



義大醫療財團法人義大醫院
醫學研究部基因重組實驗室

操作作業基準

文件編號：MRD-GRL0001

版次：5

日期：2025年11月11日

1 概述

- 1.1 適用於對實驗室工作人員及環境，具中度的潛在性危險物質之作業。
- 1.2 實驗室工作人員受過使用致病物質的特殊訓練，並由適任的管理階層指導。
- 1.3 工作進行中須門禁管制。
- 1.4 處理受污染之尖銳物品時，需特別小心。
- 1.5 操作可能產生氣霧或濺灑之步驟，需在生物安全櫃或物理性防護設備內進行。

2 標準微生物操作規範

- 2.1 實驗進行中，實驗室主管有權管制實驗室門禁。
- 2.2 工作人員處理感染性物質及動物，脫掉手套後及離開實驗室前須洗手。
- 2.3 工作區域內禁止飲食、抽煙、處理隱形眼鏡、化粧及存放食物。戴隱形眼鏡者，在實驗室內仍須戴安全眼鏡或護目鏡。食物僅只能放在工作區外，專用的櫃子或冰箱內。
- 2.4 實驗中禁止以口吸取溶液及檢體，僅允許使用機械式吸取器。
- 2.5 小心操作所有程序，以減少濺灑及氣霧的產生。
- 2.6 實驗室於從事感染性生物材料操作期間，針對生物安全操作櫃之工作檯面，依除汙消毒作業程序，每日執行至少 1 次清潔除汙程序。工作檯面在每次或每天完成作業或有任何具活性污染物灑落時，應使用有效殺死相關病原之殺菌劑（70%酒精）進行消毒清理。
- 2.7 所有具感染性之細胞培養物、培養液及有接觸之實驗器具，在丟棄前，均需依認可的高溫高壓滅菌法處理。若消毒須在靠近實驗室處進行時，所有物品須置於耐用、防漏、密閉的容器中，以利安全運送。如消毒須在遠離實驗室處進行時，欲消毒物品之包裝，需依照國內相關單位之規定處理，方可運送。
- 2.8 實驗室遇有下列情形時依除汙消毒作業程序執行清潔除汙：
 - (1) 設備將移出實驗室前，執行清潔除汙。
 - (2) 實驗室內發生感染性生物材料之洩漏、噴濺或其他汙染，執行清潔除汙。
- 2.9 可重複使用之實驗器材或其他物品等，於重複使用前，依除汙消毒作業程序進行適當清潔除汙程序。

3 特殊操作規範

- 3.1 當進行處理感染性病原工作時，實驗室主管嚴格執行實驗室門禁管制，僅實際工作者及支援人員得以進出。先天性免疫缺乏者、高危險性後天感染者或感染後病症特殊者，禁止進入實驗室及動物房。實驗室主管有責任且具職權管制進出人員。
- 3.2 實驗室主管應訂定實驗室守則與遵循相關程序。僅有具備瞭解生物安全危害

