

第五章 實驗室生物安全防護  
行政院衛生署疾病管制局 陳維峰  
cwf@cdc.gov.tw ; 02-26531446

## 前言

「實驗室生物安全」用來敘述於實驗室環境內，處理生物性危害時所應注意及採取的防範措施、安全程序與方法。其目的在使有關實驗室研究操作人員、支援人員、及外部環境減少或避免暴露於可能造成危害的各種病原微生物。

全球不同區域國家可各自依其區域風險特性訂定其病原微生物危險等級（Risk Group），例如腦脊髓炎，加拿大及歐盟列為第三等級危險群，但美國疾病管制局（CDC,USA）及國家衛生研究院（NIH,USA）定為第二等級危險群；其他例如 C 型及 D 型肝炎，歐盟列為第三等級危險群，但是美國及加拿大皆定為第二等級危險群；病原微生物危險等級必須要先確定，否則無法依據不同生物安全等級進行設施、設備、人員防護、廢棄物等之管制措施，亦無法訂定確切之風險評估、設施、設備、消毒、隔離等標準作業程序；因此優先考量生物危害分類與所搭配之生物安全防護等級是應首要之務。

## 生物安全等級

我國依據傳染病防治法相關條文規定訂定之「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」已於中華民國九十四年九月二十六日經行政院衛生署發布施行。該辦法中同時依據行政院國家科學委員會九十三年六月增修之「基因重組實驗守則」將病原微生物依其危險性作為分類基礎，有關病原微生物危險性等級分類及生物安全等級規範如附表一：「危險群與生物安全等級、操作規範及設備對照表」。

對於含有生物性危害的作業場所，如生物實驗室、醫療檢驗室，隔離病房等，由於病原微生物危險等級與危害強度不同，不適合採用統一方式加以管制，因此世界衛生組織（World Health Organization,WHO）與美國疾病管制局（Center of Diseases Control, CDC,USA）等單位建議採用四個等級的管制層面，並定名為生

物安全等級(Biological Safety Level, BSL)第一至第四等級，其各等級均對應有不同的設施設計、防護設備、人員管制、標準操作程序。以下針對各不同生物安全等級基準與需求簡單敘述如下：

生物安全第一等級(BSL-1)：此等級的微生物對個人及社區不會或產生極低危險性。此等級微生物不會使健康成人致病，此等級的試驗操作對實驗室工作人員及環境產生最低潛在危險性。實驗室工作人員可依照標準微生物操作準則，在開放的實驗桌進行，不需使用特殊設計的生物防護設施與設備。

生物安全第二等級(BSL-2)：此等級的微生物對個人產生中度危險性但引發社區感染性低。病原微生物可以導致人類的疾病，但不嚴重，且人類科技已能提供有效的預防與醫療處理。其與生物安全第一等級的差別在於：(1) 實驗室工作人員需由資深科學家指導並受過使用危害物質的特殊訓練。(2) 實驗工作進行中需門禁管制。(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 (Biological Safety Cabinet, BSC) 或個人防護設備。

生物安全第三等級(BSL-3)：此等級的微生物對個人產生高度危險性但引發社區感染性低。病原微生物可以導致健康成人嚴重、毀滅性的致死疾病，但通常能有有效的預防與處理。於臨床、診斷、教學與研究單位操作此等級的微生物的工作人員必須接受處理致病性及致命性物質的特別訓練，並由具經驗之資深科學家監督管理，所有步驟必須在生物安全櫃中進行，並使用其他防護裝置及佩戴個人防護具，實驗室需經特殊安全防護功能設計(如緩衝區、氣密通道、定向氣流等)。

生物安全第四等級 (BSL-4)：此等級的微生物對個人及社區造成高度危險性。可導致健康成人嚴重、毀滅性的致死疾病，而無有效的預防與處理措施，並且其為氣霧傳播或未知傳染途徑之病原微生物。實驗工作人員必須接受高危險性致病性及致命性物質的特別訓練，並需充分了解實驗室標準操作程序及實驗室的設備與設計。且需採取嚴格門禁管制，所有試驗操作皆僅限於在第三級生物安全櫃或特殊安全設計的第二級生物安全櫃中執行；工作人員必需穿著正壓式防護衣及呼吸器，實驗室需具特殊安全防護功能設計(如緩衝區、氣密通道、定向氣流等)可有效防止病原微生物散佈至環境中。

