

BSL-2 實驗室優良微生物操作規範與技術

106 年 12 月 29 日生物安全會議通過

108 年 12 月 25 日生物安全會議通過

1. 人員在申請許可進入時，須先完成相關安全性防護訓練課程。(生物安全第二等級實驗室感應卡申請表單)。
2. 本實驗室具有門禁管制並須取得門禁申請，使得進入。非常規人員需進入實驗室時須於登錄簿記載姓名、進出日期、時間和事由。
3. 實驗室於使用前後，應分別執行工作檯面之除污，若開啟 BSL-2 實驗室紫外燈時須於 AA304 門口懸掛警示牌。
4. 實驗室(含實驗室設備)應每日或定期進行清潔除污作業。
5. 可重複使用之實驗室器材、衣物、實驗室文件或其他物品等，均須先經 BSL-2 實驗室內小型滅菌器或其他適當清潔除污後，方可重複使用、清洗或移出實驗室。
6. 實驗室內不設置或使用不易消毒滅菌之物品(例如窗簾、布質家具、盆栽、魚缸等)。
7. 實驗人員須備適當的健康防護(實驗衣、手套、未露腳趾包鞋、口罩和護目鏡)，操作完畢後(濕洗手)及離開實驗室前需洗手(乾洗手)。
8. 進入 BSL-2 實驗室，先將其他實驗衣掛置於第一管制門內的掛鈎，入內取用穿著 BSL-2 實驗室專用實驗衣。實驗結束離開前，請將使用過實驗衣置於清洗籃滅菌袋內，確實洗手後離開
9. 生物安全櫃為執行清潔、消毒及檢測工作上方、後方及每一側面，均已保留 30 公分空間。
10. 使用生物安全櫃開始工作前及完成工作後，開啟紫外燈各 30 分鐘，並保留將污染空氣過濾排出生物安全櫃之時間(至少 5 分鐘)。
11. 實驗室內發生感染性生物材料洩漏、噴濺洩漏或其它污染情形以生物安全第二等級實驗室緊急應變處理。
12. 未滅菌之感染性廢棄物於運送過程中發生洩(滲)漏情形處理，應符合生物安全第二等級實驗室洩漏發生於生物安全櫃外之實驗區域緊急應變處理。
13. 實驗室設備移出前，設備須先以適當的消毒水或 70%酒精擦拭清潔消毒，始可移出。
14. 生物安全櫃(BSC)濾網更換前，須先於前一天進行 BSC 甲醛薰蒸至少四小時，濾網卸下後，先以消毒水噴灑，再以大型垃圾袋包裝，委由合格環保公司清運處理。
15. 實驗人員與管理人員在取得年度健檢報告後，須將報告轉送環安中心之職安醫師進行異常監測與評估並在異常時做後續監測與追蹤。

吸管及吸管輔助器之使用

1. 不可用嘴吸吸管，須使用具過濾器之吸管輔助器。
2. 所有吸管必須要有棉花塞以減少污染到吸管輔助器。
3. 污染的吸管、吸管頭(Microtip)要完全浸入盛消毒劑之堅固容器內，在消毒劑內放一段時間才可處理。
4. 污染的吸管容器必須放消毒劑並放在 BSC 內不可放在地板上。
5. 盛吸管之容器要穩固且能容納整支吸管浸入。
避免感染物之擴散。
1. 避免鈎菌提前掉落，微生物接種環(白金耳)的直徑限 2-3mm，且環要完整，柄端長度不超過 6cm，以減少振動。
2. BSC 內不可使用本生燈與酒精燈。建採用有阻體之電氣焚燒器滅菌接種環。
3. 工作完畢工作區域要用適當的消毒劑作清消。

生物安全櫃(BSC)之使用

1. 說明 BSC 之使用限制，並訂定安全操作規範或使用操作程序書，尤須特別聲明，濺灑、破裂或不良之操作技術，無法保護操作者之生命安全。
2. 啟動 BSC 電源及馬達開關。
3. 待 BSC 之氣流穩定後(約 5 分鐘)以紙條測試 BSC 操作口氣流是否形成氣幕(Air curtain)。
4. BSC 台面盡可能少擺放器械及耗材，後方之氣柵不可堵塞。
5. BSC 內不可使用本生燈與酒精燈，因熱氣擾亂氣流，且可能損壞 HEPA，可以電氣焚燒器替代，最好使用丟棄式滅菌接種環。
6. 減少人員在操作者後面走動。
7. 實驗操作中突然遇到停電或 BSC 故障，工作人員應立即離開。
8. 工作完畢 BSC 要用適當的消毒劑擦拭。
9. BSC 每年定期檢測。

