

# 優良微生物 操作規範與技術

衛生福利部疾病管制署  
檢驗及疫苗研製中心  
廖盈淑

# 生物性危害

## 1. 感染 ( Infection ) : Ex. 流行性感冒

生物體在人體內繁殖生長所致

## 2. 過敏 ( Allergy ) : Ex. 氣喘、過敏性鼻炎

生物體以過敏原角色經重覆暴露致使人體免疫系統過度反應所致

## 3. 中毒 ( Toxicity ) : Ex. 發燒、發冷

暴露於生物體所產生之毒素 ( 細菌內毒素、外毒素 ) 所致

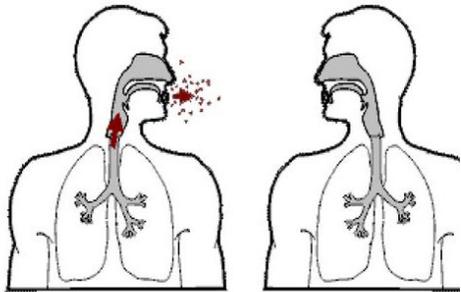


## 可能導致的健康影響

- 毒性、致癌性、畸胎性或過敏性危害
- 無症狀感染、慢性帶原或急、慢性感染
- 產生各種不同程度的急性或慢性疾病
- 疾病相關後遺症
- 死亡

# 微生物進入暴露宿主途徑

呼吸道



食入



注射



皮膚



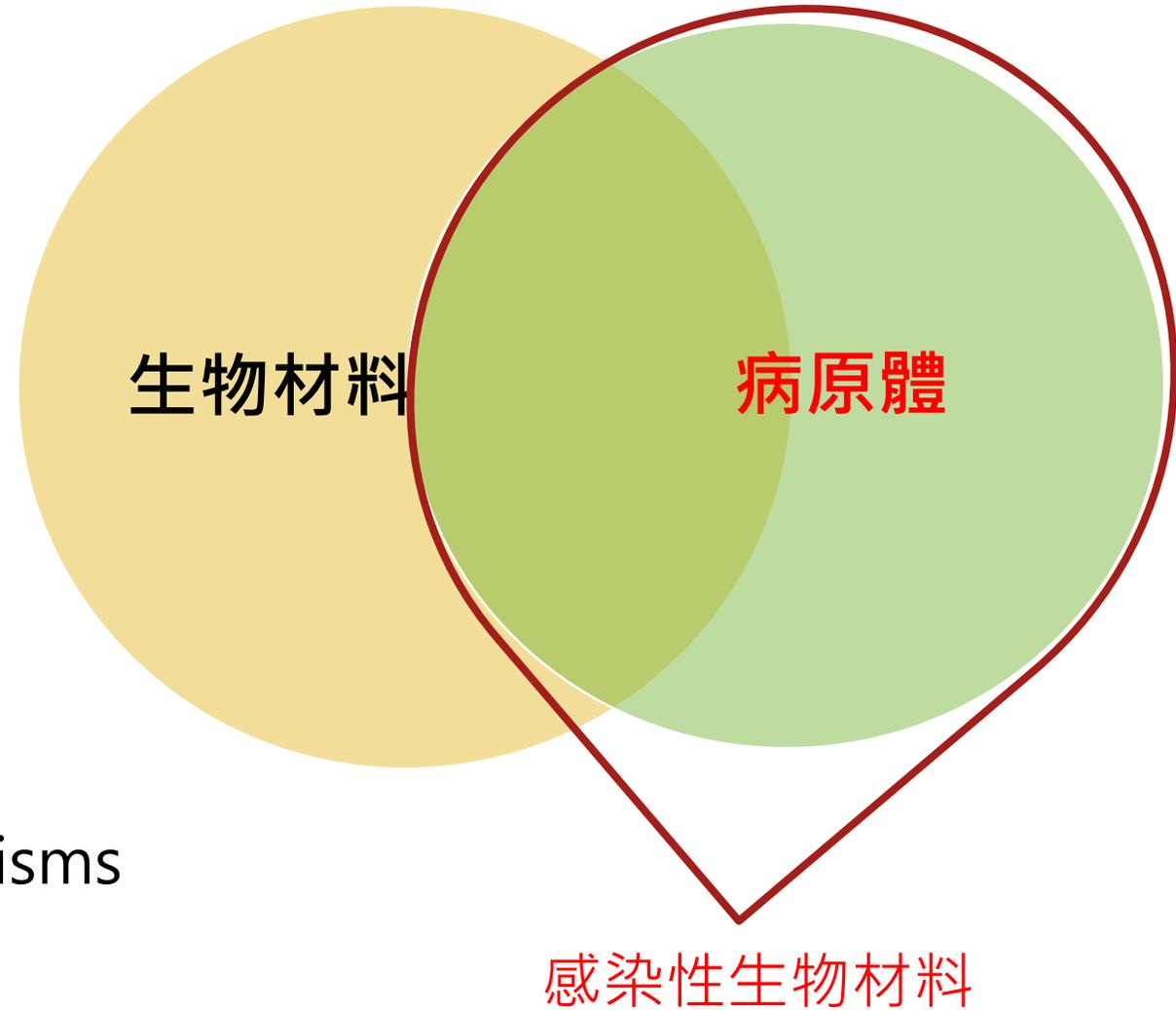
眼睛  
(結膜)



- 實驗室的傳染途徑可能不同於一般自然感染途徑。
- 不同的感染途徑導致不同的感染，像是炭疽桿菌。

# 生物材料

- Bacteria
- Viruses
- Fungi
- Parasites
- Prions
- Zoonotic Pathogens
- Toxins
- Recombinant DNA
- Genetically Modified Organisms
- Viral Vectors
- Synthetic DNA and Synthetic Biology
- Cell Lines



# 微生物危險群(RISK GROUP)分級

RG	說明	風險		範例
		個人	社區	
1	對於個人健康危害的風險低，僅可能對免疫低下的個人構成威脅，對公眾健康危害的風險低。	低度	低度	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Bacillus subtilis</i></li> <li>✓ <i>Escherichia coli</i> (non-pathogenic strains)</li> </ul>
2	不大可能造成人類嚴重疾病，已有有效的治療及預防措施，對公眾造成疾病傳播的風險低。	中度	低度	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Bacillus anthracis</i></li> <li>✓ Dengue virus</li> <li>✓ Influenza virus</li> </ul>
3	可能造成人類嚴重疾病，通常有有效的治療及預防措施，對公眾造成疾病傳播的風險低。	高度	低度/中度	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Mycobacterium tuberculosis</i></li> <li>✓ SARS Coronavirus</li> <li>✓ Polio virus</li> </ul>
4	可能造成人類嚴重疾病，往往造成死亡通常無有效的治療及預防措施，對公眾造成疾病傳播的風險高。	高度	高度	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ebola virus</li> <li>✓ Marburg virus</li> <li>✓ Variola virus</li> </ul>

# 微生物危險群等級(RG)查詢

- 衛生福利部感染性生物材料管理作業要點的附表 1 至附表 4。

三、感染性生物材料為病原體者，其第一級危險群（Risk Group 1，以下簡稱 RG1）至第四級危險群（Risk Group 4，以下簡稱 RG4）名單，如附表一至附表四。

通過相關試驗之疫苗株及慢病毒載體（Lentiviral vector）為病毒類型（Lentivirus）者，比照 RG2 病原體之管理規定辦理。

項次	品項 <sup>1</sup>	運送包裝指示 <sup>2</sup>		說明
		P620	P650	
183	<i>Enterobius</i> spp.		v	
184	<i>Enterococcus</i> spp.		v	
185	<i>Enterococcus avium</i>		v	
186	<i>Enterococcus casseliflavus</i>		v	舊稱 <i>Streptococcus casseliflavus</i>
187	<i>Enterococcus dispar</i>		v	
188	<i>Enterococcus durans</i>		v	
189	<i>Enterococcus faecalis</i>		v	
190	<i>Enterococcus faecium</i>		v	
191	<i>Enterococcus flavescens</i>		v	
192	<i>Enterococcus gallinarum</i>		v	舊稱 <i>Streptococcus gallinarum</i>
193	<i>Enterococcus hirae</i>		v	
194	<i>Enterococcus raffinosus</i>		v	
195	Enterovirus		v	
196	<i>Epidermophyton</i> spp.		v	
197	<i>Epidermophyton floccosum</i>		v	
198	Epstein-Barr virus		v	簡稱 EBV
199	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>		v	
200	<i>Escherichia coli</i>	v (僅腸致 毒性 E.coli 之 培養物)	v	包括所有腸致病性、腸致毒性、腸侵襲性及攜帶 K1 抗原之菌株。

# 微生物危險群等級(RG)查詢



my.ABSA.org  
For the Biosafety and Biosecurity Professional

HOME GROUPS JOURNAL RISKGROUPS LAI DB HELP

## Risk Group Database

Quicklinks: Bacteria Genus

Quicklinks: Viral Groups

Quicklinks: Fungi Genus

Quicklinks: Parasite Genus:

Search Database

Enter any name of agent (genus, species, viral group, virus name):

Human Pathogen:  Animal Pathogen:  Plant Pathogen:

Select Agent CDC:  Select Agent USDA:

美國生物安全協會  
(ABSA)

Government of Canada / Gouvernement du Canada

Search Canada.ca

Jobs Immigration Travel Business Benefits Health Taxes More services

Home → Health → Health risks and safety → Biosafety and biosecurity → Pathogen Safety Data Sheets

## Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – Salmonella enterica spp.

### PATHOGEN SAFETY DATA SHEET - INFECTIOUS SUBSTANCES

#### SECTION I - INFECTIOUS AGENT

**NAME:** *Salmonella enterica* spp. (formerly *Salmonella choleraesuis*)

**SYNONYM OR CROSS REFERENCE:** *Salmonella enterica* spp. - Salmonellosis.

Serotype Typhi - Typhoid fever, Enteric fever, Typhus abdominalis, *Salmonella enterica* serotype Typhi.

Serotype Choleraesuis - *Salmonella* septicaemia, hog cholera, hog typhoid, *Samonella enterica* serotype Choleraesuis, salmonellosis.

Serotype Paratyphi - Enteric fever, Paratyphoid fever, *Salmonella* Paratyphi type A, B and C, *Salmonella enterica* serotype Paratyphoid A, B and C.

**CHARACTERISTICS:** *Salmonella enterica* is one of two *Salmonella* species (*enterica* and *bongori*) and a member of the Enterobacteriaceae family (1, 2). *Salmonella enterica* spp. is subdivided into 6 subspecies (*enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) and *indica* (VI) ). The usual habitat for subspecies *enterica* (I) is warm-blooded animals (1-3). The usual habitat for subspecies II, IIIa, IIIb, IV and VI is cold-blooded animals and the environment (2). All species of *Salmonella* can infect humans. *Salmonella enterica* subspecies *enterica* has 2610 different serotypes; the most well known being serotypes Typhi, Paratyphi, Enteritidis, Typhimurium and Choleraesuis (1). The serotypes are characterized by three surface antigens: the flagellar "H" antigen, the oligosaccharide "O" antigen and the polysaccharide "Vi" antigen (found in Typhi and Paratyphi serotypes) (4). *Salmonella enterica* is a facultative anaerobe and is a gram negative, motile and non-sporeing rod that is 0.7-1.5 by 2.0-5.0 µm in size (4-6).

