

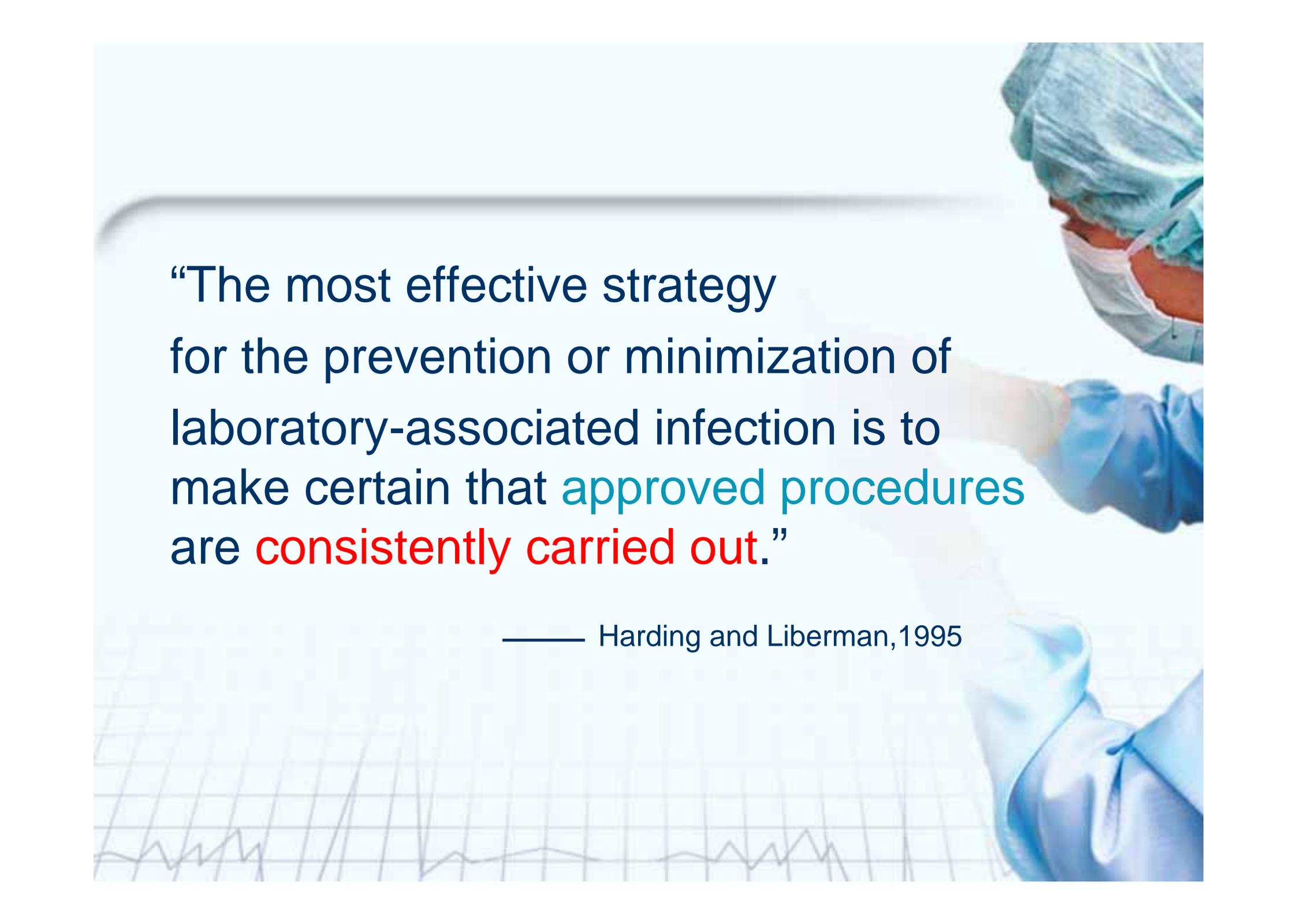


# 生物安全第三等級實驗室 安全管理規範

周如文

衛生署疾病管制局

民國九十三年十月十二日



“The most effective strategy for the prevention or minimization of laboratory-associated infection is to make certain that approved procedures are consistently carried out.”

