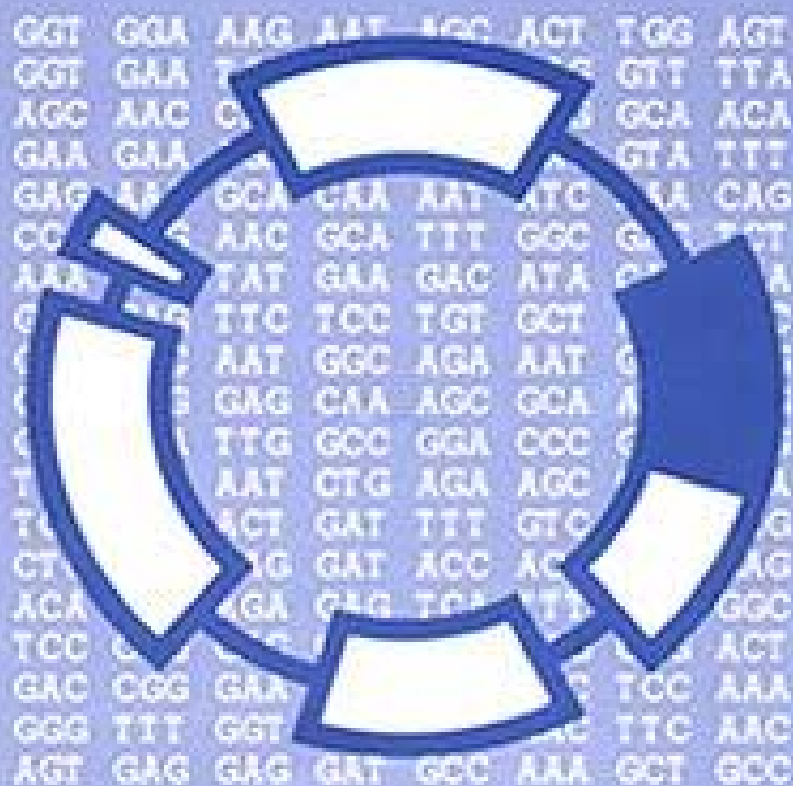


# 基因重組實驗守則



中華民國 93 年 6 月 增修版  
行政院國家科學委員會

# 基因重組實驗守則

行政院國家科學委員會  
中華民國 93 年 6 月增修版

# 基因重組實驗守則

## 目 錄

|            |                            |           |
|------------|----------------------------|-----------|
| <b>第一章</b> | <b>總則</b>                  | <b>1</b>  |
| 第一節        | 宗旨                         | 1         |
| 第二節        | 定義                         | 1         |
| 第三節        | 基因重組實驗之安全確保                | 2         |
| 第四節        | 實驗人員之責任與義務                 | 2         |
| 第五節        | 研究機構主管之責任與義務               | 2         |
| 第六節        | 確保實驗安全之程序                  | 3         |
| 第七節        | 基因重組實驗守則之修訂                | 3         |
| <b>第二章</b> | <b>物理性防護</b>               | <b>4</b>  |
| 第一節        | 物理性防護之目的                   | 4         |
| 第二節        | 20 公升以下規模實驗之物理性防護          | 4         |
| 第三節        | 20 公升以上規模實驗之物理性防護          | 14        |
| 第四節        | 病毒類實驗之物理性防護                | 19        |
| <b>第三章</b> | <b>生物性防護</b>               | <b>20</b> |
| 第一節        | 生物性防護之目的                   | 20        |
| 第二節        | 實驗之區別                      | 20        |
| 第三節        | 生物性防護之層級                   | 22        |
| 第四節        | 安全度評估                      | 25        |
| 第五節        | 不需報備即可進行之實驗                | 28        |
| 第六節        | 需向研究機構報備之實驗                | 28        |
| 第七節        | 需經由研究機構生物實驗安全委員會核准後方可進行之實驗 | 29        |

|            |                                 |           |
|------------|---------------------------------|-----------|
| 第八節        | 需經由行政院所屬主管機構核准後方可進行之實驗-----     | 30        |
| 第九節        | 毒素基因之選殖-----                    | 32        |
| 第十節        | 需經由行政院所屬主管機構監督下方可進行之基本守則外實驗---- | 32        |
| <b>第四章</b> | <b>重組體之處理-----</b>              | <b>34</b> |
| 第一節        | 重組體之增殖實驗-----                   | 34        |
| 第二節        | 重組體之保管-----                     | 34        |
| 第三節        | 重組體之搬運-----                     | 34        |
| 第四節        | 重組體之轉讓及實驗結束後之處理-----            | 35        |
| <b>第五章</b> | <b>使用動物為宿主之實驗-----</b>          | <b>36</b> |
| 第一節        | 動物實驗安全評估之守則-----                | 36        |
| 第二節        | 動物實驗安全之防護基準-----                | 36        |
| 第三節        | 基因轉殖動物之運輸、轉讓及實驗結束後之處理-----      | 39        |
| <b>第六章</b> | <b>使用植物為宿主之實驗-----</b>          | <b>40</b> |
| 第一節        | 植物實驗安全評估之守則-----                | 40        |
| 第二節        | 植物實驗安全之實施要領-----                | 40        |
| 第三節        | 基因轉殖植物之運輸、轉讓及實驗結束後之處理-----      | 41        |
| <b>第七章</b> | <b>確保實驗安全之組織及任務-----</b>        | <b>42</b> |
| 第一節        | 實驗人員-----                       | 42        |
| 第二節        | 計畫主持人-----                      | 42        |
| 第三節        | 研究機構主管-----                     | 42        |
| 第四節        | 生物實驗安全委員會-----                  | 43        |
| 第五節        | 生物實驗安全委員會主任委員-----              | 43        |
| 第六節        | 督導機關-----                       | 43        |
| <b>第八章</b> | <b>教育訓練及健康管理-----</b>           | <b>44</b> |
| 第一節        | 教育訓練-----                       | 44        |
| 第二節        | 健康管理-----                       | 44        |

|  |    |
|--|----|
| 附表一、生物安全操作台-----   | 45 |
| 附表二、病原微生物依其危險性為基礎之分類-----  | 48 |
| 附表三、研究實驗用之微生物-----   | 55 |
| 附表四、病原微生物之分類-----  | 70 |
| 附表五、供研究實驗用之 DNA 載體是源自真核細胞<br>(屬於真菌屬者除外) 之病毒及類病毒安全分類-----                             | 72 |
| 附表六、作為 DNA 供應體等使用的脊椎動物之原蟲之<br>安全度分類-----   | 77 |
| 附表七、不必向主管機構生物實驗安全委員會報備之載體實驗-----   | 79 |
| 附表八、SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome)<br>Associated Coronaviruses 實驗安全準則----- | 80 |
| 「基因重組實驗申請同意書」樣式-----   | 84 |
| 中英文名辭對照-----   | 85 |

# 第一章 總則

## 第一節 宗旨

本基因重組實驗守則（以下簡稱本守則）的宗旨，是為推動去氧核糖核酸（DNA）及核糖核酸（RNA）重組研究之實驗安全。

## 第二節 定義

本守則中的名詞解釋，需依照下面之定義：

1. 『基因重組實驗』在本守則中是指包括 DNA、RNA 及其他遺傳物質之重組實驗。
2. 『基因重組實驗』指在試管內，用酵素把活細胞內可以增殖之遺傳物質的本體與外源性之 DNA 組合，然後把這個組合移入另一活細胞體，使重組 DNA 得以增殖的實驗。不包括在自然界已存在，含外源性 DNA 之活細胞或同等之遺傳物質。
3. 『大量培養實驗』是指在基因重組實驗中，培養 20 公升以上細胞之大規模實驗。
4. 『宿主』是指在基因重組實驗中，接受重組 DNA 移入的活細胞。
5. 『載體』是指在基因重組實驗中，把外源性 DNA 運送至宿主的 DNA。
6. 『宿主—載體系統』是指宿主和載體的組合。
7. 『DNA 供應體』是指提供欲插入載體之 DNA 的細胞或微生物。當用 RNA 做模板合成 DNA 後，再插入載體的情況，則是指提供 RNA 的細胞或微生物。
8. 『重組體』是指攜帶重組 DNA 之病毒、細胞或生物體。
9. 『已確認 DNA』是指從 DNA 供應體製備並且經過核 酸序列確認的 DNA，與選殖及化學合成的 DNA。
10. 『未確認 DNA』是指從 DNA 供應體製備，但還未被確認的 DNA。
11. 『基因轉殖動物』是以重組 DNA 進行下列實驗所轉殖的動物及動物體的一部份，包括精子、卵、受精卵、胚、胎、未分化之胚幹細胞及已分化之體細胞等（含基因剔除動物）。
  - [1]以動物為宿主之實驗。
  - [2]把重組 DNA 轉殖到動物之實驗。
  - [3]以上述的實驗所轉殖的動物作為實驗材料。

12. 『基因轉殖植物』是以重組 DNA 進行下列的實驗所轉殖的植物或植物體的一部分，包括花粉、胚珠、胚胎、孢子、種子，及已分化器官與未分化的細胞等（含基因剔除植物）。
  - [1]以植物為宿主之實驗。
  - [2]把重組 DNA 轉殖到植物之實驗。
  - [3]以上述的實驗所轉殖的植物作為實驗材料。
13. 『實驗室』是指從事基因重組實驗的房間。
14. 『實驗區域』是包括出入用的緩衝室，實驗室及走廊等所組成的區域。
15. 『緊急避難室』是指在實驗區域內備有在緊急狀況時能維持工作人員生命安全裝置的密閉空間。
16. 『生物安全操作台』是指防止實驗操作時所產生之污染性氣霧向外流出之裝置或箱形設計。(見 45 頁附表一所規定的生物安全操作台規格)。
17. 『實驗人員』是指操作基因重組實驗的人員。
18. 『計畫主持人』是指主持該項實驗計畫的負責人。
19. 『研究機構主管』為監督基因重組實驗之各單位主管、公共團體之負責人或代表人（詳見第七章）。
20. 『研究機關主管』為監督基因重組實驗之公共團體法定代理人。

### 第三節 基因重組實驗之安全確保

為確保基因重組實驗的安全，需用病原微生物實驗室一般所用之標準實驗方法為基礎，視實驗的危險性，以物理性防護及生物性防護二種方法適切配合，才可實施。實施大量培養實驗時，需使用大規模培養醱酵裝置等各種密閉型裝置的實驗設施或相同層級的設施。

### 第四節 實驗人員之責任與義務

實驗人員對於實驗的規劃及執行，要特別注意確保安全，並需熟悉有關病原微生物的標準實驗方法，和實驗所需的特有操作方法及有關技術。

### 第五節 研究機構主管之責任與義務

研究機構主管應負責督促本守則之執行。

## 第六節 確保實驗安全之程序

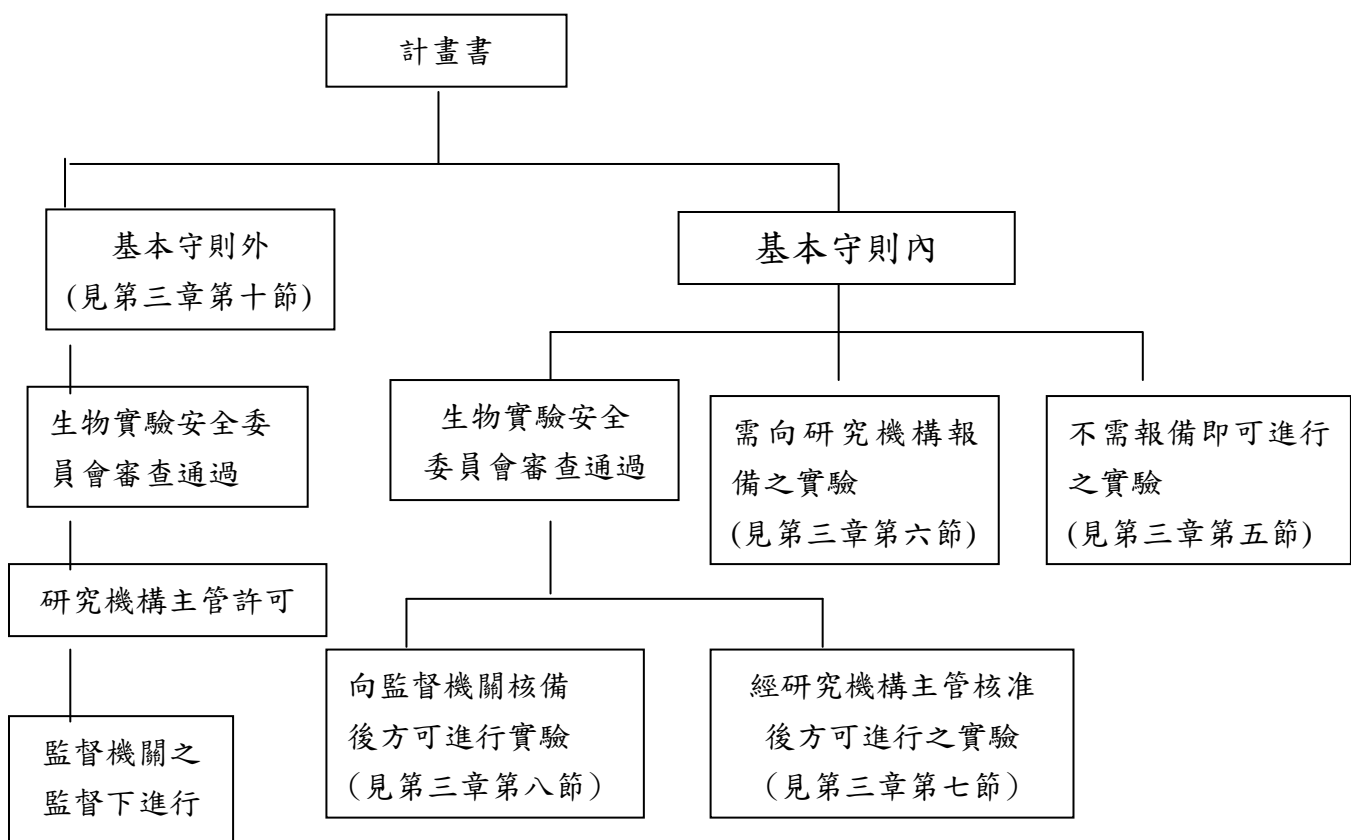
### 1. 基本守則內的實驗：

為確保實驗的安全，實驗計畫須依本守則第三章第五節至第九節之規定辦理。

### 2. 基本守則外的實驗：

本守則未定出防護基準之實驗，需經研究機構相關之生物實驗安全委員會審查，並且得到研究機構主管許可後，需在監督機關之監督下進行實驗，但最長以三年為限(參考本守則第三章第十節)。

