废物不得随意丢弃，必须按照相关程序收集集中销毁。
- 1.14 有活性的病原体除非经 BSL-2 实验室负责人许可，否则不许拿出 BSL-2 实

验室。

1.15 任何情况下书籍和实验记录本都不允许带入 BSL-2 实验室。

1.16 实验结束后，清洁用过的工作台面和材料，必要时需用 75%乙醇擦拭消毒。

1.17 狂犬病毒实验人员，在离开狂犬病毒专用房间后，应额外定时对该房间进行紫外照射 1 小时。

2. 操作注意事项

2.1 超离病毒或有病毒溢出后请打开环境紫外照一小时以上，关闭时请调至“自动”模式。

2.2 当实验微生物污染实验环境时，应立即停止实验，用有效消毒液如 84 液进行消毒处理。如果少量含有病毒的液体洒在实验台上，应立即将 84 浸润过的纱布覆盖在含有病毒的液体上。片刻后，从液体周围向中间的方向擦去含有病毒的液体。沾有病毒的纱布置于生物安全柜内的医废盒中。再取一块浸润过 84 的纱布，按上述方法再擦拭一遍实验台。

2.3 实验室发生大范围病毒泄露事故，请立即联系管理员。联系方式见实验室内和大门口。立即关闭实验室进行消毒处理。

2.4 安全柜使用前后请用 75%乙醇消毒液擦拭，物品摆放整齐，紫外消毒 60min，并登记使用记录。

2.5 请养成随手关门的习惯，以保证试验区及缓冲区的压差。退出 BSL-2 实验室以前，所有实验人员或工作人员都需要核实所有灯及门是否已关闭，核实所有未设定运转的设备是否已经关闭。

2.6 风机已经过检修，由于 BSL-2 实验室使用比较频繁，请保持风机运行状态，勿关闭风机，不要随意调节风机、空调等仪器的设置参数。

2.7 若需要使用显微镜的汞灯，请保证开启半小时以上再关闭，离开时请关闭电源。

第四章 BSL-2 实验室仪器设备运行和使用

1 移液管和移液辅助器的使用

- 1.1 使用移液辅助器，严禁用口吸取。
- 1.2 严禁向含有感染性物质的溶液中吹入气体。
- 1.3 感染性物质不能使用移液管反复吹吸混合。
- 1.4 污染的移液管应该完全浸泡在盛有适当消毒液的防碎容器中。移液管应当在消毒剂中浸泡适当时间后再进行处理。
- 1.5 盛放废弃移液管的容器严禁放在外面，应当放在生物安全柜内。
- 1.6 为了避免感染性物质从移液管中滴出而扩散，在工作台面应当放置一块浸有消毒液的纱布或吸有消毒液的纸，使用后将其按感染性废弃物处理。

2 生物安全柜的使用

- 2.1 生物安全柜上方有照明开关和紫外开关。
- 2.2 开机：接通电源，打开照明，开风机，运行几十秒，待风机的指示灯由红变绿，上提玻璃门至横线标记附近。如果柜体发生报警就说明玻璃门未提升至安全区域，请上下调整玻璃门直至柜体不发生报警。使用 75%乙醇消毒双手。
- 2.3 柜内清洁：使用 75%乙醇擦拭工作台面，开始实验。
- 2.4 物品放入：放置于生物安全柜内的物品遵循最少原则，非必需品请勿置于柜内。生物安全柜最里侧和最外侧均有通风口，放置物品时请注意不要堵住风口。
- 2.5 实验过程中产生的含有病毒的废液即可弃于废液缸中，不含病毒的废液可通过吸引器吸走。废液缸中的溶液切记过满不可超过 2/3，及时加 15%的 84 消毒液处理半小时或过夜后，倾倒入废水槽中。
- 2.6 实验过程中产生的含病毒固体废弃物置于安全柜内的医废盒中，尖锐物品弃于利器盒中，不含病毒的固体废弃物可弃于安全柜下方的废纸篓中。
- 2.7 实验完成后，清理生物安全柜内的实验台面，并用 75%消毒乙醇擦拭台面，并消毒双手。
- 2.8 关机：将玻璃门放至最低，关闭照明。开启紫外，消毒 60 分钟。请务必在生物安全柜上方的登记册上进行登记。
- 2.9 使用注意事项
 - 2.9.1 生物安全柜开启后需要几十秒的运行，结束报警后才能使用。