有關病原微生物與實驗室之間如何搭配呢，則需考慮操作量與操作程序中是否

有生物氣膠形成，以炭疽桿菌(*Bacillus anthracis*)為例，若從事臨床診斷，在生物安全第二等級實驗室即可；大量製造及濃縮等操作，必須在生物安全第三等級實驗室；若有氣霧暴露 (Aerosol exposure) 的可能性，則除了必須在生物安全第三等級實驗室操作外，並需穿戴個人防護設備 (Personal protective equipment, PPE)。

以狂犬病毒(*Rabies virus*)為例，操作已知或可能具感染性檢體，如臨床檢體，則在生物安全第二等級實驗室即可；若有大量製造或有氣霧暴露的危機，則必須在生物安全等級三實驗室操作；其他有關結核桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, TB) 之實驗應在生物安全第三等級實驗室操作，然臨床結核桿菌之檢驗工作中不會操作大量之結核桿菌，建議可生物安全第二等級實驗室操作，穿戴個人防護裝備。

有關動物病原體危險等級與搭配之生物安全防護，亦可區分成以下動物生物安全四個等級簡述如下：

- (一)、動物生物安全第一等級：已經確實瞭解不會引起健康動物疾病的病原體、環境危害風險低，可於傳統設計之動物實驗室操作。
- (二)、動物生物安全第二等級：對動物或環境危害風險程度中等，進出動物實驗室須門禁管制，若有噴灑或吸入之虞需使用二級生物安全櫃，建議定向氣流，空氣不循環使用，視需要使用個人防護設備如防護衣、手套、護目鏡。
- (三)、動物生物安全第三等級：吸入時會引起動物嚴重的疾病，實驗室要氣密並使用隔間與建物內的其他區域分隔，進排氣需經高效過濾網 (HEPA) 過濾，液體及廢棄物須經高溫高壓滅菌處理，操作病原微生物或接觸受感染的動物時須使用生物安全櫃及個人防護設備；此外所使用的動物籠架系統需確定能保護操作人員，進出走道須設置自動開關之雙門設施，離開動物房時有自動洗手槽，地板排水管須安裝 U 型管水封裝置。
- (四)、動物生物安全第四等級：外來的病原微生物對動植物具高度感染的危害風險；實驗室建築設計包含：進出走道空氣屏障、個人更衣間、沖淋裝置、雙門高溫高壓滅菌器、定向氣流並設有自動控制系統能夠維持實驗室之負壓度、進排氣需經高效過濾網 (HEPA) 過濾、所有液體及廢棄物皆需經高壓滅菌處理。

防護設施與設備

操作病原微生物的安全防護，以生物防護（Containment）為主要策略，此策略為將實驗室具危害性操作概分為兩個防護措施，分別為基本防護(Primary containment)與二級防護(Secondary containment)；基本防護即是採基本的方式，隔離人員與微生物接觸的界面，如個人防護具、正壓防護衣、實驗眼鏡或生物安全櫃等。而二級防護則為實驗室建築、設施與設備等針對生物防護的特殊設計或其它安全考量項目，在生物安全各等級實驗室個人防護及作業環境控制及上兩種防護方法分別具有其相當重要的功能。

目前國內絕大多數的生物實驗室，其生物安全等級均以第一至第三等級為主。其中第一級實驗室為基本的實驗室，其生物危害層級低，與一般實驗室設計上並無太大差異。第四等級生物實驗室則處理危害度相當高的微生物，屬於特殊的研究機構（如軍事用途等），因此其設計之安全標準相當高。

基本防護亦包括使用良好的微生物操作技術，及適當的安全設備，來保護人員與周圍環境，避免工作人員暴露於傳染性病原微生物作業環境及污染實驗室區域環境。例如對人員施打疫苗可增加對人員的保護程度；安全設備包括生物安全操作櫃、密閉式容器、及其他設計來免除或減低暴露於病原微生物的工程控制方法。生物安全操作櫃是用來阻隔多種微生物處理程序中產生的飛濺物或氣霧的主要設備。有三種不同等級(I 級、II 級、及III 級)用於生物實驗室的生物安全操作櫃。前開式的 I 級與 II 級生物安全櫃，當配合良好的微生物操作技術時，對實驗室人員，及實驗室環境提供明顯保護的基本防護。II 級生物安全櫃也可保護於櫃內處理的材料(例如細胞培養基、微生物菌種)，免受外界的污染。而第III 級的氣密式生物安全櫃，則可對實驗室人員，及實驗室周圍環境提供最高等級的保護。

實驗室儀器設備安全設計亦是實驗室生物安全重要環節，有一種重要基本防護設備是設計用以防止氣霧於離心過程中釋出的密閉式容器，稱為安全離心杯，在處理會經由氣霧暴露途徑傳播的傳染性病原微生物時，必需使用生物安全操作櫃，或安全離心杯等防護設備。