### 3. 生物實驗審查之程序請參閱圖一



圖一 生物實驗審查程序

## 第七節 基因重組實驗守則之修訂

必要時，行政院國家科學委員會得不定期邀請本守則之編審委員及有關專家，對本守則加以適當之修訂。



## 第二章 物理性防護 (Physical Containment)

### 第一節 物理性防護之目的

物理性防護的目的是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。

### 第二節 20 公升以下規模實驗之物理性防護

#### 1. 實驗室物理性防護之區分

(1) 20 公升以下規模實驗之物理性防護，由隔離的設備、實驗室的設計及實驗實施要項等三要素所組成。因封閉程度的不同，區分為 **P1**、**P2**、**P3** 和 **P4** 四等級（相當於 BSL-1、BSL-2、BSL-3 及 BSL-4 四等級）。利用微生物及培養細胞為宿主有關實驗之防護等級參見表 2-1（第 13 頁）。

(2) 另訂 **P2<sup>+</sup>** 等級供每次操作最後總量不超過 200 ml，且總病毒數不超過  $1 \times 10^9$  之 HIV 或 HTLV 之操作規範。

#### 2. 物理性防護的等級

##### [1] **P1** 級

##### (1) 隔離的設備及實驗室的設計

實驗室需具備跟一般微生物學實驗室相同等級的設備。

##### (2) 實驗實施要項

- 1) 進行實驗時，宜關閉實驗室的門窗。
- 2) 每日實驗結束時需滅菌實驗台，如實驗中發生污染，需立即加以滅菌。
- 3) 實驗所產生之所有生物材料廢棄物，在丟棄之前需滅菌。被污染的器具需先經滅菌後，再清洗使用或丟棄。
- 4) 不得用口做吸量操作。
- 5) 實驗室內禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 6) 操作重組體之後，或離開實驗室之前要洗手。
- 7) 在所有操作中，應儘量避免產生氣霧。
- 8) 要從實驗室搬離被污染物品時，必需將其放入堅固且不漏的容器，在實驗室內密封後才可運出。
- 9) 防除實驗室的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 10) 若有其他方法可用，應避免使用針頭。
- 11) 實驗用衣物的使用，需遵從計畫主持人的指示。
- 12) 需遵守計畫主持人所訂之其他事項。

## [2] P2 級

### (1) 隔離的設備

- 1) 為了處理重組體，而使用容易產生大量氣霧的磨碎機 (Blender)、超音波細胞打碎機及離心機等儀器時，應避免氣霧外洩，或把這些儀器放置在生物安全操作台 (Biological Safety Cabinet, BSC) 中。但若機器已經有防止氣霧外洩的裝置，則不在此限。
- 2) 需設置生物安全操作台 (第一級或第二級，第 45 至 47 頁)，且要做定期檢查。高效率空氣過濾器 (High Efficiency Particulate Airfilter, HEPA) 的更換及使用甲醛燻蒸等操作時，需在不必移動生物安全操作台的情形下就可操作。生物安全操作台設置後需立即檢查，之後每年必需定期檢查一次。向實驗室內排氣之生物安全操作台，則每年需檢查兩次。

檢查項目包括：

- a) 風速、風量試驗。
- b) 密閉度試驗。
- c) HEPA 過濾器性能試驗。

### (2) 實驗室的設計

實驗室所在之建物內，需具備處理污染物及廢棄物滅菌用之高壓滅菌器。

### (3) 實驗實施要項

- 1) 進行實驗時，需關閉實驗室的門窗。
- 2) 每天實驗結束之後一定要滅菌實驗台及生物安全操作台。如實驗中發生污染，需立即加以滅菌。
- 3) 與實驗有關之生物材料之廢棄物，在丟棄前需做滅菌處理。被污染的器具需先經高壓滅菌後，再清洗使用或丟棄。
- 4) 不得用口做吸量操作。
- 5) 實驗室內禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 6) 操作重組體時需戴手套以防污染，操作完畢後及離開實驗室前需洗手。
- 7) 在所有的操作中，應儘量避免產生氣霧 (例如，把燒熱的接種用白金環及接種針插入培養基時，若發生大量氣霧，就可能造成污染)。亦應避免將吸管或針筒內之液體用力射出。
- 8) 要從實驗室搬離被污染物品時，必需將其放入堅固且不外漏的容器，並在實驗室內密封之後，才可運出。
- 9) 防除實驗室的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 10) 若有其他方法可用，應避免使用針頭。
- 11) 實驗室內，要穿著實驗衣，離開前要脫掉。
- 12) 禁止對實驗性質不了解的人進入實驗室。
- 13) 實驗進行中，要在實驗室之入口，標示「P2 級實驗室」，並掛上「P2

級實驗進行中」的標示。而且保存重組體之冰箱及冷凍庫也要做同樣的標示。

- 14)實驗室要經常清理，保持清潔，不得放置與實驗無關的物品。
- 15)生物安全操作台內的 HEPA 過濾器，在更換前、定期檢查時，需密封生物安全操作台，每立方公尺用 10 公克的甲醛燻蒸 1 小時，去除污染。
- 16)若在此級實驗室內同時進行 **P1** 級的實驗時，需明確劃分實驗區域，小心進行操作。
- 17)需遵守計畫主持人所規定之其他事項。

### [3] P2<sup>+</sup>級

#### (1)隔離的設備

- 1)為了處理重組體，而使用容易產生大量氣霧的磨碎機 (Blender)、超音波細胞打碎機及離心機等儀器時，應避免氣霧外洩，且把這些儀器放置在生物安全操作台中。但若機器已經有防止氣霧外洩的裝置，則不在此限。
- 2)需設置生物安全操作台 (第二級或以上，第 45 至 47 頁)，且要做定期檢查。HEPA 過濾器的更換及使用甲醛燻蒸等操作時，需在不必移動生物安全操作台的情形下就可操作。生物安全操作台設置後需立即檢查，之後每年必需定期檢查一次。向實驗室內排氣之生物安全操作台，則每年需檢查兩次。  
檢查項目包括：
  - a)風速、風量試驗。
  - b)密閉度試驗。
  - c)HEPA 過濾器性能試驗。

#### (2)實驗室的設計

- 1)實驗區域之入口應有前室，其前後二扇門無法同時開啟，而且應有更衣室的設計，並需有紫外燈裝置。
- 2)實驗區域內需放置高壓滅菌器，以供污染物及廢棄物之滅菌用。
- 3)實驗區域的窗戶需保持關閉狀態。
- 4)實驗室內前室附近，需設有可用腳或肘操作或自動的洗手、噴臉和沖眼的設備。

#### (3)實驗實施要項

- 1)進行實驗時，需關閉實驗室的門窗。
- 2)每天實驗結束之後一定要滅菌實驗台及生物安全操作台。如實驗中發生污染，需立即加以滅菌。
- 3)與實驗有關之生物材料之廢棄物，在丟棄前需做滅菌處理。被污染的器具需先經高壓滅菌後，再清洗使用或丟棄。

- 4)不得用口做吸量操作。
- 5)實驗室內禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 6)進入此級實驗室前室內需穿實驗衣、戴口罩、面罩/安全眼鏡、雙層鞋套（或包覆式實驗室鞋及一層鞋套）、帽套及雙層手套。所穿著之實驗衣需為長袖且胸前不開口之形式。
- 7)在所有的操作中，應儘量避免產生氣霧（例如，把燒熱的接種用白金環及接種針插入培養基時，若發生大量氣霧，就可能造成污染）。亦應避免將吸管或針筒內之液體用力射出。
- 8)要從實驗室搬離被污染物品時，必需將其放入堅固且不外漏的容器，並在實驗室內密封之後，才可運出。
- 9)防除實驗室的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 10)若有其他方法可用，應避免使用針頭。
- 11)離開實驗室進入前室前，需脫掉外層手套後再脫掉面罩/安全眼鏡、帽套、實驗衣、外層鞋套（或鞋套）。最後脫口罩及內層手套，洗手後進入前室，脫掉內層鞋套（或包覆式實驗室鞋）後離開。脫換後之實驗衣、口罩、面罩/安全眼鏡、鞋套、帽套及手套在實驗室內消毒後方能攜出。
- 12)禁止與進行實驗無關之人員進入。
- 13)實驗進行中，要在實驗室之入口，標示「P2<sup>+</sup>級實驗室」，並掛上「P2<sup>+</sup>級實驗進行中」的標示。而且保存重組體之冰箱及冷凍庫也要做同樣的標示。
- 14)實驗室要經常清理，保持清潔，不得放置與實驗無關的物品。
- 15)生物安全操作台內的HEPA過濾器，在更換前、定期檢查時，需密封生物安全操作台，每立方公尺用10公克的甲醛燻蒸1小時，去除污染。
- 16)在此級實驗室內，如欲同時進行級數較低之實驗，需按照本級之規定實施。
- 17)需遵守計畫主持人所規定之其他事項。

#### [4] P3 級

##### (1) 隔離的設備

- 1)為了處理重組體，而使用容易產生大量氣霧的磨碎機（Blender）、超音波細胞打碎機及離心機等儀器時，應避免氣霧外洩，且把這些儀器放置在生物安全操作台中。但若機器已經有防止氣霧外洩的裝置，則不在此限。
- 2)設置生物安全操作台（第二級B型或以上，第45至47頁）時，需做安全檢查。HEPA過濾器之更換及使用甲醛燻蒸等操作時，需不必移動生物安全操作台就可操作。在設置生物安全操作台後，需立即檢查，之後每年必需定期檢查一次，但是向實驗室內排氣之生物安全操作台，則需

每年檢查兩次。

檢查項目包括：

- a)風速、風量試驗。
- b)密閉度試驗。
- c)HEPA 過濾器性能試驗。

## (2)實驗室的設計

- 1)實驗區域之入口應有前室，其前後二扇門無法同時開啟，而且應有更衣室的設計，並需有紫外燈裝置。
- 2)實驗區域內需有廢水收集及滅菌之設備。
- 3)實驗區域內需放置高壓滅菌器，以供污染物及廢棄物之滅菌用。
- 4)實驗區域之地面、牆壁及天花板之表面，需使用容易清洗及可燻蒸之材料及結構。
- 5)實驗室內前室附近，需設有可用腳或肘操作或自動的洗手、噴臉和沖眼的設備。
- 6)實驗區域的窗戶需保持密封狀態。
- 7)實驗區域之門需能自動開關。
- 8)實驗室內之真空抽氣裝置，需與實驗區域以外之區域分別獨立，需有實驗專用裝置的設計，真空抽氣口需備有過濾器及滅菌液之收集器。
- 9)實驗區域需設置空氣的排換氣裝置。此系統的設計需為負壓，空氣需從緩衝室流向實驗區域。從實驗區域之排氣需經過濾及其他必需處理之後方可排出。
- 10)上述硬體詳細相關規定，請參照美國的疾病控制與預防中心（Centers for Disease Control and Prevention, CDC）及國家健康研究院（National Institutes of Health, NIH）之相關規定。