加拿大衛生部病原體安全資料表  
(PSDS)

# 生物實驗室進行安全防護的目的

- **保障人身安全（安全衛生需求）**
  - 操作者本身的安全
  - 實驗室其他成員的安全
  - 實驗室外其他第三者的安全
- **避免環境污染（環境保護需求）**
  - 避免造成實驗室內環境與儀器設備的污染
  - 避免造成實驗室外環境的污染
  - 如動物飼養場、河川、魚、土壤、植物等
- **檢驗與研究成果的正確性（實驗需求）**

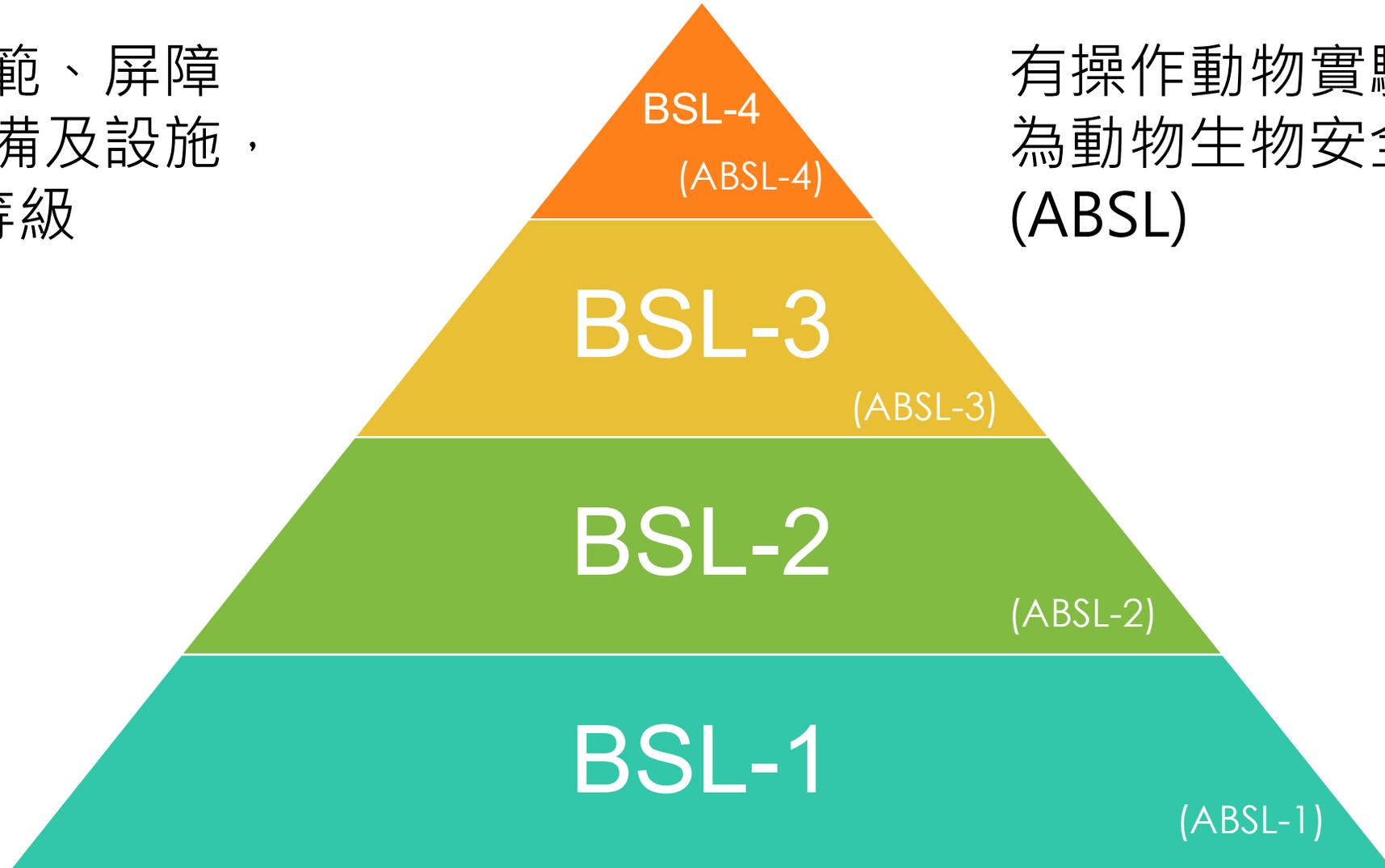
**技術與認知同樣重要!**



- 我的實驗室擁有與操作哪些生物材料？
- 牠們的**微生物危險群(Risk Group)**分級是什麼？
- 我對於實驗室裡的生物材料有哪些了解？
- 我認為我所工作的實驗室有**足夠的設備設施**操作牠們嗎？
- 以我目前的技術與能力，有信心好好處理牠們嗎？
- 在操作時，應該如何**保護自己與他人**？有足夠的裝備嗎？
- 發生**意外**時，我們該怎麼辦？

# 實驗室的生物安全等級(BIOSAFETY LEVEL, BSL)

依操作規範、屏障  
與安全設備及設施，  
分為4個等級



有操作動物實驗者，  
為動物生物安全實驗室  
(ABSL)

# 實驗室的生物安全等級(BIOSAFETY LEVEL)規定

等級\項目	操作規範	個人防護裝備及安全設備	設施
生物安全第一等級 (BSL-1) 實驗室	優良微生物操作規範	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 初級屏障：不需要</li><li>2. 個人防護裝備(PPE)：實驗衣及手套，眼部及面部防護裝備視需要配戴</li></ol>	實驗工作台及水槽
生物安全第二等級 (BSL-2) 實驗室	同BSL-1加上： <ol style="list-style-type: none"><li>1. 限制進入</li><li>2. 張貼<b>生物危害標誌</b></li><li>3. <b>尖銳物品</b>預防措施</li><li>4. 廢棄物<b>除汙</b>或醫學監視政策</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 初級屏障：使用<b>生物安全櫃(BSC)</b>或其他物理性防護裝置，隔絕病原體操作可能產生之噴濺或氣膠</li><li>2. 個人防護裝備(PPE)：實驗衣及手套，眼部及面部防護裝備視需要配戴</li></ol>	同BSL-1加上： 最好有 <b>滅菌器</b>

# 危險群(RG)與生物安全等級(BSL)

- Risk Group **is associated with** Biosafety Level
- 一般而言，病原體的危險群等級對應進行操作之實驗室生物安全等級。
- 有部分感染性物質，依操作病原體的總量、**活性**、**檢驗方法**等情況，經過**風險評鑑**後，調整於適當BSL實驗室進行。
- 例如HIV為血源性接觸感染之RG3病原體，如僅進行**陽性血清抗體試驗**，於BSL-2實驗室進行即可；如果是進行**HIV病毒增殖**，則應於BSL-3實驗室進行；如確認含有HIV病原體之材料經有效**去活化方法**處理後，可比照非感染性生物材料操作，惟進行去活化步驟時可於BSL-2實驗室進行。

選等級高的

## 簡易分類要點

DNA  
(infectious?)



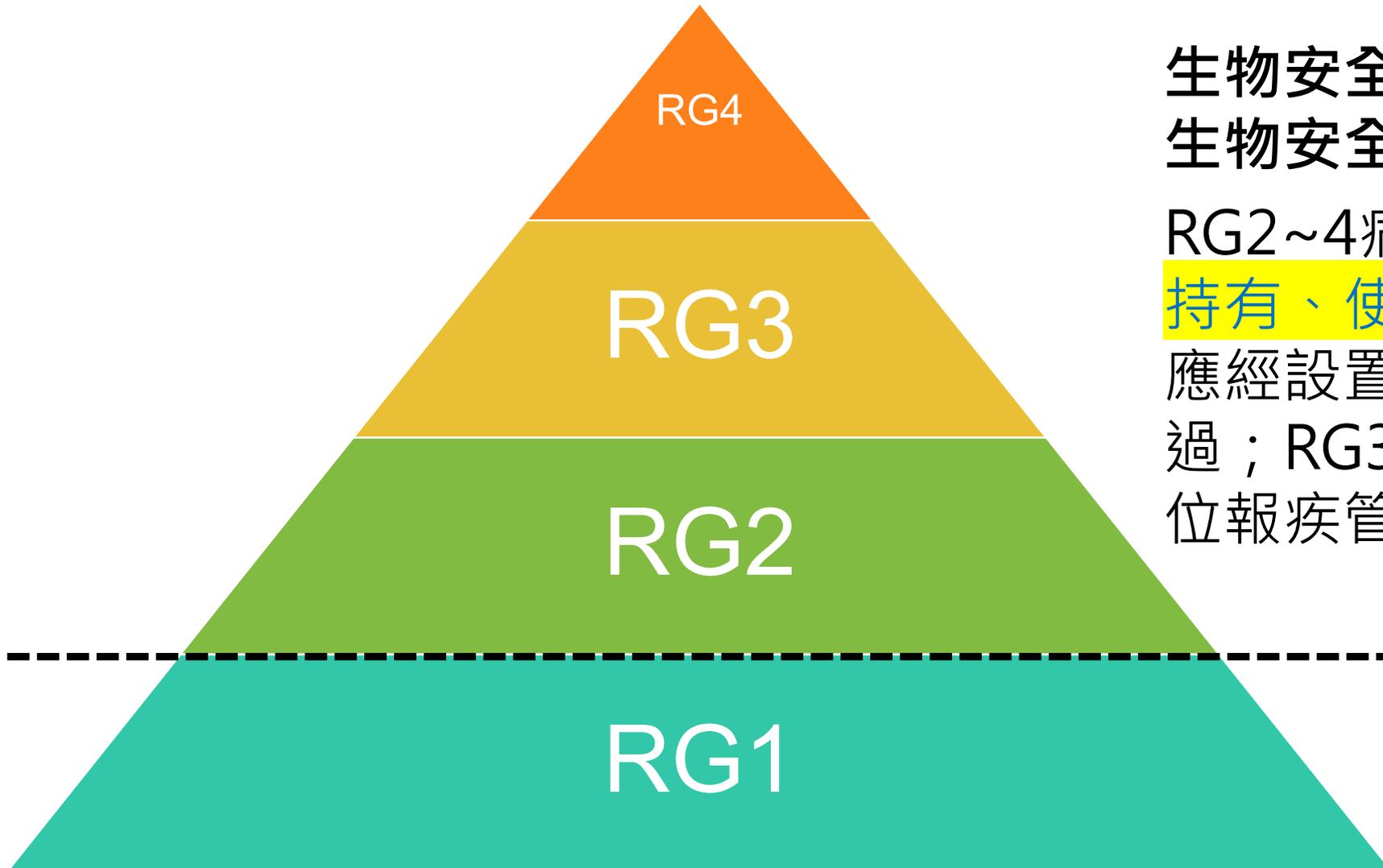
Host  
(cell、microorganism)

