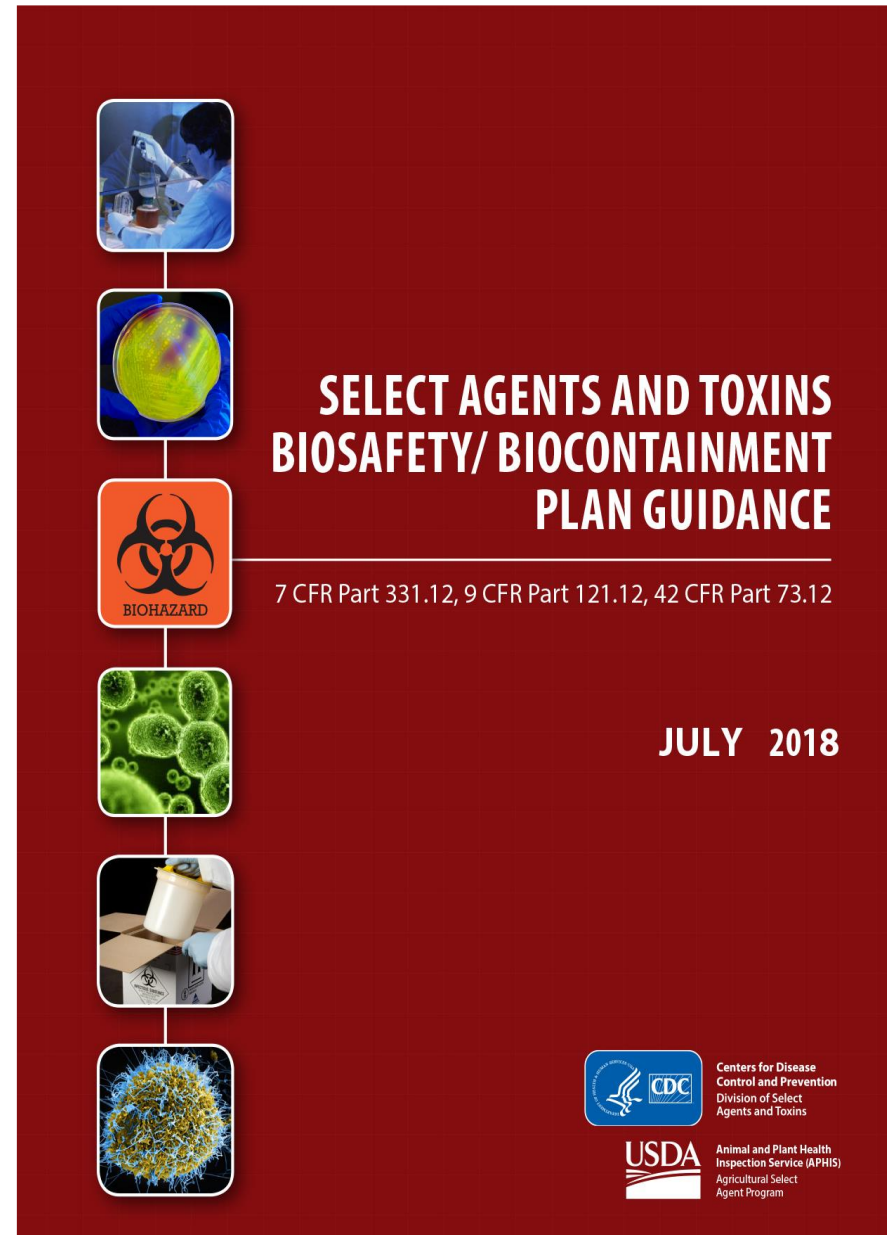


管制性病原及毒素生物安全/生物防護計畫指引

目的


- 為協助使用管制性病原及毒素之實驗室研訂適當之生物安全/生物防護計畫，故訂定本指引，以供參照遵循




**SELECT AGENTS AND TOXINS
BIOSAFETY/ BIOCONTAINMENT
PLAN GUIDANCE**

7 CFR Part 331.12, 9 CFR Part 121.12, 42 CFR Part 73.12

JULY 2018

 Centers for Disease Control and Prevention
Division of Select Agents and Toxins

 **USDA**
Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)
Agricultural Select Agent Program

生物安全/生物防護計畫內容包括

- 設置單位持有管制性病原及毒素之危害特性
- 防止暴露於管制性病原及毒素之保護措施
 - 工程控制(Engineering controls)
 - 圍堵設備(Containment equipment)
 - 封閉與隔離(Enclosure and Isolation)
 - 行政控制(Administrative Controls)
 - 工作實務(Work Practices)
 - 個人防護裝備(Personal protective equipment)
- 管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀
- 管制性病原及毒素於共用空間之處理

管制性病原及毒素之危害特性

- 計畫應包含設置單位各項病原或毒素的危害特性，以及管制性病原或毒素相關之實驗室程序產生之生物安全/生物防護風險。
 - 各種病原或毒素的危害特性，以及管制性病原或毒素相關之實驗室程序產生之生物安全/生物防護風險，可參考疾病管制署「生物安全第一等級至第三等級實驗室安全規範」，以及科技部「基因重組實驗守則」。
- 計畫中應詳述在實驗室操作多種管制性病原之交叉汙染危害，以防止病原間之交互汙染。

其他生物安全/生物防護計畫參考資料

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)
- NIH Guidelines for Research Involving Recombinant or Synthetic Nucleic Acid Molecules (NIH Guidelines)
- Guidelines for Avian Influenza Viruses (AgSAS)
- Occupational Health Program Guidance (CDC/USDA)
- Laboratory Safety Guidance (OSHA, Occupational Safety and Health Administration)
- Guidance for Select Agent Regulation Training Requirements (CDC/USDA)

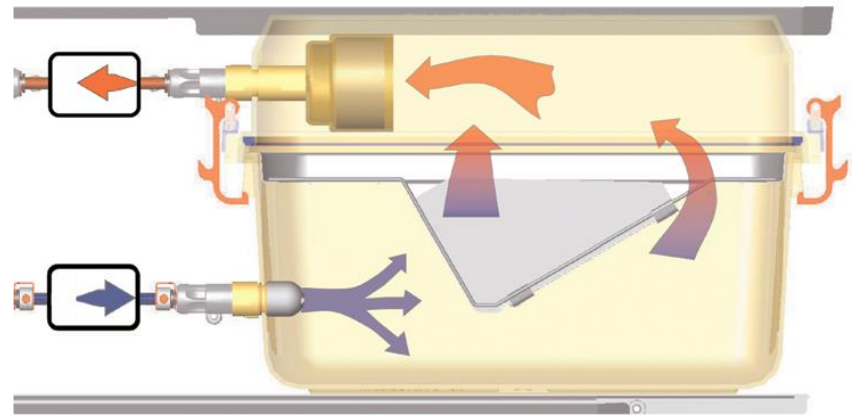
Select agent or toxin	Endemicity information	Infectious dose	Laboratory safety & containment recommendations	Treatment	Disinfectants
Bacillus anthracis, B. anthracis Pasteur strain, B. cereus Biovar anthracis	Anthrax in animals is widely endemic in parts of Asia, Africa, Mexico, and Central and South America. Since 1990, animal outbreaks of anthrax in the U.S have occurred in the Midwest, the West and in Texas and Oklahoma.	