——— Harding and Liberman, 1995

## 生物安全等級(Biosafety Level, BSL)

- **BSL1** - agents not known to cause disease.
- **BSL2** - agents associated with human disease.
- **BSL3** - indigenous/exotic agents associated with human disease and with potential for **aerosol** transmission.
- **BSL4** - dangerous/exotic agents of life threatening nature.



## 生物安全管理要件(一)

- 組織(organization)
- 危險評估(risk assessment)
- 生物材料之登錄(registration and inventory)
- 標準操作程序之建立(SOP establishment)
- 聯絡與協調(communication)
- 第三級生物材料管制方法(control measures)
- 監控第三級生物材料之使用(monitoring works)

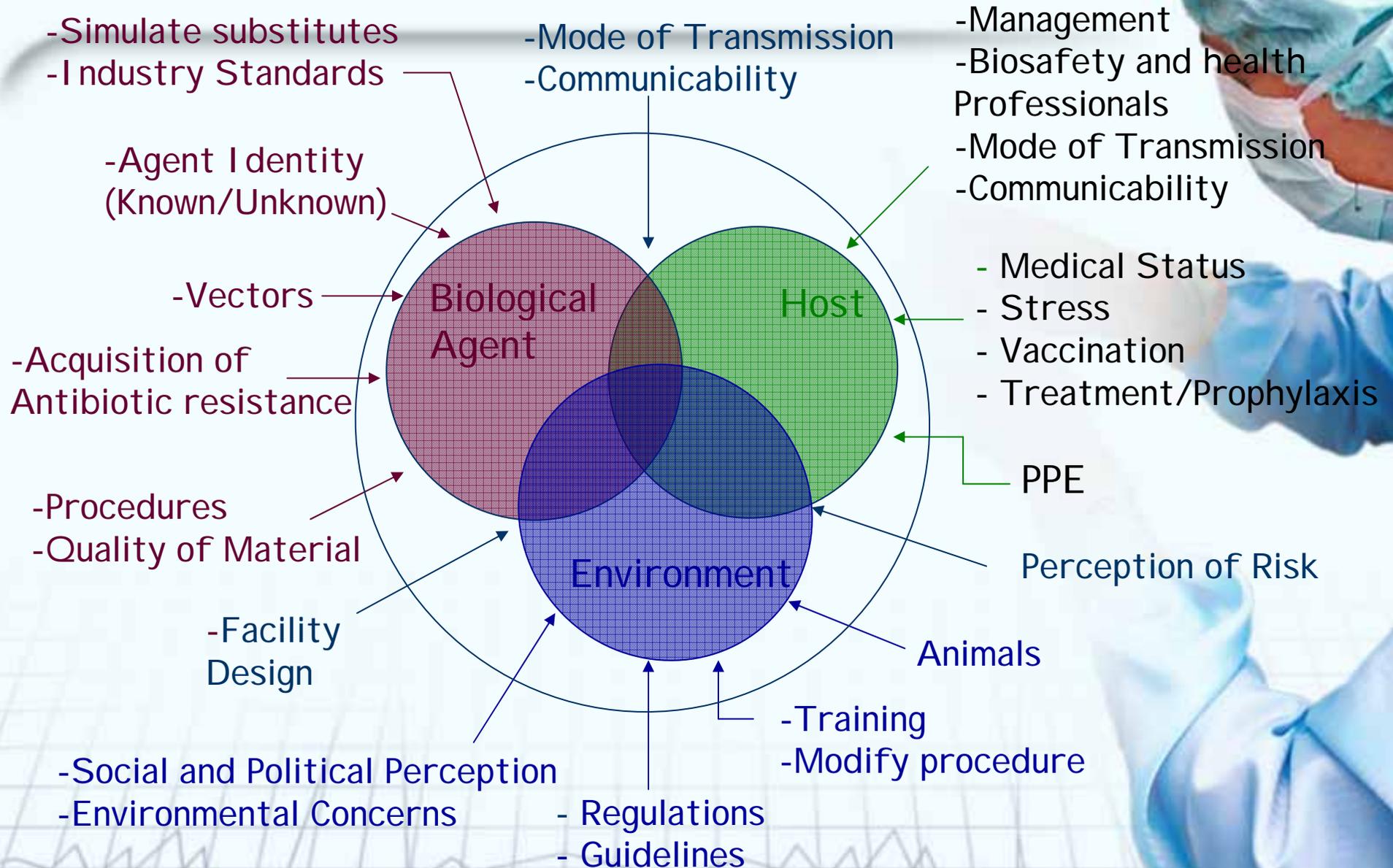


## 生物安全管理要件(二)

- 人員訓練(training)
- 緊急處理步驟(emergency response procedures)
- 醫療管理(medical surveillance)
- 文件與紀錄之保存管理(documentation)
- 第三級生物材料之運送與收發(shipping and receiving)
- 第三級生物材料之傳輸(transportation)
- 第三級生物材料廢棄物之處置(waste management)



# Risk Assessment Factors



## 政策

行政院衛生署為防範國內生物危害第三等級生物材料，因管理疏失、操作失當或查核不實，造成環境污染進而危害國人健康造成生命財產損失，特依據「**生物安全管理辦法（草案）**」訂定本管理要點規範，以為遵循。

## 目的

Prior Planning Prevents Poor Performance