- 2.9.2 生物安全柜在使用中严禁改变玻璃观察挡板位置。
- 2.9.3 安全柜内应尽量少放置器材或标本，不能影响后部压力排风系统的气流循环。
- 2.9.4 安全柜内不能使用本生灯或酒精灯，否则燃烧产生的热量会干扰气流并可能损坏过滤器。
- 2.9.5 所有工作必须在工作台面的中后部进行，并能够通过玻璃观察挡板看到。
- 2.9.6 尽量减少操作者身后的人员活动。
- 2.9.7 操作者不应反复移出和伸进手臂以免干扰气流。
- 2.9.8 不要使用实验记录本、移液管以及其他物品阻挡空气格栅，否则将干扰气体流动，引起物品的潜在污染和操作者的暴露。
- 2.9.9 工作完成后以及每天下班前，应使用消毒剂（75%消毒乙醇）对生物安全柜的表面进行擦拭。
- 2.9.10 在安全柜内的工作开始前和结束后，安全柜的风机应至少运行 3 分钟，保证有污染的气体完全排除。
- 2.9.11 在生物安全柜内操作时，不得进行文字记录工作。
- 2.9.12 如遇故障或使用问题，应立即告知实验室工作人员，并停止所有操作，由专业人员检修合格后继续使用。
- 2.10 日常维护
- 2.10.1 查看两个生物安全柜的使用记录登记情况，是否正常运行。
- 2.10.2 检查生物安全柜内部物品放置是否符合要求。整理安全柜中的物品，并保持安全柜的整洁。
- 2.10.3 检查废液缸内废液量，并及时处理。检查消毒液存量，并且及时配制或补充消毒液。
- 2.10.4 每年对生物安全柜进行一次彻底的擦拭清理，并请第三方进行安全柜的检测。
- 2.10.5 生物安全柜的日常维护由工作人员负责。

3 超速离心机的使用

- 3.1 配套转子说明：P28S 为水平转子，容积 40ml/吊筒，只可使用开口超离管。P70AT 为角转子，容积 40ml/孔，只可使用闭口超离管。

3.2 转子的选择及使用方法：使用 P28S 转子：将开口超离管小心移入套管内，拧紧盖子（注意：套管和盖子上均标有数字和标记点，操作时应注意两者数字对应，标记点也应相互对应。切不可盖错盖子）。转子上刻有数字，套管上的数字应于转子上的数字一一对应，将套管小心悬挂在转子上，并确认套管上的两个抓钩均挂在转子上（注意：即使没有样品，也需将空的套管挂在转子上）。使用 P70AT 转子：将已封口的闭口超离管小心放入转子中，并对每个超离管装上保护盖。盖上并拧紧盖子。

3.3 开启超速离心机电源，并移开离心机盖子。

3.4 超速离心机的转轴为柔性轴。将转子对准转轴，小心地将转子置于转轴上。切不可将转子直接砸在转轴上。

3.5 合上超速离心机的盖子。设置转速和超离时间，按“开始”键开始超离。

3.6 正常情况下，转速升到 1000rpm/min 有一个识别转子的过程，4000rpm/min 抽真空，待转速升到设置转速，操作人员方可离开。

3.7 一般降速需要 15 分钟左右，待速度降为 0 后，按“抽真空”键。待空气流入超速离心机后，打开盖子，取出转子。将转子置于专用架上。

3.8 合上超速离心机盖子，按“DEF”键后再按“ENTER”，对机器做干燥处理。完成后，关机。

3.9 检查转子：P28S 转子：实验完成后，检查套管。如果套管内有残液，使用棉花或纱布清理套管。P70AT 转子：实验完成后，检查转子。如果转子内有残液，使用棉花或纱布清理套管。

3.10 使用注意事项

3.10.1 离心管和盛放离心标本的容器应当由厚壁玻璃制成，或最好为塑料制品，在使用前应检查是否破损。用于离心的试管和标本容器应当始终牢固盖紧（最好使用螺旋盖）。

3.10.2 离心桶的装载、平衡、密封和打开必须在生物安全柜内进行。

3.10.3 离心桶和十字轴应按重量配对，并在装载离心管后正确平衡。

3.10.4 转头底部的一圈要保护好，一定要放在塑料架子上，转头放入的时候，一定要手稳，轻轻放入，不能滑下去。离心时保证六个套管都在转头上，每个套管拧好，圆点对圆点，挂在转头上后要检查是否挂好。