## (3)實驗實施要項

- 1)進行實驗時，需關閉實驗室的門窗。
- 2)每天實驗結束之後一定要滅菌實驗台及生物安全操作台，如實驗中發生污染時需立即滅菌。
- 3)與實驗有關之生物材料廢棄物，在丟棄前需滅菌處理。被污染之器具需先經高壓滅菌後，再清洗使用或丟棄。
- 4)不得用口做吸量操作。
- 5)實驗區域內禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 6)進入此級實驗室前室內需穿實驗衣、戴口罩、面罩/安全眼鏡、雙層鞋套（或包覆式實驗室鞋及一層鞋套）、帽套及雙層手套。所穿著之實驗衣需為長袖且胸前不開口之形式。
- 7)在所有的操作中，應儘量避免產生氣霧（例如把燒熱的接種用白金環及接種針插入培養基時，若發生氣霧，就可能造成污染）。亦應避免將吸管及針筒內之液體用力射出。

- 8)要從實驗室搬離被污染物品時，必需將其放入堅固且不外漏的容器，且在實驗室內密封之後才可運出。
- 9)防除實驗區域之非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 10)若有其他方法可用，應避免使用針頭。
- 11)離開實驗室進入前室前，需脫掉外層手套後再脫掉面罩/安全眼鏡、帽套、實驗衣、外層鞋套（或鞋套）。最後脫口罩及內層手套，洗手後進入前室，脫掉內層鞋套（或包覆式實驗室鞋）後離開。脫換後之實驗衣、口罩、面罩/安全眼鏡、鞋套、帽套及手套在實驗室內消毒後方能攜出。
- 12)禁止與進行實驗無關之人員進入。
- 13)實驗進行中，要在實驗室及實驗區域之入口處，標示「**P3** 級實驗室」，並掛上「**P3** 級實驗進行中」的標示。而且保存重組體之冰箱及冷凍庫，也要做同樣的標示。
- 14)實驗室需經常整理，保持清潔，不要放置與實驗無關的物品。
- 15)生物安全操作台內之 HEPA 過濾器，在更換前，定期檢查時，需密封生物安全操作台，每立方公尺用 10 公克甲醛燻蒸 1 小時，去除污染。
- 16)在此級實驗室內，如欲同時進行級數較低之實驗，需按照本級之規定實施。
- 17)遵守計畫主持人所規定的其他事項。

## [5] **P4** 級

### (1) 隔離的設備

- 1)設置操作重組體用的第三級生物安全操作台（第 45 至 47 頁），但若在特別的實驗區域內，用生命維持裝置來換氣，且穿著維持正壓之上下連接的實驗衣時，則可用第一級或第二級生物安全操作台來代替。
- 2)設置生物安全操作台時，需做安全檢查。HEPA 過濾器之更換及用甲醛燻蒸等操作時，需不必移動生物安全操作台就可操作。在設置生物安全操作台之後，需立即檢查，而且每年必需定期檢查一次，但是向實驗室內排氣的生物安全操作台，則需每年檢查兩次。

檢查項目包括：

- a)風速、風量試驗。
- b)密閉度試驗。
- c)HEPA 過濾器性能試驗。

### (2) 實驗室的設計

- 1)在實驗專用之建築物範圍或在建築物內，要明確劃分出一實驗區域，限制實驗人員以外的人靠近該地區。
- 2)實驗區域之入口需有緩衝室，其前後二扇門不能同時開啟。而且應有更衣室及沐浴室設備。

- 3)將試驗材料及其他物品搬入實驗區域時，不可經過人員出入之緩衝室及更衣室，必需另經由有紫外線照射之緩衝室。
- 4)實驗區域之地面、牆壁及天花板，應具有容易清洗、能夠燻蒸，及防止昆蟲及鼠類等侵入之結構。讓實驗區域處於適當的封閉情況，但這並不表示一定要密閉。
- 5)實驗室及實驗區域的主要出口，要設有可用腳或肘操作或自動的洗手、噴臉和沖眼的裝置。
- 6)實驗區域之大門，需能自動開關，並可上鎖。
- 7)設置中央真空系統時，在儘量靠近各使用場所配置實驗區域專用之 HEPA 過濾器。HEPA 過濾器，應不需移動就可滅菌，並且可以改換。
- 8)供應實驗區域水及瓦斯之配管，需有防止逆流的裝置。
- 9)從實驗區搬出之物品，必需先經過高壓、浸漬或燻蒸滅菌處理。滅菌設備為通過式且兩邊門不能同時開啟。
- 10)實驗區域需有專用之空調裝置。這個裝置需為負壓，空氣從外面流入時，要設計逐漸往危險性高的區域流，同時要維持其壓力差，並且防止空氣逆流。而且需有告知錯誤情況發生的警報裝置。
- 11)在每個實驗室，空氣的再循環，需用 HEPA 過濾器過濾。
- 12)從實驗區域排出之氣體，需經過 HEPA 過濾器過濾，並避免其向附近建築物之空氣進口處擴散。所裝置之 HEPA 過濾器，需在不移動的情況下，就可滅菌，而且更換之後立刻做其性能檢查。
- 13)經第三級生物安全操作台處理之後的廢氣需往戶外排出。如果這些廢氣必需通過實驗區域專用的排氣裝置排出時，不可擾亂生物安全操作台，或實驗區域排氣系統的空氣平衡。
- 14)實驗區域內需有廢水收集及滅菌之設備。
- 15)在實驗區域應設立具備下列要項之緊急避難空間。
  - a)需備有警報裝置及緊急用的空氣供應桶。
  - b)在入口處設置空氣鎖。
  - c)為了去除附著在身上或衣物上的污染物，需設置去除化學藥品之沐浴室。
  - d)從該室排出氣體，需用兩段 HEPA 過濾器加以過濾。
  - e)為了安全，需有一套單獨的空調設備。
  - f)需備有緊急用的電源，照明及電話裝置。
  - g)對於該室以外的實驗區域，要經常保持負壓。
  - h)需備有將該區廢棄物滅菌的高壓滅菌器。
- 16)在實驗區域內需具備兩套以上之發電設備，以使在電力供給不足時，可維持負壓狀態。
- 17)上述實驗室詳細相關規定，請參照美國的疾病控制與預防中心 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 及國家健康研究院 (National

Institutes of Health, NIH) 之相關規定。

(3) 實驗實施要項

- 1) 進行實驗時，需關閉實驗區域的門窗。
- 2) 每天實驗結束之後，一定要滅菌實驗台及生物安全操作台，如實驗中發生污染，要立即滅菌。
- 3) 與實驗有關之生物材料廢棄物，在丟棄前需滅菌處理。被污染之器具需先經高壓滅菌後，再清洗使用或丟棄。
- 4) 不得用口做吸量操作。
- 5) 實驗區域內禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 6) 操作重組體後及離開實驗區域前，需洗手。
- 7) 在所有的操作中，應儘量避免產生氣霧（例如把燒熱的接種用白金環及接種針插入培養基時，若發生氣霧，就可能造成污染）。亦應避免將吸管或針筒內之液體用力射出。
- 8) 從第三級生物安全操作台及實驗區域要把生物試驗材料在活的狀態搬出時，必需放在堅固不漏的容器，並且要通過浸漬槽或是燻蒸滅菌室。搬入時需做同樣的處理。
- 9) 從第三級生物安全操作台及實驗區域搬出試料或物品時，除了 8) 所述處理程序，還需通過高壓滅菌器。若有可能被高溫及蒸氣破壞的物品，則通過浸漬槽或是燻蒸滅菌室。搬進時，也要做同樣的處理。
- 10) 防除實驗室內的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 11) 若有其他方法可用，避免使用針頭。
- 12) 除了實驗人員及做安全檢查之工作者外，禁止進入實驗區域。
- 13) 實驗區域的出入，需從緩衝室通過，並要沐浴更衣。
- 14) 進入此級實驗室需戴口罩、鞋套及帽套。穿著包括內衣、褲子、襯衫、實驗衣、鞋子、頭巾及手套的完整實驗服裝。從實驗區域出去時，在進沐浴室之前要把這些衣物脫掉，放入收集箱內。
- 15) 實驗區域所有的門，及保管重組體的冷凍庫和冰箱，要懸掛「生物性危險品」標示。
- 16) 實驗區域需經常整理，保持清潔，不得放置與實驗無關的物品。
- 17) 生物安全操作台內之 HEPA 過濾器，在更換前，定期檢查時，需密封生物安全操作台，每立方公尺用 10 公克甲醛燻蒸 1 小時，去除污染。
- 18) 從生物安全操作台及實驗室洗滌處流出之廢液，要加熱滅菌。浴室、洗手及衛生設備的排水，需經過化學處理滅菌。
- 19) 在該實驗室內，禁止同時進行級數較低的其他實驗。
- 20) 遵守計畫主持人所規定的其他事項。





表 2-1 利用微生物及培養細胞為宿主有關實驗之防護等級（20 公升以下規模）

| DNA 供應體  |                         | 動物<br>(P2)         | 植物<br>(P1)         | 附表三 <sup>5</sup> -(1)<br>RG3 (P3) | 附表三 <sup>5</sup> -(2)<br>RG2 (P2) | 附表三 <sup>5</sup> -(3)<br>RG1 (P1) |
|--|-------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 宿主-載體系統  |                         |                    |                    |                                   |                                   |                                   |
| EK-2 系統 <sup>1</sup>   |                         | P1                 | 機構報備實驗<br>(P1)     | P2                                | P1                                | 機構報備實驗<br>(P1)                    |
| EK-1 <sup>2</sup> 、SC-1 <sup>3</sup> 、BS-1 <sup>4</sup> 等系統  |                         | P2                 | 機構報備實驗<br>(P1)     | P3                                | P2                                | 機構報備實驗<br>(P1)                    |
| 表 3-4 左欄所列之宿主-載體系統   |                         | P2                 | P1                 | P3                                | P2                                | P1                                |
| 培養細胞（宿主）<br><br>（限於不以分<br>化至成體為目<br>的者）                      | 附表三 <sup>5</sup> -(1)載體 | 基準外實驗 <sup>6</sup> | 基準外實驗 <sup>6</sup> | 基準外實驗 <sup>6</sup>                | 基準外實驗 <sup>6</sup>                | 基準外實驗 <sup>6</sup>                |
|  | 附表三 <sup>5</sup> -(2)載體 | P2                 | P2                 | P3                                | P2                                | P2                                |
|  | 附表三 <sup>5</sup> -(3)載體 | P2                 | P1                 | P3                                | P2                                | P1                                |
| 附表三 <sup>5</sup> -(1)用為宿主或載體者                                |                         | 基準外實驗 <sup>6</sup> | 基準外實驗 <sup>6</sup> | 基準外實驗 <sup>6</sup>                | 基準外實驗 <sup>6</sup>                | 基準外實驗 <sup>6</sup>                |
| 附表三 <sup>5</sup> -(2)用為宿主或載體者<br>（用附表三 <sup>5</sup> -(1)者除外） |                         | P2                 | P2                 | P3                                | P2                                | P2                                |
| 僅由附表三 <sup>5</sup> -(3)所組成之宿主-載體<br>系統                       |                         | P2                 | P1                 | P3                                | P2                                | P1                                |

1、2、3、4：定義請參照(第 21-22 頁)，表 3-2、3-3。

5：載體為非病毒或不產生感染性之病毒體者，附表三（第 53-56 頁）可由附表五（第 59-63 頁）或附表六（第 64-65 頁）所取代。

6：使用尚未鑑定種別，且尚未確定無病原性之微生物之實驗皆屬基準外實驗。

( ) 僅記載防護等級者皆屬於機構認可之實驗。

### 第三節 20 公升以上規模實驗之物理性防護

1.大量培養實驗的物理性防護規定，由隔離的設備與設計及實驗實施要項所組成。因防護層級之不同，區分為 **LS-C**、**LS-1** 及 **LS-2** 的三等級。

2.物理性防護的等級

#### [1] **LS-C** 級

(1)隔離的設備與設計

- 1)培養裝置及其他機器需經常維持良好狀態。
- 2)重組體培養裝置的廢氣排出，需有能儘量避免重組體漏出的設計。

(2)實驗實施要項

- 1)大量培養實驗所產生的生物材料廢棄物及廢棄液，在實驗結束之後，丟棄之前需做高壓滅菌處理。而且必須以在大量培養實驗所用同樣之宿主，並事先確認該滅菌操作之有效性。
- 2)自培養裝置取樣時，要注意儘量避免造成培養裝置外圍壁面的污染。
- 3)從培養裝置把重組體移往其他裝置時，要儘量避免重組體漏出所引起的污染。
- 4)需保持大量培養實驗區域的清潔，同時要盡力驅除該區域非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 5)大量培養實驗進行中的培養裝置，需懸掛「**LS-C** 級大量培養實驗中」的標示。
- 6)大量培養實驗用的衣物，要遵照計畫主持人的指示使用。
- 7)遵守計畫主持人所定的其他事項。