知識、符合特殊規定（如免疫接種），並遵循出入規定者，才得進入實驗室或動物房。

- 3.3 操作感染性病原之實驗室，門口應貼有生物危害標誌，並註明實驗室名稱、負責人、管理人、緊急連絡人之名字及電話號碼，以及操作病原微生物名稱。工作人員在進入實驗室及進行操作時，應穿著個人防護器具。
- 3.4 實驗室工作人員在使用或處理可能存在於實驗室之感染原前，須接受適當的免疫接種或試驗（如 B 型肝炎疫苗接種或 TB 皮膚試驗）。
- 3.5 工作人員須瞭解所接觸之病原危險性，並熟讀及遵循本手冊及相關程序之規定。
- 3.6 實驗室工作人員及支援人員必須接受操作感染性病原之防護措施及訓練。實驗室工作人員每年應有最新之參考資料，若有任何程序步驟修訂時，則須接受再教育訓練。
- 3.7 處理受污染之尖銳物品，如針頭與注射器、玻片、吸管、毛細管及解剖刀時，須極度小心。
 - 3.7.1 僅在無適當的替代物時，例如腸胃外的注射、放血、實驗動物組織液的抽取、隔膜瓶上吸液，才使用針頭與注射器或其他尖銳物品。並儘可能使用塑膠器材來取代玻璃器材。
 - 3.7.2 注射或抽取感染性物質時，僅可使用針頭固定式之注射器或拋棄式注射針頭組。使用過之拋棄式針頭，丟棄前，不可彎曲、折斷、套回套管、由針筒取下及徒手處理，應立即置於防穿刺容器內丟棄。非拋棄式之尖銳物品，則須放入厚壁容器內，經高溫高壓滅菌後，方可重覆使用。
 - 3.7.3 視實際情形，適當使用可重覆套針頭的注射器、針頭去除器及其他安全設備。
 - 3.7.4 不可徒手處理破碎玻璃器皿，須使用如掃帚與畚斗、鉗子、鑷子等機械式器具清理。裝有感染性針頭、尖銳物品及破碎玻璃的容器須先經消毒，並依據有關之法令規定處置。
- 3.8 以有蓋及防漏容器收集、處理、儲存、傳遞及運送培養物、組織或組織液檢體。
- 3.9 除定期消毒外，在使用及有明顯翻灑感染性物質後或其他污染情形發生時，實驗室設備及工作檯面須以適當的殺菌劑消毒。受污染的設備依照國內相關單位的規定消毒及包裝後，方可運出維修。
- 3.10 當發生翻灑或明顯的暴露於感染性物質時，須立即向主管報告，送醫診療，並保存完整的處理紀錄。
- 3.11 非實驗動物不得出現在實驗室內。

4 安全設備（初級防護）

- 4.1 下列情況時，需利用維護良好的 II 級生物安全櫃、適當的個人防護設備或物理性防護設備進行操作：

- 4.1.1 如離心、研磨、攪拌、劇烈搖盪或混合、超音波震盪、開啟內外壓差大且裝有感染性物質的瓶子時、經由鼻內感染動物時或由動物體內或蛋中取出感染組織時。
- 4.1.2 使用高濃度或大量感染性物質時，可在一般開放性實驗室中，以密封式之離心器及安全杯進行離心。但離心後僅能在生物安全櫃內開啟。
- 4.2 在生物安全櫃外處理感染性或其他物質時，若有微生物或其他危險物質濺灑臉部之可能時，須適當的使用臉部保護器具（如護目鏡、口罩、防護面具或其他防濺灑設備）。
- 4.3 實驗室內須穿著如實驗衣、清潔衣、工作服或制服等保護性衣物，並且在離開前往非實驗區（如餐廳、圖書館或行政部門）時，應先脫下保護性衣物並放於實驗室內。所有保護性衣物須在實驗室內丟棄(以感染性廢棄物處理)，不可攜帶回家。
- 4.4 當處理感染性物質、受污染的工作檯面或設備時，須穿戴雙層手套。當手套受到污染、處理完感染性物質後或手套破損時，應即刻丟棄。丟棄式手套受污染後，不得清洗、重覆使用或接觸鍵盤及電話，且不得戴離實驗室。
- 4.5 可重複使用之玻璃製品，以高溫高壓滅菌處理。

5 實驗室設施（二級防護）

- 5.1 於儲放管制性病原微生物及其衍生物之地點，應予以上鎖。
- 5.2 興建新的實驗室地點，應考慮於遠離公共區域處。

5.3 阻隔區域之例行目視檢查與異常處置

5.3.1 目視檢查執行人員：應由受過相關教育訓練且經授權之實驗室人員執行。

5.3.2 執行時機：實驗室人員應於每次使用前及每次使用後進行檢查。

5.3.3 檢查項目與識別：確認阻隔區域（如生物安全櫃、負壓系統顯示器）是否處於正常運作狀態（綠燈、風速數值等）。確認使用後環境已恢復至規定之標準狀態（如檯面清空、除汙完成）。檢查是否存在明顯異常（如警報音、斷電、顯示幕異常）。

