

生物安全防護

前 言

微生物研究檢驗除了提供正確的研究數據與檢驗結果之外也應注意在研究檢驗過程中所伴隨發生的環境汙染（contamination）與感染的危險（bioharard），尤其是含有高度危險性病原體的檢體，所謂生物傷害是指由生物本身或其產物或其衍生物所造成的傷害。因此在處理檢體或病原微生物時除了習得專門知識與技術之外也應熟知防止感染的方法及制訂一些防止汙染的設施。病原體處理不當不只會感染該當實驗者，同時也會使同仁受到感染甚至汙染周遭環境以及處理廢棄物與周邊的人。

要防止感染事故的發生必須注意下列事項

1. 應將所有的檢驗檢體視同感染性物質處理。
2. 實驗操作者應認清病原體的危險度。
3. 訓練病原體的基本處理技術。
4. 實驗室的安全防護設備。
5. 生物安全教育。

生物安全的因應對策

應將所有的檢驗檢體視同感染性物質處理

1. 處理檢體時應準備保護性防護裝備，如防護衣、手套、護目鏡、N95 口罩等。
2. 針頭不可回套（除非不得已在實驗室盡量不使用尖銳的器材）。
3. 操作過程中應防止產生生物性飛沫。
4. 工作完成後應用 2% 或 5% 的漂白水擦拭桌面消毒。

5. 實驗材料污染到地面或任何物體表面時均需用 2% 或 5% 的漂白水噴灑後才能處理，處理時必須帶橡皮手套，嚴禁徒手處理。

病原體的危險度

基本上分成四級，即使是二級病原體也會因個人的健康狀態及微生物量而有不同。病原體會因生物學特性，病原性，抗藥性及感染方式而有不同應特別注意。病原體的危險度分類基準如表一所示。

訓練

二級以上病原體必須有實驗室負責人的制度（必須由受過微生物專業訓練的副教授或副研究員以上人員充任），對無實際操作經驗的實驗室工作人員應先行事前教育及訓練才能負與工作。尤其對新進人員應先提供無毒性或弱毒性之微生物以訓練無菌操作、培養、保存及滅菌處理等基本技巧。除此之外，也應教育吸管的安全操作方法，離心時如何防止氣體產生、如何防止被針插傷、消毒滅菌方法、實驗器具的滅菌及廢棄物的處理等有關生物安全的基本知識。

實驗設備及安全管理

為防止病原性微生物感染實驗操作者以及對周遭環境造成汙染，微生物依病原體的危險度應設立專用實驗室並充實各項實驗設備。因此實驗室必須與休息室分開，在管理上不得在實驗室內休息，或將使用過的實驗器材或實驗衣帶入休息室，亦不得將食品帶入實驗室，冰箱內不得存放食品、飲料。實驗室依病原體危險度的不同應有不同的隔離設施，我們將此種設施稱為物理性隔離（physical containment），目前依其設施的不同分成 P-1，P-2，P-3 及 P-4 等四級，其結構如表二。

各種微生物實驗的安全因應對策

檢驗

收取檢體時應先觀察檢體輸送箱或放置檢體材料的裝備是否完整，是否有倒置，若有檢體材料外溢時應先帶上手套、護目鏡及口罩後小心取出並經擦拭消毒放置在無菌的容器內再進行檢驗步驟。取出檢體材料後應 2%（若有血液檢體應改用 5%）的漂白水噴灑消毒後才能歸還原單位，以上操作均應在安全操作箱內進行，檢驗時也是一樣均應注意安全防護包括生物材料的消毒及滅菌，做完實驗或檢驗後，除了人之外，原則上均應經過高壓滅菌處理，文具類不得攜出室外，若要攜出必須先用 75% 的酒精消毒始能攜出，離開實驗室時雙手應先用酒精擦拭後始能離開，接著再用藥用肥皂洗淨。