#### [2] **LS-1** 級

(1)隔離的設備與設計

- 1)需具有防止重組體外漏的設計，而且培養裝置在密閉的狀態下，可做內部的滅菌操作。該培養設備在設置之後需馬上做密閉度檢查，而且每年一次做同樣的定期檢查。
- 2)操作重組體所使用，容易產生氣霧的磨碎機、冷凍乾燥器、超音波細胞打碎機及離心機等機器，需在生物安全操作台或是在具有跟生物安全操作台同樣功能的設備（以下稱為生物安全操作台等）內操作。但是若本身已有防止氣霧外洩設計的機器則不在此限。生物安全操作台等在裝設之後，需馬上做性能檢查，而且每年定期檢查一次。
- 3)重組體培養裝置的廢氣需設計經過除菌用過濾器或是和其效果相當的除菌用機器處理後方可排出。而且除菌用過濾器等在更換之後，需馬上做性能檢查，並且每年定期檢查一次。
- 4)有關設備及機器，若做與其封閉狀態有關部份的改造及更換時，需重新做密閉度及性能的檢查。

## (2) 實驗實施要項

- 1) 要明確設定大量培養實驗區域。
- 2) 被污染的培養裝置與機器及大量培養實驗產生的生物材料廢棄物及廢液，在實驗結束之後，丟棄之前要做高壓滅菌處理。而且必須以在大量培養實驗所用同樣之宿主，並事先確認該滅菌操作之有效性。
- 3) 不得用口做吸量操作。
- 4) 在大量培養實驗區域內，禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 5) 實驗操作時需戴實驗用手套，操作完畢及離開大量培養實驗區域時需洗手。
- 6) 在全部的操作過程，要注意儘量避免產生氣霧。
- 7) 在培養裝置接種或採樣時，要注意儘量避免造成培養裝置外圍壁面的污染。若發生污染時，需立即滅菌。
- 8) 從培養裝置把重組體移至其他培養裝置或其他密閉的設備、機器時，要放入堅固且不漏的容器內進行。進行操作時，避免污染容器的外圍壁面。若發生污染時，需立即滅菌。
- 9) 除了在生物安全操作台內操作，及在前面 7) 及 8) 所規定的情況外，不可把含有重組體的培養液，在沒有滅菌處理的情況下，從培養裝置取出。而且必須以在大量培養實驗所用同樣之宿主，並事先確認該滅菌操作之有效性。
- 10) 從大量培養實驗區域將污染物搬出時，需將污染物裝入堅固且不外漏的容器，且在大量培養實驗區域內密閉之後才可搬出。
- 11) 要防除大量培養實驗區域的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 12) 大量培養實驗進行時，要在大量培養實驗區域懸掛「LS-1 級大量培養實驗中」的標示。保存重組體的冷凍庫及冰箱，也要做同樣的標示。
- 13) 大量培養實驗用衣物等之使用，要遵從計畫主持人的指示使用。
- 14) 大量培養實驗進行中，每日要確認培養容器的密閉度等狀況一次以上。
- 15) 生物安全操作台及其他裝置的除菌用過濾器，在其更換之前，定期檢查或更換培養實驗內容時，要做滅菌處理。
- 16) 在此級可同時進行 P1 級之實驗，但要明確設定區域，謹慎操作。
- 17) 遵守計畫主持人所規定的其他事項。

## [3] LS-2 級

### (1) 隔離的設備與設計

- 1) 需具有防止重組體外漏的設計，而且培養裝置在密閉的狀態下，可做內部的滅菌操作。對於直接連接在培養裝置的旋轉軸軸封、配管栓塞及其他設計，要特別考慮防止重組體的外漏。而且該培養裝置在設置之後，要馬上做密閉度檢查，及在大量培養實驗之後，依情況需要做同樣的檢查。
- 2) 操作重組體所使用，容易產生氣霧的磨碎機、冷凍乾燥機、超音波細胞

打碎機及離心機等機器，需在可容納這些機器的第二級生物安全操作台(第 45 至 47 頁)或具有同樣封閉功能的設備(以下稱為第二級生物安全操作台)內操作。但若本身已有防止氣霧外洩設計的機器，則不在此限。

- 3)重組體培養裝置的排氣，需設計經過除菌用過濾器(其除菌效率至少須和 HEPA 過濾器同等)，或是和其效果相當的除菌用機器。除菌用過濾器等在裝設之後，需馬上做性能檢查，而且每年定期檢查一次。
- 4)設置第二級生物安全操作台等，需考慮在不移動安全操作箱的情況下，就可做定期檢查、除菌用過濾器等的更換及用甲醛燻蒸等的操作。而且第二級生物安全操作台，在裝設之後需馬上做性能檢查，且每年定期檢查一次。但是向實驗室內排氣的第三級生物安全操作台，每年需檢查二次。

檢查項目包括：

- a)風速，風量試驗。
  - b)密閉度試驗。
  - c) HEPA 過濾器性能試驗。
- 5)第二級生物安全操作台的隔離設備、培養裝置及和它直接連接的機器等，需備有監視大量培養實驗中的密閉度的裝置。
  - 6)全部的設備及機器，需標上一連貫的識別號碼，確實管理。在所有的記錄，包括檢查記錄及操作記錄，需把這些號碼詳細記載。
  - 7)污染物及廢棄物高壓滅菌用的高壓滅菌器，需放置在同一建築物內。
  - 8)有關設備及機器，若做與其封閉狀態有關部份的改造及更換時，需重新做密閉度及性能的检查。

## (2)實驗實施要項

- 1)大量培養實驗中實驗室，門窗需關閉，而且儘量減少實驗室門的開關。
- 2)被污染的培養裝置與機器及大量培養實驗產生的生物材料廢棄物及廢液，在大量培養實驗結束之後，丟棄之前，要做高壓滅菌處理。而且必須以在大量培養實驗所用同樣之宿主，並事先確認該滅菌操作之有效性。
- 3)不得用口來做吸量操作。
- 4)在大量培養實驗區域內，禁止飲食、吸煙及保存食物。
- 5)實驗操作時需戴實驗用手套，操作完畢及離開大量培養實驗區域時需洗手。
- 6)在所有的操作，要注意儘量避免產生氣霧。亦應避免將吸管或針筒內之液體用力射出。
- 7)在培養裝置接種或採樣時，要注意儘量避免造成培養裝置外圍壁面的污染。若發生污染時，需立即滅菌。
- 8)從培養裝置把重組體移至其他培養裝置或其他密閉的設備、機器時，要

放入堅固且不漏的容器內進行。進行操作時，避免污染容器的外圍壁面。若發生污染時，需立即滅菌。

- 9)除了在第二級生物安全操作台（第 45 至 47 頁）內操作，及在 7)及 8)所定的程序外，不要把含有重組體的培養液，在沒有滅菌處理的情況下，從培養裝置取出。而且必須以在大量培養實驗所用同樣之宿主，並事先確認該滅菌操作之有效性。
- 10)從大量培養實驗區域將污染物搬出時，需將污染物裝入堅固且不外漏的容器，且在大量培養實驗區域內密閉之後才可搬出。
- 11)要防除大量培養實驗區域的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 12)在實驗區域內，必須穿著大量培養實驗用衣物，離開時，須脫掉。
- 13)禁止對所實行之大量培養實驗性質不瞭解的人進入實驗室。
- 14)大量培養實驗進行中，在實驗室的入口，要懸掛「**LS-2** 級大量培養實驗中」的標示。而且保管重組體的冷凍庫及冰箱，也要做同樣的標示。
- 15)實驗室要經常整理，保持清潔，不要放置與大量培養實驗無關的物品。
- 16)大量培養實驗進行中，第二級生物安全操作台的隔離設備狀況、有關培養裝置及與其直接連結的機器，需時常從監視系統來監視是否正常。
- 17)有關第二級生物安全操作台及其他設備的隔菌用過濾器，在更換之前、定期檢查時及大量培養內容有變更時，需把設備密閉，每立方公尺用 10 公克甲醛燻蒸約 1 小時處理，以去除污染。
- 18)在 **LS-2** 級進行 **P1** 及 **P2** 的實驗或與 **LS-1** 級大量培養實驗同時進行時，需謹慎明確地劃分區域。
- 19)遵守計畫主持人所規定的其他事項。

表 2-2 利用微生物及培養細胞為宿主有關實驗之防護等級（20 公升以上規模之大量培養實驗）

| DNA 供應體 <sup>1</sup>  |                         | 動物<br>(P2)         | 植物<br>(P1)         | 附表三 <sup>6</sup> -(1)<br>RG3 (P3) | 附表三 <sup>6</sup> -(2)<br>RG2 (P2) | 附表三 <sup>6</sup> -(3)<br>RG1 (P1) |
|---|-------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 宿主-載體系統   |                         |                    |                    |                                   |                                   |                                   |
| EK-2 系 <sup>2</sup>   |                         | LS-1               | LS-1               | LS-2                              | LS-1                              | LS-1                              |
| EK-1 系 <sup>3</sup> , SC-1 系 <sup>4</sup> , BS-1 系 <sup>5</sup> |                         | LS-2               | LS-1               | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | LS-2                              | LS-1                              |
| 表 3-4 左欄所列之宿主-載體系統  |                         | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | LS-1                              |
| 培養細胞（宿主）<br>（限於不以分化至<br>成體為目的者）                                 | 附表三 <sup>6</sup> -(1)載體 | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                |
|   | 附表三 <sup>6</sup> -(2)載體 | LS-2               | LS-2               | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | LS-2                              | LS-2                              |
|   | 附表三 <sup>6</sup> -(3)載體 | LS-2               | LS-1               | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | LS-2                              | LS-1                              |
| 附表三 <sup>6</sup> -(1)用為宿主或載體者                                   |                         | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                |
| 附表三 <sup>6</sup> -(2)用為宿主或載體者<br>（用附表三 <sup>6</sup> -(1)者除外）    |                         | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                |
| 僅由附表三 <sup>6</sup> -(3)所組成之宿主-載體系統                              |                         | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup> | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                | 基準外實驗 <sup>7</sup>                |

1：來自 DNA 供應體之 DNA，僅限於具有本文中所列之特定有用機能者。

2、3、4、5：定義請參照(第 23-24 頁)，表 3-2、3-3。

6：載體為非病毒或不產生感染性之病毒體者，附表三（第 55-69 頁）可由附表五（第 72-76 頁）或附表六（第 77-78 頁）所取代。

7：使用尚未鑑定種別，且尚未確定無病原性之微生物之實驗皆屬基準外實驗。

( ) 僅記載防護等級者皆屬於機構認可之實驗。

#### 第四節 病毒類實驗之物理性防護

用為 DNA 供應體之病毒類之安全度分類如附表五（第 72 至 76 頁）及附表六（第 77 至 78 頁）。安全度評估相對應之防護方法之基準如表 2-3。

表 2-3 病毒類實驗所需之防護等級

| DNA 供應體<br>或<br>宿主-載體系統     | 附表五- (1)<br>或<br>附表六- (1)<br>(P3-B1 <sup>1</sup> )<br>(P2-B2 <sup>2</sup> ) | 附表五- (2)<br>或<br>附表六- (2)<br>(P2-B1 <sup>1</sup> )<br>(P1-B2 <sup>2</sup> ) | 附表五- (3)<br>或<br>附表六- (3)<br>(P1-B1 <sup>1</sup> )<br>(P1-B2 <sup>2</sup> ) | 附表五- (4)<br>或<br>附表六- (4)<br>(基準外) | 下列當作 DNA 供應體時除外 |    |         |         |         |
|-----------------------------|---|---|---|------------------------------------|-----------------|----|---------|---------|---------|
|                             |   |   |   |                                    | 動物              | 植物 | 附表四-(1) | 附表四-(2) | 附表四-(3) |
| B1 系宿主-載體系統 <sup>1</sup>    | P3  | P2  | P1  | 基準外實驗 <sup>3</sup>                 | P2              | P1 | P3      | P2      | P1      |
| B2 系宿主-載體系統 <sup>2</sup>    | P2  | P1  | P1  | 基準外實驗 <sup>3</sup>                 | P1              | P1 | P2      | P1      | P1      |
| 使用已被認可之宿主-載體系統以外之宿主-載體系統之實驗 | 基準外實驗 <sup>3</sup>  | 同左  | 同左  | 同左                                 | 同左              | 同左 | 同左      | 同左      | 同左      |

1、2：B1、B2 請參見表 3-2、3-3（第 23-24 頁）。

3：用尚未鑑定種別，且尚未確定無病原性之微生物之實驗皆屬基準外實驗。

( ) 僅記載防護等級者皆屬於機構認可之實驗。



## 第三章 生物性防護 (Biological Containment)

### 第一節 生物性防護之目的

在設定生物性防護標準時，須同時考慮重組 DNA 的載體及宿主，特別需注意盡量降低 (1) 在實驗室外環境中，載體在其宿主中的存活力 (2) 實驗用宿主中的載體轉移到非實驗使用的宿主。為達到此目的，實驗者對實驗開始前或實驗進行中所用的宿主、載體等，要確實地認識其安全防護之條件。