5.3.4 異常矯正措施：

狀態異常：若前位使用者未復原（如紫外燈未關、廢棄物未清），應回報主管並聯繫最後使用者，必要時安排再教育訓練。

設備失效：多項設備失效：判定為電力問題，通報主管及大樓工務課/管理單位。單一設備失效：通報主管評估，聯繫廠商維修。

5.3.5 紀錄追蹤：所有目視檢查結果、異常發現、矯正措施、教育訓練及維修處理情形，應依實驗室規定填寫相關紀錄表單，並由實驗室主管定期審視與追蹤。

- 5.4 每間實驗室內須設有洗手槽。
- 5.5 實驗室依易於清洗及管理之原則設計，不宜鋪設地毯。
- 5.6 工作檯面須防水，耐酸、鹼、有機溶劑，耐高溫及抗化學消毒液。
- 5.7 實驗室之家具必須堅固，工作檯、工作櫃及設備空間安排須得宜，以利清理。實驗室內之椅子極家具，需用不易碎裂材質製成之外罩覆蓋，以利進行消毒。
- 5.8 生物安全櫃應以室內空氣供應及排出之變動，在不會超出功能參數之方式安裝。且生物安全櫃應安裝於遠離門口、可開啟窗戶、高度走動區及可能造成設備故障之地方，以確保生物安全櫃之功能正常運作。
- 5.9 洗眼器須隨時備用。
- 5.10 進行所有操作時，應有適度之照明，避免產生會妨礙視力之反射及強光。
- 5.11 實驗室無特殊之通風要求，但在規劃新設之實驗室時，需考慮採用送入實驗室內之氣流，不會在外部再循環的機械通風系統。實驗室內可開關式之窗戶，需加裝紗窗。

6 實驗室保全作業守則

6.1 為遵循政府法規及避免持有感染性生物材料(以下簡稱材料)之實驗室其材料遺失、遭竊，或未經授權取得、濫用、挪用或蓄意釋出，依「義大醫院實驗室生物保全管理辦法」訂定本守則，凡經核可使用本實驗室進行操作之人員應確實遵守。

6.2 本守則所稱感染性生物材料，包括生物安全等級第二級危險群之病原微生物及其衍生物（核酸、蛋白質、毒素）、血清、細胞株等具感染性且對環境與生物有危害之虞者。

6.3 操作者應遵守門禁管制措施，嚴禁將磁卡借他人使用進入本實驗室。

6.4 操作者應確實填寫「生物材料異動記錄表」，詳實登錄每次所使用材料品名及數量。材料之異動（新增、銷毀、分讓及寄存）及輸出（入），應依據「義大醫院感染性生物材料使用管理辦法」規定辦理。非經授權分讓，嚴禁攜出操作及儲存區域。

6.5 操作者應定期盤查及記錄所使用材料。非經授權，嚴禁將實驗室內材料清單、紀錄表或任何機敏文件攜出實驗室外。機敏文件，指涉及病原體、感染性生物材料、實驗室設施設備、人員名冊、進出紀錄、儲存位置、平面配置圖、事件通報紀錄或其他經實驗室主管認定具有生物安全或資訊安全風險之文件。

機敏文件僅限授權人員閱覽、複製或傳輸，應依文件管理程序妥善保管。

一旦察覺任何材料或機敏文件有遺失、洩漏或異常情形，應立即向實驗室負責人及生物安全主管報告，並依《事件通報與緊急應變程序》辦理。

6.6 材料長期儲存應置放於規定儲存材料區域，包含實驗室外上鎖之低溫儲存設備或實驗室內液態氮容器，本實驗室之消耗性液態氮則由使用者自行分攤支付。進入材料保存區之相關人員應佩戴識別證，存取材料需向實驗室負責人報備。儲存設備之鑰匙由實驗室負責人保管。

6.7 操作者應定期接受生物保全相關訓練課程，內容包含(1) 了解材料保全之目的；(2) 造成生物保全危害之行為；(3) 違反生物保全規定人員之處置方式；(4) 意外事件應變計畫之教育。

6.8 違反上述規定者，將依情節取消使用資格或上呈醫學研究部及實驗室暨生物安全委員會議處。

7. 滅菌器標準作業

7.1 目前基因重組實驗室滅菌器規格

型號: TM-321; 特點: 桌上手提式、安全經濟、消毒快速完全; 內桶尺寸: $\phi 26\text{ cm}$ X 47 cm ; 內桶容量: 24 公升; 消毒溫度: 121°C ; 消毒壓力: $1.2\text{ KGS}/\text{cm}^2$; 主要裝置: 壓力表、60 公分定時器、指示燈、排氣鈕、安全閥、操作完成及過熱時自動切電; 材質: 內桶、外桶、消毒盒皆為 304 不銹鋼; 電力: AC 110V 1.25Kw、AC 220V 1.3 Kw; 淨重: 約 21kg; 外觀尺寸: $67\text{ D} \times 36\text{ W} \times 49\text{ H cm}$

