



操作感染性生物材料之生物安全考量



食品工業發展研究所 生物資源保存及研究中心 張育甄

Content

實驗室生物安全

- 生物安全的重要性
- 生物安全分級管制

生物安全風險管理

- 實驗室生物危害分析
- 生物安全風險管理

我國BSL-2 生物安全實驗室管理現況

Content

實驗室生物安全

- 生物安全的重要性
- 生物安全分級管制

生物安全風險管理

- 實驗室生物危害分析
- 生物安全風險管理

我國BSL-2 生物安全實驗室管理現況

Laboratory Safety Standard Evolution

Evolving Practices



A scientist works with infectious influenza virus without modern personal protective equipment (PPE)



Today, scientists use biological safety cabinets (BSC) and powered air purifying respirators (PAPR) when working with highly pathogenic avian influenza virus

2003 SARS 感染



2014年美國重大實驗室生物安全事件



3

US CDC

某BSL-3實驗室保存之A型低 病原性禽流感 (H9N2)病 毒與高病原性禽流感 (H5N1)病毒交叉污染, 未向上級通報。



7

US NIH

7月被發生所屬某實驗室之老舊 冰櫃存放數瓶標有天花病毒之瓶 子,卻未列入管制。

US CDC

6月

某BSL-3實驗室提供去活化 不完全之炭疽桿菌萃取物, 造成某BSL-2實驗室約86位 工作人員之暴露風險。

12

US CDC

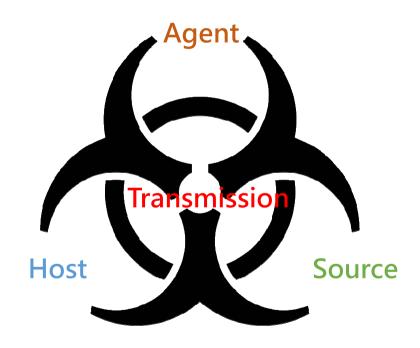
某BSL-4實驗室誤送伊 波拉病毒檢體,造成 某BSL-2實驗室運送及 工作人員之暴露風險。





生物危害 Biohazard

 a biological agent or condition (as in an infectious organism or insecure laboratory procedures) that constitutes a hazard to man or his environment



There are four circles within the symbol, signifying the chain of infection (Agent, Source, Host, Transmission).

生物安全管理三面向

實驗室提供適當操作規範、防 _ 護設備及設施,以避免工作無 意暴露病原或衍生物之危害, 或意外將其釋出

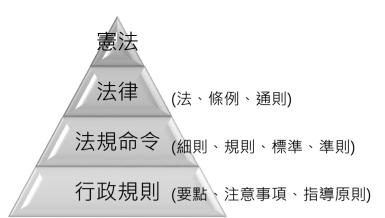
生物安全 Biosafety 生物保全 Biosecurity 生物倫理 Bioethic

實驗室提供適當保護、管制及 責任歸屬,以防止感染性生物 材料未經授權之取得、遺失、 遭竊、濫用、挪用或蓄意釋出

有關生物醫學發展及基因工 程與藥物研發等領域的應用 對於人類倫理道德的影響。

國內生物安全相關法規-1

- · 傳染病防治法 (衛福部)
- 感染性生物材料管理**辦法**(衛福部疾管署)
- 感染性生物材料管理作業要點(衛福部疾管署)
- 管制性病原管理作業要點(衛福部疾管署)
- 生物安全第一等級至第三等級實驗室安全規範 (衛福部疾管署)
- 動物生物安全第一等級至第三等級實驗室安全規範(衛福部疾管署)
- 實驗室生物保全管理規範(衛福部疾管署)
- 實驗室生物安全手冊3.0版 (WHO,衛福部疾管署譯)
- 生物風險管理-實驗室生物保全指引 (WHO,衛福部疾管署譯)
- 感染性物質運輸規範指引 (WHO,衛福部疾管署譯)
- 感染性生物材料暨傳染病檢體輸出入管理規定
- 防疫檢體採檢手冊 (衛福部疾管署)
- 使用無脊椎動物做為病原體宿主或病媒相關研究應注意事項 (衛福部疾管署)