8,000 to 50,000 organisms by inhalation	BSL-2/ABSL-2 practices for activities involving clinical materials of human or animal origin; BSL-3/ABSL-3 for all manipulations of cultures and for experimental animal studies	Susceptible to penicillin (except for inhalation anthrax in which the mortality remains high); ciprofloxacin, doxycycline, tetracyclines, erythromycin, chloramphenicol	Spores are resistant to many disinfectants; susceptible to 2% glutaraldehyde formaldehyde and 5% formalin
Botulinum neurotoxins	Worldwide	Estimated oral or injected toxic dose (serotype A) of 0.001 µg/kg body weight, and an estimated lethal dose by inhalation exposure in humans of approximately 0.07 µg/kg body weight	BSL-2 practices, containment, equipment, and facilities for routine dilutions, titrations, or diagnostic studies; BSL-3 practices recommended for aerosol or droplet production and handling of large quantities	Heptavalent Botulinum Antitoxin (HBAT)	Susceptible to many disinfectants -1% sodium hypochlorite, 70% ethanol; solution of 0.1% sodium hypochlorite or 0.1N NaOH inactivates toxin
Botulinum neurotoxin producing species of Clostridium	Worldwide	Cells/spores are not normally toxic for healthy adults	BSL-2/ABSL-2	Susceptible to penicillin, metronidazole, clindamycin, cephalothin, cefoxitin, cefotaxime, chloramphenicol, tetracycline, erythromycin, rifampin, and vancomycin	The vegetative state is susceptible to disinfectants such as 70% ethanol, 0.1% sodium hypochlorite, and 0.1N NaOH. Spores may be resistant to disinfectants.
Brucella abortus, B. melitensis, & B. suis	Worldwide	10-100 organisms	BSL-2/ABSL-2 practices for activities involving clinical materials of human or animal origin; BSL-3/ABSL-3 for all manipulations of cultures and for experimental animal studies	Susceptible to tetracyclines and streptomycin or TMP-SMX; therapy usually consists of a combination of doxycycline and streptomycin	Susceptible to many disinfectants -1% sodium hypochlorite, 70% ethanol, iodine/alcohol solutions, glutaraldehyde, formaldehyde