使用病毒之實驗 (稱為「病毒類實驗」，(第 21 頁) 表 3-1) 需注意 (1) 使用的載體宿主系統除了在特殊培養條件下，不會轉移到其他的活細胞，或 (2) 使用危險性極低的宿主-載體系統，以確保重組實驗在生物學上的安全性。

不包含病毒之實驗 (稱為「培養細胞類實驗」，表 3-1)，從傳播性或感染性觀點來看，其危險性要比病毒類實驗為低。除了要評估 DNA 供應體的生物學性質外，亦需評估構築重組體過程中使用的宿主-載體系統之安全性。

### 第二節 實驗之區別

依據宿主-載體系統以及用於提供 DNA 之生物種類將實驗區分如下：

#### 1. 病毒類實驗：

使用病毒之實驗 (使用病毒於宿主-載體系統之實驗以及會產生感染性病毒體之實驗)。

#### 2. 培養細胞類實驗：

##### [1] 使用微生物及培養細胞為宿主的實驗：

以微生物 (包括立克次小體及披衣菌，但病毒類除外，以下類同)，及培養細胞 (限於不以分化至成體為目的者) 為宿主之實驗 (載體用病毒類實驗以及會產生感染性病毒體之實驗除外)。

##### [2] 使用動物及植物為宿主的實驗：

以動物、植物及培養細胞 (限於以分化至成體為目的者) 為宿主之實驗 (載體用病毒類實驗以及會產生感染性病毒體之實驗等除外)。

表 3-1 實驗之區別

| 實驗之區分   |                  | 宿主-載體系統  |       | DNA 供應體                                  |
|---------|------------------|--|-------|--|
|         |                  | 宿主   | 載體    |  |
| 病毒類實驗   |                  | 使用病毒之實驗（使用病毒於宿主-載體系統之實驗以及會產生感染性病毒體實驗）  |       |  |
| 培養細胞類實驗 | 使用微生物及培養細胞為宿主的實驗 | 微生物【包括立克次小體及披衣菌，但病毒類（指真菌以外之真核生物之病毒和類病毒，及脊椎動物之原蟲類）除外，以下類同】，及培養細胞（限於不以分化至成體為目的者） | 非病毒類者 | 病毒類以外之 DNA 來源以及 DNA 雖來自病毒類，但卻不會產生感染性病毒體者 |
|         | 使用動物及植物為宿主的實驗    | 動物、植物及培養細胞（限於以分化至成體為目的者）   |       |  |

### 第三節 生物性防護之層級

#### 1. 病毒之防護：

病毒之安全防護層級，依宿主-載體在生物學上之安全程度而定，分 **B1** 及 **B2** 二個層級。

##### [1] **B1** 層級

包括 (1) 由在自然條件下生存能力低的宿主以及對宿主之依賴性高，且不容易轉移到其它細胞的載體所構成，其重組體不會傳播擴散到自然環境之宿主-載體系統，(2) 由所用宿主-載體之遺傳學、生理學性質，及在自然環境條件下的生態學性質足以確認對人類之生物學安全性甚高之宿主-載體系統。本守則第 23 頁表 3-2 所列的宿主-載體系統均屬於 **B1** 層級。

##### [2] **B2** 層級

除了必需合乎 **B1** 的條件外，其所用宿主還必需在自然條件下的生存能力特別低，其所用載體對宿主的依賴性特別高，其重組體確認不會傳播擴散到自然環境。本守則第 24 頁表 3-3 所列的宿主-載體系統均屬於 **B2** 層級。在專家的指導下，利用安全性特別高的動物或植物之培養細胞（限於不以分化至成體為目的者）的宿主載體系統（會產生感染性病毒體者除外）進行實驗的時候，該宿主-載體系統需用 **B2** 層級操作。

根據所使用之宿主-載體系統，以及 DNA 供應體之生物學性質，綜合評估其安全度，以訂立其重組體之安全防護基準。若所使用之 DNA 為從細胞抽取的 DNA、選殖之 DNA 及化學合成之 DNA，且其機能、大小及構造已經確認，可認定其安全度較高，而可降低實驗之安全防護基準。

表 3-2 B1 層級之宿主-載體系統

|   |
|---|
| <p>一、EK-1：</p> <p>以遺傳學及生理學性質非常清楚，不具毒性且在自然條件下生存能力極低之大腸菌 <i>E. coli</i> K12 或其突變株為宿主，以無接合（conjugation）能力，不會轉移給其它菌株之質體或噬菌體為載體所構成之宿主-載體系統。所用之宿主須不含有具接合能力之質體或一般導入之噬菌體。</p> |
| <p>二、SC-1：</p> <p>以酵母菌 <i>S. cerevisiae</i> 之實驗室保存品系為宿主，以質體為載體所構成之宿主-載體系統。</p>  |
| <p>三、BS-1：</p> <p>以枯草菌 <i>B. subtilis</i> Marburg 168 株帶有對胺基酸或核 酸之雙重以上營養需求的突變株（品系）為宿主，以無接合能力，不會轉移給其它菌株之質體或噬菌體為載體所構成之宿主-載體系統。</p>                                      |
| <p>四、以動物及植物之培養細胞（不以分化至成體為目的者）為宿主之宿主-載體系統，（但會產生具感染性病毒體者除外）。</p>  |
| <p>五、以昆蟲培養細胞（不以分化至成體為目的者）為宿主，以 Baculovirus 為載體所構成之宿主-載體系統。</p>  |

表 3-3 B2 層級之宿主-載體系統

EK-2 :

除了符合 EK-1 之條件外，以下表左欄所列，帶有特殊的遺傳缺陷，因而在一般培養條件下生存率極低之宿主，及下表右欄所列，宿主依賴性特別高，轉移到其他細胞之可能性極低之載體所構成，除了在特殊培養條件之外，保有其 DNA 重組體之活細胞，在 24 小時內將減少到  $10^{-8}$  以下之宿主-載體系統。

| 宿 主                | 載 體                         |         |
|--------------------|-----------------------------|---------|
| $\chi^{1776}$      | pSC101                      | YEp20   |
|                    | pCR1                        | YEp21   |
|                    | pMB9                        | YEp24   |
|                    | pBR313                      | YIp26   |
|                    | pBR322                      | YIp27   |
|                    | pBR325                      | YIp28   |
|                    | pBR327                      | YIp29   |
|                    | pDH24                       | YIp30   |
|                    | pGL101                      | YIp31   |
|                    | YIp1                        | YIp32   |
|                    | YEp2                        | YIp33   |
|                    | YEp4                        | pKY2662 |
|                    | YIp5                        | pKY2738 |
|                    | YEp6                        | pKY2800 |
| YRp7               |                             |         |
| DP50 sup F         | $\lambda$ WES $\lambda$ B   |         |
|                    | $\lambda$ gtALO $\lambda$ B |         |
|                    | Charon21A                   |         |
| <i>E. coli</i> K12 | $\lambda$ gtvJZ-B           |         |
| DP50<br>DP50 sup F | Charon3A                    |         |
|                    | Charon4A                    |         |
|                    | Charon16A                   |         |
|                    | Charon23A                   |         |
|                    | Charon24A                   |         |

## 2. 培養細胞類實驗：

[1] 下列為評估培養細胞類實驗所用的宿主-載體系統及 DNA 供應體之生物安全性須根據下列要項：

- (1) 病原性
- (2) 毒素產生能力
- (3) 寄生性
- (4) 致癌性
- (5) 抗藥性
- (6) 對代謝之影響
- (7) 對生態之影響
- (8) 宿主依賴性
- (9) 傳播性或感染性

以此為依據，並參考（附表三、附表五及附表六）安全防護層級的安全度等級以訂之。

[2] 在決定培養細胞類實驗之重組體防護等級時，原則上須採用所用的宿主-載體系統及 DNA 供應體之安全防護等級中最高者做為根據，同時更須特別考量其傳播性及感染性。

但當使用由細胞抽取的 DNA、選殖的 DNA 及化學合成之 DNA，且其機能、大小及構造已經確認時，可認定其安全度較高，而可降低實驗之安全防護等級。

## 第四節 安全度評估

### 1. 有關實驗安全度評估之基本構想

[1] 確保實驗之安全先需以一般微生物實驗室之標準方法為基礎，並評估重組體所引發之生物性安全度來擬定適用之物理性防護方法來執行。

[2] 使用本守則認定之宿主-載體系統所進行之實驗，其重組體安全度高於使用其它宿主-載體系統之實驗。認定的宿主-載體系統中，使用 EK1、BS1、SC1 及 EK2 之宿主-載體系統之實驗，其重組體的安全度可認定為特別高。又自表 3-4(第 27 頁)之中欄所列之 DNA 供應體及被確認與此具有同等之安全度評估之 DNA 供應體為來源之 DNA，轉殖進入於表 3-4 左欄所列之宿主-載體系統所得重組體有關之實驗，其重組體的安全度較高。

[3] 大量培養實驗之安全，必須使用包括大規模發酵裝置在內之各種密閉型裝置，或同等級之設施來確保之。若使用已認定安全度特高之重組體進行大量培養實驗，並利用裝備良好之大型培養裝置之實驗設施或

同等級之設施，其安全更能確保。

## 2. 因應評估重組體生物安全度而訂定防護方法的規範

### [1] 20 公升以下規模之實驗：

用於宿主-載體系統及 DNA 供應體之細胞等之安全度分類如附表三。原則是視其構成要素之安全度評估所用之最高防護水準為重組體防護方法之基準。又使用病毒類之 DNA（限於不產生感染性之病毒體者）時，所用病毒類之安全度分類則如附表五。

### [2] 20 公升以上規模之實驗：

- (1) 大量培養實驗所用之 DNA，將限於自細胞抽取之 DNA、選殖之 DNA、及化學合成之 DNA 中，已知其機能、大小及構造，且具備如生產有用蛋白質能力等應用價值。
- (2) 20 公升以下之規模進行時需用 **P1** 級之物理性防護之實驗，若要提升於 20 公升以上規模時，適用 **LS-1** 級之物理性防護。又 20 公升以下之規模進行時需用 **P2** 級之物理性防護之實驗提升於 20 公升以上規模時，適用 **LS-2** 級之物理性防護。
- (3) 唯前項之規範所示之大量培養實驗中，使用已確認具有需要較高防護的生物性安全性之重組體之實驗，則於相關部會之監督下，依據下列之 1)及 2)來實施之：
  - 1) **LS-C** 級之物理性防護。
  - 2) 第二章第三節所示之物理性防護以外之特別的物理性防護方法。

### [3] DNA 供應體之防護層級之特例

自細胞抽取之 DNA、選殖之 DNA 及化學合成之 DNA 中，已知其機能、大小及構造者使用作為 DNA 供應體時，經生物實驗安全委員會討論下列事項後可降低實驗之防護層級。

- (1) 病原性
- (2) 毒素產生能力
- (3) 致癌性
- (4) 傳播性或感染性

表 3-4 已確認僅限用特定之 DNA 供應體安全性高之宿主-載體系統

| 宿主-載體系統   | DNA 供應體           | 應實施實驗之物理性防護等級 |
|---|-------------------|---------------|
| <p>下列細菌為宿主，以質體或噬菌體為載體之宿主-載體系統</p> <p><i>Acetobacter aceti</i><br/> <i>Acetobacter liquefaciens</i><br/> <i>Acetobacter pasteurianus</i><br/> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i><br/> <i>Bacillus brevis</i><br/> <i>Bacillus stearothermophilus</i><br/> <i>Bacillus subtilis</i><br/>                     (BS1 系以外者)</p> <p>* <i>Brevibacterium flavum</i><br/>                     * <i>Brevibacterium lactofermentum</i><br/> <i>Corynebacterium ammoniagenes</i><br/> <i>Corynebacterium glutamicum</i><br/>                     * <i>Corynebacterium herculis</i><br/> <i>Escherichia coli</i> B<br/> <i>Gluconobacter oxydans</i><br/> <i>Lactobacillus helveticus</i><br/> <i>Pseudomonas putida</i><br/> <i>Streptococcus cremoris</i><br/> <i>Streptococcus lactis</i><br/> <i>Streptococcus thermophilus</i><br/> <i>Streptomyces coelicolor</i><br/> <i>Streptomyces griseus</i><br/>                     * <i>Streptomyces kasugaensis</i><br/>                     * <i>Streptomyces lividans</i><br/> <i>Streptomyces parvulus</i></p> | <p>符合附表三-(3)者</p> | <p>P1</p>     |
| <p>下列之低等真核生物為宿主，而以質體或微小染色體為載體之宿主-載體系統</p> <p><i>Acremonium chrysogenum</i><br/> <i>Aspergillus oryzae</i><br/> <i>Aspergillus sojae</i><br/> <i>Neurospora crassa</i><br/> <i>Pichia pastoris</i><br/> <i>Sacchamycopsis lipolytica</i><br/> <i>Schizosaccharomyces pombe</i><br/> <i>Trichoderma viride</i><br/> <i>Zygosaccharomyce rouxii</i></p>  | <p>符合附表三-(3)者</p> | <p>P1</p>     |