國內生物安全相關法規-2

- 植物防疫檢疫法(農委會動植物防檢局)
- 基因轉殖植物田間試驗管理辦法、基因轉殖植物田間試驗 機構追蹤查驗作業要點(農委會農糧署)
- 基因轉殖水產動植物田間試驗管理規則(農委會漁業署)
- · 人體細胞組織優良操作規範(衛福部食藥署)
- · 人體器官組織細胞輸入輸出管理辦法(衛福部)
- · 基因治療人體試驗申請與操作規範 (衛福部)
- ・ 體細胞治療人體試驗申請與操作規範 (衛福部)
- · 臍帶血收集及處理作業規範(衛福部)
- 學校實驗室場所安全衛生管理要點 (教育部)
- 基因重組實驗守則 (科技部)
- 職業安全衛生法、職業安全衛生設施規則(勞動部)
- 廢棄物清理法、毒性化學物質管理法(環保署)

感染性生物材料定義與管理

傳染病防治法 第四條 第4項

本法所稱感染性生物材料,指具感染性之病原體或其衍生物,及經確認含有此等病原體或 衍生物物質。

感染性生物材料管理辦法

第六條

- 設置單位應建立適當之生物安全及生物保全管理機制。
- ●設置單位對於第二級以上危險群病原體及生物毒素之管理,應設生物安全會(以下稱生安會)。但設置單位人員未達五人者,得置生物安全專責人員。

管制性病原管理作業要點

第二條

- 感染性生物材料可區分以下三類:
- 1. 具感染性之病原體:指造成人類感染或疾病之病原微生物 (例如:細菌、病毒、真菌及寄生蟲等)及其培養物(液)。
- 2. **病原體之衍生物**:指經純化及分離出病原體組成成份(例如:核酸、質體、蛋白質等)或 其分泌產物(例如:生物毒素等)。
- 3. **經確認含有病原體或其衍生物之物質**:指經檢驗確認含有某種病原體、或其組成成份或 其分泌產物之傳染病病人陽性檢體(例如:血液、痰液或尿液等)。

病原危害分級 Risk Groups

Classification of infective microorganisms by risk group	Example
Risk Group 1 (no or low individual and community risk) A microorganism that is unlikely to cause human or animal disease.	Bacillus subtilis, Escherichia coli K12, adeno-associated virus (AAV)
Risk Group 2 (moderate individual risk, low community risk) A pathogen that can cause human or animal disease but is unlikely to be a serious hazard to laboratory workers, the community, livestock or the environment. Laboratory exposures may cause serious infection, but effective treatment and preventive measures are available and the risk of spread of infection is limited.	Staphylococcus aureus, Salmonella sp. Herpes simplex viruses, Adenovirus
Risk Group 3 (high individual risk, low community risk) A pathogen that usually causes serious human or animal disease but does not ordinarily spread from one infected individual to another. Effective treatment and preventive measures are available.	Mycobacterium tuberculosis, Bacillus anthracis, HIV
Risk Group 4 (high individual and high community risk) A pathogen that usually causes serious human or animal disease and that can be readily transmitted from one individual to another, directly or indirectly. Effective treatment and preventive measures are not usually available.	Ebola virus, Marburg virus, Lassa virus

感染性生物材料分類

感染性生物材料管理作業要點 第三條

- 感染性生物材料為病原體者,依其致病性、感染途徑、宿主範圍、有無預防及治療方法等因素,區分為第一級危險群(RG1)至第四級危險群(RG4)微生物。
- •但通過相關試驗之疫苗株之危險群等級,視為 RG2 微生物。慢病毒載體(Lentiviral vector)比照 RG2 病原體之管理規定辦理。
- 各級危險群微生物名單正面表列 。

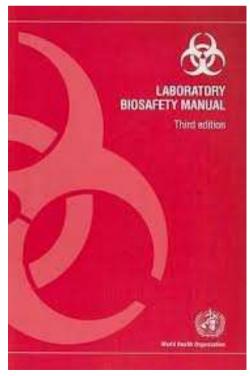
感染性生物材料管理辦法、管制性病原管理作業要點

- 管制性病原:病原體及生物毒素,可能作為生物戰劑或有嚴重影響社會安全之虞者, 應列為管制性病原。
- •1. 高危險管制性病原:指經基因改造,可能增強其致病危害能力,衍生濫用風險之管制性病原。
- 2. 一般管制性病原:指前款以外之所有管制性病原。