- 操作重組基因之寄主微生物屬第二級危險群之實驗，必須在BSL2進行。
- 所重組之基因DNA來源為第二、三級危險群微生物，其寄主微生物為第一級危險群者，若能說明所殖入基因不具造成病原性、傳播感染性則可在BSL1內進行。
- 操作重組基因實驗於細胞培養系統中，涉及可能會產生具感染性之病毒且屬第二級危險群者，必須在BSL2實驗室內進行。
- 所重組之基因產物具毒性者，依其毒性強度，根據**基因重組實驗守則**所列行之。

# 基因重組實驗守則

感染性生物材料危險等級	實驗操作項目				
	病原體培養		非病原體培養之操作	去活性生物材料操作	無感染性生物材料操作
	大量增殖	提供臨床診斷			
RG2	BSL-3/2+	BSL-2+/2	BSL-2	BSL-2/1	BSL-1
RG3	BSL-3	BSL-3/2+	BSL-2+/2	BSL-2	BSL-1
RG4	BSL-4	BSL-3	BSL-3	BSL-3 /2+	BSL-2+/2

# 感染性生物材料的管理\_使用資格

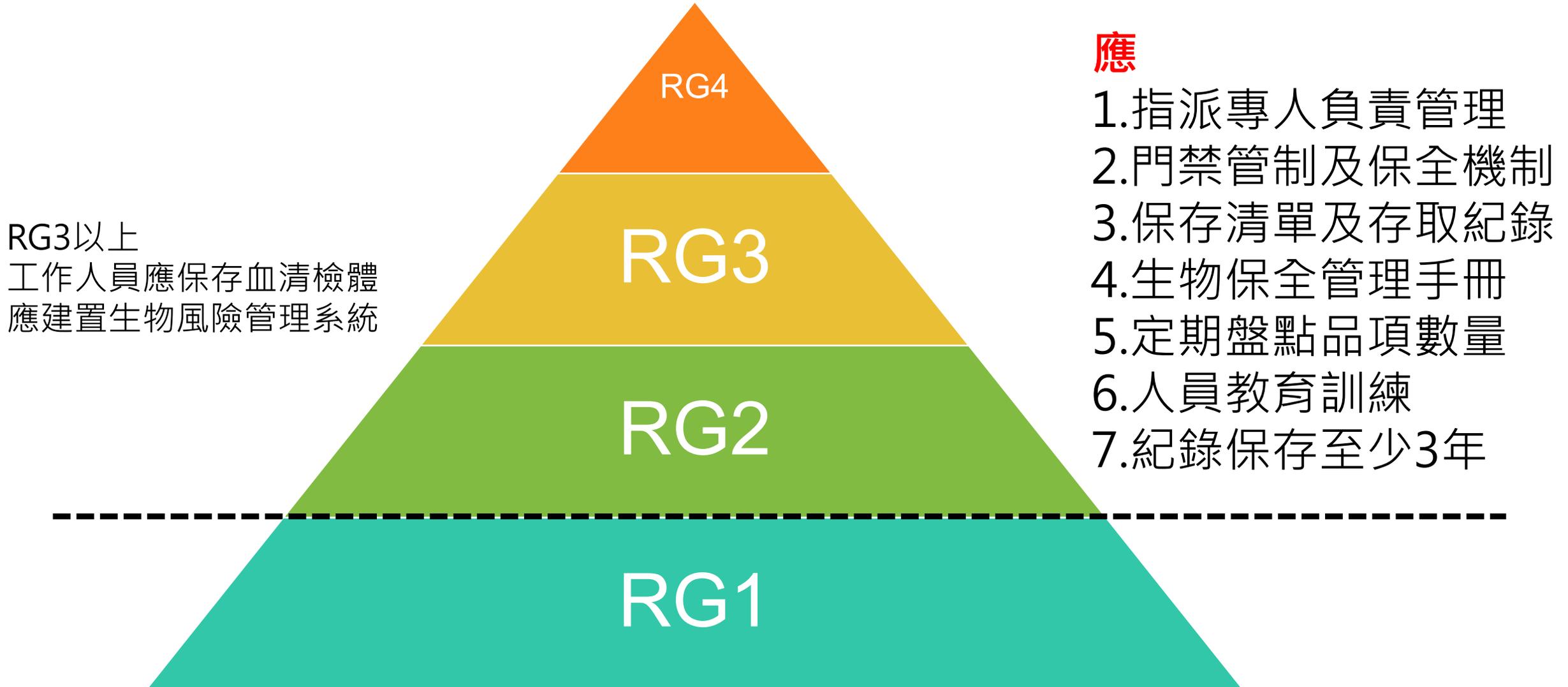


生物安全會  
生物安全主管

RG2~4病原體及生物毒素的持有、使用、保存或處分，應經設置單位生安會審核通過；RG3以上並應由設置單位報疾管署核准，始得為之。

# 感染性生物材料的管理

## 實驗室或保存場所保存RG2~4病原體及生物毒素



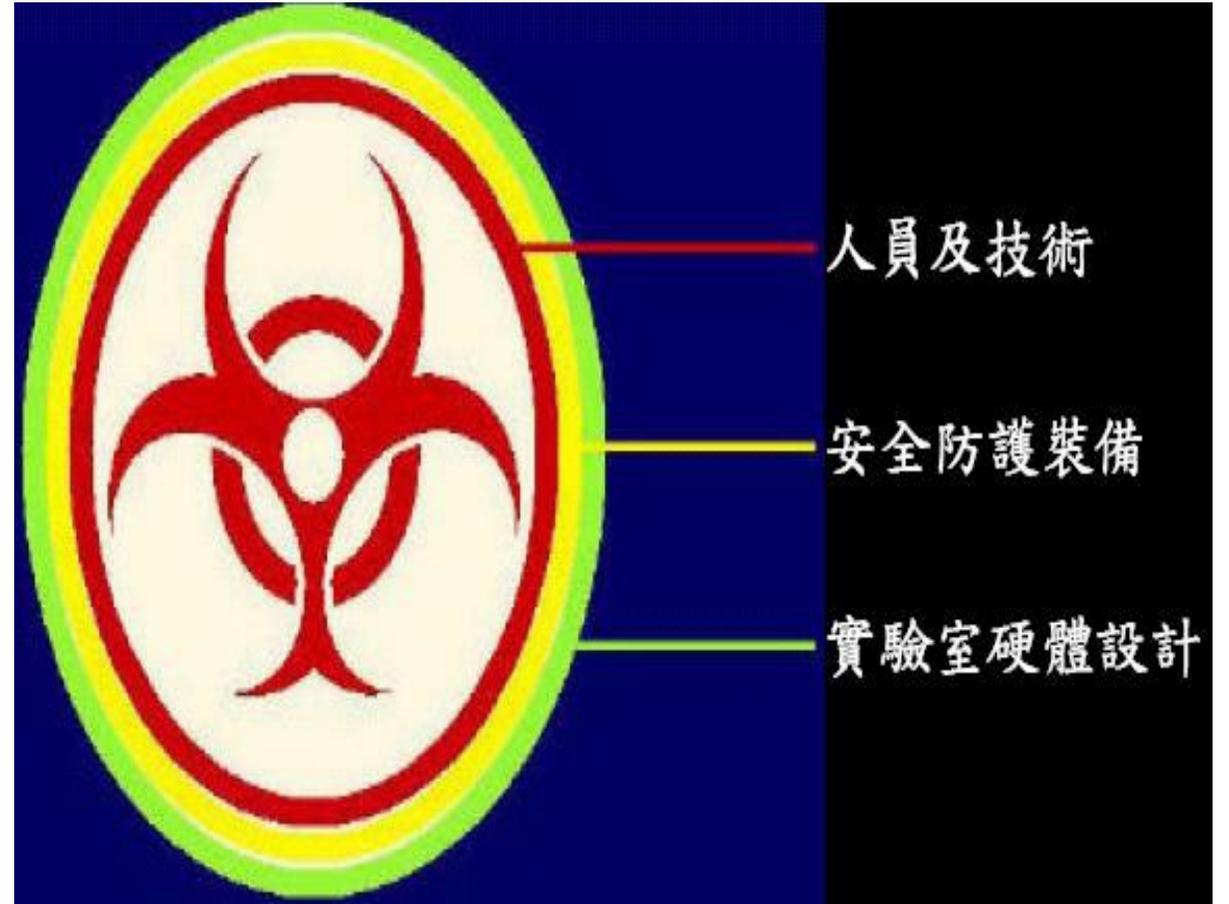
# BSL-1與BSL-2實驗室的 操作規範、屏障，與安全設備及設施

# 生物實驗室進行安全防護的三大要件

## 初級防護 - 安全防護的設備

- Good microbiological Laboratory practices (優良微生物操作規範)
- Personal Protective Equipments (個人防護裝備, PPE)

## 次級防護 - 實驗室的設計



# 生物安全第一等級實驗室 (BSL-1 LAB)

- 文書資料處理的工作處所位於**實驗室工作區域**外。
- 需要帶出實驗室之手寫稿件，必須保證在實驗室內未受到污染。
- 工作通常在**開放式工作台上**，無需特殊防護設備或實驗室設施設計，必要時可依據風險評估結果增加適當的防護裝備。
- 發生具有潛在危害性材料溢出以及在每日工作結束之後，都必須清除工作台面之污染。
- **應穿著實驗衣**，以免污染外出服。
- 處理 RG1病原體時，仍應小心謹慎並遵循一般**優良微生物操作規範**，因為 RG1病原體可能對個人健康仍有低度危害風險。

# 工作實務：優良微生物操作技術

- 動物處理
- 離心作業
- 針頭與尖銳物品之管制
- 正確使用真空幫浦
- 培養、純化與存放技術
- 減少/限制氣膠
- 移液
- 超音波處理與其他破壞細胞/組織的機械方法
- 使用 BSC
- 使用消毒劑，包括溢出控制、例行除汙、洗手與淋浴
- 妥善管理所產生的生物性廢棄物

# 生物安全第二等級實驗室 (BSL-2 LAB)

與BSL-1實驗室的差別在於：

- (1) 實驗室人員需受過相關技術與危害物質認知的**特殊訓練**。
- (2) 實驗室需**門禁管制**。(要區隔實驗區域)
- (3) 需特別小心受污染的**尖銳物品**。
- (4) 操作步驟可能產生**氣霧或濺灑**者，需使用**生物安全櫃**或個人防護裝備。

# 實驗室之標示

BSL-2以上實驗室，應於明顯處標示：

- (1) 生物安全等級
- (2) 生物危害標示
- (3) 實驗室主管、管理人姓名、連絡電話
- (4) 緊急處理措施
- 可+進入/離開實驗室所需之程序
- 危害因素告知
- 被授權人員名單應包括但不限於人員、學生、研究人員、訪客、清潔人員、維護人員和承包商。

