

生物安全第二等級實驗室標準作業程序

BSL-2 Laboratory SOP

一、目的

制定本實驗動物設施之生物安全第二等級(Biosafety Level-2, BSL-2)實驗室(以下簡稱 BSL-2 實驗室)的運作與管理之規範。

二、適用範圍

- (一) 進入 BSL-2 實驗室內之工作人員
- (二) 於 BSL-2 實驗室進行動物實驗之研究人員

三、設施位置

實驗動物設施之 BSL-2 實驗室設置於生物科技館 1 樓 117 室(實驗動物設施內)。

四、原則

- (一) BSL-2 實驗室之運作，除本 SOP 另有規定外，皆需遵循「國立清華大學實驗動物設施標準作業程序」。
- (二) BSL-2 實驗室之各項生物安全管理作業，皆需遵循「國立清華大學生物安全運作管理辦法」，並依本校生物安全會(以下簡稱生安會)公告相關作業或注意事項辦理。

五、人員教育訓練

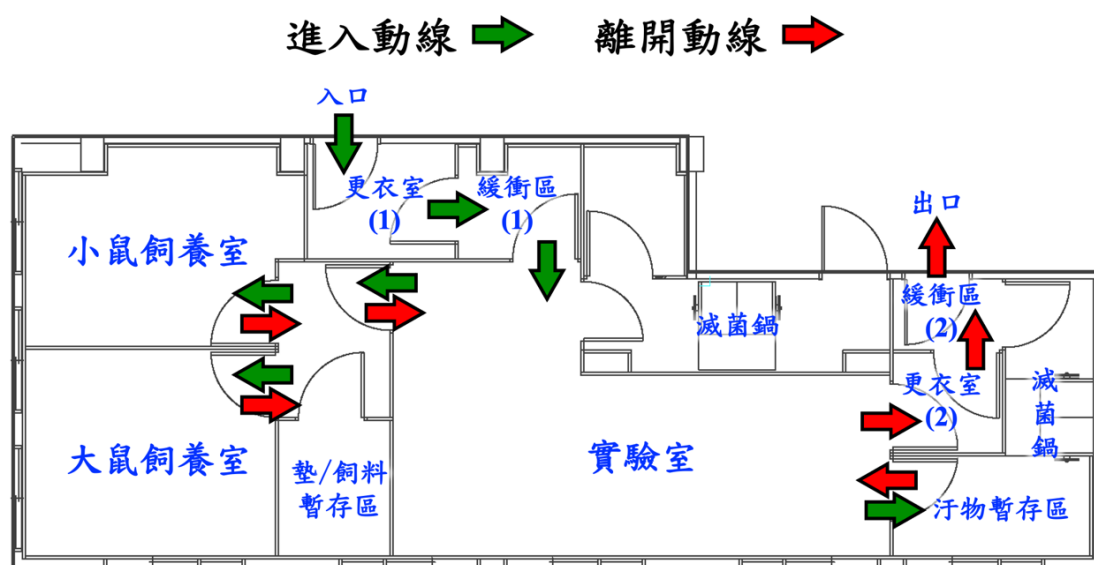
- (一) BSL-2 實驗室中從事工作、管理與進行動物實驗者，需接受本校生安會辦理之生物安全與生物保全教育訓練並測試合格，方可進入操作；後續需定期接受繼續教育與考核。
- (二) BSL-2 實驗室場所管理人應確保工作人員已接受與其職務/工作內容相關的安全操作訓練，並定期接受再訓練與評估。
- (三) 感染性生物材料之操作人員應滿足下列條件，方可申請 BSL-2 實驗室門禁權限並進入操作：
 - A. 經其所屬實驗室主管同意。
 - B. 接受本校實驗動物設施之 BSL-2 實驗室教育訓練，並通過考核。
- (四) 實驗動物設施 BSL-2 實驗室教育訓練與考核內容，需包含以下項目：
 - A. 生物危害
 - B. BSL-2 實驗室安全守則
 - C. 生物安全防護設備
 - D. 個人防護裝備著裝說明
 - E. 人員/生物材料/實驗設備與物品進出動線與注意事項
 - F. 生物材料溢出時應採取之清除程序

六、人員健康與工作安全

- (一) BSL-2 實驗室門口需標示生物危害標誌、場所管理人、中心主管與緊急聯絡人之姓名、職稱、聯絡方式等必要資訊。
- (二) 進入 BSL-2 實驗室的工作與實驗操作人員於教育訓練時應被告知潛在之危險，並被要求遵守 BSL-2 實驗室進出規定。實驗操作人員如有身體異常或不適之情形，應向場所管理人員或所屬實驗室主管報告，並暫停進入實驗室工作。
- (三) BSL-2 實驗室工作與實驗操作人員需接受適當之醫療管理，並針對其處理或可能存於實驗室的病原，提供必要之防護措施。
- (四) 進入 BSL-2 實驗室者需穿著長褲以及可完整包覆腳部的鞋子，不可穿著露趾鞋。
- (五) 進入 BSL-2 實驗室者需穿著個人防護裝備，包括連身或兩件式防護衣、拋棄式手套、口罩、帽套、鞋套等。
- (六) BSL-2 實驗室內全部區域禁止飲食(包括水)、存放食物、抽煙、取/戴隱形眼鏡、梳理頭髮、化妝及放置與實驗無關之物品。