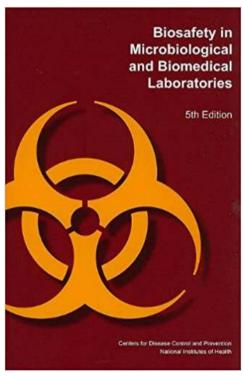
Biosafety Level 生物安全

 Laboratory biosafety describes the containment principles, technologies and practices that are implemented to prevent the unintentional exposure to biological agents and toxins, or their accidental release.

adapted from WHO Laboratory Biosafety Manual (3rd edition)



2004, 3th Edition



2009, 5th Edition

Biosafety Level (BSL) 生物安全分級制

Biosafety Level Definitions

BSL 1 Suitable for work involving well-characterized agents not known to cause disease in healthy adult humans and of minimal potential hazard to laboratory personnel and the environment.

BSL 2 Suitable for work involving agents of moderate potential hazard to personnel and the environment.

BSL 3 Suitable for work with infectious agents which may cause serious or potentially lethal disease as a result of exposure by the inhalation route.

BSL 4 Suitable for work involving exotic infectious agents that pose a high risk of life-threatening disease and can be transmitted as an aerosol and for which there is no vaccine or therapy.

CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (5th Edition 2005)

P: 物理性防護層級(Physical Containment Level)

將重組體隔離在設施或設備內,防止實驗人員和其他物品受到污染,並且防止其向外界擴散

基因重組實驗室守則



衛福部於生物安全實驗室之等級規定

感染性生物材料管理作業要點 附表七

等級	操作規範	初級屏障及安全設備	設施 (二級昇障)
生物安全第一等 級(BSL-1)實驗 室	標準微生物規範。	 初級屏障:不需要。 個人防護裝備:實驗衣及手套,眼部及面部防護裝備視需要配戴。 	實驗工作台及水槽
生物安全第二等 級(BSL-2)實驗 室	BSL-1操作規範加上: 1.限制進入; 2.張貼生物危害標誌; 3.尖銳物品預防措施。 4.生物安全手册規定必要棄物除行或醫學監視政策。	初級屏障: 1. 使用生物安全櫃或其他物理性防護裝置,進行病原體操作可能產生之噴濺或氣膠。 2. 個人防護裝備:實驗衣及手套,眼部及面部防護裝備視需要配載。	BSL-1加上: 最好有滅菌器。

等級	操作規範	初級屏障及安全設備	設施 (二級屏障)
生物安全第三等	BSL-2 操作規範加上:	初級屏障:	BSL-2 加上:
級(BSL-3)實驗	1. 管制進入;	1. 使用生物安全櫃進行	1. 物理性區隔入口
室	2. 所有廢棄物應進行	病原體之所有操作。	走道。
	除汗;	2. 個人防護裝備:防護衣	2. 自動關閉之雙門
	3. 實驗衣清洗前應進	及手套、眼部、面部及	入口;
	行除汙。	呼吸防護裝備視需要	3. 排氣不可循環;
		配戴。	4. 設施內設置滅菌
			器 ;
			5. 實驗室向內負壓
			氣流;
			6. 經由前室或氣鎖
			區進入;
			7. 洗手槽靠近實驗
			室出口。
生物安全第四等	BSL-3 操作規範加上:	初級屏障:	BSL-3 加上:
級 (BSL-4) 實驗	1. 進入前更換實驗衣	所有操作於第 Ⅲ 級生物	1. 獨立建築物或隔
室	物;	安全櫃,或是第Ⅱ級生物	離區域;
	2. 出去前淋浴;	安全櫃加上連身式正壓防	2. 專屬進氣與排
	3. 所有物質應經除汙	護衣。	氣、真空及除汙系
	再移出設施。		統。

操作感染性生物材料所需實驗室生物安全等級對照表(僅供參考)

		實驗活	物安全等級	全等級	
感染性生物材	病原	體培養		去活性生物材 料操作 ^c	無感染性生物 材料操作 ^d
料危險等級	大量增殖"	提供 臨床診斷	非病原體培養 之操作 ^b		
RG2	BSL-3/2+	BSL-2+/2	BSL-2	BSL-2/1	BSL-1
RG3	BSL-4/3	BSL-3/2+	BSL-2+/2	BSL-2	BSL-1
RG4	BSL-4	BSL-3	BSL-3	BSL-3/2+	BSL-2+/2