增殖實驗

不論是在實驗動物或培養細胞進行感染實驗，或自微生物萃取成分時均需大量培養微生物，有時也會因實際的需求，要用離心機濃縮微生物時，均必須小心翼翼，尤其是離心時常會造成實驗材料的氣霧化（微粒水滴中微生物的飛散），因此在進行離心時應注意以下幾點：

1. 實驗材料注入離心管時不得產生氣泡。
2. 離心管內的培養液不得超過全體量的 2/3。
3. 完成離心後離心管應放置一段時間才能打開蓋子，以防管內材料飛濺，同時在打開蓋子之前需先用消毒用酒精擦拭消毒。
4. 在填充材料或打開管蓋時，依實驗材料危險度的不同，必須在安全操作箱內進行。

安全操作箱不得與清潔操作箱混合使用。安全操作箱是防止實驗（操作）者與受到污染而設計，因此空氣必須經過 HEPA 過濾。安全操作箱依其構造及性能分成 class 1, class 2a 與 b, 以及 class 3 四種。清潔操作箱是防止實驗材料受污染而設計。

萃取實驗

自微生物取出某種成分(如蛋白質,脂質,核酸等)稱為萃取，因此在萃取

時需使用大量的微生物，而後再藉物理學（如超音波、均質器等）、化學（酵素）及生物學等方法萃取，其中以物理學方法萃取時，最容易產生氣霧化及材料飛濺而造成汙染與感染，此外在填充或裝微生物材料時，也很容易產生氣霧化，因此實驗者除了應小心防止之外，也必須穿著防護裝備，以防不測，所有使用過的材料器具均應做適當的消毒後，始能攜出實驗室進行更徹底的消毒滅菌，做完實驗或檢驗後應開啓殺菌燈。

感染實驗

為調查微生物的病原性，通常均需進行實驗動物及培養細胞的感染實驗。實驗動物感染實驗包括接種、採血、手術及解剖等，在進行動物時最容易造成意外感染或造成汙染，因此均需在獨立的動物實驗室進行（必須在動物專用的實驗室，禁止在一般的 P3 級實驗）。

為了瞭解微生物的病原性，必須進行實驗動物或培養細胞感染實驗。在進行動物感染實驗時（包括接種、採血、手術、解剖等）均應在動物實驗室附設的無菌室內進行，所有使用過的器具均應徹底執行滅菌工作，因為實驗動物會增強病原微生物的毒性，至於培養細胞感染實驗也應比照辦理。

事故的處理

在實驗或檢驗過程中若被尖銳的器具刮傷或刺傷或皮膚接觸到材料時應隨即停止工作，先做局部清洗並加以消毒同時應即向實驗室負責人報告。

非常時期的因應對策

火災

在實驗過程中應避免使用引火性的溶媒（如酒精），實驗室應隨時準備化學性滅火器，萬一不幸有火災發生時，除以人命為第一優先之外，應盡量先用化學性滅火，在不得已的情況下才用噴水滅火，以防病原體隨水流造成擴大感染。若使用瓦斯時，應先檢視瓦斯管是否破裂或

漏氣情況發生，否則一開燈會因火花造成實驗室爆炸（尤其在進入實驗室之際應特別注意）。

停電

實驗室基本上應有防震功能設計，臺灣屬地震帶，因此進入實驗室時，腦中均應隨時有發生地震的觀念，除了上述的逃生之外，所有的實驗材料器材均應放置穩固，而且不得放在桌面邊緣或容易掉落之處。

地震

二級以上病原體必須有實驗室負責人的制度（必須由受過微生物專業訓練的副教授或副研究員以上人員充任），對無實際操作經驗的實驗室工作人員應先行事前教育及訓練才能負與工作。尤其對新進人員應先提供無毒性或弱毒性之微生物以訓練無菌操作、培養、保存及滅菌處理等基本技巧。除此之外，也應教育吸管的安全操作方法，離心時如何防止氣體產生、如何防止被針插傷、消毒滅菌方法、實驗器具的滅菌及廢棄物的處理等有關生物安全的基本知識。