本實驗室管理要點規範係以簡明扼要形式，針對國內運用生物危害第三等級生物材料於檢驗研究、生物製劑與疫苗開發等，所涉及之有關設施、設備、材料、廢棄物、污染物、操作程序、儲存運送與管理維護等，予以規範。規範內容依國內使用現況，並參酌國外相關資料而訂定，並經衛生署審議核定後公佈實施，修正時亦同。

## 生物危害第三等級生物材料之定義

經由任何可能途徑，引致人員曝露造成嚴重或潛在致死疾病之所有本土或境外移入生物材料。所包括之細菌、披衣菌、立克次體病原體、黴菌與病毒等，細項請參考國家科學委員會所訂定「基因重組實驗守則」之附表二、附表三及附表八。



## 規範範圍及對象

- 本規範主要針對生物安全第三等級實驗室之生物安全方面，予以規範。
- 國內所有單位之使用生物安全第三等級實驗室人員，皆適用本要點規範。
- 惟有關該等級實驗室之建築、消防及環保等安全，則應符合國內相關法令與規範之規定。



# 組織與職責

生物安全委員會

機構首長

生物安全官

相關生物技術專長專家

環境保護與工程人員

其他必要人員

生物安全工作小組

計畫研究員  
&  
檢驗研究人員

工程人員  
(maintenance)

清潔人員  
(housekeeping)

其他相關人員  
(查核等)

## 生物安全委員會職責

- 訂定該機構委員會設置與作業要點。
- 訂定該機構實驗室管理要點規範細則。
- 訂定該機構實驗室安全違規處理細則。

## 生物安全工作小組

### — 主管事務

承接委員會決定，負責建立、監控和執行生物安全政策與程序，以便遵守政府所頒布之**相關**適用標準、規範或法規。對凡違反安全規範和程序者，有權要求改善。



## 生物安全工作小組

### — 功能(一)

- 建立、監督與強化所有安全**工作政策、操作和程序**。
- 定期查核實驗室，於執行或使用生物材料時，是否符合適用之**標準和法規**。
- 依據國內所訂之**生物材料危害基準**，評估該機構現況後，決定是否准予研究計畫使用現有之實驗室。
- 啟動應變緊急計畫，妥善處理生物材料之污染和人員感染之意外，如有重大事故發生時，應**逐級通報**尋求支援及協助。



## 生物安全工作小組

### — 功能(二)

- 調查任何有嚴重違反生物安全政策、操作規範所導致感染事故，製成詳細紀錄，並由委員會向機構負責人及有關政府單位提出書面報告。
- 建議該機構採行有關生物安全設備之操作及實施安全措施。
- 擬定適合實驗室相關之各式人員所需訓練計畫書，並定期舉辦相關人員訓練。
- 負責實驗室研究及其它工作人員之審核及使用權限之授權。