- a. 大量增殖:係指實驗操作涉及**增殖培養20 L 以上病原株**之製備過程。(HIV或HTLV於 BSL-2+進行增殖培養之總體積量不得超過 200 mL,且總病毒數不得超過 1×10°)
- b. 非病原體培養之操作:係指**未經培養**之感染性生物材料在採用可靠方法去活性前,所進行之病原體 抗原檢測、血清學檢驗、核酸檢測、生化分析等操作。未經可靠去活性或固定之人體組織標本因病 原體含量較高,應比照培養或大量之感染性生物材料操作之實驗室生物安全等級下進行操作。
- c. 去活性之感染性生物材料操作:係指**感染性生物材料在採用可靠方法去活性並經驗證確認後**,所進行之病原體抗原檢測、血清學試驗、核酸檢測、生化分析、分子生物學試驗等操作。
- d. 無感染性生物材料操作:係指確認**已無感染性之生物材料**(如DNA或cDNA等)所進行之各種操作,包括分子生物學、免疫學等試驗。

衛福部於動物生物安全實驗室之等級規定



感染性生物材料管理作業要點 附表八

等級	操作規範	初級屏障及安全設備	設施 (二級屏障)
動物生物安全第 一等級 (ABSL-1)實驗 室	標準動物照護及管理規 範,包括適當醫學監視計 畫	 依需求對各物種 正常照顧; 個人防護裝備;實 驗衣及手套,眼部 及面部防護,視需 要配戴。 	標準動物設施: 1. 非再循環排氣; 2. 建議定向氣流; 3. 洗手槽。
動物生物安全第 二等級 (ABSL-2)實驗 室	ABSL-1操作規範加上: 1.限制進入; 2.張貼生物危害標誌; 3.尖銳物品預防措施; 4.訂定生物安全手册; 5.所有感染性廢棄物及動物籠清洗前應除	ABSL-1 設備加上初級屏障: 1. 對各物種使用適當防護設備; 2. 個人防護裝備;實驗衣及手套,眼部及手套,眼道防護裝備,觀費配數。	ABSL-1加上: 1. 最好有滅菌器; 2. 洗手槽; 3. 建議機械籠具清洗機; 4. 建議負壓氣流流向動物室及操作室。

等級	操作規範	初級屏障及安全設備	設施 (二級屏障)
動物生物安全第 三等級 (ABSL-3)實驗 室	ABSL-2操作規範加上: 1.管制進入; 2.實驗衣清洗前應進行除汙; 3. 籠具除汙前,移除墊料; 4. 視需要進行足浴消毒。	ABSL-2設備加上: 1.動物房及籠具傾倒 行為之防護設備; 2.使用第Ⅱ級或第Ⅲ 級生物安全櫃進 行可能產生氣膠 之操作步驟(例如接種、屍體解剖); 3.個人防護裝備:適當呼吸道防護裝備。	ABSL-2 設施加上: 1. 從進入走道做物理性 區面動 開 穿 實 留 內 使 門 選 子
動物生物安全第四等級 (ABSL-4)實驗 室	ABSL-3 操作規範加上: 1.經由更衣室進入,於更衣室更換實驗衣物;離開前淋浴; 2.所有廢棄物移出設施前應除汙。	ABSL-3 設備加上: 最高防護設備(例如第 III 級生物安全櫃或局 部防護設備結合全 身,供氣式正壓防護 衣)用於所有步驟及活 動。	ABSL-3 設施加上: 1. 獨立建築物或隔離區域; 2. 專屬進氣與排氣、真空及除汗系統。

Content

實驗室生物安全

- 生物安全的重要性
- 生物安全分級管制

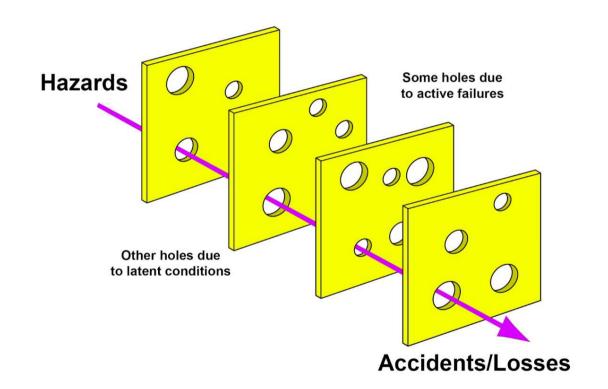
生物安全風險管理

- 實驗室生物危害分析
- 生物安全風險管理

我國BSL-2 生物安全實驗室管理現況

危害的產生

- Swiss Chess Model
- 造成嚴重後果(系統失效)的意外事件,通常是一連串的小疏忽造成



感染性生物材料病原體釋出入侵人體人員感染

人體細胞組織優良操作規範 (GTP)