振盪器

1. 使用前確認蓋子狀況良好，沒有裂縫或扭曲。
2. 振盪器在使用時杯子會造成壓力含感染物之氣膠可能從蓋子與容器之間。逃出，塑膠容器尤其是 PTFE(polytetrafluoroethylene)容器為佳，因為玻璃可能破裂而釋放出感染性物因而傷到操作人員。
3. 操作完畢容器要在 BSC 內靜置一段時間才能打開。
4. 使用 Vortex 混合感染性液體時，手應執於液面上適當之高度處液體才不會衝到蓋子。

實驗衣

1. 使用過的 BSL-2 專用實驗衣，須置於有紅色生物性為害標示圖案滅菌袋，以專用封閉式容器運送至機構內的高壓滅菌鍋進行滅菌，滅菌後再以一般清洗過程，洗衣烘乾後，至於 BSL-2 實驗室內備用。

生物感染性與一般廢棄物之處理程序

1. 生物安全第二等級實驗室所產生之廢棄物，可分為生物感染性廢棄物與一般廢棄物兩類。而產出之生物感染性廢棄物須於同棟建築內先完成滅菌作業，始得運出。
2. 實驗室生物感染性廢棄物指的是實驗室所產生之細菌、細菌培養液等生物性物質或曾與上述物質接觸後所產生之廢棄物，如使用過後之培養瓶、培養皿、玻璃或塑膠吸管、離心管等均屬之。
3. 清運人員須清楚相關感染性廢棄物安全危害與風險。清運過程中，需要兩位人員協同進行，帶有手套人員負責清運廢棄物，另一位未帶手套人員則是協助開啟各區之門，以利運送。參見 BSL-2 生科系實驗空間-廢棄物處理路線。

■ 固態生物感染性廢棄物:

1. 手套、口罩和固體廢棄物皆須置於大型滅菌袋內(有紅色生物性為害標示圖案)，滅菌袋則置於有蓋不鏽鋼滅菌桶內，需加以密閉運送至機構內滅菌器處理，以避免污染，再利用高壓滅菌鍋(在滅菌袋外貼上滅菌指示膠帶)，以高溫高壓滅菌釜於 121°C，1.5 kg/cm² 下滅菌 30 分鐘後，完成滅菌。
2. 可重複使用之品項，如燒杯、血清瓶、三角瓶等玻璃器皿或可重複滅菌使用之塑膠材質器皿，須先於 BSL-2 實驗室內小型滅菌器滅菌過後，再移出至一般實驗室水槽進行清洗。

■ 液態生物感染性廢棄物:

1. 先收集在玻璃或金屬廢液收集容器(瓶內可先加入適當量的次氯酸鈉消毒液)，以 BSL-2 實驗室內小型滅菌器，於 121°C，1.5 kg/cm² 下滅菌 30 分鐘後，再倒棄廢液，並以清洗一般實驗器皿、玻璃試管和血清瓶方式清潔。

- 無法進行消毒滅菌物品可用家用次氯酸鈉漂白水稀釋(濃度為 5,000 ppm)，至少浸泡二十分鐘。

- 生物感染性廢水須經過適當除污程序後，方可排放至生活污水管道。

- 一般廢棄物是指無危害性，可攜出生物安全第二等級實驗室，但仍需置於有紅色生物性危害標示圖案的垃圾袋攜出，經高溫高壓滅菌後，始可由清潔人員處理，。

- 實驗進行有時間的延續性，當天實驗其液態和固態生物感染性廢棄物產出後，均應進行高溫高壓滅菌；來不及滅菌處理的廢棄物則噴灑消毒劑封口，待隔天實驗結束後以高溫高壓滅菌的廢棄物清運處理程序處理