A 僅限被授權人員進入	
THI	本阻隔區域存在感染性物質
	
<b>生物危害</b>	
生物安全等級：_____	
PRI	主要連絡人員：_____
PHI	電話號碼：_____
ALI	緊急連絡人員：_____
PHI	電話號碼：_____
ENI	進入規定：_____
OP1 在生物危害警告標示可包括以下資訊：	
◊	進入的特別規定
◊	大規模生產區使用的相關流程及初級阻隔裝備清單

# 進入實驗室之前

- 應穿著實驗衣並經常清洗。
- 鞋子以能保護腳部為原則，不可露出腳趾。
- 確實知道洗眼裝置、安全沖洗設備，以及滅火器的位置，並懂得如何使用。
- 實驗衣該如何清洗？



- 簡易式沖眼設備



# 門禁管制、宜關閉門窗、設備有生物危害標示

- 避免汙染實驗樣本
- 避免生物物質外洩
- 避免非實驗室人員的暴露
- 如果窗戶可以打開，則應安裝紗窗



# 在實驗室內應遵循的事項



- 實驗室中不應化妝，也不應取戴隱形眼鏡。
- 實驗室區域禁止飲食、抽煙及存放食物。
- 食物應放在**實驗(室)區域外**、專為儲放食物的櫃子或冰箱。

# 個人防護裝備 (PPE)

包含但不限於實驗衣、罩袍、連身式防護衣、手套、防護鞋、安全眼鏡、護目鏡、口罩及呼吸防護具。



# 手部衛生

- 個人防護裝備穿脫流程(童綜合醫院)

<https://www.youtube.com/watch?v=F3gNf8td7e0>

- 每次佩戴N95或P2高效過濾口罩時都應該執行密合度檢點(Fit Check)
  - 吸氣，此時應可感覺到口罩有微微的塌陷
  - 吐氣，注意觀察口罩邊緣是否有漏氣情形



須**戴手套**以免接觸到危險物質。

手套應經過適當風險評估後選用，並提供乳膠手套以外的選擇。

- 若手上有傷口，戴上手套前先將傷口包紮好。
- 於手套遭到污染、可能有安全疑慮、或是有其必要時，應更換手套。
- 手套破損就要脫除，並在換戴上新的乾淨手套前必須執行手部衛生。
- 不要用戴手套的手碰觸臉部及口鼻，以及非實驗範圍的物品及環境。
- 手套最好是能包覆在實驗衣袖口外。



- 若手套污染：  
脫去污染手套、洗手、換上新手套。
- 結束工作後：  
先取下手套並洗手，再離開實驗室。
- 大多數情況下，用肥皂及清水徹底沖洗對  
手部除汙已足夠。
- 建議使用腳踩式或肘控式水龍頭。
- 如果沒有安裝，應使用紙巾或毛巾來關上  
水龍頭，以防止再度汙染洗淨之雙手。



- 進行微生物或其他有害物質可能噴濺而出的實驗，應配戴**護目鏡**。
- 戴隱形眼鏡的人員，亦應配戴護目鏡，必要時得配戴面罩。
- 個人使用的眼鏡不適宜當成護目鏡的替代品。



← 應與眼部周圍緊密貼合

→ 遮蔽範圍應自前額延伸至下巴下方，並環繞臉部周圍



# 處理尖銳物品

- 針頭使用後丟棄前，不得將其彎曲、剪斷、折斷、回套、從拋棄式注射器取下、或是徒手處理。
- 用過的針頭和注射器，應小心放入周圍已備好的專用防穿刺容器。
- 破裂的玻璃製品應以刷子與畚箕、鑷子等器具清除。
- 儘量以塑膠製品來取代玻璃製品；若有其他方法可用，應避免使用針頭。

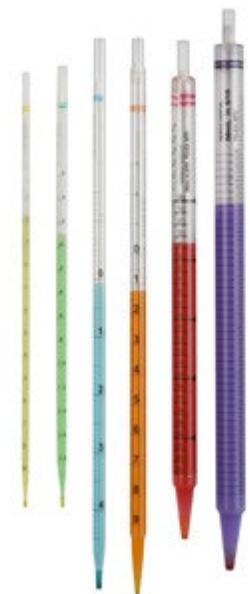


# 儀器設備使用安全

- 移液管
  - 離心機
  - 超音波震盪器、均質機、混合器
  - 本生燈、微型加熱器
  - 真空幫浦及系統
  - 生物安全櫃/化學排氣櫃
  - 壓縮氣體鋼瓶
- 

# 所有實驗程序應儘量能減少液體噴濺或氣膠的產生

- 攪拌器
- 超音波震盪
- 使用移液管
- 擰開瓶蓋
- 從隔離蓋中抽出針頭
- 組織研磨
- 清潔動物籠舍



# 產生霧化的實驗流程

離心(請使用安全蓋)  
震盪混合(請使用有蓋之試管)  
磨碎(請使用安全磨碎機)  
超音波細胞打碎機  
研磨、打開感染物質容器  
從培養或動物體收集感染物  
秤重或使用有毒粉末

減少或控管氣霧之產生，並注意大量操作、濃縮溶液或培養的安全性。



**Pouring fluids**

傾倒液體



**Falling droplets**

落下液滴



**Emptying a pipette by blowing**

將吸管內的液體吹出排空



**Opening of wet caps**

打開濕蓋



**Centrifugation by means of open tubes**

沒有蓋子的離心管進行離心

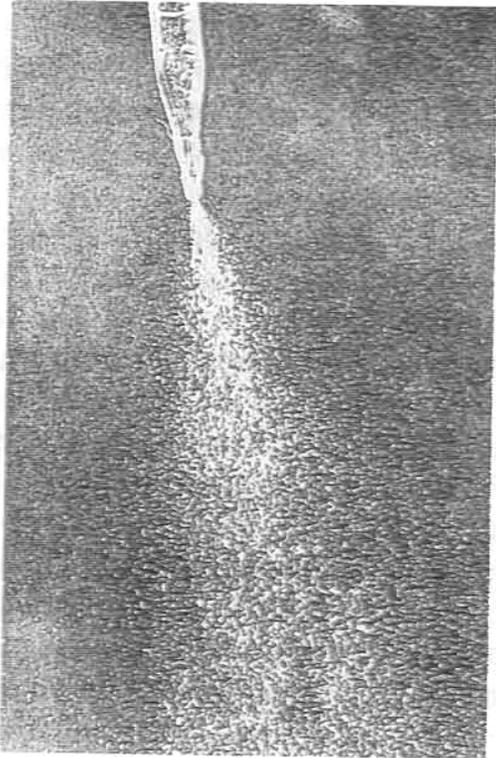


**Inoculation needles that are too hot**

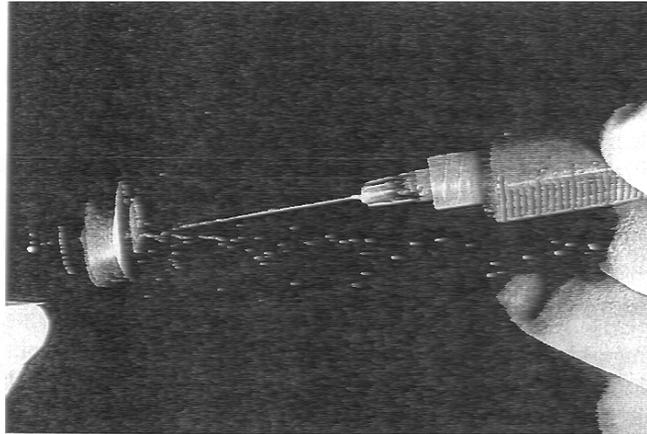
過熱的接種環接觸培養基



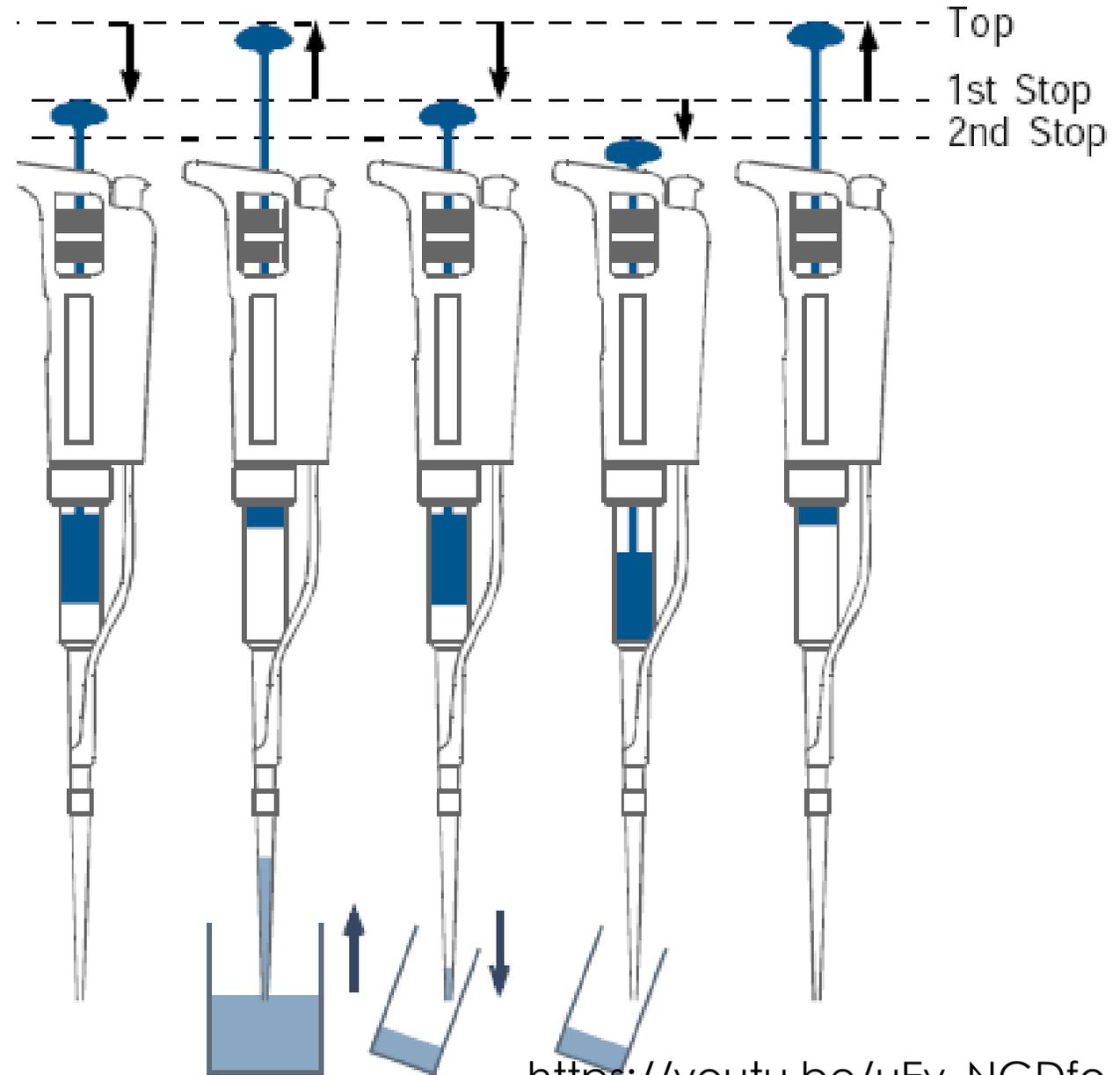
# 產生氣膠與噴濺



吸管尖端殘留液  
吹出產生氣膠



# 微量吸管小知識



- 保持微量吸管垂直，將按鈕壓至第一段
- 微量吸管頭尖端浸入溶液，緩慢釋放按鈕
- 保持微量吸管垂直，將微量吸管頭與容器壁接觸，慢慢壓下按鈕至第一段
- 壓至第二段把溶液完全釋放出
- 釋放按鈕回原狀