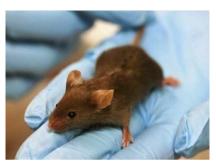
- 為預防因使用人體細胞組織物而導入、傳播及擴散傳染病,特訂定本規範。
- 本規範協助機構確保其人體細胞組織物未含有傳染病病原,在製造過程中未受污染,且不致因製造不當而影響人體細胞組織物效用與完整性。



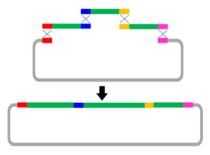
實驗室的中可能產生的危害來源



感染性生物材料



實驗動物



基因重組



藥品試劑



儀器設備



操作人員



電力設施

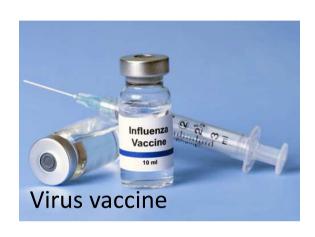
新興生醫產品感染性生物材料可能來源

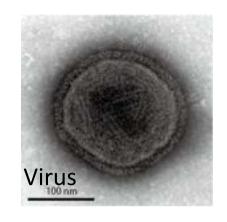
組織/細胞樣本



Blood

產品材料







檢測實驗室 陽性菌株

Test Organism	Risk Group
Staphylococcus aureus	2
Bacillus subtilis	1
Pseudomonas aeruginosa	2
Clostridium sporogenes	2
Candida albicans	2
Aspergillus brasiliensis	1

Test Organism	Risk Group
Acholeplasma laidlawii	1
Mycoplasma gallisepticum	2
Mycoplasma fermentans	2
Mycoplasma hyorhinis	2
Mycoplasma orale	1
Mycoplasma hyopneumoniae	2
Mycoplasma hyosynoviae	2

實驗室中生物病原傳播方式

・空氣傳播

• 氣膠/氣霧





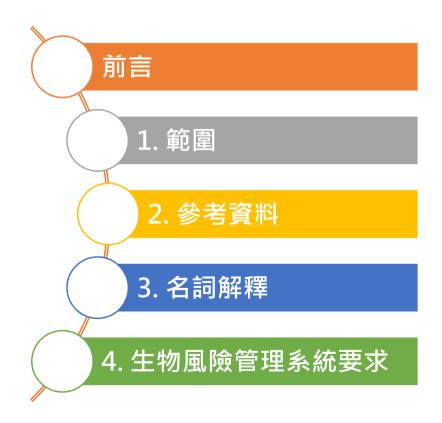
•接觸傳播

- 針扎、玻璃割傷
- 實驗動物咬傷
- 皮膚接觸



CW15793:2011

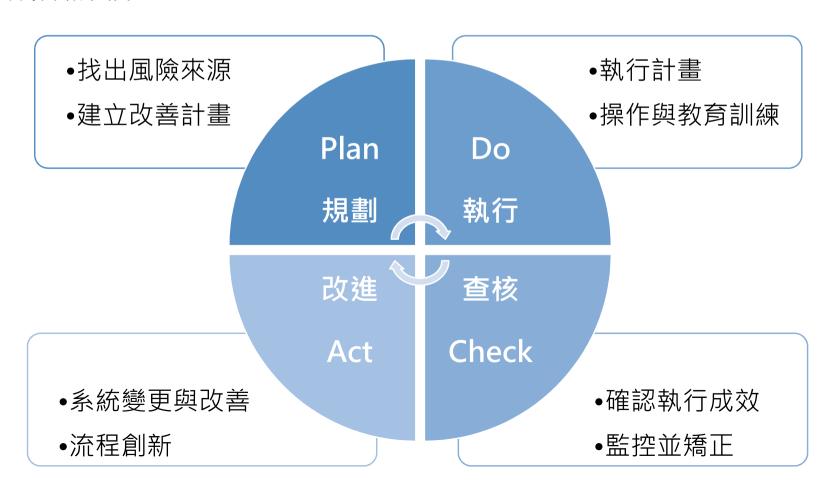
·歐洲標準化組織(European Committee For Standardization, CEN)於2008年訂定「CWA 15793:實驗室生物風險管理標準」(Laboratory biorisk management standard),成為各國建立實驗室生物安全系統性管理之主要依據。 (CWA: CEN Workshop Agreement)