消毒與滅菌

消毒、滅菌與無菌操作是防止生物傷害的基本對策。所謂消毒（disinfection）是指消滅病原體的病原性（毒力、感染力）。滅菌（sterilization）是指將所有的微生物（包括病原性或非病原性）消滅排除之意。防腐（antisepsis）用化學藥劑將皮膚表面或其他活性組織之微生物排除或抑制，但不具殺孢子活性。殺菌劑（germicide）用化學藥劑將將微生物殺死，但孢子仍可存活。有關消毒與滅菌的種類及方法與代表性消毒藥的使用、性質及使用範圍如圖一、及表三及表四所示。

消毒方式的選擇

1. 殺微生物的程度。
2. 消毒對像物的性質。
3. 使用時的方便性。
4. 安全性。
5. 經濟性。

消毒效果的評估

1. 微生物的種類。2. 微生物的量。3. 有機物的含量。4. 對像物的型別及結構。5. 殺菌劑的類別及濃度。6. 暴露的時間及濕度。7. 酸鹼值 (pH 值)。8. 環境的濕度。

生物性廢棄物

1. 應依廢棄物種類分類。
2. 必須集中放入容器內並標示。
3. 應防滲漏。
4. 不可將醫療廢棄物放在辦公室的垃圾桶內。
5. 應將尖銳的物品放入特定的容器內。
6. 高壓滅菌時應將袋口鬆綁或將容器蓋打開。
7. 應將廢棄物滅菌後在移到室外。

緊急應變

個人

1. 用肥皂清洗暴露部位，洗眼睛或用生理食鹽水漱口。
2. 緊急處理污染部位並做簡單治療。
3. 儘速送醫。
4. 告訴負責人（長官）及同仁（工作伙伴）。

污染處

1. 劃出污染範圍。
2. 示警。
3. 隔離危險區。

撰稿者：陳豪勇

表一、病原體之生物傷害分類基準

病原體級數	分類基準	所屬病原體
第一級 (BL-1)	對個體及社區成員具低危險性者 不會使人類致病或在獸醫學上對動物不屬重要疾病者均屬之。	病毒：減(弱)毒疫苗病毒(痘病毒除外)。
第二級 (BL-2)	對個體具中等危險性，對社區成員可造成輕度危險者 對人類或動物雖具致病性，但對實驗工作者、社區成員、家畜及環境等不會造成重大傷害者，或在實驗室內雖可造成較嚴重之感染症，但卻有有效的治療方法或有疫苗可資預防者，以及傳播性低者均屬之。	病毒：腺病毒、肝炎病毒(A-E)、人類疱疹病毒、人類T細胞白血病毒、流行性感冒病毒、日本腦炎病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、德國麻疹病毒、登革病毒、腸病毒、愛滋病毒 1、2 型。 細菌：大腸菌(包括O157)、腦膜炎雙球菌、百日咳桿菌、痢疾桿菌、破傷風桿菌、退伍軍人桿菌、葡萄球菌、霍亂弧菌。 黴菌：曲黴菌、白色念珠菌。 寄生蟲：阿米巴痢疾、弓漿蟲、單胞絛蟲。
第三級 (BL-3)	對個體具高度危險性，但對社區成員具低危險性 對個人雖可造成嚴重的疾病，但傳播性低者均屬之。	病毒：立克次氏菌(流行斑疹傷寒除外)、漢他病毒(Sin Nombre 除外)、狂犬病毒、小兒麻痺病毒、SARS-Co病毒、west nile 病毒。 細菌：結核桿菌、傷寒桿菌、鼠疫桿菌、炭疽桿菌、MRSA、VRE。 黴菌：組織漿菌、芽生菌。
第四級 (BL-4)	對個體及社區成員均具高度危險性 對人類或動物可造成嚴重疾病，而且可經罹患者傳播給他人者均屬之。	病毒：拉薩病毒、伊伯拉病毒、黃熱病毒、馬堡熱病毒、克里米亞剛果熱病毒、疱疹B病毒、無名漢他病毒(Sin Nombre)、漢都拉病毒(Hendra virus)、立百病毒。 細菌：肺型鼠疫桿菌、流行斑疹傷寒。