\*：慣用名稱



## 第五節 不需報備即可進行之實驗

1.不需向研究機構生物實驗安全委員會及行政院國家科學委員會報備即可進行之實驗。

合乎此規定的實驗如下：

[1]使用基因重組之 DNA，其核 酸序列本身並不存在於任何細胞或病毒的基因體中，且不具危險性者。

[2]將原核細胞中之染色體、質體或其噬菌體 DNA，再送回同一或類似品系細胞中之實驗。

[3]將真核細胞中之 DNA、葉綠體、粒線體或質體再送回同一或類似品系細胞中之實驗。

[4]在可以互相交換基因之不同種細菌間，做選殖實驗（附表四）。

2.有關 *Escherichia coli* K12 之宿主—載體系統

[1]在 *E. coli* K12 宿主中，如果沒有任何可以引起細菌接合或轉導之 DNA 片段，此類基因重組實驗，可不必向研究機構生物實驗安全委員會報備。

[2]如果 DNA 是來自可以和 *E. coli* K12 交換基因的細菌，不論 *E. coli* K12 宿主中是否有 DNA 片段可以引起細菌接合或轉導，此類實驗可不必向研究機構生物實驗安全委員會報備。

3.有關 *Bacillus subtilis* 宿主—載體系統

[1]宿主必需是不產生孢子之突變株，其反突變率必需低於  $10^{-7}$ 。

[2]除了必需向研究機構生物實驗安全委員會及行政院國家科學委員會報備或申請核准之實驗外，均可自行進行實驗而不需報備。

4.*Bacillus subtilis* 以外之革蘭氏陽性細菌之載體

除了本章必需向研究機構生物實驗安全委員會及行政院國家科學委員會報備或申請核准之實驗外，凡是使用由附表七所載細菌質體所製成之載體（包含穿梭載體），均可自行進行實驗而不需報備。

5.有關 *Saccharomyces* 之宿主—載體系統

除了本章必需向研究機構生物實驗安全委員會及行政院國家科學委員會報備或申請核准之實驗外，均可自行進行實驗而不需報備。

## 第六節 需向研究機構報備之實驗

需向研究機構報備之實驗：

使用 EK1、BS1、SC1 及 EK2 之宿主-載體系統之實驗中，使用植物及相當於附表五-(3)(第 74 頁)之 DNA 供應體之實驗皆屬於需先向研究機構報備之實驗。

## 第七節 需經由研究機構生物實驗安全委員會核准後方可進行之實驗

1. 屬於事先必需經由研究機構生物實驗安全委員會批准之實驗：

[1] 所有使用屬於第二級、第三級、及第四級危險群微生物（附表二）為宿主之實驗。

(1) 所有第二級危險群微生物之實驗，必需在 **P2** 之物理防護下進行。

(2) 所有第三級危險群微生物之實驗，必需在 **P3** 之物理防護下進行。

(3) 所有第四級危險群微生物之實驗，必需在 **P4** 之物理防護下進行。

[2] 將第二級、第三級及第四級危險群微生物 DNA 殖入非病原性原核細胞或低等真核細胞之實驗。

(1) 屬於第二級及第三級危險群微生物之實驗，可以在 **P2** 之情況下進行。

(2) 屬於第四級危險群微生物之實驗，只要能夠證明所殖入的基因已發生了不可逆的突變時，即可在 **P2** 的情況下進行。

(3) 在經主管機構生物實驗安全委員會之審查後，一些特殊實驗可以在 **P1** 的情況下進行。

[3] 在組織培養或細胞培養系統中，培養具有感染性之動植物病毒類實驗，或在輔助病毒的存在下，培養有缺陷之病毒類實驗，涉及數種同科之病毒、病毒突變株、或選殖 DNA 片段時，因可能產生重組或互補，故所有外源性之病毒均應視為一種病毒。

(1) 牽涉到第一級危險群微生物中之病毒類實驗，可在 **P1** 之情況下進行。

(2) 牽涉到第二級危險群微生物中之病毒類實驗，必需在 **P2** 之情況下進行。

(3) 牽涉到第三級危險群微生物中之病毒類實驗，必需在 **P3** 之情況下進行。

(4) 牽涉到第四級危險群微生物中之病毒類實驗，必需在 **P4** 之情況下進行。

(5) 如果實驗之結果會使病毒之感染力增加，或使宿主之範圍擴大時，所使用之物理性防護必需至少增加一級。

[4] 人體除外之動物及植物實驗

相關人體之實驗請參照行政院衛生署之辦法。

(1)任何要送入動植物體內的真核細胞病毒基因，只要是少於整個病毒基因體之三分之二，就可以在 P1 的情況下進行。可是在實驗前，實驗人員必需證明所使用之 DNA 不具感染性及不具複製病毒之能力。

(2)任何不包含在上項(1)中所敘述之動植物實驗，必需由研究機構生物實驗安全委員會決定其防護條件。

[5]體積超過 20 公升以上之醱酵實驗

實驗開始前，必需向主管機構之生物實驗安全委員會申請核准，生物實驗安全委員會應以個案處理，並應遵照一般大規模醱酵所應注意的事項處理。研究機構生物實驗安全委員會可以提高醱酵實驗之物理防護條件。

[6]在進行本（第七）節前述之所有（包括 1.[1]、[2]、[3]、[4]、[5]）（第 29 至 30 頁）實驗前，計畫主持人應儘可能向研究機構生物實驗安全委員會提出下列資料，例如：

- (1)DNA 來源、特性及核 酸序列。
- (2)宿主及載體之來源及特性資料。
- (3)DNA 產生之蛋白質產物之特性。
- (4)是否要達到基因表現之目的。
- (5)將使用之物理及生物防護條件。

這些資料都必需簽名及註明日期。研究機構生物實驗安全委員會應在實驗前審查所有資料，對所有降低物理及生物防護之要求，需經行政院國家科學委員會核准。

2.在實驗開始之同時，必需通知研究機構生物實驗安全委員會之實驗：

凡是不屬於本（第七）節，1.[1]、[2]、[3]、[4]、[5]所列出之實驗，均可在 P1 之情況下進行。計畫主持人在實驗開始之前，必需填妥「管制致病性寄生蟲、微生物或病毒基因重組實驗申請表」（附表八），通知研究機構生物實驗安全委員會。

## 第八節 需經由行政院所屬主管機構核准後方可進行之實驗

1.屬於需經過研究機構之生物實驗安全委員會審查同意，並知會行政院衛生署、行政院環境保護署及行政院農業委員會後，經行政院國家科學委員會核准，方可進行的實驗：

釋放任何經基因重組過的生物進入自然界，但是此規則不適用於所有基因轉殖植物之田間試驗（見第五節）。

2.屬於需經過研究機構之生物實驗安全委員會審查同意，並知會行政院農業委員會、行政院衛生署後，經行政院國家科學委員會核准，方可進行的實驗：

所有牽涉到通用的動物病原性病毒（附表二）之實驗，需由行政院農業委員會、行政院衛生署及行政院國家科學委員會核准後方可進行。各項實驗之防護條件以個案處理。

註：如果所操作之適用的動物病原性病毒不會在人體發生病害，則不需經由行政院衛生署核准。

3.屬於需經過計畫授予單位之生物實驗安全委員會審查同意，並在必要時知會行政院衛生署及行政院農業委員會，經行政院國家科學委員會核准，方可進行的實驗：

[1]選殖產生劇毒之基因：

所謂劇毒，是指對脊椎動物的 LD<sub>50</sub> 小於 100ng/kg（包括任何方式測得）之毒素及毒蛋白。

[2]選殖 LD<sub>50</sub> 不明之毒素基因。

[3]將抗藥性基因殖入病原微生物，而有可能導致疾病防治困難的實驗（此項需知會行政院衛生署或行政院農業委員會）。

[4]將基因重組後之 DNA，或其產生之任何物質送入人體中（此項需經行政院衛生署同意）。

4.屬於需經過研究機構之生物實驗安全委員會核准，並經行政院農業委員會，依據「基因轉殖植物田間試驗管理規範」核准後始可進行之實驗：

基因轉殖植物之田間試驗，且合乎下列條件者：

[1]宿主是田間常見之作物，而非雜草者。

[2]與植物宿主同屬之植物，不得有雜草。

[3]所送入宿主之基因，其特性非常清楚，而且對人及動植物無害。

[4]所用之載體來源必需是

(1)來自屬於本章第五節之 2、3、4、5。（第 28 頁）中所敘述之宿主-載體系統。

(2)來自與植物宿主類似或相同之植物。

(3)來自非病原性原核細胞或低等真核細胞。

(4)來自植物病原微生物，可是致病之基因必需在事先去除，並證明在植物上不會致病。

(5)來自植物病原微生物並含有可以使植物致病之基因，可是實驗人員必需先在植物生長箱或溫室中種植，證明此載體不會在宿主中發生病害及不會在所有天然感染之宿主中引發新的或更嚴重之病害後，方可在田間進行試驗。

5.屬於需經過研究機構之生物實驗安全委員會核准，並經行政院環境保護署，依據「遺傳工程環境用藥微生物製劑開發試驗管理辦法」核准後始可進行之實驗：以產製為目的之遺傳工程環境用藥微生物製劑開發試驗研究，於環境開發試驗（即田間試驗）前，應先經行政院環境保護署核准。

## 第九節 毒素基因之選殖

1. 對脊椎動物之毒性 LD<sub>50</sub> 大於 100 μg/kg 以上之毒素，其基因之選殖沒有任何的限制。
2. 如果 LD<sub>50</sub> 在 100 μg/kg 以下時，選殖實驗前必需由主管機構生物實驗安全委員會核准，並向行政院國家科學委員會報備。
3. 產生 LD<sub>50</sub> 在 1 μg/kg 與 100 μg/kg 間的毒素基因，其選殖可以在 **P1** 的情況下進行。
4. 產生 LD<sub>50</sub> 在 100 ng/kg 與 1 μg/kg (1000 ng/kg) 之間的毒素基因，其選殖必需在 **P3** 之防護下進行。LD<sub>50</sub> 小於 100 ng/kg 以下時，需在 **P3** 或更高之防護下進行。如採用 *E. coli*  $\chi^{1776}$  為宿主時，可在 **P2** 防護下進行。
5. 下列毒素基因可以在 **P1** 之防護下進行：
  - [1] 霍亂毒素基因。
  - [2] 大腸桿菌熱敏感毒素基因。
  - [3] 能產生類似霍亂毒素及大腸桿菌熱敏感毒素之基因。
6. 其他毒素基因之防護條件：
  - [1] 綠膿桿菌 A 型外毒素：**P1**。
  - [2] 金黃色葡萄球菌 A 型外毒素：**P3**+ 枯草桿菌 HV2 宿主。
  - [3] 白喉毒素：**P4**。
  - [4] 引起毒素休克症候之金黃色葡萄球菌基因：**P2**。
  - [5] 志賀毒素相類似之基因：**P3** (如果在宿主中所產生之志賀毒素量少於 *Shigella dysenteriae* 60 R 所產生之毒素，以及所用的載體是不屬於能夠主動經由細菌進入其他宿主的類別時，如 pBR322，可以在 **P2** 下進行實驗)。

## 第十節 需經由行政院所屬主管機構監督下方可進行之基本守則外實驗

基本守則外的實驗：

本守則未定出防護基準之實驗，需經研究機構相關之生物實驗安全委員會審查，並且得到研究機構主管許可後，需在監督機關之監督下進行實驗，但最長以三年為限。

1. 使用微生物及培養細胞為宿主的實驗中，屬於下列任何一項的實驗則認為基準外實驗。

- [1] 使用尚未鑑定種別但未證實為不具病原性之微生物之實驗。
- [2] 不產生感染性之病毒體之 DNA 中，使用來自符合附表五-(4)及附表六-(4)之 DNA 供應體之實驗。
- [3] 附表三-(1)所列為宿主或載體之實驗。
- [4] 對脊椎動物具蛋白質毒素之產生基因之選殖實驗。
- [5] 包含重組體在自然界散布之實驗。

## 第四章 重組體之處理

### 第一節 重組體之增殖實驗

宿主-載體系統所得到重組體的增殖實驗，若被選殖之特定 DNA，經過該研究機構的生物實驗安全委員會審查，其安全性已被確認為非常高，該研究機構主管可以核准該實驗按第二章第二節所規定之 **P2** 級以上之物理性防護降一級來操作。