如何執行生物安全風險管理

- 1. 風險鑑別與分析
- 2. 建立有效降低風險之方法或流程
- 3. 進行管理系統運作或人員教育訓練
- 4. 成效評估



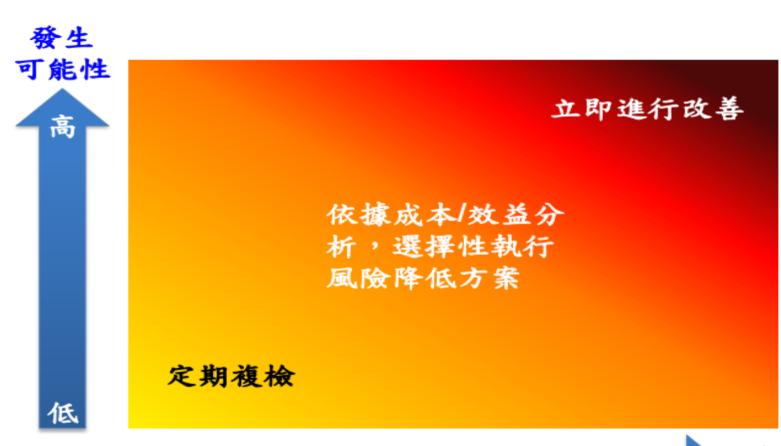
Biorisk Assessment 生物風險管理

- Risk Assessment 風險管理:
 - 在可接受的成本下,對風險所進行的鑑別、分析、評價及最小化或消除,並 控制在可接受範圍之管理過程。
- Risk
 - 傷害發生**可能性**及**嚴重度**的組合。 (ISO 45001:2018)
 - 風險 Risk = f (Likelihood 可能性, Severity嚴重度)

Risk Matrix

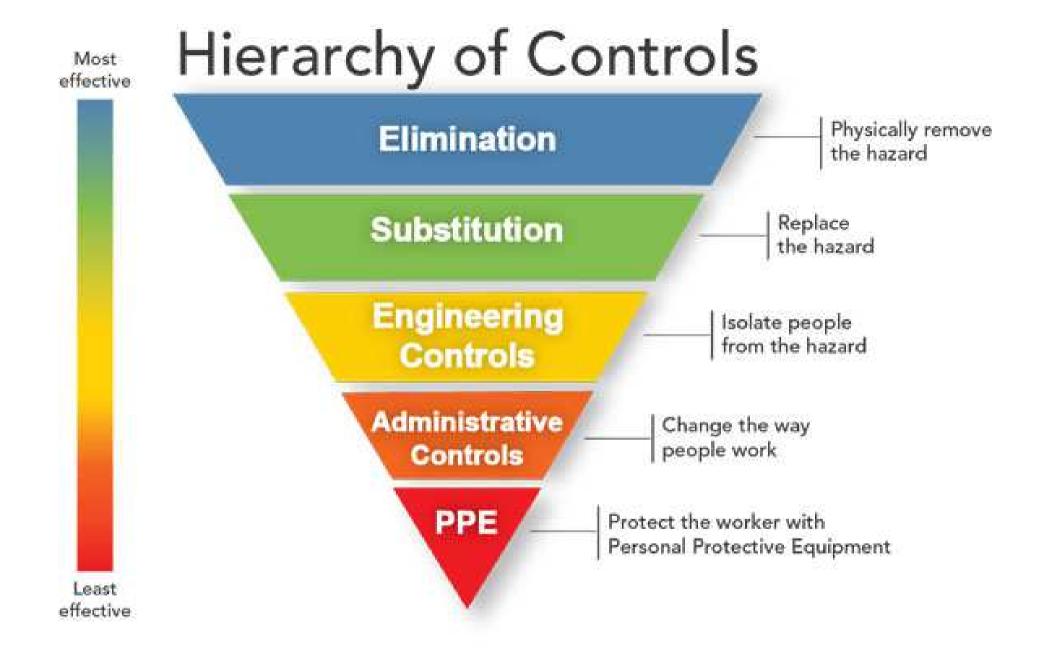
Frequency of Occurrence (or Likelihood)	Consequences (Severity of Accident)				
	Incidental (1)	Minor (2)	Serious (3)	Major (4)	Catastrophic (5)
Frequent (5)	М	н	VН	VH	H RISK
Occasional (4)	М	М	Н	VH	VH
Seldom (3)	L	М	Н	н	VH
Remote (2)	LOW	L	М	н	н
Unlikely (1)	L	L	М	M	Н