7.2 適用滅菌物包括液態廢棄物如微生物培養液、固態廢棄物如塑膠試管、培養皿及手套等(MRD-GRL0003 附件 2)與器材滅菌如血清瓶、微量吸管尖等。

7.3 滅菌器操作程序與結果判讀

7.3.1 插上插頭

7.3.2 打開門蓋(將門蓋把手逆時針轉鬆，門栓插梢向上拿起)，並關上排氣旋鈕

7.3.3 務必將欲消毒之物品放入消毒和中並蓋上蓋子，記得要打開消毒盒兩側孔門，之後先放入底墊片，每次消毒時加入蒸餾水或自來水至離桶口邊緣處，在將消毒盒放入內桶中。

7.3.4 將門蓋鎖緊(將門栓插梢向下插入，門蓋把手順時針轉緊)

7.3.5 將訂時器受訂 30 分中，最長物超過 40 分中，消毒指示燈(綠色)會指室加熱狀況。本機溫度自動上升至消毒溫度並維持。

7.3.6 當消毒完成時，鐘聲一響，自動切斷電源。打開排氣旋鈕(逆時針打開)直到『壓力歸零後』再打開門蓋，把消毒物品取出，將門蓋打開約 90° ，打牛擔(門橫柱)往下壓讓機器向前傾斜，把桶內所剩下的水倒在水盆裡，等 15 分鐘後即可再次使用。

7.4 生物性確效檢測時機與程序

依滅菌釜的使用頻率，將使用生物指示劑進行檢測及確認滅菌處理之效能。若

滅菌器為每天使用時，每週執行至少 1 次確效。若每週使用時，每月至少執行 1 次確效。若使用頻率未達每週一次，則累計達 10 次進行一次確效;若一年內未達 10 次，每年應至少執行 1 次檢測作業。

7.5 每個月定期檢查保養(附件一)

7.6 操作人員資格

凡操作人員需閱讀 TM-321 Autoclave 使用說明書(醫學研究部網頁下載)且測驗合格方可使用。

7.7 障礙排除程序

7.7.1 消毒器門蓋打不開

消毒完畢後，『打開排氣閥待壓力錶歸零時』，請盡快打開門蓋取件，如果消毒鍋完全冷卻時，會產生真空現象，導致門蓋打不開情形。如有此情形『請先打開排氣閥並將門把旋至最開』來排除問題或詢問原購經銷商。

7.7.2 消毒器使用時沒電源反應

1.先檢查插座是否有電。

2.過溫斷電裝置的關係，按壓後面電線旁按鈕即可，覆電後請『冷卻 15 分以上』再使用。有可能是內電線組故障或燒毀，此情形需送修更換。

7.7.3 消毒器操作時有電源卻無法加熱

可能是電熱管損壞，需更換電熱管

7.7.4 消毒器在操作時如有加熱過快或加熱過慢

可能是電源電壓不合的問題，請檢查插座是否為本機型的電源

7.7.5 消毒器操作時壓力不足

1.可能是自動排氣閥問題，需調整或更新排氣閥至正常壓力。

2.可能是門墊、門心、門把需做調整，若無法鎖緊門把則需要更換門墊。

3.可能是消毒器內桶問題，若破桶則建議更換新機。

4.可能是安全閥的問題，若安全閥漏氣則需更換。

7.7.6 若定時沒有動靜時

可能是定時器故障，需要更換定時器。

7.8 檢點表(附件一)、使用記錄表(附件二)

8. 實驗室安全衛生工作依基因重組實驗室安全衛生工作守則(附件三)執行。

附件一

高溫高壓蒸氣滅菌鍋作業檢點表

檢查週期:作業前

項次	檢點內容	檢查方法	【 年 】 檢點日期 / 檢點結果											
			1/	2/	3/	4/	5/	6/	7/	8/	9/	10/	11/	12/
1.	安全閥是否有吹洩	試運轉檢查												
2.	蒸氣進出管路是否正常排出與流入	目視檢查												
3.	鍋體管路支撐體是否穩固	試運轉檢查												
實驗室負責人		檢查人員												