安全設備亦包括個人防護設備，例如手套、外套、長袍、鞋套、長統靴、防毒罩、面罩、及安全眼鏡或護目鏡。個人防護設備通常是與生物安全操作櫃，及其他含欲處理的各種病原、動物、或材料的器材配合使用。在一些無法於生物安全操作櫃內處理的情況下，個人防護設備便形成操作人員，與傳染性材料間的基本

防護設備，此種情況包括：特定的動物試驗研究、動物屍體解剖、疫苗生產製造與實驗室的維護等相關活動。

二級防護亦指結合實驗室的設計，及操作規範，來保護實驗室外部環境，避免暴露於傳染性病原微生物。綜合上述說明，安全防護的要素為實驗室安全設施、安全設備、及實驗室功能設計。亦即需對各實驗室所處理之特定病原微生物進行危險性評估，方能決定那些配備是最適當之組合。

### 實驗室安全規範

實驗室安全防護最重要的要素，是嚴格遵守處理微生物的標準規範與技術。處理傳染性病原微生物及可能已遭感染的生物材料的實驗室工作人員，必需深刻了解該物質的潛在危險性，且需經過安全操作該物質的相關訓練，及熟悉處理的安全操作規範。設置單位負責人、實驗室主管應負責提供，或安排實驗室相關人員接受適當的安全衛生教育訓練。

各等級實驗室均應制定內容涵蓋實驗室各項操作程序間可能碰到的危險、可降低或避免暴露於這些危險的操作的安全規範與標準操作程序之實驗室生物安全手冊或操作指引。應對實驗室工作人員提供各種防範特殊危害的具體建議；對於作業場所環境，應標示生物安全等級、生物危害標識及其緊急應變處理措施。

所有實驗室工作人員應仔細閱讀並遵守各種相關操作規範與程序。處理各種傳染性病原微生物或危害物質的人員，應接受適當的實驗室技術、安全程序、及與傳染性病原微生物有關的危害認知教育訓練。這些工作需由具備相關專業知識的人員進行，且應與設置單位之生物安全官，或其他安全衛生專業人員，就危害評估事宜隨時進行諮商討論。

當實驗室安全操作規範不足以控制特定危害病原，或實驗室操作程序所造成的危險時，需採取額外的安全措施。實驗室主管人員有責任依該病原微生物或操作程序有關的危險性，提供額外的安全措施；此時實驗室需用適當的硬體設計與工程改善、安全設備、及管理規範來加強。

### 優良微生物操作技術

優良微生物操作技術（Good microbiology techniques, GMT）為生物安全實驗室之核心技術，處理較高等級生物危害之研究操作及技術人員的基本必備技術，亦適用於生物危害較低等級之實驗室工作人員，所有實驗室工作人員應接受適當

之教育訓練，內容應包涵下列項目：

- 一、病原微生物之分類。
- 二、實驗室感染，如何發生及感染途徑與模式。
- 三、意外之感染類型，如接種意外，洩漏事件；如何防止和減低意外發生方法。
- 四、由生物氣膠造成之感染，生物氣膠產生及釋出之原因。
- 五、生物氣膠控制方法，藉由設備或實驗技巧預防危害。
- 六、個人防護具包括臉部和眼睛的防護，個人衛生以及預防接種。
- 七、生物安全櫃操作。
- 八、處理血液及體液的通用注意事項。
- 九、實驗室廢棄物處理，高壓蒸氣滅菌鍋及焚化爐的使用和原則。
- 十、化學消毒劑使用及限制相關規定。

由於未知之致病原微生物對人體之危害性不明，必須以較高規格之生物安全防護措施來處理相關檢體。因此對於實驗室設施之安全、實驗室生物安全櫃、高壓滅菌器及離心機等設備之功能檢測及人員之教育訓練等事項之落實程度更突顯其重要性。如果實驗室硬體設施及設備之安全檢測不合格，或是研究及檢驗人員未依照相關標準操作程序執行實驗工作，其將導致難以評估之危害。我國相關法規規定感染性生物材料之操作人員應經其實驗室主管或具二年以上操作經驗之人員訓練、測試合格。第三級以上感染性生物材料之操作人員並應經中央主管機關認可之生物安全訓練。

