

管制性病原及毒素生物安全/生物防護計畫指引

訂定日期：2018.08.07

一、目的

為利使用管制性病原及毒素之實驗室依法研訂適當之生物安全/生物防護計畫，特訂定本指引，以供參照遵循。

二、管制性病原及毒素之危害特性

- (一) 生物安全/生物防護計畫應包含設置單位經核准各項病原或毒素的危害特性，以及涉及病原或毒素相關之實驗室程序其生物安全/生物防護風險。
- (二) 對於協助鑑別各種病原或毒素的危害特性，以及涉及病原或毒素相關之實驗室程序其生物安全/生物防護風險，請參考疾病管制署全球資訊網專業版之「實驗室生物安全技術規範及指引」專屬網頁，以及科技部「基因重組實驗守則」。
- (三) 考量各種病原或毒素的危害特性時，設置單位應討論於實驗室操作多種管制性病原及其型別(strain)之交叉汙染危害，以防止病原間之意外轉移。

三、防止暴露於管制性病原及毒素之保護措施

- (一) 生物安全/生物防護計畫必須包含與執行工作相關的保護措施，以保護設置單位人員、民眾與環境，避免暴露於管制性病原或毒素，其中包括但不限於：個人防護裝備與其他安全裝備；防護設備，其中包括但不限於：生物安全櫃、動物飼育籠系統與安全離心容器；以及工程控制與其他設施保護措施。
- (二) 個人防護裝備(PPE)與其他安全裝備
 1. 在決定所需的個人防護裝備與其他安全裝備時，應考量設置單位經核准各項病原或毒素的危害特性，以及涉及病原或毒素相關之實驗室程序其生物安全/生物防護風險。個人防護裝備與其他安全裝備應注重：
 - (1) 呼吸系統的保護；
 - (2) 眼部與臉部的保護；
 - (3) 頭部的保護；
 - (4) 聽力的保護；
 - (5) 手部/手臂的保護(手套或袖套)；
 - (6) 足部的保護。
 2. 當考量實驗室之穿著衣物時，設置單位須決定應穿戴何種個人防護

裝備，以防止危害物被帶出實驗室(例如，衣物可能成為將病原或毒素帶出實驗室的污染物，以及該等衣物應如何清潔、消毒或處理)。應教育工作人員，除了在實驗室間運送樣本外，個人防護裝備不應穿戴出防護實驗室；亦不得穿戴(或存放)至休息室、辦公區域、廁所或建築物外。必須正確指導工作人員，在進入需要使用個人防護裝備的潛在危害區域前，如何穿戴所需的個人防護裝備；在離開暴露區域之前，工作人員不得卸下所需的個人防護裝備。

生物安全-個人防護裝備(PPE)要求			
生物安全第一等級 (BSL-1)	生物安全第二等級 (BSL-2)	生物安全第三等級 (BSL-3)	生物安全第四等級 (BSL-4)
<ul style="list-style-type: none"> 建議穿著實驗衣、罩袍或制服，以防止個人衣物受到污染。 當進行可能產生微生物或其他危害物質飛濺的程序時，應配戴護目鏡。 配戴隱形眼鏡的人員也應配戴眼部保護裝備。 必須穿戴手套以保護雙手避免暴露於危害物質。 	<ul style="list-style-type: none"> 當操作危害物質時，必須穿著實驗衣、罩袍、工作服或制服。 當在生物安全櫃(BSC)或物理防護裝置外操作微生物時，為因應感染性或其他危害物質的飛濺或噴灑，必須使用眼部與臉部保護裝備(護目鏡、面罩或其他飛濺防護裝備)。 配戴隱形眼鏡的人員也應配戴眼部保護裝備。 必須穿戴手套以保護雙手避免暴露於危害物質。 當室內有感染動物時，應使用眼部、臉部與呼吸道保護裝備。 	<ul style="list-style-type: none"> 必須穿著無縫的防護衣(如連身防護衣)。 為因應感染性或其他危害物質的飛濺或噴灑，必須使用眼部與臉部保護裝備(護目鏡、面罩或其他飛濺防護裝備)。 [涉及感染性物質操作的所有程序，必須在生物安全櫃或物理防護裝置內進行] 配戴隱形眼鏡的人員也必須配戴眼部保護裝備。 必須穿戴手套以保護雙手避免暴露於危害物質。 當室內有感染動物時，必須使用眼部、臉部與呼吸道的保護裝備。 	<ul style="list-style-type: none"> 使用連接HEPA過濾系統的正壓防護衣。正壓防護衣將實驗室工作人員與實驗室環境完全隔離，確保不會與潛在危害物質接觸。穿著正壓防護衣進行操作的實驗室工作人員須接受特殊訓練。

(三) 防護設備

防護設備應注重：

1. 初級防護：直接與生物危害物質接觸的第一層容器，以及保護工作人員與實驗室環境避免暴露於感染性病原的其他方法或設備。初級防護須使用適當的儲存容器、優良微生物技術，以及使用適當設備(例如生物安全櫃)。