# 生物安全官

## —— 職責

- 定期執行嚴格查核，確保正確生物安全操作與程序。
- 協助研究人員制定危害生物材料移轉管制計畫，並提供有助於生物性材料之安全儲存、操作和使用之技術建議。
- 協助生物安全工作小組、研究人員制定生物材料安全操作方法及程序細則。
- 調查有關實驗室意外事故。
- 擬定意外事故之污染和人員感染等緊急事件之處理計畫。
- 提供有關適用於實驗室設備之選擇、裝機、維護之生物安全防護建議。
- 負責實驗室管理與維護等事宜。



## 計畫研究員

## —— 職責

- 應以實驗計畫特性，研究內容和設備為基準，規劃執行實驗步驟，並應確保所有參與計畫之人員皆理解並遵守操作規範。
- 進行設備維修與內部保養工作前，應先確保已完成徹底消毒處理。
- 須立即通報任何生物安全相關之重大問題、違反規範、重大意外或感染疾病，並於24小時內，向生物安全工作小組及生物安全官進行書面報告。
- 生物安全官協助指導下，擬定處理意外污染和人員感染之應變緊急計畫。
- 確保生物危害第三等級生物材料之運輸符合規定要求。
- 應保存生物危害第三等級生物材料之所有收到和送出清單，並確保及追蹤生物材料出入實驗室之安全。



## 管理規範主要內容

- 實驗室設施規範
- 實驗室設施有關平面圖
- 實驗室設施施工設計圖

- 實驗室安全操作規範
- 實驗室人員訓練規範
- 實驗室查核要點規範
- 實驗室紀錄
- 緊急應變計畫



## 設施規範

- 實驗室位置
- 隔間牆的物理結構
- 空氣處理系統
- 生物安全櫃的要求
- 實驗室對於所有的 HEPA 過濾器之要求
- 除污、滅菌消毒和廢棄物棄置系統
- 個人衛生與安全設施
- 實驗室設施
- 緊急應變措施與實驗室監視規定
- 性能確效和測試
- 實驗室測試程序



## 操作規範

- 病原體之包裝及運送
- 個人安全防護

- 生物安全櫃之使用
- 組織研磨機之使用
- 離心機之使用
- 恆溫水槽之使用
- 超低溫冰櫃之使用
- 冰箱之使用
- 二氧化碳培養箱之使用

- 高壓蒸氣滅菌鍋
- 紫外線燈
- 實驗室之清潔、消毒



## 人員訓練規範

- 生物危害通識教育訓練
- 實驗室安全衛生教育訓練主要內容
- 訓練企劃一般要項
- 實驗室基礎操作訓練
- 優良微生物實驗技術訓練
- 實驗室環境安全訓練
- 後勤維護人員訓練計畫
- 安全管理人員訓練
- 生物安全第三等級特別操作之訓練