(節錄自 Gilson Pipetman 使用手冊)

# 微量吸管小知識

- Bench桌面可視需求使用具有塑膠膜背襯的吸收性材料\_抗汙紙墊。
- 使用經過校正的Pipette，讓最後一滴液體停留在管尖，以降低產生氣膠的風險。
- 可搭配有濾頭的tip或移液管。
- 盡可能靠近管壁或培養基表面排放液體，避免混和空氣與液體的強力吸排。
- 不使用時，將刻度轉至最大值，可降低內部彈簧的彈性疲乏。
- 垂直懸掛，以避免樣本流入吸管上方，造成機件的殘留及腐蝕。

## 定期測漏 (leak test)

- 1. 將任何一個微量吸管的刻度轉至最大。
- 2. 吸取純水到最滿。
- 3. 懸空停留20秒鐘。
- 4. 觀察如果有任何水珠在吸管尖端(tip)形成時，停止使用並維修。

# 震盪器

- 使用震盪器 ( vortex mixer ) 混合液體時，手執位置應高於試管液面。
- 在打開或取下蓋子之前，應讓氣膠有足夠時間沉降。

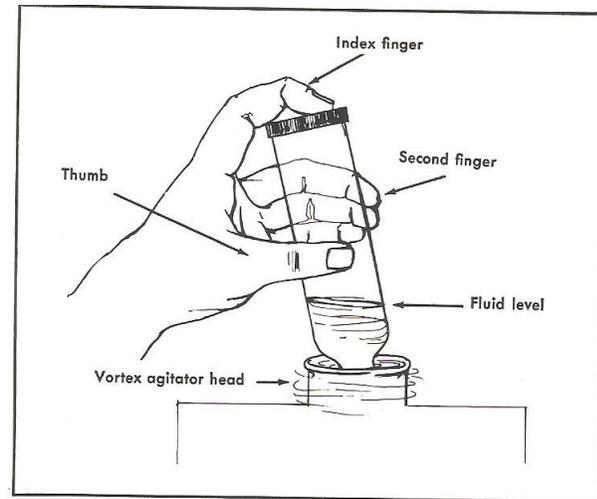


Figure 17. Proper use of test-tube mixer.



# 本生燈、微型加熱器、拋棄式接種環

- 使用明火對接種環進行滅菌時，可能會發生感染性物質的氣膠化
- 建議使用插電式滅菌器或丟棄式滅菌接種環 (針)



microburner



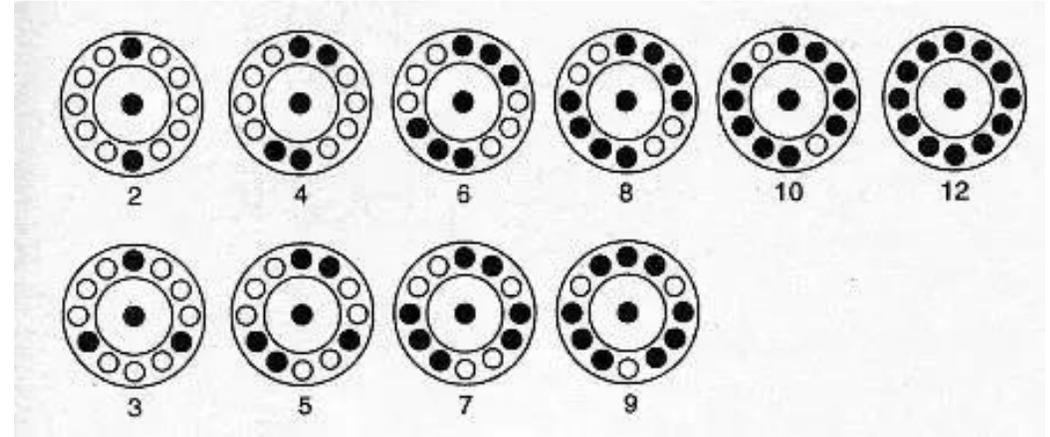
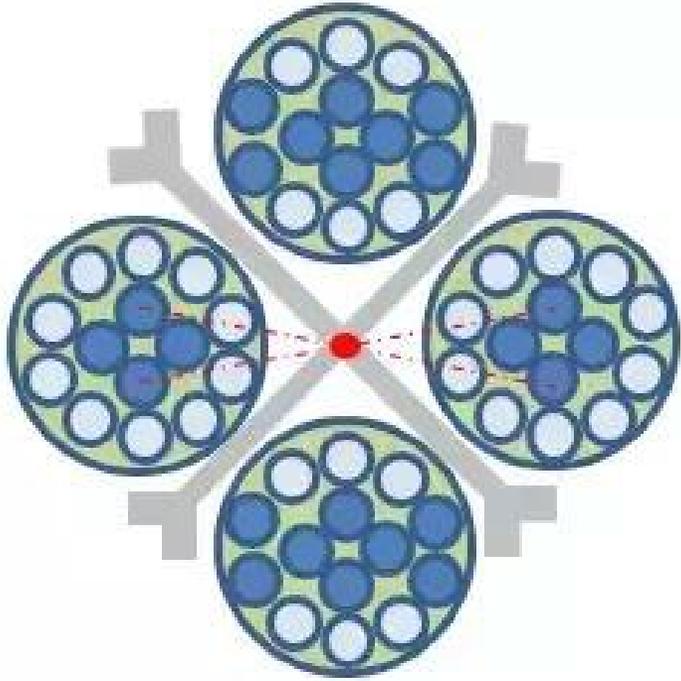
microincinerator



# 離心機

- 確認使用之離心管材質是否合乎所要求的轉速或離心力。
- 平衡套管及離心物重量，需要時使用天秤。
- 確認套管與檢體已裝妥並成對角線擺放。
- 高轉速離心時應緩慢加速，切忌急速轉到所要之轉速。
- 使用密封的離心杯或轉子，防止離心過程中氣膠的釋放。
- 在打開杯子和轉子之前，應讓氣膠有足夠的時間沉降。
- 安全杯和轉子的外部表面應根據需要進行除汙。
- 離心機的高度應使所有操作人員皆能看見其內部，以正確放置轉子和離心桶。

# 轉子的平衡



對向吊籃內的樣品放置，應以一個吊籃的樣品放置為基準，嚴格按照**轉子中心點對稱**原則。

# 安全離心

- 離心機必須密閉操作，離心時若有異常，立刻停止轉動，靜置30分鐘後再處理，例如若有碎裂物應小心處理，有汙染之虞時應進行消毒。
- 離心機旋轉停止後，取出具有潛在感染性的檢體時，須將離心管移置生物安全櫃中開啟，以防溢出物或氣霧造成感染。
- 檢視離心機腔室內轉子旋轉高度處是否有髒污，也要確認轉子及離心管套是否有腐蝕或龜裂。
- 注意分生用小型離心機蓋子是否有汙穢，需要清潔。

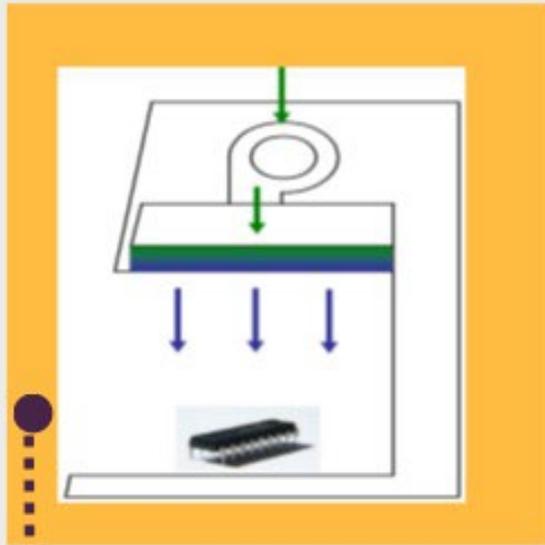
# 生物安全操作櫃 ( BIOLOGICAL SAFETY CABINET)

- 避免暴露於處理微生物過程中所產生的噴濺或氣懸物質
- 依是否具人員保護、產品保護、以及完全隔離等分為I、II、III級
- 有物理性阻隔(金屬或玻璃板)以及空氣阻隔(過濾系統與紫外線滅菌燈)