風險管理處理範例



低

後果嚴 重程度



生物安全防護屏障

• 初級防護屏障

• 藉由**優良微生物操作技術**、穿戴**個人防護裝備**及**使用生物安全操作櫃**等,阻隔病原,防止操作人員及實驗室內部環境受到病源汙染。



・二級防護屏障

藉由實驗室安全設計之建築結構與設施、動線規劃、氣流系統、進排氣處理系統及HEPA 過濾系統等硬體建構嚴密防護網,保護並避免實驗室內、外環境及人員遭受病原污染。



個人防護裝備 (PPE)

口罩

防護衣

手套









面罩



護目鏡

防止/減少感染原進入或接觸

· 篩選捐贈者細胞/組織

- ・操作流程
 - Open system vs. Close system
 - 接觸過病原之器具應立即浸泡於消毒水中
 - 穿戴雙層手套、操作中若有污染疑慮立即更換手套。

•







人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準 2015.10

捐贈者篩選 (screening)

• 根據捐贈者的書面文件資料,確認捐贈者沒有帶有相關傳染性病原或疾病的風險。

捐贈者測試 (testing)

以捐贈者的檢體(例如:血液檢體)進行實驗室檢查,根據檢查結果確認捐贈者沒有帶有相關 傳染性病原或疾病的風險。

捐贈者合適性判定 (donor eligiability determination)

- 根據捐贈者篩選以及測試結果,來判定捐贈者是否合適捐贈其細胞或組織供細胞或基因治療使用;沒有完成捐贈者的合適性判定的細胞治療產品,原則上不可以用於接受者。
- HIV type 1 & 2、 HBV、 HCV、 Treponema pallidum、 TSE (包括:庫賈氏病(CJD))
- 富含白血球活細胞(viable, leukocyte-rich)之細胞或組織,應測試HTLV, type 1 & 2與CMV
- 未列在上述的病原體也應依據不同產品特性或捐贈者外在環境考慮加以篩選和(或)測試。

無需進行捐贈者合適性判定的情況

- 使用自體的細胞,因無傳染疾病給自己之處,得不需「判定」捐贈者合適性。
- 未進行捐贈者合適性判定時,須於產品標示上註明:
- 1. 細胞或組織僅供自體使用;
- 2. 細胞或組織僅作為非臨床之科學用途或教育用途。

降低生物風險傷害

・人員

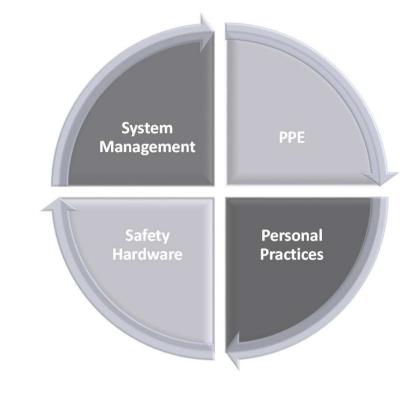
- 優良微生物操作規範
- 教育訓練
- 疫苗接種/健康檢查

・系統規範

- 內部保存、領用流向、銷毀之流程
- 內部稽查、評核流程
- 不符合項目追蹤與修正

・建立生物安全意外事件緊急應變系統

- 病原外洩 (如何除汙、如何通報、如何處理)
- 暴露危害 (針頭刺傷、眼睛或黏膜接觸、吸入性傷害等)
- 停電危害 (例如生物安全櫃、冷凍設施、通風系統、照明設備提供等)
- 醫療支援



實驗室生物安全意外事件分級處理系統

• 感染性生物材料管理作業要點

附表九、實驗室生物安全意外事件危害等級、說明、通報及處理

等級	說明	
低度	洩漏局限於實驗室安全設備內,致 有感染或危害工作人員之虞。	1. 通報主管
中度	洩漏局限於實驗室、保存場所以內 區域,致有感染或危害工作人員之 虞。	 通報主管 通報生安會 疑似感染時,通知地方主管機關 及副知中央主管機關
高度	洩漏至實驗室、保存場所以外區域 致有感染或危害工作人員、其他部 門或週遭社區民眾。	· 1. 通報主管 2. 通報生安會 3. 24hr 內通報所在地主管機關及中 央主管機關