\* all training should be documented

\* regular re-training program should also be implemented

# 查核要點規範

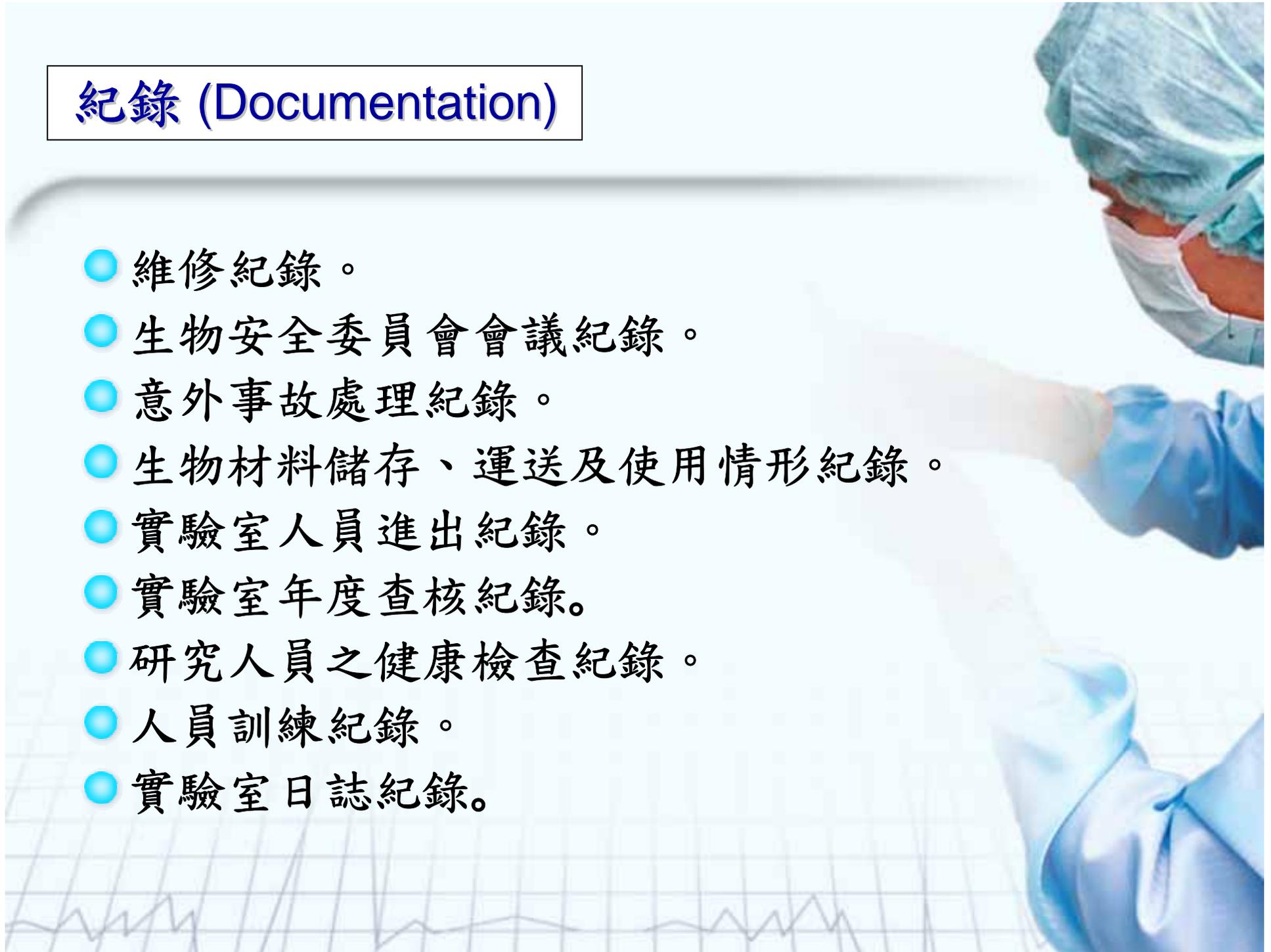
## 內部稽核

- 查核時機
- 查核範圍
- 查核後續工作
- 查核小組成員
- 任務
- 文件與紀錄之查核 →
- 設施查核
- 實驗室工作人員面談
- 其他議題

操作規範說明文件  
實作與步驟  
安全操作手冊 / 曝露管控計畫  
工作人員實驗室操作授權書  
訓練  
洩漏 / 曝露 / 緊急應變  
設備與個人防護裝備  
健康監測  
責任

## 紀錄 (Documentation)

- 維修紀錄。
- 生物安全委員會會議紀錄。
- 意外事故處理紀錄。
- 生物材料儲存、運送及使用情形紀錄。
- 實驗室人員進出紀錄。
- 實驗室年度查核紀錄。
- 研究人員之健康檢查紀錄。
- 人員訓練紀錄。
- 實驗室日誌紀錄。



## 生物材料之登錄

## Biosecurity

- Maintain an inventory of the biohazards used on the sites
- Develop a registration and review process for use of biohazards to include:
  - *Name of responsible person*
  - *Activities being performed*
  - *Special precautions to be used*
  - *List of personnel involved in the project*