II級生物安全操作櫃使用情形：

- 可能產生氣霧或噴濺的操作步驟，如：離心、研磨、攪拌、劇烈搖盪或混合、超音波震盪、開啟內外壓差大之感染源容器
- 使用高濃度或大量感染源

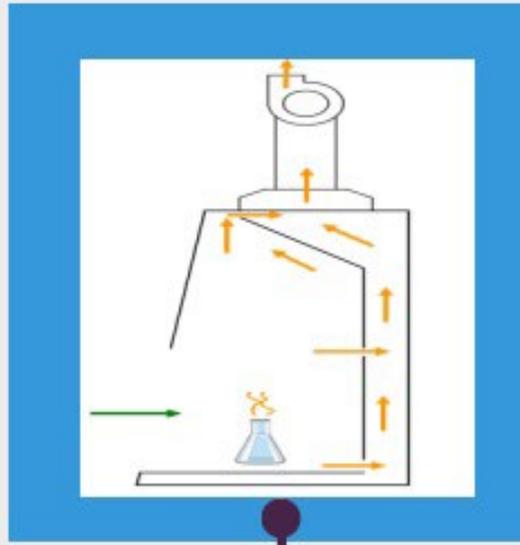
# SPOT THE DIFFERENCE



Laminar Flow

Yes Sample Protection

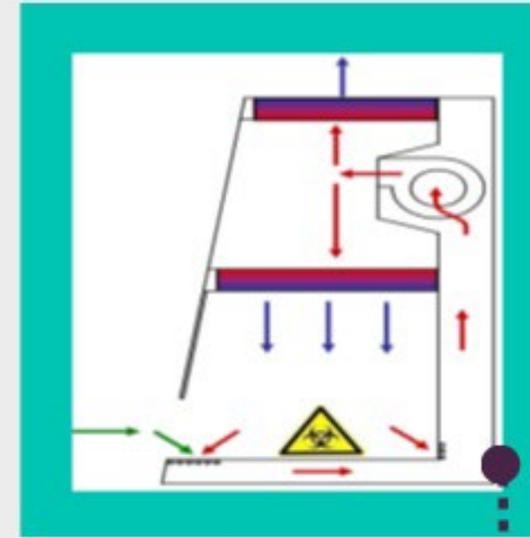
No Operator Protection



Fume Hood

No Sample Protection

Yes Operator Protection



Biosafety cabinet

Yes Sample Protection

Yes Operator Protection

# BSC CLASS I

- 未過濾向內氣流
- 人員保護
- 操作物未受保護
- 多被II級取代

# BSC Class II

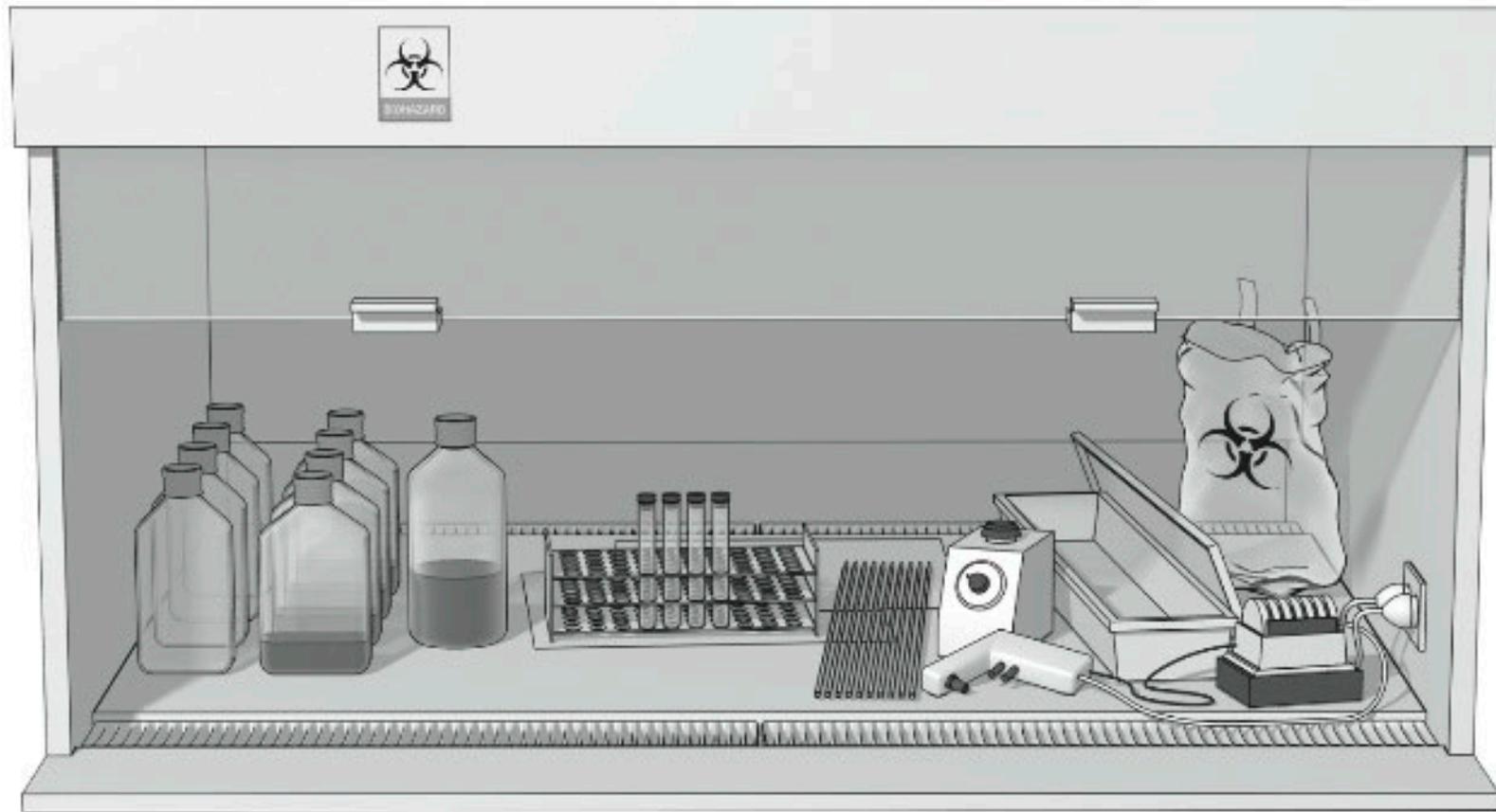
- 過濾內向氣流
- 人員與操作物保護
- 分為Type A、B1、B2、B3

氣櫃等級	操作物	人員	環境	生物安全等級
I	—	+	+	1-3
II	+	+	+	1-3
III	+	+	+	3-4

# 生物安全操作櫃的使用

- 實驗操作前，至少先開啟BSC的風扇運轉5分鐘，使內部空氣淨化。
- 先列好實驗材料清單，僅放必要的物品。
- 手放入BSC之後必須先靜待1分鐘，使氣流掃過手及手臂，等到氣流穩定後再開始操作實驗，並減少離開又重新進入BSC的次數。
- 櫃內不可使用明火（例如：酒精燈與本生燈），因熱氣易擾亂氣流。可以插電式滅菌器或丟棄式滅菌接種環替代。
- 不要在BSC的氣柵上放置紙張或實驗物品，會擾亂氣流方向。

# CLEAN TO DIRTY



# 生物安全操作櫃的使用

- 生物安全櫃的安裝位置應遠離門口，且位於不受進、排氣、和人員走動頻繁影響的實驗區域。
- 操作中突然遇到停電或BSC故障，工作人員應立即離開。
- 工作完成後同樣使風扇馬達至少繼續運轉5分鐘。
- 以75% alcohol擦淨檯面，打開UV燈是日常使用後的基礎保養。
- 實行年度檢測，安排廠商執行風速測試，更新HEPA filter及燻蒸消毒是重要的。

# 污染除污

工作檯應每日除污，若有污染發生應立即除污。

- 每個人都必須負責維持所使用的設備於無污染狀態。
- 當污染發生時，至少要消毒殺菌**30**分鐘的作用時間。

適用之消毒殺菌劑

- Chlorine Compounds such as Sodium Hypochlorite ( 家用漂白水)
- Wescodyne (iodine with detergent)
- Alcohol(70-85% Ethyl or Isopropyl)



## 2.14 微生物對化學消毒劑之敏感性

化學消毒劑	常用類型	有效性							作用時間
		細菌			病毒		真菌		
		生長型	分枝桿菌	孢子	套膜	無套膜	真菌	真菌孢子	
氯	液體、粉末及錠劑	+	+	+	+	+	+	+	通常短，細菌孢子較長(≥30分鐘)
乙醇	乙基或異丙醇；70%水溶液最有效	+	+	-	+	L	+	L	對生長型細菌與套膜病毒通常短，對真菌與分枝桿較長
甲醛	固態多聚甲醛及液態福馬林	+	+	+	+	+	+	+	
過氧化氫(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	30%水溶液	+	+	+	+	+	+	+	6% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 對所有病毒、生長型細菌、真菌、分枝桿菌及部分細菌孢子作用時間短；對孢子活性需更高濃度及更長作用時間

- +：有效
- L：效果有限
- —：無效

報廢清消方式	適用病原體
<input type="checkbox"/> 10 倍稀釋的市售漂白水	麻疹病毒、德國麻疹病毒、腮腺炎病毒、水痘病毒、流感病毒、中東呼吸症候群冠狀病毒(MERS-CoV)、登革熱病毒、日本腦炎病毒、屈公病毒、茲卡病毒、立克次體、Q 熱病毒、類鼻疽菌、伯氏疏螺旋體、布氏桿菌、鼠疫桿菌、鈎端螺旋體、CRE、淋菌、念珠菌、麴菌、分枝桿菌屬去活化檢體、產孢子細菌(炭疽桿菌)、立克次體核酸
<input type="checkbox"/> 1% Virkon 消毒液 <input type="checkbox"/> 10 倍稀釋的市售漂白水	腸病毒
<input type="checkbox"/> 70-75%酒精及 10 倍稀釋的市售漂白水	肝炎病毒、HIV
<input type="checkbox"/> 70-75%酒精	小兒麻痺病毒、狂犬病病毒、諾羅病毒、輪狀病毒、沙門氏菌、志賀式菌、霍亂弧菌、仙人掌桿菌、金黃色葡萄球菌、出血性大腸桿菌、李斯特菌、曲狀桿菌、不產孢子細菌、瘧原蟲
<input type="checkbox"/> 70-75%酒精 <input type="checkbox"/> 10 倍稀釋的市售漂白水 (針對有 cyst 存在)	阿米巴原蟲 弓漿蟲
<input type="checkbox"/> 燻蒸	庫賈氏症 分枝桿菌屬

# 污染除污(溢出物處理)

1. 戴上口罩及手套、穿著防護衣，必要時須進行臉部及眼部防護。
2. 使用抹布或紙巾覆蓋並吸收溢出物。
3. 從溢出區域之**周圍開始**，**向溢出物中心傾倒**消毒劑。朝抹布或紙巾倒入適量5%漂白水(20倍稀釋)，並覆蓋溢出物周圍區域。
4. **靜待30分鐘**後，清除所有溢出物質，再使用消毒劑擦拭污染區域。
5. 如有碎玻璃或尖銳物，應使用簡易清掃器具處理，玻璃碎片應使用鑷子清理，將其置於防刺穿收集容器中。
6. 用於清理之抹布、紙巾等應丟棄到感染性廢棄物專用收集筒內。

# 實驗室冰箱管理

- 檢體冰箱應有生物危害標示。
- 盡量將乾淨的試劑耗材與使用中的培養基、檢體等容易汙染的材料做適當區隔。
- 經包裝培養基的堆疊勿超過六個以上，以防止傾倒。
- 像是BSC、培養箱、恆溫水槽與高溫高壓滅菌鍋等同樣需要有定期清消與維護。