防止暴露於管制性病原及毒素之保護措施

- 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，以保護人員、公眾與環境，避免暴露於管制性病原或毒素，包括：
 - 工程控制，例如圍堵設備，包括：
 - 生物安全櫃(Biological safety cabinets)
 - 動物飼育系統(Animal caging systems)
 - 安全離心容器(Centrifuge safety containers)
 - 行政措施，例如：疫苗注射及制定生物安全計畫與程序
 - 安全且合適的作業方法(工作實務)
 - 個人防護裝備(PPE)



www.labconco.com



animalLABNEWS March • 2007

效果最大

工程控制

通風、取代、消除危險

行政措施

輪流工作降低暴露時間，訂定職業衛生計畫

工作實務

改變不安全的工作模式
或利用新的工具

個人防護裝備

人工呼吸器，手套，
聽力保護器

效果最小

工程控制

- 設置單位應盡可能設計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：
 - 規劃設施、設備或程序以移除危害。
 - 封閉危害以防止正常運作時暴露。
 - 建立屏障或局部換氣以降低正常運作時危害暴露。
- 工程控制的基本類型：
 - 程序控制。
 - 封閉與/或隔離。
 - 通風。

工程控制的範例

- 通風/排氣或HVAC必須提供安全、舒適、適於呼吸的環境，並且減少暴露於具危險性之污染空氣。BSL-3與BSL-4實驗室空氣可能受到污染，必須直接排放到外部。排放的室內空氣以HEPA過濾，以防止危害物被釋放到外部環境。HVAC排氣系統的必須能滿足室內以及所有防護設備的排氣要求。供氣必須足夠，以確保排氣系統運作正常。
- 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物質。
- 污水除污系統可將來自生物防護實驗室或其他設施污水消毒後再排放。
- 焚化爐、鹼水解消化鍋，以安全地處理感染動物的大型屍體。

感染性動物屍體處理設備

- 焚化



- 鹼水解



圍堵設備/設施

- 初級圍堵：直接與生物危害物質接觸之第一層容器，以及利用其他方法來保護工作人員與實驗室環境避免直接暴露於感染性病原。
 - 適當的儲存容器
 - 生物安全櫃
 - 動物/節肢動物飼育籠系統
 - 離心安全容器(sealed centrifuge rotor caps)
- 二級圍堵：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。二級防護包含分隔實驗室工作區域與公共通道、提供除汙設備(例如高溫高壓滅菌器)、分隔乾淨與汙染走道、雙重門通道、氣閘以及洗手設施。