另之為確保實驗室相關工作人員之安全，避免實驗室感染意外之發生。對於實驗室工作人員、環境設施、儀器設備、試藥耗材等軟硬體設施及環境，是否符合安全衛生規範、是否有訂定相關標準作業程序等事項進行檢核，並依此協助建立檢查機制。實驗室主管人員應訂定具有生物安全標準操作程序之生物安全手冊。工作人員須瞭解所接觸之病原微生物之危險性，並熟讀及遵循手冊及相關程序之規定。實驗室工作人員及相關支援人員必須接受操作病原微生物之防護措施及操作訓練。實驗室工作人員每年應有更新之生物物質安全資料表及工作守則以資參考及遵循，若有任何程序或步驟修訂時，實驗室相關工作人員則須接受再教育訓練。

實驗室安全組織與管理

根據我國傳染病防治相關行政法規「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」相關條文規定「持有、保存或使用感染性生物材料之機構」(以下簡稱設置單位)，其感染性生物材料區分為二級以上且其人員達五人以上者，應設生物安全委員會管理；其人員未達五人者應指定專人管理」。前項委員會及專責人員，應報中央主管機關（行政院衛生署）核備，並副知地方主管機關（各縣市政府衛生局）。

生物安全委員會之任務敘明如下：

- 一、持有、保存、異動或使用第二級以上危險群微生物之感染性生物材料之同意與督導。
- 二、使用感染性生物材料之實驗室生物安全等級之審議。
- 三、感染性生物材料及實驗室生物安全缺失改善督導及內部稽核。
- 四、生物安全訓練之指導。
- 五、生物安全緊急應變計畫之審議。
- 六、生物安全意外事件之處理、調查及報告。
- 七、實驗室啓用或關閉之審議。
- 八、生物安全爭議問題之審議。
- 九、其他有關感染性生物材料管理事項之審議。
- 十、前項內部稽核每年至少辦理一次。

對於第二級感染性生物材料有新增、銷毀、寄存或分讓等異動情事時，其持有人應填寫感染性生物材料異動單，並取得該設置單位生物安全委員會之同意。第三級以上感染性生物材料有前項所稱異動情事時，除依前項規定辦理外，並應先報請中央主管機關核備後，始得為之。

有關於第二級以上感染性生物材料之保存場所，應符合下列規定：

- 一、由專責人員負責管理。
- 二、設門禁管制。
- 三、備有感染性生物材料清單。

中央主管機關對於感染性生物材料清單，得視需要會同相關機關進行查核。設置單位使用第三級以上感染性生物材料，應檢附相關文件，報中央主管機關核備後，始得為之；異動時亦同。中央主管機關得不定期對使用第三級以上感染

性生物材料之實驗室進行查核。查核所列缺失，實驗室應限期改善；逾期末改善者，中央主管機關得要求實驗室停止運作。

對於新設立之生物安全第三等級以上實驗室，應經該設置單位生物安全委員會同意，並報中央主管機關（行政院衛生署）核備後，始得啓用。中央主管機關於有重大安全疑慮時，得要求全部或部分設置單位停止相關感染性生物材料之使用或停止實驗室之運作。前項感染性生物材料或實驗室，於設置單位確認安全無虞，並經設置單位生物安全委員會同意後，得報中央主管機關核備重新使用。

### 緊急應變計畫

我國對傳染性病原微生物或感染性生物材料管理採取設置許可方式，非設置單位不得申請輸出(入)。輸出(入)感染性生物材料時，應檢具申請書，向中央主管機關申請。運送感染性生物材料或傳染病病人檢體時，因意外導致感染性生物材料或檢體發生外溢之情事，運送人員應立即通知地方主管機關，為必要之處置。

同時根據「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」規定，設置單位應建立生物安全緊急應變計畫，內容應包括：

- 一、緊急應變小組及任務。
- 二、意外事件等級鑑定及風險評估。
- 三、意外事件處理程序、通報機制及警示系統。
- 四、緊急應變物資庫存管理。
- 五、緊急醫療救護程序。
- 六、應變人員安全防護基準。
- 七、緊急應變疏散程序及措施。
- 八、災害區域清消整治及善後處理措施。
- 九、意外事件訓練及模擬演練。

設置單位發生生物安全意外事件時，應立即依緊急應變計畫處理，並依前項規定通報；附表二為我國相關法規規定之「生物安全意外事件等級說明、通報及處理」規定事項。

### 結論

我國爆發實驗室「嚴重急性呼吸道症候群」(SARS)感染事件後，凸顯了我國實驗室生物安全議題，不安全的實驗設施與危害認知不足的實驗室工作人員將是導致傳染性病原微生物外洩擴散的最大潛在威脅所在，世界衛生組織建議我國，應特別加強實驗室生物安全及感染性生物材料儲存問題。其主要內容包括：高風險性病原微生物應在適當「生物安全防護實驗室」環境下操作；並應妥善保存在具相當生物保全（Biosecurity）防護措施之場所；加強人員教育訓練，提昇實驗室工作人員危害認知能力；實驗室發生意外事件，應立即通報適當的主管機關，因意外暴露在病原微生物下的實驗室工作人員亦應實施隔離觀察等建議，這些都是值得所有實驗室工作相關人員深切注意。