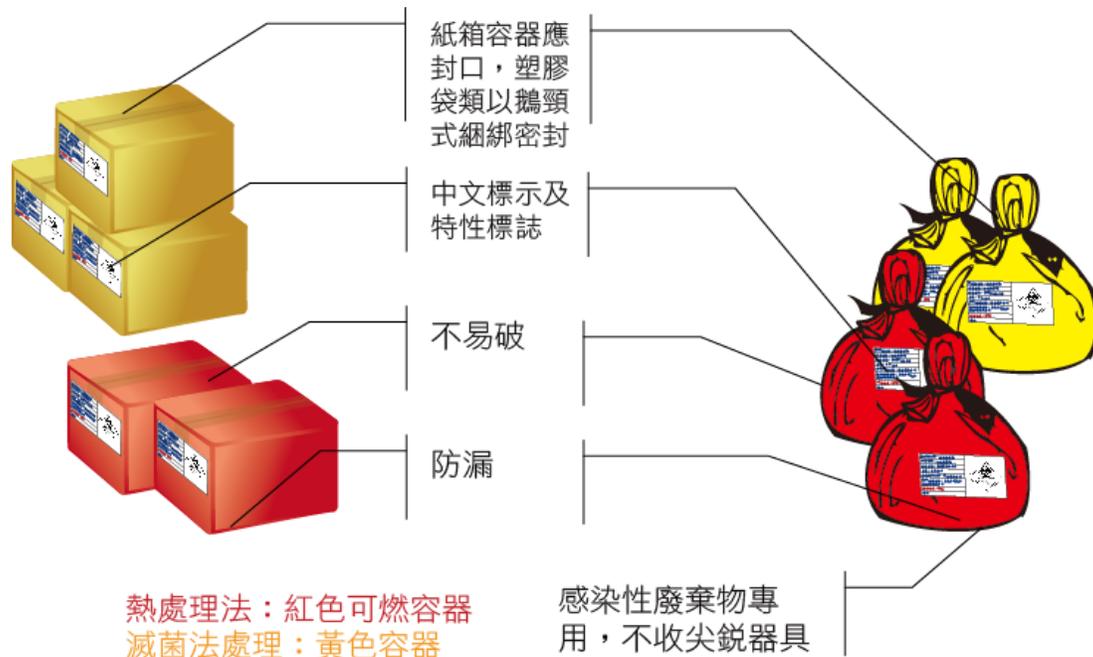
# 廢棄物處理



- 人體解剖廢棄物
- 動物類廢棄物
- 微生物實驗室廢棄物
- 人體血液及體液廢棄物
- 尖銳器廢棄物

# 廢棄物處理

- 垃圾桶建議只放八分滿，防止溢出造成人員處理時的不安全。
- 垃圾袋捆綁時避免擠壓，防止塑膠袋破裂造成廢棄物外漏危險。



# 高壓蒸氣滅菌法

- 滅菌原理— 利用高壓高熱的水分子均勻滲透入，使病原體受熱、濕的作用，使蛋白質凝固變性，可消滅所有微生物。
- 滅菌要素— 壓力、溫度、時間、濕度。
- 常用的操作條件：121°C，15~60 min



## 高壓蒸氣滅菌鍋

- 欲滅菌之液狀物容器不可裝滿超過三分之二以上的容量且不可緊閉容器口。
- 用過耗材要裝進內襯耐高溫滅菌袋之不銹鋼桶才可送進滅菌鍋內。
- 滅菌物貼滅菌溫度指示帶。(使用生物指示劑\_嗜熱桿菌芽孢測試定期確效)
- 滅菌完成打開鍋門前，必先確認內鍋壓力已歸零才可打開鍋門。

# 準備離開實驗室應遵循事項

- 實驗操作完畢時，需將實驗室現場整理乾淨。
- 離開實驗室前關閉非必要之電源。
- 工作結束或中途需要暫時離開，應依實驗室規定移除個人防護裝備。
- 離開實驗室前應先洗手。
- 禁止穿著實驗衣離開實驗區到廁所、休息區、辦公室及其他場所。

# 感染性物質的移動與運送

移動：在阻隔區域或建築物內部移動材料的動作

運送：將材料運送到國內或國外的另一建築物或位置的動作



# 感染性生物材料管理辦法

(中華民國110年12月15日修訂發布)

## 第二十三條

感染性生物材料之運送，應符合中央主管機關所定之三層包裝規定，以適當交通工具為之，並應依中央交通主管機關規定辦理。

感染性生物材料於運送途中發生洩漏或其他意外情事時，運送人應立即為必要之處置，並通知委託運送之設置單位。設置單位於接獲通知後，應循相關系統或以其他適當方式，立即通知事故所在地之地方主管機關及中央主管機關。

感染性物質包裝及運送人員，應接受適當的教育訓練。

## 國內運送法規

- 遵循「感染性生物材料及傳染病檢體包裝、運送及管理規定」。
- 符合三層包裝之感染性物質，可以適當之交通工具進行道路運送。
- 「鐵路法」及「鐵路運送規則」規定，人員不得攜帶感染性物質搭乘台鐵及高鐵。

## 國際運送法規

- 應符合民航局「危險物品空運管理辦法」以及民航局核定採用的「國際民航組織危險物品航空安全運送技術規範 (ICAOTI)」或「國際航空運輸協會危險物品處理規則 (IATA DGR)」之規定。禁止個人攜帶。



# 感染性生物材料及傳染病檢體分類

## A類感染性物質 (UN2814)(P620包裝)

運輸過程中，如人類暴露時會導致永久性失能或殘疾、引發威脅生命或致死疾病。



## B類感染性物質 (UN3373)(P650包裝)

不符合A類感染性物質之感染性生物材料及傳染病檢體，即為B類感染性物質。

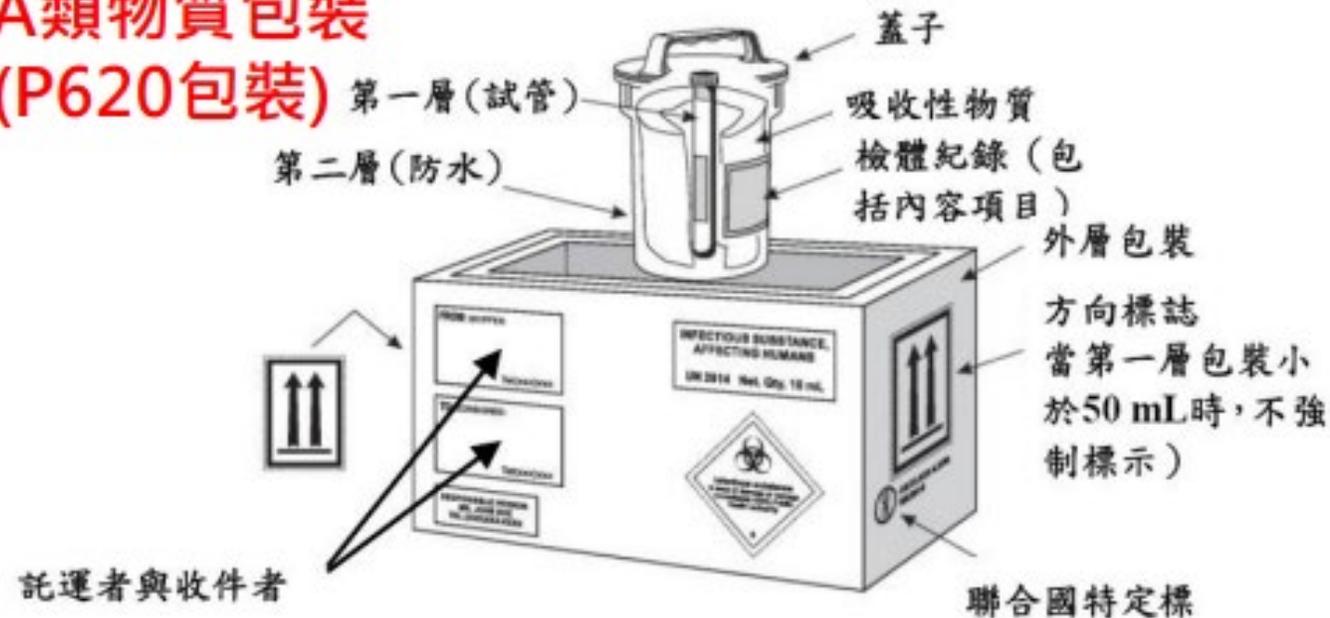


## 豁免(exemptions) 物質

感染性生物材料及傳染病檢體已經中和或去活化處理後，對人體健康不再有威脅性之物質。

# 依照包裝指示，進行三層包裝

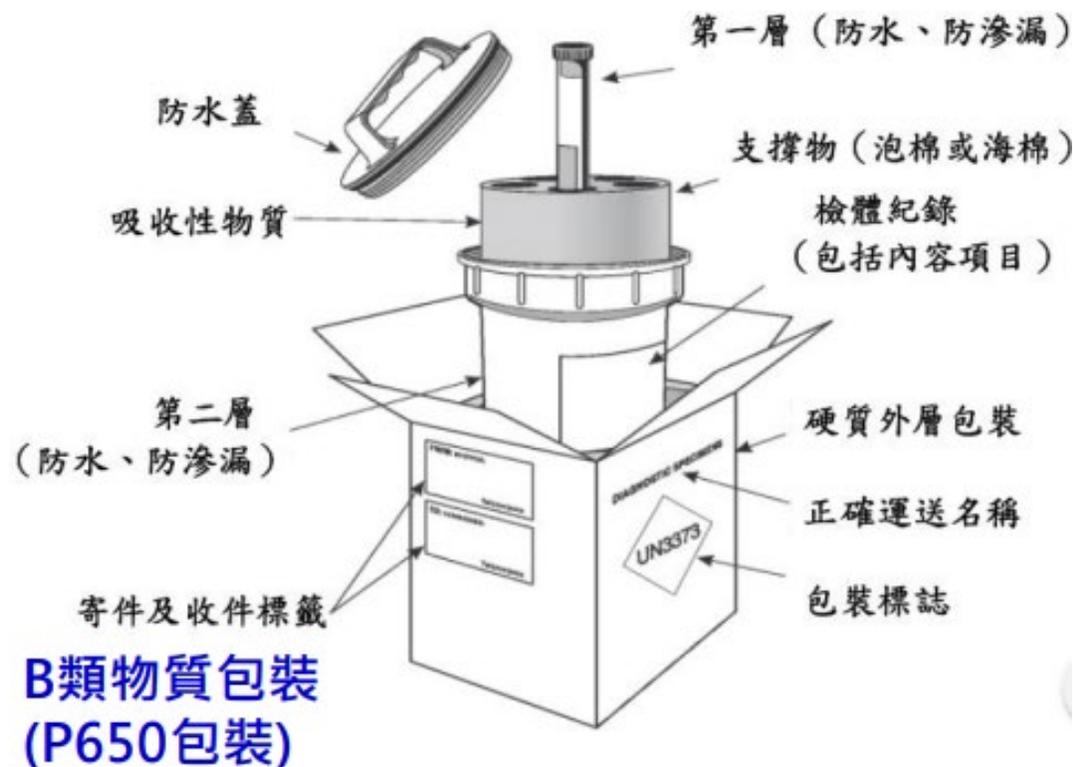
## A類物質包裝 (P620包裝)



Ex.  
類鼻疽伯克氏菌  
結核菌  
伊波拉病毒  
漢他病毒

- ✓ 第一層與第二層容器間包覆足以吸收主容器全部液體之吸收性物質。
- ✓ 第一層(主容器)或第二層容器能承受95 kPa壓差及-40°C至55°C溫差，而不洩漏。
- ✓ 完整包裝件通過9 m落地測試、7 kg穿刺強度測試、3m堆疊測試。