表二、 生物安全實驗室之隔離設施

級數	一 次 隔 離	二次隔離	
		建築物及相關設施	營運即操作方式
P1	無	一般微生物實驗室	人員進出無特限制
P2	氣霧性檢體必須在操作箱內進行	要有明顯實驗室的劃分	應限制與操作無關的人員進出
P3	必須在第 I 或第 II 級操作箱內進行	<ol style="list-style-type: none"> 1、需要雙重門將實驗室與外界隔離。 2、實驗室內之表面結構必須可以洗滌及消毒。 3、必須有排氣系統以確保內外氣體之交流。 4、排器必須經過高性能過濾設備才能排出。 5、室內有氣壓差異設施。 	<ol style="list-style-type: none"> 1、實驗室操作人員必須事先登記才能進入。 2、必須更換實驗室內專用實驗衣及專用拖鞋。 3、實驗室內物品搬出時，必須經過滅菌處理。 4、同一時間內不得從事兩種以上不同病原體的實驗工作。 5、必須兩人一組同時進入實驗室，在實驗室內停留的時間以不超過兩小時為宜。
P4	實驗工作必須在第 III 級操作箱內進行	<ol style="list-style-type: none"> 1、實驗室必須為獨立之建築物或有其他隔離區域之劃分。 2、牆壁、地板，天花板必須為一體結構，而且具有耐水性及密閉性。 3、出入口有氣式鎖及更衣洗滌室之設置。 4、室內有氣壓差異設施。外部→緩衝區→實驗室→操作箱依序陰壓。 5、過濾設備：給氣一層，排氣二層。 6、雙門高壓滅菌器。 7、排水必須經 120°C 加壓滅菌。 	<ol style="list-style-type: none"> 1、進入實驗室內必須更換衣物。 2、離開實驗室實須脫去所有衣物，並經過洗滌身體後才能離開。 3、進出實驗室人員必須登記進出時間，嚴禁非實驗操作人員進出。 4、搬出實驗室物品時，必須經過滅菌處理。 5、同一時間內不得從事兩種以上不同病原體的實驗工作。 6、必須兩人一組同時進入實驗室，在實驗室內停留的時間以不超過兩小時為宜。

表三、HIV污染物的消毒（WHO）

處理方法	處理條件
次氯酸鈉	0.5% ， 10-30 分
福馬林	5% ， 10-30 分
酒精	70% ， 10-30 分
戊二醛	2% ， 10-30 分
煮沸	100 ^o C ， 20 分
高壓滅菌	121 ^o C ， 20 分

表四、代表性消毒藥的使用、性質及使用範圍

	使用濃度 (g/l)	作用時間 (分)	有效範圍	主要性質	使用範圍
		含一般微生物。 含脂質病毒。	營養型細菌。 含脂質病毒。 不含脂質病毒。 細菌芽胞。	對呼吸器官的刺激。 對眼睛的刺激。 對皮膚的刺激。 有機物質的影響。 殘留效果。 腐蝕性。 有效時間一週間以上	淨。玻璃器具的滅菌、洗 作業表面的消毒。 廢水消毒。
4 級胺	1~2	10 NE	+ +	+ + + +	+ + +
石炭酸化合物	10~50	10 NE	+ + *	+ + + +	+ + +
次氯酸鈉	5~10	10 30	+ + + +	+ + + + + +	+ + + +
碘酒	0075~16	10 30	+ + + +	+ + + + + +	+ + +
酒精	700~850	10 NE	+ + *	+ + +	+ + +
異丙基酒精	700~850	10 NE	+ + *	+ + +	+ + +
福馬林	氣體濃度 2~80	10 30	+ + + +	+ + + + + +	+ + +
戊二醛	20	10 30	+ + + +	+ + + + +	+ + +

*依病毒種類而有不同 NE=無效

圖一、消毒與滅菌的種類