- 3.10.5 拧套管的时候，切勿拧挂钩处。
- 3.10.6 空离心桶应当用蒸馏水或乙醇（异丙醇，70%）来平衡。盐溶液或次氯酸盐溶液对金属具有腐蚀作用，因此不能使用。
- 3.10.7 当使用固定角转子离心时，必须小心不能将离心管装的过满，否则会导致漏液。
- 3.10.8 每次使用后，要清除离心桶、转子和离心机机腔的污染。应当将离心桶倒置存放，使平衡液流干。
- 3.10.9 如果出现“error”时，先按“CE”键，清除之后再重新设置和启动。
- 3.10.10 如果出现“E13”（没有转速）时，勿关闭电源，2 小时后再按“CE”键并开门取样。
- 3.10.11 在仪器操作过程中，出现突发问题，必须马上停止实验，并立即告知实验室工作人员。
- 3.11 日常维护
- 3.11.1 查看超速离心机使用登记本的登记情况，是否正常运行。若存在超速离心机运转不正常的情况，及时处理。
- 3.11.2 查看超速离心机箱体及机器腔内是否整洁。转子是否正常，P70AT 内是否有溢出的残液，P28S 的套筒是否清洁。
- 3.11.3 每月对垫圈进行清洁和涂抹真空脂，依使用频率决定具体保养时间。
- 3.11.4 超速离心机的日常维护由工作人员负责。

4 荧光显微镜的使用

- 4.1 开启显微镜明场灯：打开明场开关→调节明暗场转换器至○档→调节光强至合适范围（每个物镜上均标有与之相配的光栅，请根据标识调节光栅）。最后，观察样品。
- 4.2 开启显微镜荧光灯：调节定时器的定时时间（最少为 1 个小时）→荧光灯自动开启→在登记本上登记姓名、荧光灯读数等信息→调节明暗场转换器至●档→调节颜色转换器→观察样品。
- 4.3 连在定时器上的荧光灯到设定时间后会自动关闭。
- 4.4 关闭显微镜明场灯：调节光强至最小→关闭明场开关。
- 4.5 使用完毕后在荧光显微镜使用登记本中进行登记。

4.6 使用注意事项

4.6.1 避免将明场灯的光强调至最大，因为这样做将折损灯泡的寿命。

4.6.2 使用荧光灯观察样品时，环境光照强度应尽量调小。

4.7 日常维护

4.7.1 检查使用登记本，如果发现登记有故障及时排除。

4.7.2 每两个月使用沾有无水乙醇的擦镜专用纸清洁显微镜镜头。

4.7.3 荧光显微镜的日常维护由工作人员负责。

5 传递窗的使用

5.1 打开传递窗外侧门，迅速放置待传递物品，采取一种最合适最有效的消毒方法，关闭传递窗外侧门，若需紫外消毒，则开启紫外灯，照射约 15 分钟。

5.2 人进入实验区后，关闭紫外灯开关，打开传递窗内侧门，迅速取出物品并关闭传递窗内侧门。

5.3 使用注意事项

5.3.1 传递的物品必须保证包装内“无菌”，否则禁止传入。

5.3.2 传递窗设有闭锁装置，禁止同时打开传递窗内、外门。

5.3.3 传入物品时，必须保证物品在传递窗内停留规定的时间，以确保有效消毒。

5.3.4 放入、取出传递物品，均应登记《传递窗使用记录表》。

5.4 日常维护

5.4.1 每周由专人对传递窗的内、外侧表面进行清洁、消毒，检查两侧窗户的气密性及紫外灯的工作情况，发现问题及时解决。

5.4.2 每天检查《传递窗使用记录表》，了解传递窗使用情况及存在问题。

5.4.3 传递窗日常维护由工作人员负责。

6 压缩气体钢瓶

6.1 使用钢瓶专用固定架，以确保钢瓶不会因为自然灾害而移动或者倾倒。

6.2 钢瓶不应放置在散热器、明火或其他热源或会产生电火花的电器附近，也不应置于高温或阳光直晒环境中。压缩气体钢瓶及其高压阀和减压阀定期进行检查，维护。

6.3 取用液氮冻存的细胞系，应佩戴防护面罩和防冻手套。

第五章 BSL-2 实验室紧急预案

1 消防灭火紧急预案

1.1 发生火灾时，在场人员时刻牢记人员安全永远大于实验。如果听到楼内警报器响起时，BSL-2 实验室内的所有人员必须撤离。人员可通过缓冲间和更衣室撤离，也可通过紧急出口撤离。