封閉與隔離



- 封閉是以“物理性”保持管制性危害物遠離工作人員。封閉式設備平常是緊密的，只有在傳遞樣本/動物或進行清潔與維護才開啟。封閉式動物飼育系統及 Class III 生物安全櫃皆屬之。打開進行維護時若未採取適當的防護措施，則可能會發生暴露。封閉也必須妥善維護以防止洩漏。
- 隔離是以“地理性”安排危害過程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汙染區域。

行政措施

- 行政措施是降低人員暴露工作場所危害的程序。例如：減少人員工作日程與作業、人員教育訓練、進出管制、實施預防注射及制定計畫與程序等。計畫應闡明以下事項：
 - 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/生物防護等級取決於正在進行工作的風險。
 - 例如，對於疑似*Francisella tularensis* 菌株之所有操作，建議以BSL-3實驗室規範、防護設備及設施進行。而對於*Bacillus anthracis*、*Burkholderia mallei*、*Burkholderia pseudomallei*與*Yersinia pestis*之臨床材料診斷操作，建議以BSL-2實驗室規範、防護設備及設施進行，而其他涉及增殖或具產生氣膠風險的實驗操作則應在BSL-3執行。
 - 在格外具危害的操作(例如，蓄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。

工作實務

- 工作實務應包含有關降低風險的活動或程序(例如：洗手、濺出處、維持乾淨/髒污空間概念等)。若程序有變更應進行監視，以確保變更後的結果具較低風險。計畫應敘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。
 - 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。
 - 詳細描述所有生物物質(遭管制性病原感染之屍體、組織)直到最終銷毀前(如高溫高壓滅菌、焚燒等)的適當防護。
 - 描述監視動物意外感染程序。
 - 描述確保防護動物意外暴露或感染管制性病原程序。訂定這些程序的考量因素，包括：動物發生意外從感室廢棄物從管制性病原區域至非管制性病原區域之移動、人員導致意外暴露。
 - 管制性病原感染動物若採開放式籠飼，室內遭管制性病原污染的可能性仍會增加。除非證明透過程序或設施強化來緩解。

個人防護裝備(PPE)

- 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聚焦於：
 - 呼吸系統的保護
 - 眼部與臉部的保護
 - 頭部的保護
 - 聽力的保護
 - 手部/手臂的保護(手套或袖子)
 - 足部的保護
 - 全身防護

Personal Protective Equipment



- Gloves
- Coats
- Gowns
- Shoe Covers
- Boots



- Respirators
- Face Shields
- Safety Glasses
- Safety Goggles
- Hearing Protection



<https://image.slidesharecdn.com/brucellosiskozlovac-130618083904-phpapp01/95/laboratory-biosafety-and-biosecurity-issues-related-to-brucella-research-and-diagnostics-10-638.jpg?cb=1460628628>

個人防護裝備(PPE)

- 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媒介，以及該等衣物應如何清潔、消毒或處理)。
- 應教育工作人員，除了在防護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，如何使用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穿戴的個人防護裝備。

生物安全-個人防護裝備(PPE)要求

BSL-1	<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汙染。• 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。
BSL-2	<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。
BSL-3	<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。
BSL-4	<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。

管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀

- 生物安全/生物防護計畫必須包含用於對所有受汙染或懷疑汙染的物質進行消毒、除汙或銷毀之驗證方法的書面程序，其中包括：
 - 與管制性病原或毒素增殖有關的培養物及其他物質
 - 與管制性病原及/或毒素分析有關物品
 - 個人防護裝備
 - 動物飼育籠系統
 - 動物屍體或採取的組織與液體
 - 實驗室表面與設備
 - 運送容器的表面
 - 廢液

管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀



- 書面程序的訂定與實施應基於以下原則：
 - 進行實驗室表面除汙程序時，應遵守消毒藥劑製造商所規定的濃度與接觸時間，以有效對管制性病原及毒素物質除汙。
 - 確保程序遵循設備製造商關於其設備相容消毒藥劑之指引。
 - 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)，以及適用於所產生廢棄物類型之容器，制定廢棄物管理程序。
 - 詳細描述重複使用的尖銳器具除汙之安全程序(例如：Hot bead)。
 - 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。
 - 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)。