### 第二節 重組體之保管

1. 含有重組體的材料，需清楚標示「重組體」，並且安全地保管在符合操作重組體所需物理性防護等級標準的實驗室、實驗區域或大量培養區域內。計畫主持人應把這些重組體詳細記錄，並且妥為保管。保管重組體試料及廢棄物之冷藏庫、冷凍庫也要標示「重組體保管中」之牌子。
2. 計畫主持人要把重組體之試料及廢棄物做紀錄保管之，但在 **P2** 層級以下之物理性安全防護，可以用實驗紀錄來代替。
3. 動物、植物及培養細胞（不以分化至成體為目的者）為宿主之實驗時，除了上述之注意事項外，請參考第五章及第六章。

### 第三節 重組體之搬運

1. **P2** 層級以下之物理性防護之重組體、試料及廢棄物之實驗的東西搬出時，要用堅固不易漏的容器密封再搬出實驗室外。
2. **P3** 層級以上之物理性防護之重組體、試料及廢棄物要搬出實驗室時，加上 1. 所列，即使破損時，內容物也不會外漏之容器裝之，容器或包裝物的外面要在明顯的地方標示「注意小心搬運」之紅色標籤。
3. 計畫主持人，對於搬運或郵寄時，要把重組體名稱、數量、寄達地（試驗所及計畫主持人）要紀錄保存之，但在 **P2** 層級以下作物理性防護時，以重組體之實驗紀錄就可替代。
4. 有關大量培養實驗，**LS-C** 層級之物理性防護或所用之重組體、試料及廢棄物要搬出大量培養實驗區域外時，和 **P2** 層級以下的物理性防護操作方法相同。**LS-1** 及 **LS-2** 層級所用的重組體、試料、廢棄物的時候，和 **P3**

層級之安全防護法相同。

5. 動物、植物及培養細胞（不以分化至成體為目的者）用為宿主進行實驗時，以上所列之外，請參考第五章及第六章。
6. 國內郵寄含有需要 **P3** 以上之物理性防護的重組體材料時，必需遵照本國郵寄之規定。寄至國外時，需遵照該國郵寄規定，以及國際郵寄條約或規定。

#### 第四節 重組體之轉讓及實驗結束後之處理

##### 1. 重組體之轉讓：

重組體可轉讓其他試驗研究機構。惟受讓之試驗研究機構針對利用該重組體之有關實驗，依照本守則第一章第六節所示之程序完成後，方可接受該重組體之轉讓。

##### 2. 重組體實驗結束後之處理：

實驗結束後，須使重組體不活化之處理。但是當須利用該重組體進行所申請之實驗以外之實驗時，向所屬試驗研究機構主管提出所請實驗之結案報告書，以及該重組體保存場所及負責人員後，則可保存該重組體。假若想保存從基準外實驗所製備之重組體，或利用該重組體再進行實驗時，除遵守上述規定之外尚需接受各主管部會之監督。



## 第五章 使用動物為宿主之實驗

### 第一節 動物實驗安全評估之守則

本守則適用於使用經殖入重組DNA或剔除某基因，使基因體永久改變之完整基因轉殖動物的實驗，及使用含重組DNA之存活微生物的動物實驗。而後者，除了只有垂直性傳染的病毒外，所有實驗不得在P1的條件進行，基本的實驗條件應為P2級。至於基因轉殖動物的實驗條件評估，在特殊狀況下，如增加重組病原體感染力或使動物宿主產生不良的症狀，則需提高基因轉殖動物實驗條件的基準。

1. 任何要送入脊椎或無脊椎動物的真核細胞病毒基因，只要是少於整個病毒基因體之三分之二，就可在LS-1的防護條件及適合該物種的環境下進行。攜有不具感染力之病毒載體的動物亦得在LS-1的防護條件及適合該物種的環境下進行實驗。在實驗前，實驗人員必需證明所使用之DNA不具複製病毒之能力。
2. 任何不包含在上項1.中所敘述之動物實驗，必需由研究機構生物實驗安全委員會決定其防護條件。

### 第二節 動物實驗安全之防護基準

#### 1. 動物實驗安全之基本條件

[1]為確保實驗之安全，需以微生物實驗室一般常用的標準方法為基礎，並評估重組DNA之生物安全度以擬定適用之物理性防護等級。

[2]使用動物為宿主之相關實驗，需實施基因轉殖動物之生物安全度之評估。

#### 2. 基因轉殖動物之生物安全度評估及適用之防護等級

[1]產製基因轉殖動物之實驗：

(1)實驗之物理性防護等級需依據本守則附表5之規定，依據重組DNA及被轉殖之動物性質，採用適當之物理性防護等級。惟將重組DNA轉殖於動物之實驗時，應考慮使用外源性DNA。

(2)選用自細胞等抽取之DNA、選殖化之DNA或化學合成之DNA時，應使用已知其機能、大小及構造者。生物實驗安全委員會討論下列事項後可降低實驗之防護等級。

1) 病原性

- 2) 毒素產生能力
- 3) 致癌性
- 4) 傳播性

[2]定義:

危險性低之基因轉殖動物: 引進對人不具健康威脅性 DNA 分子之動物個體。

危險性高之基因轉殖動物: 引進對人具健康威脅性 DNA 分子之動物個體。

[3]使用基因轉殖動物之實驗:

(1)由基因轉殖動物之生物安全度評估最適當之物理性防護等級。

(2)基因轉殖動物之飼育管理，需遵守下列事項:

- 1) 為避免病原感染，原則上基因轉殖動物需飼養於無特定病原之環境內。
- 2) 基因轉殖動物之遺傳特性需持續監測。
- 3) 飼養於專用動物房舍，避免與非基因轉殖動物飼養於同一室，並標示”重組 DNA 動物飼育室”如無法避免同室飼養，飼養容器需與非基因轉殖動物之飼養容器做明確的區別，且非基因轉殖動物之處理方式需與同室之基因轉殖動物層級相同。
- 4) 飼育設施之出入口、吸排氣口、排水口、窗等需設防止基因轉殖動物逃亡之設備（如金屬網、防老鼠口、捕鼠器及緩衝室等）。出入口之門扇除出入時常需關閉。窗應加鎖使無法自外部打開。
- 5) 使用之飼育容器（如飼養籠等），不因基因轉殖動物之力量或振動而使蓋子容易打開，並應有天然災害之防護措施。
- 6) 儘可能識別每隻基因轉殖動物。個體數要定期確認，要每籠實施，且留下記錄至實驗結束。對個別識別較困難的基因轉殖動物（如昆蟲、魚類等），每飼養容器分別管理之。
- 7) 防除實驗室的非實驗用生物，如昆蟲及鼠類等。
- 8) 當搬運基因轉殖動物至實驗室外時，需放入於具有堅固且萬一破損時基因轉殖動物無法逃亡之構造之容器，其表面明顯處註明標示。
- 9) 實驗室貼示 ”基因轉殖動物實驗中” 標示（識）。
- 10) 危險性高之基因轉殖動物，可能排出感染病原，故需有適當之物理性及生物性防護；其墊料、排泄物及飼養水等需進行滅菌、高壓滅菌或焚化等處理，且應有過濾功能之排氣設備及多層安全過濾水生動物之卵、胚、幼苗的進排水設備。動物個體於安樂死後，施行滅菌或高壓滅菌，而後焚化之；此外，飼育籠及水瓶亦要滅菌、高壓滅菌等處理。

表 5 以動物作為宿主之實驗的相關防護等級

| DNA 供應體<br>宿主-載體系統             |                         | 動物<br>(P2)         | 植物<br>(P1)         | 附表三 <sup>1</sup> -(1)<br>(P3) | 附表三 <sup>1</sup> -(2)<br>(P2) | 附表三 <sup>1</sup> -(3)<br>(P1) |
|--------------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 動物                             | 附表三 <sup>1</sup> -(1)載體 | 基準外實驗 <sup>2</sup> | 基準外實驗 <sup>2</sup> | 基準外實驗 <sup>2</sup>            | 基準外實驗 <sup>2</sup>            | 基準外實驗 <sup>2</sup>            |
| 培養細胞<br>(只限於分<br>化至成體<br>為目的者) | 附表三 <sup>1</sup> -(3)載體 | P2                 | P1                 | P3                            | P2                            | P1                            |
| [宿主]                           | 直接法<br>(不使用載體者)         | P2                 | P1                 | P3                            | P2                            | P1                            |

1：對於非病毒，或不會產生病毒粒子之載體者，附表三可由附表五或附表六所取代。

2：種名尚未被確定之微生物中，若其病原性有無也尚未確認者，則使用該等微生物之實驗為基準外實驗。

( ) 僅記載防護等級者皆屬於機構認可之實驗。

### 第三節 基因轉殖動物之運輸、轉讓及實驗結束後之處理

#### 1. 基因轉殖動物之運輸：

輸送容器需要有充分的強度並以雙層包裝，並於容器表面張貼標示（如註明：生物性危險品）；萬一容器破損動物亦不會逃脫，並減少破損機會。

#### 2. 基因轉殖動物之轉讓：

基因轉殖動物可轉讓至其他研究或生物醫學單位。轉讓者需提供重組（轉殖）動物之微生物狀況及引進之基因資料給被轉讓者；此轉讓動作需經雙方機構之“動物實驗管理小組”同意後方執行。

#### 3. 基因轉殖動物之實驗結束後之處理：

實驗結束後將基因轉殖動物安樂死並焚化之。如為危險性較高之基因轉殖動物實驗則需經滅菌、高壓滅菌再進行焚化；此外，飼育籠、水瓶、培養水槽及進水排水管等亦要實行滅菌、高壓滅菌等處理。

基因轉殖動物實驗結束後，如需保存該基因轉殖動物，需向該機構之“動物實驗管理小組”提出申請，並提出實驗成果以及該基因轉殖動物保存場所及負責人員，於核可後，則可保存該基因轉殖動物本身及其冷凍之精子、卵、受精卵、胚、幼苗等。

## 第六章 使用植物為宿主之實驗

### 第一節 植物實驗安全評估之守則

基因轉殖植物在進行試驗前，應由執行單位生物實驗安全委員會核准，才得以在政府主管機構檢定及存查下進行先期試驗。先期試驗皆必需在室內或容器內進行。此部份可依不具生物及環境危害性或具生物及環境危害性兩種性質而決定實驗進行方式。前者得以半封閉性方式進行實驗，而後者必需以封閉性的方式進行實驗。半封閉性狀況下容許試驗容器內外之空氣進行非過濾性交換；而封閉性者則不得有空氣之交換現象或必需進行粉塵過濾及必要之防止粉塵外逸之措施。具生物及環境危害之基因轉殖植物，如具病原性，毒素產生能力，致癌性等，其實驗及後續使用必需以封閉性方式進行。任何基因轉殖植物在室內或容器內試驗完成後必需呈送報告書，請依行政院農業委員會「基因轉殖植物田間試驗管理規範」核准後，方可進行田間試驗。田間試驗一旦完成，其生物安全性評估結果報告書應經行政院農業委員會審議核准後，方可轉讓或保存。

### 第二節 植物實驗安全之實施要項

1. 不具生物及環境危險性之基因轉殖植物
  - [1]先期試驗應在室內，生長箱（growth chamber），人工氣候裝置（phyotron），網室，或溫室等至少半封閉性設施栽培。
  - [2]上述設施必需在特定實驗區域內進行並明顯標示。
  - [3]實驗區域內，非相關人員未經許可禁止進入。
  - [4]應防止昆蟲進入以避免花粉、孢子、種子等之散播。
2. 具生物及環境危險性之基因轉殖植物，遵守前述各項守則及以下各項規定
  - [1]所有實驗必需在完全封閉性或具有空氣過濾裝置（可捕捉花粉、孢子、種子等）之設施內進行。
  - [2]實驗人員在栽培設施內必需穿著特定實驗衣，離開時必需更換衣服並洗手。
  - [3]栽培設施排水應經過濾或高壓滅菌處理以防重組體外流。
  - [4]搬運植株時，嚴防容器破損、漏水、土壤散落等意外。
  - [5]用於植物體之基因工程微生物，其規範比照上述各項規定。

表 6 以植物作為宿主之實驗的相關防護等級

| DNA 供應體<br>宿主-載體系統             |                         | 動物   | 植物   | 附表三 <sup>1</sup> -(1) | 附表三 <sup>1</sup> -(2) | 附表三 <sup>1</sup> -(3) |
|--------------------------------|-------------------------|------|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                |                         | (P2) | (P1) | (P3)                  | (P2)                  | (P1)                  |
| 植物                             | 附表三 <sup>1</sup> -(2)載體 | P2   | P2   | P3                    | P2                    | P2                    |
| 培養細胞<br>(只限於分<br>化至成體<br>為目的者) | 附表三 <sup>1</sup> -(3)載體 | P2   | P1   | P3                    | P2                    | P1                    |
| [宿主]                           | 直接法<br>(不使用載體者)         | P2   | P1   | P3                    | P2                    | P1                    |