1.2 处理小范围火势时，可使用 BSL-2 实验室内的灭火器。实验室配备的消防器材为干冰灭火器，发生火灾时不可用水灭火。

1.3 报警早、损失小。及时通过有线或无线电话向火警“119”台和保卫处值班室报警，电话：54921723。报火警时要做到：（1）沉着镇定，不要挂错电话，延误时间。（2）讲清着火单位的名称地址。如哪个部门，什么位置和什么明显标志。

（3）燃烧的是什么物质，起火部位，火势大小，有无人员被困，以及报警人的姓名、单位和电话号码，以便及时联系。（4）报警后，应立即派人在路口等候，引导接应消防车进入火场灭火。（5）报警时，应组织在场人员立即扑救火灾和疏散人员、物资。

1.4 救火时应告知消防员和其他服务人员，存在的潜在感染性物质，避免发生人员感染。处理小范围火势时，可使用 BSL-2 实验室内的灭火器。实验室配备的消防器材为干冰灭火器，发生火灾时不可用水灭火。

1.5 发生火灾时，如有人员被火围困，要立即组织力量抢救，应坚持救人第一，救人重于救火的原则，救人是火场上的首要任务。

1.6 火场寻人方法：主要有大声呼唤和深入内部寻找两种。进入火场救人，要选择最近、最安全的通道，如通道被堵塞可迅速破拆门窗或墙壁；遇有火场烟雾较浓、视线不清时，可以爬行前进，并采取呼喊、查看、细听、触摸等方法寻找被困人员。深入火场寻人，要注意在出入口通道、走廊、门窗边、墙角、橱柜、桌下等容易掩蔽的地方发现人员。

1.7 救人时应注意安全，进入火场要带手电和绳子。火场烟雾弥漫，没有防毒面具，可用湿毛巾捂嘴，防止中毒。可用棉被、毯子浸水后盖在身上，防止灼伤。

1.8 火场救人方法：应根据火势对人的威胁程度和被救者的状态来确定。对神志清醒的人员，可指定通道，引导他们自行脱离险区；对在烟雾中迷失方向的人员，可指派专人护送出险区。当抢救的正常通道被隔断时，应利用安全绳、梯等将人

救出。

1.9 火场疏散物资是减少火灾损失，控制火势，防止蔓延的有效方法。首先要及时疏散受火灾威胁的易燃易爆物品，对不能移动的上述物品，要集中一部分水源均匀地冷却其外壁，降低其温度；其次要疏散重要文件、资料和贵重设备及物品等，并把疏散出来的物资集中存放到安全地点，指定专人看管，防止丢失，被窃或坏人乘机破坏。人员、物质疏散后应在指定地点集中清点，并查明有关情况，及时向指挥部报告。

2 病毒操作紧急预案

2.1 感染性或潜在感染性物质溢出

2.1.1 生物安全柜内发生小范围的病毒液体泼溅立刻停止实验，保持生物安全柜的开启状态。处理溢出物时切勿把头伸入生物安全柜中。根据感染物质的特性选用合适的消毒剂，倾倒入纸巾上，并立即覆盖周围区域（通常可以使用 84 消毒液）。使用消毒剂时，从溢出区域的外围开始，朝向中心进行处理。作用适当时间后（例如 30 min），将所处理物质清理掉。若使用含氯的消毒剂时，需要再使用 75%的乙醇将台面擦干净，以免造成对于台面的腐蚀。最后将污染材料置于防漏、防穿透的废弃物处理盒中，最后高压灭菌。如果含有碎玻璃或其他锐器，则使用镊子、簸箕或硬的厚纸板来收集处理过的物品，并将它们置于可防刺透的容器中以待处理。切勿直接用手进行操作。工作面消毒后应更换手套，并且无论是摘下手套还是更换手套都要洗手。