## 緊急應變計畫

- 颱風、地震火災、水災與風災等天然災害應變計畫
- 人員緊急醫療應變計畫
- 生物危害第三等級生物材料洩漏處理應變計畫





# BIOHAZARD

**ADMITTANCE TO AUTHORIZED PERSONNEL ONLY!!**

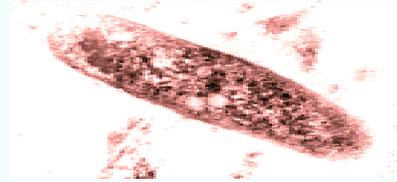
**HAZARD IDENTITY:** \_\_\_\_\_

RESPONSIBLE INVESTIGATOR: \_\_\_\_\_ PHONE: \_\_\_\_\_

UNIVERSITY OF WASHINGTON, ENVIRONMENTAL HEALTH & SAFETY DEPARTMENT, HALL HEALTH CENTER, 543-9510



## *Mycobacterium tuberculosis*



- Etiologic agent of tuberculosis (TB), humans are the only reservoir
- Person to person transmission through aerosol droplet
- Non-motile, non-pigmented
- Acid-fast stain, rod-shaped, 0.4x3.0 micron
- Obligate aerobic, facultative intracellular parasite, slow grower, need special media for culture
- Reduce nitrate, produce catalase
- Produce long chain fatty acids
- **Genome of *M. tuberculosis* H37Rv sequenced in 1998**

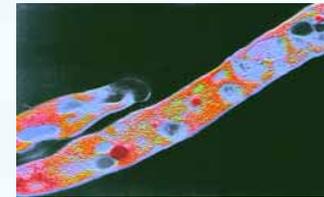


# Methods for Identification of Mycobacteria

## Molecular methods

- **DNA**
  - Nested *IS6110* PCR
  - PCR-RFLP
  - Real-time PCR
  - Multiplex PCR
- **RNA**
  - GenProbe

## Microscopic methods

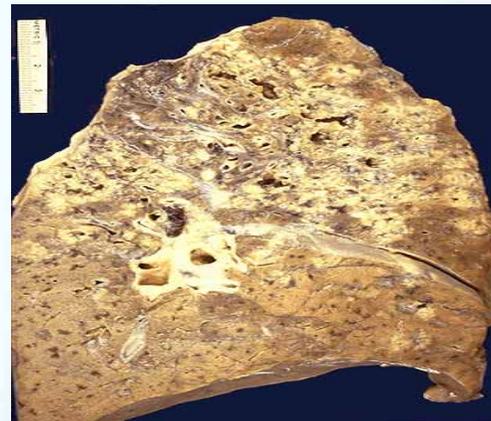
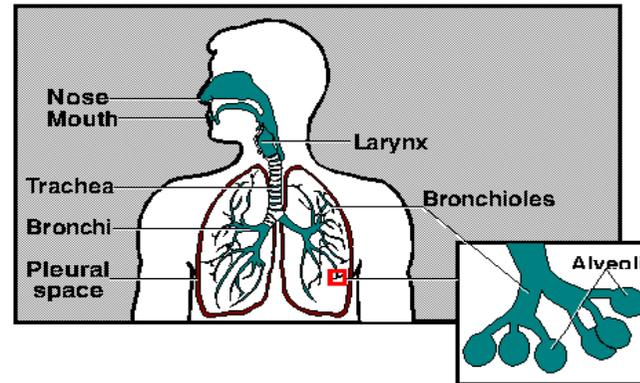
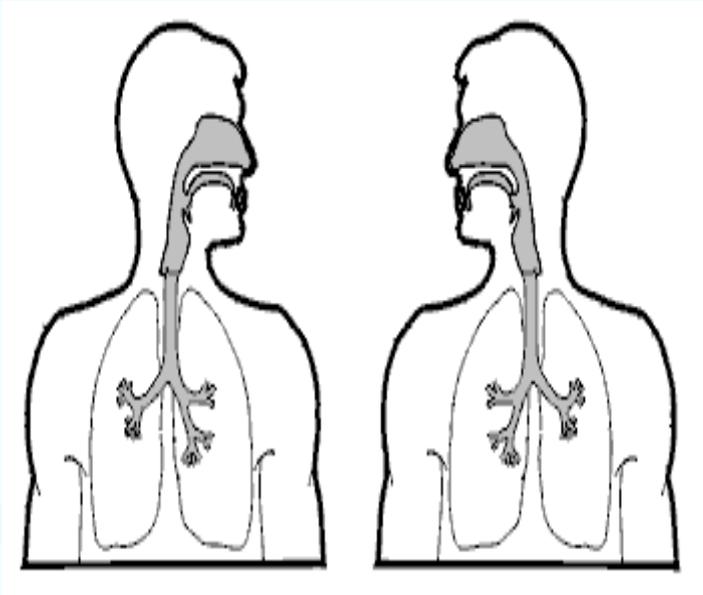