初級防護可包含：

- (1) 生物安全櫃。
 - (2) 動物/節肢動物飼育籠系統。
 - (3) 安全離心容器。
2. 二級防護：保護實驗室外在環境避免暴露於感染性物質，由設施規劃與操作規範相結合所提供。二級防護可包含將實驗室工作區域與公共通道分開、提供除汙設備(例如高溫高壓滅菌器)，以及洗手設施。

(四) 工程控制與其他設施保護措施

1. 工程控制之基本概念，在於可實行範圍內，應規劃可消除危害或降低暴露危害的工作環境，以及實驗室程序所涉及之生物安全/生物防護風險。工程控制應基於以下原則：

- (1) 如果可行時，規劃設施、設備或程序以移除危害。
- (2) 如果移除危害不可行時，在正常運作期間，封閉危害以防止暴露。
- (3) 當完全封閉危害不可行時，建立屏障或局部換氣以降低在正常運作期間之危害暴露。

2. 工程控制的基本類型：

- (1) 程序控制。
- (2) 封閉與/或來源隔離。
- (3) 通風。

3. 工程控制的範例可包含：

- (1) 通風/排氣或加熱、通風及空調 (HVAC: heating, ventilation and air conditioning) 必須提供所有工作人員與民眾安全、舒適、透氣環境，並且減少暴露於具危害性的空氣污染物。於BSL-3與BSL-4實驗室，其空氣被認為可能受到汙染，因此必須直接排放到實驗室外，但排出實驗室的空氣應先經過HEPA過濾，以防止危害物被釋放到外部環境。HVAC排氣系統的排放功率必須能夠滿足實驗室內部空間以及所有防護設備的排氣要求。必須提供足夠的供氣，以確保排氣系統的適當功能。
- (2) 生物安全櫃為封閉、可換氣的實驗工作區域，用於安全處理被管

制性病原及毒素污染的材料。對於協助選擇生物安全櫃，可參考勞動部勞動及職業安全衛生研究所「生物安全櫃操作安全技術手冊」。

- (3) 污水除汙系統可將來自生物防護實驗室或其他處理具潛在危險污水(如壓力鍋)的設施，其產生的生物危害性廢液進行消毒。根據在生物安全第三等級和第四等級實驗室所執行的作業，來自於實驗室內部的水槽、地板的排水系統、高溫高壓滅菌鍋或其它來自於實驗室內部的污水或廢液，在排放到衛生下水道之前，都必需使用一個已經被證實有效的方法來去污染(最好是加熱處理)。
- (4) 必須提供焚化爐或其他經批准的措施，以安全地處理感染動物的大型屍體。
- (5) 厭氧分解池為利用細菌在沒有氧氣的情況下來分解有機物，是一種生物化學過程。分解池必須保持密閉(即無氧)才能進行厭氧消化作用。

(五) 風險管理程序控制

程序控制涉及為降低風險的活動或程序，應在實施任何變更之前與之後進行監視，以確保變更後暴露風險較低。訂定生物安全/生物防護政策依據以下原則：

1. 程序控制應適合所執行的活動以及正在使用的管制性病原或毒素，生物安全/生物防護等級取決當下正在進行工作的風險。
 - (1) 例如，對於可能培養出*Francisella tularensis*之所有操作，建議以BSL-3實驗室規範、防護設備及設施進行。
 - (2) 對於涉及診斷*Bacillus anthracis*、*Burkholderia mallei*、*Burkholderia pseudomallei*與*Yersinia pestis*之感染性培養，但不涉及病原體增殖及氣膠產生之風險，則可在BSL-2實驗室規範、防護設備及設施進行，且全程在生物安全櫃內操作。
2. 在特別具有危害的程序(例如，刻意產生管制性病原氣膠或管制性毒素氣膠)，應訂定詳細的安全措施，以確保仍可維持初級與二級防護功能。
3. 如果適用，描述對於實驗性暴露或感染動物所採用的生物安全與防護程序。
 - (1) 當動物以管制性病原感染或暴露時，描述採用的給予方式與使用設備。
 - (2) 詳細描述所有生物材料(遭管制性病原感染屍體、組織)直到最終銷毀前(如高溫高壓滅菌、焚燒等)的適當防護。
 - (3) 描述或標註監視動物意外感染程序。

(4) 描述確保防護動物意外暴露或感染管制性病原的程序。訂定這些程序的考量因素，包括但不限於：發生從感染動物房至未感染動物房的氣流逆轉情況；或是人員、設備或實驗室廢棄物從管制性病原區域至非管制性病原區域之移動導致意外暴露。

(5) 無論管制性病原感染動物如何飼養，室內遭管制性病原污染的可能性仍會增加。除非可以證明動物模型不會散播病原，否則因不使用飼育籠造成之危害增加，必須透過程序或設施強化來緩解。

(六) 封閉與隔離

1. 封閉是以”物理性”保持管制性危害物遠離工作人員。例如，封閉式設備是緊緊密封，通常打開僅為了移動樣本/培養物或進行清潔與維護。例如包括”手套箱”或 Class III 生物安全櫃。打開封閉系統進行維護時必須注意，如未採取足夠的預防措施，則可能會發生暴露。此外，必須妥善維護封閉系統以防止洩漏。
2. 隔離是以”地理性”的方式將危害程序遠離大多數工作人員。常見的隔離方法是在設備或人員工作站周圍建立無污染區域。