實驗室生物安全工作有賴於實驗室安全設施、設備等硬體層面及優良實驗室操作規範等軟體管理層面，二者互補方能建構良好實驗室生物安全文化。

#### 參考文獻

- 1.Laboratory biosafety manual,3rd edition (2004) ,Geneva:World Health Organization.
- 2.Biosafety in microbiological and biomedical laboratories(1999) , Washington,DC:U.S. Government Printing Office.
- 3.Laboratory biosafety guideline,2<sup>nd</sup> edition (1996) ,Ottawa:Health Canada.
- 4.Laboratory biosafety guideline,3rd edition (2004) ,Ottawa:Health Canada.
- 5.Containment standards for veterinary facilities(1996) ,Ottawa:Agriculture and Agri-food Canada.
- 6.生物安全第三等級實驗室安全規範，(2004)，台北:行政院衛生署疾病管制局。
- 7.感染性生物材料管理及傳染病人檢體採檢辦法，(2005)，台北:行政院衛生署。

附表一 危險群與生物安全等級、操作規範及設備對照表

危險群	生物安全等	實驗室類型	實驗室操作規範	安全設備
RISK	級	LABORATORY	LABORATORY	SAFETY
GROUP	BIOSAFETY	TYPE	PRACTICES	EQUIPMENT

	LEVEL			
第一級 1	第一等級 Biosafety Level 1	基礎教學、研究 Basic teaching, research	優良微生物學技術 GMT	無，開放式工作檯 None; open bench work
第二級 2	第二等級 Biosafety Level 2	初級衛生服務、 診斷服務、研究 Primary health services; diagnostic services, research	優良微生物學技術 加上防護衣、生物危 害標誌 GMT plus protective clothing, biohazard sign	開放式工作檯加上防 止氣霧外流之生物安 全櫃 Open bench plus BSC for potential aerosols
第三級 3	第三等級 Biosafety Level 3	特殊診斷服務、 研究 Special diagnostic services, research	同第二等級加上特 殊防護衣、進入管制 及定向氣流 As Level 2 plus special clothing, controlled access, directional airflow	生物安全櫃及(或)其 他所有實驗室工作所 需要之基本裝置 BSC and/or other primary devices for all activities
第四級 4	第四等級 Biosafety Level 4	具危險性之病原 體 Dangerous pathogen units	同第三等級加上氣 密門、出口淋浴及廢 棄物之特殊處理 As Level 3 plus airlock entry, shower exit, special waste disposal	三級生物安全櫃或二 級生物安全櫃並穿著 正壓防護衣、雙門高壓 蒸氣滅菌器(穿牆式) 及經過濾之空氣 Class III BSC, or positive pressure suits in conjunction with Class II BSCs, double-ended autoclave (through the

				wall), filtered air
--	--	--	--	---------------------

附表二 生物安全意外事件等級說明、通報規定及處理

意外等級	說明	通報規定	處理
第一級	意外發生於實驗室防護設備內（例如在操作實驗時，具高感染性檢體翻灑於生物安全櫃中），不致對人員生命造成立即性危害。	應向實驗室主管報告並書面記錄。	依設置單位之實驗室生物安全緊急應變計畫內容（生物安全意外事件處理程序）處理。
第二級	意外發生於實驗室防護設備外之其他區域（例如拿取高感染性檢體，不慎掉落實驗室地板，造成濺灑），對人員生命及實驗室內部環境有危害及污染之虞。	應向實驗室主管報告並書面記錄。如有人員感染或傳染之虞，設置單位應向中央主管機關報告。	依設置單位之實驗室生物安全緊急應變計畫內容（生物安全意外事件處理程序）處理。必要時，可請求相關主管機關協助。
第三級	意外發生且已擴散到實驗室以外區域（例如強震造成生物安全第三等級實驗室負壓失效，且感染性生物材料翻灑於實驗室地板），對人員生命及實驗室週遭社區民眾及環境有嚴重危害及污染之虞。	應向實驗室主管報告並書面記錄。設置單位應立即向中央主管機關報告。	依設置單位之實驗室生物安全緊急應變計畫內容（生物安全意外事件處理程序）處理。必要時，中央主管機關得統籌指揮相關主管機關配合處理。