## culture



## Biochemical methods

# Transmission and Pathogenesis









分枝桿菌第三等級實驗室  
生物安全標準操作手冊  
(草案)



## 結核病第三級實驗室之安全規定

- (一) 實驗室問題處理及淨化組  
(Laboratory Response/Decontamination Team)
- (二) 第三級實驗室包含之區域
- (三) 工作前訓練
- (四) 注意事項
- (五) 實驗室常規
  - 1) 進入實驗室規則
  - 2) 離開實驗室規則
  - 3) 消毒淨化規則
- (六) 生物危害之緊急處理
- (七) 醫學監控
- (八) 廢棄物處理
- (九) 蟲害控制



## 結核病第三級實驗室之緊急處理程序

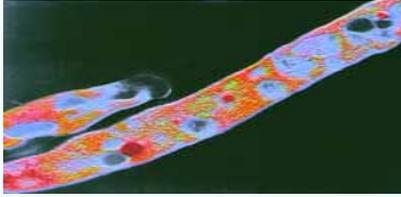
- (一) 發生生物危險意外之處理程序  
(包含在生物安全操作櫃內外)
- (二) 火災的處理程序(包括爆炸)
- (三) 毒物或化學試劑洩漏
- (四) 颱風、地震其他天災
- (五) 機器系統毀損
- (六) 急救訓練
- (七) 職員的急救
- (八) 災害回報程序



## 生物安全標準操作手冊其它內容項目

- 實驗室之每日與每週工作
- 實驗室每年度檢視之規定
- 三級實驗室安全訓練項目
- 職員表格填寫之格式
- 標準操作規則之明確項目





**THINK SAFELY –**

**Don't learn it by accident.**

## 主要參考資料

- Anthology of Biosafety, Vol. 1-4
- Laboratory Biosafety Guidelines, 2<sup>nd</sup> Ed., Health Canada, 1996
- Laboratory Biosafety Manual, 2<sup>nd</sup> Ed., WHO, 2003
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4<sup>th</sup> Ed., CDC/NIH, USA, 1999
- Laboratory Biosafety Manual- *Biosafety level 3 research facility utilizing biosafety level 3 practices for work with pathogen species*, Univ. of Maryland Baltimore, 2001
- 傳染病防治法, 2004



- 1. Center of Diseases Control, Unite State, 1999, “**Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories**, 4th Edition”.
- 2. Centre of Disease Control, Unite State, 1998, “**Guidelines for Research Involving rDNA**”.
- 3. Health Protection Branch, Canada, 1996, “**The Laboratory Biosafety Guidelines**, 2nd Edition”.
- 4. Australian / New Zealand Standard ‘**Safety in Laboratories Part3 : Microbiology (AS/NZS 2243.3)**’
- 5. John Doe, **Training requirements, Laboratory bisafety manual**, Department of school of Maryland, 2001.
- 6. **Training programs, Laboratory Biosafety Manual**, revised 2nd ed., 2003.
- 7. 陳秋蓉、郭育良、許曷奇，**生物科技產業勞工健康危害調查評估研究（Ⅱ）-健康危害分級與管理制度**，勞工安全衛生研究所研究報告IOSH91-M302，2002
- 8. 國家衛生研究院實驗室生物安全手冊
- 9. 行政院國家科學委員會，「**基因重組實驗守則**」，92年5月，  
<http://www.nsc.gov.tw/bio/news/38.htm>
- 10. 行政院農業委員會家畜衛生試驗所，「**行政院農業委員會家畜衛生試驗所實驗室生物安全手冊**」，  
<http://www.nvri.gov.tw/veter-info/references/safebook/menu.htm>



謝謝 敬請指教

分枝桿菌參考實驗室

(02)2653-1369, (02)2653-1370

[rwj@cdc.gov.tw](mailto:rwj@cdc.gov.tw)

[hw1@cdc.gov.tw](mailto:hw1@cdc.gov.tw)