七、人員進出

- (一) 使用 BSL-2 實驗室前，使用者需在本校「實驗動物與儀器預約管理系統」進行線上預約。若擬於假日使用 BSL-2 實驗室者，除需事前預約外，需至少二人以上同時進入。
- (二) 進入 BSL-2 實驗室者，需確實遵循動線(圖一)。由入口進入，經過更衣室(1)及緩衝區(1)後進入實驗室及/或動物飼養室。待實驗結束後，經由另一側之更衣室(2)及緩衝區(2)之出口離開。
- (三) 在 BSL-2 實驗室內進出動線及飼養室，一次僅能開啟一扇門，不可同時打開多扇門。



圖一、實驗動物設施 BSL-2 實驗室動線示意圖。

(四) 人員進入：

- A. 人員於實驗動物設施入口處穿著鞋套。進入設施後，於 BSL-2 實驗室入口前填寫人員進出記錄表後，刷卡感應進入「更衣室(1)」。需確認壓力為負值方可開門進入。
- B. 關閉「更衣室(1)」入口，並進行個人防護裝備之著裝，依序如下：
 - a. 穿著口罩、帽套(需覆蓋耳朵及瀏海)及第二層鞋套。
 - b. 穿著防護衣。
 - c. 戴上第一層 NBR 手套，並套住袖口。
 - d. 戴上第二層乳膠手套。
 - e. 視需求配戴護目鏡。
 - f. 確認著裝完成後，以 75%酒精或次氯酸水消毒手套與鞋套。
- C. 確認「更衣室(1)」入口的門關閉妥當後，方可開啟進入「緩衝室(1)」。
- D. 於「緩衝室(1)」記錄「實驗室」之壓力數值；壓力需為低於-10 Pa 方可開門進入。若壓力高於-10 Pa，需經「更衣室(1)」退出 BSL-2 實驗室，並立即向實驗動物設施工作人員反應。

(五) 人員離開：

- A. 先以 75%酒精或次氯酸水消毒手套、防護衣、鞋套及擬攜回之實驗設備與物品，接著於「更衣室(2)」入口前脫去第二層手套及第二層鞋套後，方可進入「更衣室(2)」。
- B. 於「更衣室(2)」將隔離衣、第一層手套、帽套、第一層鞋套、口罩等全數脫除後，放置於感染性廢棄物垃圾桶。確實洗手後，方可移動至「緩衝室(2)」。
- C. 於「緩衝室(2)」穿著新鞋套後，離開 BSL-2 實驗室。
- D. 回到「更衣室(1)」入口處填寫離開時間。

八、設備、物品與感染性物質進出

- (一) 設備內外表面需以 75%酒精或次氯酸水消毒後，方可攜入與攜出 BSL-2 實驗室。
- (二) 所有實驗物品須包裝完整且密封，且將包裝表面以 75%酒精或次氯酸水消毒後，方可攜入與攜出 BSL-2 實驗室。
- (三) 感染性及潛在感染性物質之運輸應嚴格遵守本校及衛生福利部相關規定，使用三層包裝系統。外包裝需經過 75%酒精或次氯酸水消毒後，方可攜入與攜出 BSL-2 實驗室。
- (四) 生物檢體需進行失活處理並經兩層密封包裝，且外包裝需以 75%酒精或次氯酸水消毒後，方可攜出 BSL-2 實驗室。

九、動物照護

- (一) 在「飼養室」內進行換籠、添加飲水或飼料時，需在生物安全櫃(biosafety cabinet, 以下簡稱 BSC)中進行，不得在 BSC 外操作。
- (二) 操作前，應先打開 BSC 並以 75%酒精或適當的消毒劑進行清潔；待氣流穩定後，再開始進行作業。完成後，以 75%酒精或適當的消毒劑清潔 BSC 內部。
- (三) 換籠產生之廢棄墊料及飼料應經密封包裝後方能移出 BSC，並丟棄於生物醫療感染性垃圾桶中，以滅菌鍋進行滅菌後，依照本校環安中心之規定處理。
- (四) 替換下來的籠具應放置於「汙物暫存室」，以滅菌鍋進行滅菌後，再送至清洗室進行清洗。