四、管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀

(一) 生物安全/生物防護計畫必須包含用於對所有受污染或懷疑被污染的材料進行消毒、除汙或銷毀等已被驗證方法的書面程序，其中包括但不限於：

1. 與管制性病原或毒素增殖有關的培養物及其他材料。
2. 與管制性病原及/或毒素分析有關品項。
3. 個人防護裝備。
4. 動物飼育籠系統(如適用)。
5. 動物屍體或萃取的組織與液體(如適用)。
6. 實驗室表面與設備。
7. 運送容器的表面。
8. 廢液。

(二) 書面程序的訂定與實施應基於以下原則：

1. 在進行實驗室表面除汙程序時，遵守消毒藥劑製造商所規定的濃度與接觸時間，以對管制性病原及毒素材料達到有效的除汙。
2. 確保程序遵循任何設備製造商關於其設備相容消毒藥劑之指引。
3. 根據產生廢棄物的類型(例如個人防護裝備、培養基、液體、胚胎蛋、動物籠、屍體、尖銳物)，以及所產生廢棄物類型之最適合容器，確認廢棄物管理程序。
4. 詳細描述重複使用的尖銳器具之除汙安全程序。

- 5.描述將廢棄物安全運送至除汙場所程序，包含除汙設備與產生廢棄物的實驗室相對位置。運送程序必須考慮在運送過程中，保護人員與環境安全之要求。
- 6.具體描述管制性病原及毒素之廢棄物的除汙方法(例如高溫高壓滅菌器、焚化爐、組織消化器、化學物質等)。
- 7.描述除汙設備正常運作的驗證方法，以及驗證執行頻率(即生物指示劑[biological indicators: BIs]、週期參數之確認)。
 - (1) 針對高溫高壓滅菌器驗證；生物指示劑或參數監測器應以預期的作業方式置於欲滅菌載入品項的中央部位，以測試蒸氣穿透的極限。當使用生物指示劑時，應按製造商規定的時間長度進行培養，並且使用陽性對照組。在驗證高溫高壓滅菌器參數時，必須考慮欲進行滅菌材料之溫度(例如，冷凍的屍體需要比未冷凍屍體更長的滅菌時間)。
 - (2) 針對化學物質除汙；所使用的化學物質必須適合管制性病原或毒素，並且必須在程序中確認化學物質濃度與接觸時間。該程序亦應說明用於除汙的化學物質是否必須為新鮮配製或可儲存使用，以及儲存有效期限。
- 8.描述實驗室表面與設備的除汙方法(例如，化學物質表面除汙或使用氣化的過氧化氫、多聚甲醛、二氧化氯等進行空間燻蒸)。所選擇的方法必須適用於實驗室使用的設備、管制性病原及毒素。程序應指明所需的接觸時間，可能因設備與病原而異。
 - (1) 用於去活化管制性毒素的燻蒸方法，須使用公認或被驗證的有效方法。
 - (2) 用於去活化管制性病原的燻蒸方法，應包含使用生物指示劑來驗證除汙的有效性。
- 9.描述如何通知設置單位人員，有關實驗室表面與設備的除汙狀態。
10. 描述如何通知設置單位人員，有關實驗室空間正在進行除汙或已完成除汙。
11. 描述何時應對實驗室表面與設備進行除汙。

五、管制性病原及毒素於共用空間之處理

(一) 設置單位應有對於共用空間處理管制性病原及毒素與非管制性病原及毒素之程序，以防止無意的交叉汙染，例如：

1. 實驗室工作檯面、設備，以及所有管制性病原及毒素廢棄物，在轉換到操作非管制性病原及毒素之前，必須進行除汙。
2. 如何讓人員隨時了解特定房間或實驗室的狀態。

3. 當進行組織培養研究時，空間與/或時間的考慮因素。
 4. 同時進行重組1918年流感病毒株和高致病性禽流感病毒株之任何操作。
 5. 在研究/實驗/程序結束時，對所有樣本進行滅菌。
- (二) 應採取預防措施以防止管制性病原(病毒類)在細胞培養時發生交叉汙染。防止在培養過程中管制性病原意外轉移的方法：
1. 在生物安全櫃內進行所有的細胞培養操作。
 2. 每次工作只操作一種管制性病原。
 3. 交替操作管制性病原與管制性毒素之間，以消毒劑對生物安全櫃表面進行除汙。
 4. 變更操作的管制性病原時，更換手套。
 5. 分裝培養基及其他試劑，以利同一容器(培養基或試劑)不被多種管制性病原共用。

六、訂定依據

參考美國「Select Agents and Toxins Biosafety/Biocontainment Plan Guidance」(August 2017) 訂定本指引。(2018.08.07)

七、參考資料

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Division of Select Agents and Toxins & Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) Agriculture Select Agent Services, Select Agents and Toxins Biosafety/Biocontainment Plan Guidance, August 2017.