Content

實驗室生物安全

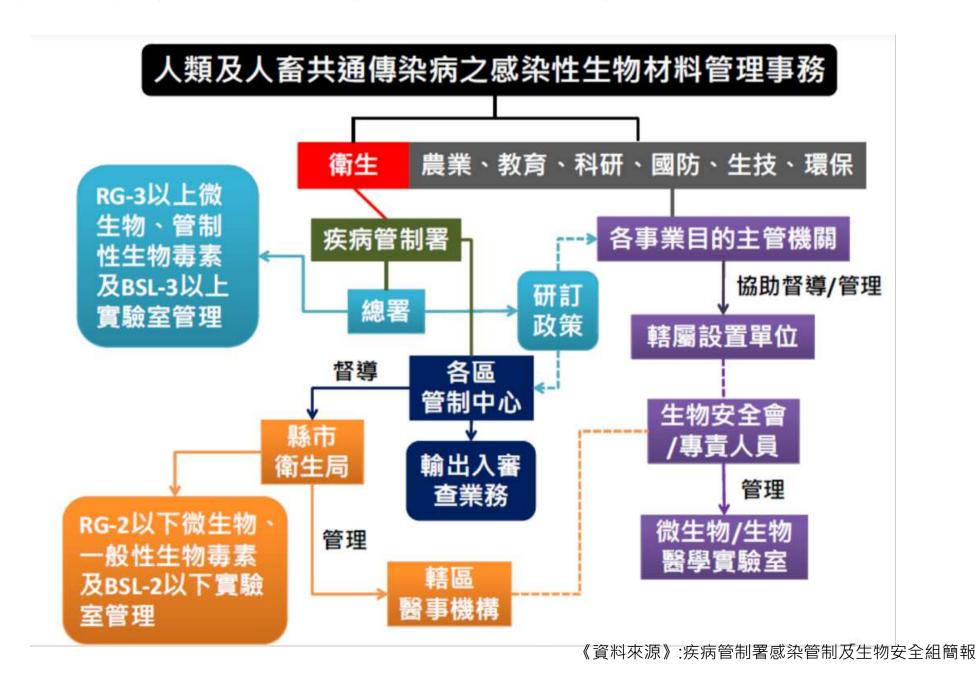
- 生物安全的重要性
- 生物安全分級管制

生物安全風險管理

- 實驗室生物危害分析
- 生物安全風險管理

我國BSL-2 生物安全實驗室管理現況

我國實驗室生物安全管理架構



疾病管制署『實驗室生物安全管理資訊系統』



實驗室生物安全管理資訊系統

https://biosafety.cdc.gov.tw



我國BSL-2 實驗室實務管理

「感染性生物材料管理辦法」 第15條第2項

- 中央主管機關: 設有BSL-3 Lab 以上實驗室或保存、使用RG3微生物或管制性生物毒素之設置單位,進行查核。
- **地方主管機關**: 設有BSL-1、BSL-2 Lab ,或保存、使用RG2 微生物或一般性生物毒素之設置單位,進行查核。
- 受查核實驗室類型可分為「實驗室」及「保存場所」。

生物安全第二等級微生物實驗室查核

- 【執行單位】各地方政府衛生局派員或安排查核委員進行實地查核。
- 105~107年參與實驗室生物風險管理系統導入計畫之受查單位,本年免接受查核。

BSL-2 實驗室查核內容



查核基準

- 1. 生物安全管理組織
- 2. 實驗室(保存場所)管理與維護
- 3. 實驗室消毒滅菌措施與感染性廢棄物處理
- 4. 感染性生物材料管理
- 5. 持續性教育訓練與資源應用
- 6. 實驗室人員安全防護與健康措施
- 7. 緊急應變與意外事件

總結

- ·安全意識需要從基礎教育扎根及持續訓練養成。
- •實驗室生物安全管理,相關安全法規要求與時俱進。
- •保護操作者、其他工作者、保護環境。

線上資源

- 衛生福利部 疾病管制局
 - 感染性生物材料、生安法規
 - 我國實驗室生物安全相關規範及指引
 - 實驗室生物安全問答集
 - 實驗室生物安全管理e學程
- ABSA (Risk groups data base)
- http://www.who.int/en