註： 1. 以上所列項目及內容僅供參考，各單位得視現場情況自行增減或修訂其項目且應詳實記錄。

2. 檢查結果正常狀態打√，異常狀態打X，當日無作業畫/。

3. 依據法令:勞工安全衛生組織管理及自動檢查辦法第69條

4. 資料保存年限三年。

附件二、高溫高壓滅菌鍋使用記錄表

高溫高壓滅菌鍋使用記錄表

[illegible]

附件三	義大醫院醫學研究部基因重組實驗室安全衛生工作守則
1.	請勿在實驗室中飲食
2.	確實知道洗眼裝置、安全沖洗設備，以及滅火器的位置。並懂得如何使用這設備。
3.	請維持實驗室之整潔。
4.	隨時檢查是否有昆蟲及鼠類滋生以維持工作場所之清潔。
5.	請確保氣體鋼瓶的安全。
6.	請穿著實驗衣及其他合適之防護衣服，腳及腿部需有保護。實驗室中不宜著涼、露趾。且長髮者已將頭髮盤(束)起或戴髮帽。操作感染性、有毒物質或動物時，必須戴上合適的手套。不宜將實驗衣、手套或其它個人防護裝備穿著到實驗室以外場所。
7.	使用感染性材料或需避免污染的材料時，請在生物安全操作櫃內操作；有毒物質請在化學抽氣櫃內操作。若有同時具有以上二種危險，需視情況決定操作方式。
8.	操作易燃、易爆化學品，操作有毒、有害、或致癌物，或使用強酸、強鹼時，請在化學抽氣櫃操作，不可在生物安全操作櫃內操作。化學抽氣櫃為工作檯，非儲物櫃。化學抽氣櫃工作檯下方若有儲存區，此區不可儲放易燃物。
9.	請謹慎處理化學物及放射性物質，明瞭其危險性且切實遵守安全防範準則，不可將化學物及放射性廢棄物直接傾倒於排水管排出。
10.	所有設備均必須保持無污染狀態。
11.	不可用口做吸量操作。
12.	實驗操作時，請關上門戶並管制進出。
13.	真空抽氣裝置均需接有安全集液瓶及過濾器。
14.	進行離心(請使用安全蓋)、震盪混合(使用有蓋之試管)、磨碎(使用安全磨碎機)、超音波細胞打碎機、研磨、打開感染物質容器、接種、動物接種、從培養或動物體收集感染物、秤重或使用有毒粉末...等操作時，請減少或控管氣霧之產生，並注意大量操作、濃縮溶液或培養物時的安全。
15.	生物安全操作櫃應設置於較少人走動的區域，使用時應減少生物安全操作櫃周圍會干

	擾生物安全操作櫃氣流之行為。
16.	工作檯應每日除污。若有污染發生應立即除污。
17.	所有生物污染物—玻璃器皿、動物籠、實驗裝置...等，清洗、重複使用或處理前，必須先經過除污程序(以高溫高壓蒸氣滅菌或化學殺菌)。廢棄物需經適當之廢棄物處理流程處置。
18.	小心使用針頭、針筒。惟有在其他方法皆不適用時，才使用針頭、針筒。
19.	針筒、針頭、巴斯德吸管...等尖銳物品，必須置於硬質且防漏的容器中，並遵守廢棄物處置規定處理。
20.	破裂玻璃器皿及吸管，除污後，按照廢物處置規定處理。
21.	搬離生物污染物時需置於封蓋、防漏之容器內，方可移出實驗室。
22.	接觸化學物、感染性物質、動物、脫掉手套後、結束實驗操作及離開實驗室前，切記洗手。

實驗室使用人員簽名欄：

使用人員對上述應瞭解之安全作業程序應明瞭，若有不瞭解之處應請實驗室主管協助，主管亦應確認填單人員對上述事項之確實瞭解，以確保醫院、部門及工作人員之共同安全。

使用人(請簽名)：_____ 日期： ____年____月____日

實驗室主管(請簽名)：_____ 日期： ____年____月____日

9.參考資料

9.1 法規與指引依據

1. 《病原體實驗室生物安全管理辦法》（衛生福利部，2022 年修正）
2. 《感染性生物材料管理辦法》（疾病管制署）
3. 《實驗室生物安全管理指引》（疾病管制署，2021 年）
4. 《個人資料保護法》（中華民國最新修正條文）
5. 《勞工安全衛生組織管理及自動檢查辦法》第 69 條（滅菌設備檢查依據）