# 依照包裝指示，進行三層包裝



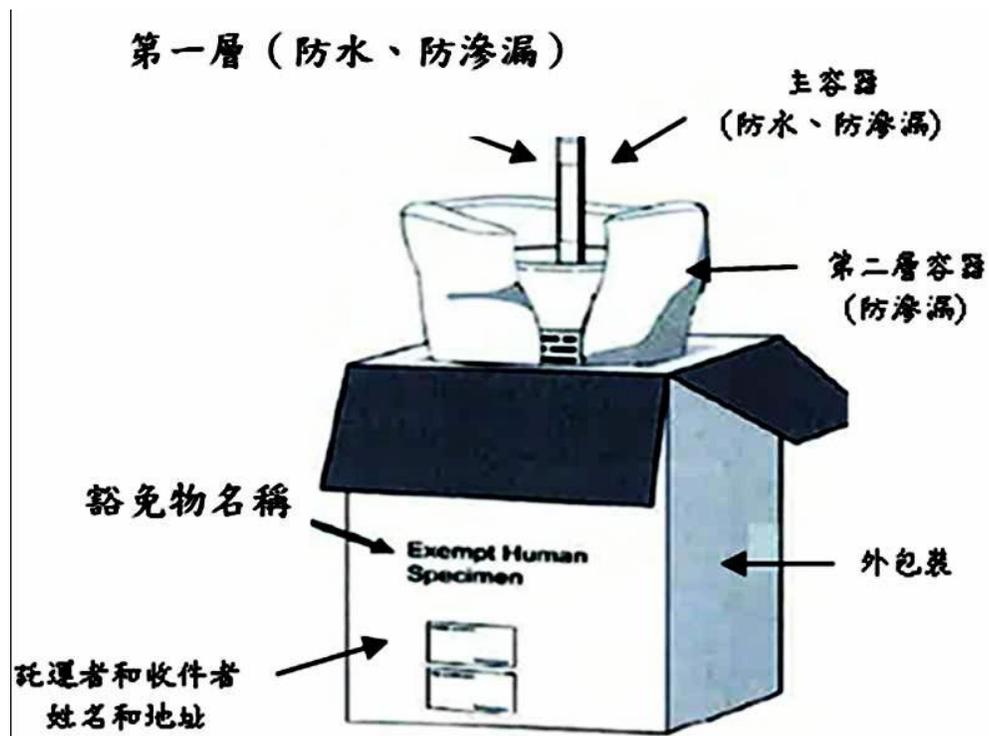
非A類的傳染病病原體  
或培養物等感染性生物  
材料、傳染病病人或疑  
似傳染病病人檢體

- ✓ 第一層與第二層容器間包覆足以吸收主容器全部液體之吸收性物質。
- ✓ 主容器或第二層容器應能在不發生滲漏的情況下，承受達95 kPa的內部壓力，第二層容器或外層容器(第三層)須是堅硬材質。
- ✓ 完整包裝件通過1.2m落地測試。

# 感染性生物材料(豁免)之傳送

## 仍應符合三層包裝：

- 運送液體檢體，應於第一層與第二層容器間，置放吸收性物質。
- 同時運送數個易碎第一層容器時，應將個別容器以第二層容器包裝或隔開，避免互相直接碰撞。



# 包裝要求差異的比較

A類 (P620)_UN2814	B類 (P650)_UN3373	豁免物質
防滲漏的第一層主容器	防滲漏的第一層主容器	防滲漏的第一層主容器
防滲漏的第二層容器	防滲漏的第二層容器	防滲漏的第二層容器
硬質的第三層容器	硬質的第二層或第三層容器	第三層包裝必須有足夠的強度
通過95kPa壓力測試	通過95kPa壓力測試	-----
通過9公尺掉落測試	通過1.2公尺掉落測試	-----
通過堆疊測試	-----	-----
通過7kg穿透測試	-----	-----
包裝上需有聯合國包裝規格標示	-----	-----
運送人員必須接受適當的訓練	-----	-----

\* 若經由空運，則必須是硬質的外層容器。

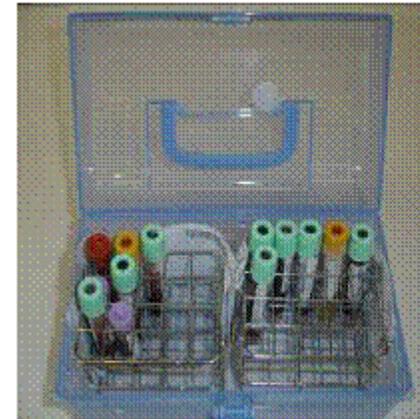
使用防漏和耐衝擊的密閉容器移動  
在從阻隔區域移出之前，對容器進行表面除汗



圖 4.26



圖 4.27



# 緊急應變計畫及生物安全演練

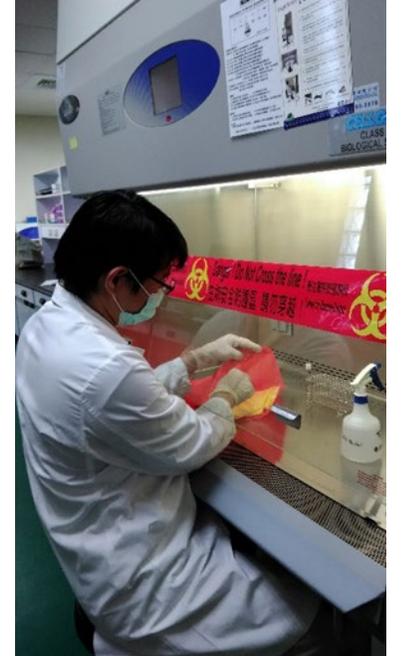


## 緊急應變計畫

- 緊急應變小組
- 意外事件類型
- 危害等級鑑定及風險評估
- 意外事件的處理及通報
- 緊急醫療救護與安全防護
- 疏散程序及因應措施
- 通報、善後及調查

## 實驗室生物安全意外事件演練

- 演練主題
- 器材檢點
- 桌上演練或是實地演練
- 意外事件通報流程



# 實驗室工作者之責任

- 參加訓練課程
- 施打相關疫苗
- 安全之實驗操作
- 若有意外事件發生，立即通報
- 健康因素告知
- 自己必須負責自己在實驗室的安全
- 工作者有權利在安全健康的環境下工作

實驗室人員健康監測記錄表

填單日期： 年 月 日

實驗室：		人員姓名：	
發病時間：			
狀況說明 (同時具 發燒及傳 染病症 狀)	<input type="checkbox"/> 發燒(腋溫>37℃、口溫>37.5℃、耳溫>38℃)		
	傳染病症狀 <input type="checkbox"/> 頭痛 <input type="checkbox"/> 後眼窩痛 <input type="checkbox"/> 肌肉痛 <input type="checkbox"/> 關節痛 <input type="checkbox"/> 出疹 <input type="checkbox"/> 噁心 <input type="checkbox"/> 嘔吐 <input type="checkbox"/> 疲倦 <input type="checkbox"/> 喉嚨痛 <input type="checkbox"/> 結膜炎 <input type="checkbox"/> 咳嗽>5天 <input type="checkbox"/> 腹瀉(三者之一：一天內有腹瀉三次以上、一天內有嘔吐或腹瀉2次以上且伴有腹瀉或發燒者、出現帶有血絲的腹瀉)		
就醫： <input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否		醫師評估結果：	
實驗室負責人評估	1. 症狀是否與操作之病原體相關： <input type="checkbox"/> 是 _____ <input type="checkbox"/> 否		
	2. 是否為實驗室感染： <input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否		

# 也談生物保全

1. 材料儲存區域之物理性保全
2. 人員之保全管理
3. 訪客之保全管理
- 4. 意外事件應變計畫**
5. 員工訓練及發展生物保全意識文化
6. 感染性生物材料管制及究責
7. 資訊之保全
8. 運輸安全管制
- 9. 生物材料儲存紀錄與使用紀錄資訊(必要欄位)**
- 10. 實際使用(研究)留存紀錄以利日後追蹤(保全)**

# 內部威脅(員工保全)

- 內部威脅就是由具有授權的現職或離職員工、合約廠商或業務合作夥伴惡意威脅組織安全的行為
- 方式包括破壞、偷竊、詐欺、間諜活動、或利用競爭優勢，常透過濫用授權、偷竊材料等方式進行。
- 內部威脅已成為資訊安全產業的重要議題。
- 員工保全：職前適用性與員工可靠性
- 最好的預防措施之一是**培訓員工識別和報告異常行為**





◀ 實驗室生物安全

感染性生物材料管理法規

實驗室生物風險管理

實驗室生物安全查核作業

實驗室生物安全管理資訊系統

實驗室生物安全教育訓練資訊

實驗室生物安全技術規範及指引

管制性病原及毒素管理

實驗室生物安全意見信箱

實驗室生物安全常見問題及答案

實驗室生物安全相關公布及統計資料

## 實驗室生物安全



感染性生物材料管理法規

實驗室生物風險管理

實驗室生物安全查核作業

實驗室生物安全管理資訊系統

實驗室生物安全教育訓練資訊

實驗室生物安全技術規範及指引

管制性病原及毒素管理

實驗室生物安全意見信箱

實驗室生物安全常見問題及答案

實驗室生物安全相關公布及統計資料

<https://www.cdc.gov.tw/Category/List/BwUMudpBBYa4cwkWYmeaJw>

# BSL-1 LAB

## 個人防護裝備 檢核表

有洗眼設備，並每月檢測	<input type="checkbox"/>
有安全淋浴設備，並每月檢測	<input type="checkbox"/>
具備個人防護具（手套、隔離衣、護目鏡等）	<input type="checkbox"/>
實驗室人員進行正常工作時，是否配備設計規範之防護衣，如隔離衣、連身工作服、圍裙、手套？	<input type="checkbox"/>
操作人員正確著裝及佩戴個人防護具	<input type="checkbox"/>
在操作危害性化學品以及放射性及致癌性物質時，是否另外配備防護衣？例如在處理化學品及溢出物時，是否配備橡膠圍裙及手套，在高壓滅菌器及焚化爐卸載物品時，是否穿戴隔熱手套	<input type="checkbox"/>
操作人員依照規定不將實驗外套、實驗衣、工作服、手套及其他個人防護衣穿離實驗室	<input type="checkbox"/>
操作冷凍櫃及液態氮桶時佩戴防低溫凍傷之防護具（如防凍手套、面罩等）	<input type="checkbox"/>
備有急救箱並定期更新	<input type="checkbox"/>

# BSL-1 LAB

## 一般操作程序 檢核表

食物儲放在實驗室區域外	<input type="checkbox"/>
實驗室內禁止進食、飲水、吸煙或化妝	<input type="checkbox"/>
微波爐上明確標示「僅供實驗使用，不得用於處理食物」	<input type="checkbox"/>
禁止用嘴吸取溶液，使用機械式移液裝置	<input type="checkbox"/>
實驗室防護衣與日常衣服分開存放	<input type="checkbox"/>
是否使用吸管替代皮下注射用針頭？	<input type="checkbox"/>
破碎或有缺口之玻璃器皿，是否丟棄而不重複使用？	<input type="checkbox"/>
在可行時，是否採用塑膠製品來代替玻璃製品？	<input type="checkbox"/>
玻璃容器不存放於地板上	<input type="checkbox"/>

**Thank you for your attention.**