2.1.2 生物安全柜内发生较大范围的病毒溢洒，停止实验，保持生物安全柜的开启状态，立即通知管理员。液体会通过生物安全柜前面或后面的格栅流到下面去，生物安全柜内所有的物品都应该进行表面消毒后拿出生物安全柜。确保生物安全柜的排水阀被关闭后，将消毒液倒在工作台面上，使液体通过格栅留到排水盘内。所有接触过溢出物品的材料都要经过消毒或高压灭菌处理。生物安全柜内部进行全面的消毒，并且紫外照射 1 小时。

2.1.3 实验室发生大范围病毒泄露在生物安全柜外的事故，请立即联系管理员，紧急疏散所有在 BSL-2 的实验人员。联系方式见实验室内和大门口。管理人员立即关闭实验室 30 分钟后进行消毒处理，并在门口设置严禁入内的警示标语。管理人员将对污染区域用纸巾或棉垫将污染液吸干，并且 15%的 84 液从外向中心

湿拖，保持 30 分钟。所有污染的物品均丢弃至黄色垃圾袋中。紫外照射房间 1 小时后，再开放。在成功消毒后，对所级中心管理委员会（生物安全委员会）进行事故报告，并且告知关于溢出区域的污染情况及清除污染工作过程。

2.2 病毒液体接触到皮肤粘膜

2.2.1 脱掉污染的手套或者其他防护物，立即用含 75%乙醇消毒液或碘酒的棉球擦拭，切不可用 84 消毒液，以免灼伤皮肤。并且用大量清水冲洗，至少 15 分钟。

2.2.2 如果遇到针头扎伤或者刀片割伤时，第一时间处理伤口，应立即用力捏住受伤部位，向离心方向挤出伤口的血液，不可来回挤压，同时用流动水清洗伤口，至少 15 分钟。

2.2.3 若感染性物质意外进入眼睛、口腔，立即用大量流动清水或生理盐水冲洗，至少 15 分钟。

2.2.4 病毒污染眼部或眼睛周围：立刻用洗眼器或洗眼液冲洗眼部，至少 15 分钟，并到医院开具抗病毒眼药水。

2.2.5 经简单处理或消毒后，务必立即前往急诊室就诊。保留完整适宜的医疗记录。

2.2.6 意外受伤或感染后必须在 24 小时内报告 BSL-2 实验室管理人员，并填写生物安全事件报告书。详细记录事故发生的时间、地点和经过，包括暴露方式（具体损伤部位、程度等）、接触物情况、处理方法及处理经过、是否采用药物预防疗法（若是，则详细记录治疗用药情况、首次用药时间和药物毒副作用情况等）等。

2.2.7 BSL-2 实验室第二缓冲间内的架子上放有急救箱，内有常用的消毒棉签，碘伏，眼药水等。若实验中出现意外伤害，紧急处理后请立刻就医。

2.3 病毒溢出污染离心机

2.3.1 在离心病毒时，要使用密封管或者密封的转子或安全桶。在使用前要确保所有的 O 型环或垫圈都在位并状态良好。在离心结束后，打开离心机盖前要先等候 5 分钟。

2.3.2 遇打开盖子后发现离心机已经被污染，则应重新小心盖好盖子，人员离开实验室至少 60 分钟。让气溶胶沉积，并且在实验门口张贴警告标示。开启实验室紫外灯 60 分钟。然后工作人员戴双重口罩或 N95 口罩，用镊子和酒精擦拭污

染部位。将转子或安全桶转移到生物安全柜中，用 75%乙醇或者有效的非腐蚀性消毒剂浸泡一小时。尽量避免用 84，如果使用，要用大量水彻底清洗。

2.3.3 处理完毕后，脱弃外层手套和一次性防护装备，高压消毒。再开紫外照射 60 分钟。填写意外事故登记表。

3 停电应急程序

3.1 发生有预告的停电时，实验室管理人员应在第一时间群发邮件提醒实验人员，避免在停电时间段进入实验室。

3.2 发生突发停电时，实验室管理人员应立即向实验室主任汇报，并及时与后勤保障部联系，协助排除故障。

3.3 停电发生时，正在实验的人员应关闭所使用仪器的电源，及时退出实验室。同时禁止其他人再次进入实验室。

3.4 供电恢复后，设备按照先后顺序，逐个开启，先启动送排风机组后启动空调系统。以免瞬间的高启动电流引起设备故障。

3.5 供电恢复后，实验室管理人员巡视检查设备的运转情况，确认实验室内温度、压差等参数恢复正常。

3.6 实验室管理人员做好相应记录。