十、實驗操作應遵循事項

- (一) 所有的實驗皆需在「實驗室」的 BSC 內操作，不得在 BSC 外進行；「飼養室」內的 BSC 不得用於實驗。
- (二) 操作前，需以 75%酒精或適當的消毒劑擦拭 BSC 內部。完成實驗後，應使用 75%酒精或適當的消毒劑針對 BSC 內部進行除污。若有潛在感染性材料噴濺至 BSC 內部時，則應使用 1:10 稀釋之漂白水或 75%酒精或適當之消毒劑進行除污。
- (三) 實驗操作過程中若有移液，應於 BSC 內使用機械移液裝置，並搭配有加裝過濾器之微量吸管吸尖(filter tip)。使用完畢後，應以 75%酒精或適當的消毒劑清潔移液裝置。禁止以口進行移液。
- (四) 如需使用高速旋轉之機具，需於 BSC 內使用，並應儘量減少會產生氣膠之動作。使用完畢後，應以 75%酒精或適當的消毒劑進行清潔。
- (五) 實驗過程中如需接聽電話(手機或室內分機)，需先脫去第二層手套後，方可手持聽筒通話；待通話結束後再換上新的第二層手套，不可重複使用手套，以減少汙染風險。
- (六) 培養物、組織、體液標本、檢體瓶、培養瓶、試管、離心管及其他盛裝感染性或潛在感染性廢棄物的容器，丟棄時需置放於生物醫療感染性垃圾桶內。
- (七) 針頭、刀片、移液管與玻片等尖銳物品，應放置於密閉式收集容器。
- (八) 動物屍體先以雙層感染性廢棄物垃圾袋密封，標示使用者與感染性生物材料等資訊後，再放入專用冷凍櫃中冰存。待工作人員使用滅菌鍋進行滅菌後，再移入一般的動物屍體冷凍櫃冰存，並依照本校環安中心之規定清運。
- (九) 當發生可能曝露於感染性物質的意外事件時，應隨即執行相關評估，並依生物安全緊急應變計畫及相關規範之程序處理。此類事件除了需依據「事故應變通報聯絡圖」通報場所管理人與中心主管以外，亦需由使用者通知其所屬實驗室主管，並提供必要之醫療評估與治療，同時妥善保存相關紀錄。

十一、 離開實驗室前應遵循事項

- (一) 需將所使用的「實驗室」、「飼養室」及設備(如 BSC 與動物安樂死設備等)清潔、消毒(使用 1:10 稀釋漂白水、75%酒精擦拭或次氯酸水)並回復至原狀後，方可離開。
- (二) 離開前，需關閉非必要之電源與設備，如：BSC 電源、安樂死使用之 CO₂ 鋼瓶閥門等。
- (三) 嚴禁由使用者自行將活體動物及未經滅菌之動物屍體移出 BSL-2 實驗室。

十二、 除污

- (一) 清除用具及設備表面污染時，可使用 75%酒精、1:10 稀釋漂白水或次氯酸水除污。
- (二) BSL-2 實驗室所產生的廢棄物與廢棄檢體，應定期以穿牆式高溫高壓滅菌鍋進行滅菌(121°C、15 分鐘)，後續依本校環安中心之規定進行貯存與清運。
- (三) 穿牆式高溫高壓滅菌鍋每季至少需進行一次生物性確效。
- (四) 滅菌時，應加貼滅菌指示膠帶，利用滅菌指示膠帶顏色改變來表示滅菌過程所需特定參數是否符合。
- (五) 細胞培養廢液、細菌培養基、病毒培養液等生物醫療感染性廢棄液體，需收集在含有 1000 ppm 以上漂白水(5-6%次氯酸鈉經 1:50 倍稀釋) 的廢液桶至少 30 分鐘後，依本校環安中心之規定進行貯存與清運。
- (六) 當發生感染性或潛在感染性物質溢出時，應採用下列溢出物清除程序：
 - A. 戴手套，穿防護衣，必要時需進行臉部及眼睛防護。
 - B. 使用抹布或紙巾覆蓋並吸收溢出物。
 - C. 向紙巾上傾倒適當之消毒劑(1:10 稀釋之漂白水或 75%酒精)，並立即覆蓋周圍區域。
 - D. 使用消毒劑時，從溢出區域之周圍開始，朝向中心進行處理。
 - E. 30 分鐘後，清除所有溢出物質。如有碎玻璃或尖銳物，則應使用簡易清掃器具(如畚箕)或硬紙板收集後，放入防穿刺之收集容器中。
 - F. 對溢出區域再次進行清潔消毒，必要時可重複(B)至(E)步驟。
 - G. 將所有溢出物質置入防滲漏、防穿刺之廢棄物處理容器中，依感染性廢棄物處理程序處理受污染廢棄物品。
 - H. 在成功消毒後，通知場所管理人、中心主管與使用者所屬實驗室主管目前溢出區域之除污工作已經完成。
- (七) BSL-2 實驗室內之 BSC 需每年執行消毒作業及功能性檢測。
- (八) BSL-2 實驗室內之設備，應於維修、保養或移出實驗室之前，使用 1:10 稀釋漂白水或 75%酒精或適當的消毒劑進行除污。
- (九) 所有使用之消毒劑、生物指示劑皆應依循原廠所提供之操作步驟進行，並於保存期限內使用。

十三、 意外事故應對計畫及緊急應變程序

依本單位緊急應變計畫之規範執行。

參考資料

- 1.衛生福利部實驗室生物安全指引
- 2.衛生福利部感染性生物材料管理作業要點