管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀

- 描述驗證除汙設備正常運作的方法，以及驗證執行頻率(即生物指示劑[BIs]、週期參數之確認)。
 - 針對高壓滅菌器驗證：生物指示劑或參數監測器應置於高於預應驗之溫度(例如，凍的屍體需要比未凍屍體更長)。
 - 化學除汙：使用化學物，說明其用途，並須於儲存時，說明其用途，並須於儲存時，說明其用途。

管制性病原及毒素之消毒、除汙或銷毀

- 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過氧化氫、多聚甲醛、二氧化氯等蒸氣進行空間燻蒸)。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。
 - 用於去活化管制性毒素的燻蒸方法，須使用公告或驗證過的方法。
 - 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。
- 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。
- 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。
- 描述何時應對實驗室表面與設備進行除汙。

管制性病原及毒素於共用空間之處理

- 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，以防止意外的汙染，例如：
 - 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。
 - 如何讓人員隨時得知特定房間或實驗室的狀態。
 - 同時進行重組(Reconstructed) 1918年流感病毒和高致病性禽流感病毒之任何操作。
 - 在研究/實驗/程序結束時，所有樣本進行滅菌。

管制性病原及毒素於共用空間之處理

- 應採取預防措施以防止細胞培養之病毒類管制性病原的交叉汙染。
- 防止管制性病原培養物之間意外轉移的方法：
 - 在生物安全櫃內進行所有的細胞培養操作。
 - 每次工作只操作一種管制性病原。
 - 於操作管制性病原與毒素間，以消毒劑對生物安全櫃表面進行除汙。
 - 變更操作的管制性病原時，更換手套。
 - 分裝生長培養基及其他試劑，以利同一容器不至於用於多種管制性病原。

	Mitigating Factors (A risk assessment for each experiment is necessary, as well as risk communications)						
Procedural Risks*	PPE	BSC/ Primary Containment	Engineering Controls/Secondary Containment	Biosafety SOP(s)/ Training	Occ. Health Plan	Gasket on Lid	Notes
Propagation	X	X	X	X			
Lack of Appropriate Immunizations					X		
Vortexing	X	X	X				
Centrifuging	X	X	X	X		X	Use safety cup (if available)
Sonication	X	X	X	X			Use hearing protection
Pipetting	X	X	X	X			
Blending	X	X	X	X			
Homogenizing	X	X	X	X			
shakes	X	X	X				
Lyophilization	X	X	X	X		X	
Flow Cytometry/ Culture Manipulation	X	X	X	X			
Automated plating/ Plate washing	X	X	X	X			
Spills/Splashes/Sprays	X	X	X	X			Use spill kit
Mouth pipetting and other ingestion forms	X			X	X		

Aerosol Producing

		Mitigating Factors (A risk assessment for each experiment is necessary, as well as risk communications)					
Procedural Risks*	PPE	BSC/ Primary Containment	Engineering Controls/Secondary Containment	Biosafety SOP(s)/ Training	Occ. Health Plan	Gasket on Lid	Notes
Cell Line/Culture manipulation	X	X	X	X			
Pressure column chromatography	X		X	X			Avoid using glass columns when possible
Animal Work	Injection Procedures	X			X		
	Loosely Housed	X	X	X	X		
	Aerosol Exposure	X	X	X	X		
	Bedding changing and disposal procedures	X	X	X	X		
	Necropsy/ Harvesting tissues	X	X	X	X		
	Animal Bites	X	X	X	X		
	Use of Sharps	X			X		
Inadequate Training				X			
Inadequate Safety Equipment				X			
Inadequate Facilities			X	X			
Waste Handling and Inactivation Procedures	X		X	X			
Decontamination	X			X			
Selection and Use of PPE				X			
Inadequate Signage/ Labeling				X			