1: 對於非病毒，或不會產生病毒粒子之載體者，附表三可由附表五或附表六所取代。

2: 種名尚未被確定之微生物中，若其病原性有無也尚未確認者，則使用該等微生物之實驗為基準外實驗。

( ) 僅記載防護等級者皆屬於機構認可之實驗。

### 第三節 基因轉殖植物之運輸、轉讓及實驗結束後之處理

#### 1. 基因轉殖植物之運輸：

輸送容器需要有充分的強度並以雙層包裝，並於容器表面張貼標示（如註明：生物性危險品）。

#### 2. 基因轉殖植物之轉讓：

基因轉殖植物可轉讓給其他研究機構及生物農業單位。但受讓前需完成上述本章第二節(第 40 頁)之試驗，並獲得計畫授予單位之生物實驗安全委員認可才得實施。

#### 3. 基因轉殖植物實驗結束後之處理：

實驗結束後該基因轉殖植物需全株性不活化處理。若欲繼續保持該基因轉殖植物或種子則必需在田間或最終試驗完成之報告書（見本章第一節）(第 40 頁)上註明，並得請依行政農業委員會「基因轉殖植物田間試驗管理規範」核准後始可進行。種子必需存放在封閉性之設施或容器，而若保持基因轉殖植物本身或其種子則必需依照本章第二節之守則實施。

## 第七章 確保實驗安全之組織及任務

### 第一節 實驗人員

實驗人員，執行一般微生物實驗之人員需曾修過微生物相關實驗課程或經訓練熟悉實驗之標準操作，進行病原性微生物實驗之人員則需精通微生物及相關實驗之標準操作且經計畫主持人許可，並熟悉本守則，且應接受第八章第一節所定之教育訓練。

### 第二節 計畫主持人

計畫主持人，除應熟悉本守則外，也要熟悉防止生物災害發生的知識與技術，除對參與實驗人員的安全要負責外，並且要負以下的責任。

- 1.在擬定實驗計畫及進行實驗時，要確實遵守本守則，並應和生物實驗安全委員會密切聯繫，負責全部實驗的管理及安全。
- 2.對實驗人員，應給予第八章第一節所定的教育訓練。
- 3.實驗計畫需獲得研究機構主管之同意，方可執行。實驗計畫若需變更時，亦應事先獲得同意。
- 4.實施其他有關實驗安全確保的必要事項。
- 5.大量培養實驗之完整紀錄，需從實驗結束之日開始保存十年，若被要求時，需提供給實驗督導機構。

### 第三節 研究機構主管

研究機構主管可以是研究單位之各級負責主管，如所長、系主任、研究部主任、院長、校長等。對實驗人員進行實驗時之安全需負責，並需負以下的任務：

- 1.任命生物實驗安全委員會的委員，及主任委員。
- 2.實驗計畫需經生物實驗安全委員會審查認可，方可提出申請。
- 3.依據生物實驗安全委員會的建議，實施第八章第二節所定之實驗人員的健康管理。
- 4.生物實驗安全委員會的審議記錄，從實驗結束之日開始保存十年；若被要求時，需提供給實驗督導機構。
- 5.實施其他有關安全確保的必要事項。

## 第四節 生物實驗安全委員會

- 1.研究機構應以校或院為單位設置生物實驗安全委員會。
- 2.生物實驗安全委員會受研究機構主管之委託，對下列事項做調查及審議，並對研究機構主管做必要的建議。
  - [1]實驗計畫是否根據本守則而擬定。
  - [2]有關實驗的教育訓練及健康管理。
  - [3]意外發生時必要的處置及改善方法。
  - [4]其他與實驗安全有關的必要事項。
- 3.生物實驗安全委員會在需要時，可要求計畫主持人提出報告。

## 第五節 生物實驗安全委員會主任委員

- 1.在研究機構中，為輔佐研究機構主管處理有關生物防護安全等事宜，應設生物實驗安全委員會主任委員一職，由研究機構主管任命之。
- 2.生物實驗安全委員會主任委員，除應熟知本守則外，也要熟悉如何防止生物災害發生的知識與技術，並確實執行下面任務：
  - [1]確知實驗是否遵照本守則正確地在實行。
  - [2]給予計畫主持人必要的指導與建議。
  - [3]有關其他實驗安全事項的處理。
- 3.生物實驗安全委員會主任委員為了達成任務，需和生物實驗安全委員會其他委員時常聯繫，必要時召集會議提出報告並徵詢各委員之意見。

## 第六節 督導機關

- 1.督導機關包括：中央研究院、內政部、國防部、法務部、經濟部、行政院衛生署、行政院環境保護署、行政院原子能委員會、行政院國家科學委員會、行政院農業委員會、行政院勞工委員會等計畫授予之機關。
- 2.督導機關負責監督研究機構是否確實遵守『基因重組實驗守則』之規定，以確保實驗的安全。



## 第八章 教育訓練及健康管理

### 第一節 教育訓練

計畫主持人及研究機構之主管，在實驗開始前，要讓實驗人員熟習本守則，並實行以下有關之訓練。

- 1.瞭解各種具危險性微生物的安全處理技術。
- 2.有關物理性防護的知識及技術。
- 3.有關生物性防護的知識及技術。
- 4.將實施之實驗的危險度。
- 5.有關處理意外事件應有的標準操作程序（在大量培養實驗，特別要注意萬一含有重組體的培養液漏出時，需用化學方法來做殺菌的處理）。

### 第二節 健康管理

- 1.在進行對人體有害之病原微生物實驗時，所有實驗人員，在實驗開始前以及在開始之後一年內必需做相關健康檢查，並存檔。
- 2.計畫主持人，對實驗人員操作病原微生物之實驗時，在實驗開始前需事先做好預防及治療的對策；所需之抗生素、疫苗及血清等需準備妥當。實驗開始後，需做定期健康檢查，每次檢查的間隔不能超過一年。
- 3.若在  $P2^+$  層級以上的實驗區域做實驗時，計畫主持人在實驗之前及實驗結束前每年，要收集實驗人員的血清，而且要保存到實驗結束後二年。
- 4.在實驗室內或在大量培養實驗區域內，計畫主持人及實驗室相關人員要立即接受全面健康檢查，並配合相關處置。
- 5.實驗人員應不斷注意自己的健康，實驗人員的健康情形有變化，或長時間生病的話，計畫主持人要立即向生物實驗安全委員會主任委員及研究機構主管報告。
- 6.計畫主持人若發現實驗人員發生以下所述之任何一項，或是發現上項 5.所述的情況時，需立即調查並且採取必要的措施。
  - [1]誤把重組體喝入或吸入。
  - [2]皮膚受到重組體的污染。
  - [3]實驗室、實驗區域或大量培養實驗區域被重組體污染時。

## 附表一、生物安全操作台

### 安全箱櫃及 HEPA 過濾器之規格

#### 第一級

|      |   |
|------|---|
| 用途   | 操作低度危險性之微生物、病原體時，作業空間不需要清淨空氣時使用。  |
| 構造規格 | 為一有抽氣裝置之操作箱，其氣流向內流動以保護操作者，排出廢氣需經 HEPA 過濾器，其平均流速為 0.40 公尺/秒以上（排氣量/前面進氣口之面積）。此級操作箱依操作方式不同可分為三種：<br>(1)正面全開。<br>(2)正面裝有可關閉之面板，上有四個開口。<br>(3)正面裝有可關閉之面板，上加齊臂長之橡膠手套。 |

#### 第二級

|      |   |
|------|---|
| 用途   | 進行低度或中度危險性之微生物、病原體之無菌操作時，保持作業空間空氣的清淨。<br>通常可分為一般生物性作業時使用之 A 型，及操作含有少量有害危險化學物質、放射性物質、氣體物質等 HEPA 過濾器無法有效捕集去除之物質之作業時使用之 B 型。   |
| 構造規格 | 具備前面開口部及排氣口，由前面開口部流入之氣流，可防止內部污染氣體流出，經 HEPA 過濾器過濾之清淨空氣，流入作業空間，排氣時要經過 HEPA 過濾器處理後排出箱櫃之外。<br><br>密閉度：<br>箱櫃內以空氣加壓到 50 毫米水柱時，經 30 分鐘後，內壓下降須在 10% 內。將肥皂水或專用之防漏檢查發泡劑塗佈或噴霧，在箱櫃內所有的融接部份時，不會觀察到有因漏氣而產生發泡現象。<br><br>作業的安全性試驗：<br>以 $5\sim 10\times 10^8$ cfu (colony forming unit) 之枯草菌芽胞作噴霧檢查時，在四台液體沖擊瓶(impinger)能夠補集到的菌落總共在十個以下。實驗開始後 5-15 分鐘能採獲之 slit sampler 的菌落數，每次實驗在五個以下，經連續三次測試才算合格。<br><br>試料保護試驗：<br>以枯草菌芽胞 $5\sim 10\times 10^6$ cfu 噴霧檢查時，在 10 公分培養皿之洋菜平板上所採到的菌落數為五個以下，連續三次實驗則合格。 |

試料間相互污染之防止試驗：

以枯草菌芽胞  $5-10 \times 10^4$  cfu 噴霧檢查時，在洋菜板中心以外離 355 毫米以上的位置所採集到的菌落數為二個以下，左右各三次連續測試則合格。

排氣速度：

在 15 公分內之格子測試，各測定點排氣之風速在平均值的 $\pm 20\%$ 之內，在指定範圍內設計一個能均勻排氣風速之箱櫃。

進氣風速：

由前門開口部流進來的風速平均為 0.4 公尺/秒以上，(B 型則在 0.5 公尺/秒以上)。

送風機：

送風機的濾片壓力損失在 20% 以上時，不做迴轉控制處理，風量減少在 25% 以內。

氣流方向：

以目測發煙管流出來的狀態來制定，在前面開關下端  $100 \pm 10$  毫米上的高度，作業空間的下層前後之吸氣流分散位置，前面開關之下端 150 毫米之高度，前面開關 20-30 毫米內側之位置，檢查側面空間左右側面時，煙能慢慢向地下流動。沒有煙流下來的部分，煙不可向上逆流，又不可使煙漏出安全箱櫃外。

在前面開口部之外側 30-40 毫米位置檢查其周圍時不會使煙漏出箱櫃，或不可使煙漏入作業空間。

溫度上升：

在 4 小時連續運轉後，室溫和箱櫃內之溫差相差在  $8^\circ\text{C}$  以內。

噪音程度：

噪音要保持在 67 分貝以下。

照明度：

平均照明度為 800-1200 lux。

震動：

直角 3 方向作業震動變位在 5 微米 RMS 以下。

液體接收皿：

|            |  |
|------------|--|
|            | 液體接收皿要容易清洗，且至少可以裝 4 公升之容量。   |
| 清洗與滅菌之考慮事項 | 在表面上由流體之飛沫所污染時，能夠不用工具就可洗除，實驗台及實驗空間需局部處理清除。<br>不移動安全箱櫃之下，能夠用甲醛滅菌，前面的開口部、排氣口等用金屬板、塑膠板、黏膠紙可密封。為了能夠容易清掃，地板與安全箱櫃最下面之間隔要保持 80 毫米之空間，或地板或實驗台要使用密封紙封密。 |
| 檢查         | HEPA 過濾器設置後每年施行一次檢查。   |

### 第三級：

|      |  |
|------|--|
| 用途   | 具有高危險性的微生物、病原體之操作法。  |
| 構造規格 | 密閉式的箱櫃，由吸氣口流入之氣體及排氣口之排氣需用 HEPA 過濾器處理，排氣要用雙重的 HEPA 過濾器過濾，或經燃燒滅菌裝置方可排出外面。作業空間對作業室要保持負壓（15 毫米水銀柱以上），作業用的手套、試料、器具在進出時，要設有高壓滅菌器或滅菌液槽滅菌。 |

### 有關於安全箱櫃之 HEPA 過濾器

|     |   |
|-----|---|
| 性能等 | HEPA 過濾器之外側以氣霧作負荷的檢查時，各為小區域之氣體透過率（內側之氣霧濃度和外側濃度之比）不超過百分之 0.01 用相對濃度計或用 28.3 公升/分吸收粒子計，檢查時，0.3 微米附近的氣霧透過率不超過百分之 0.01。需使用鋁製之分離器，設置 HEPA 過濾器之差壓計以測壓力損失。 |
|-----|---|

## 附表二、病原微生物依其危險性為基礎之分類

(本表參考 1999 年 5 月版 NIH Guidelines for research involving recombinant DNA molecules 訂定，2003 年 5 月編審委員再次討論增修)

### 甲、第一級危險群 (Risk group 1, RG1) 微生物

第一級危險群微生物與人類健康成人之疾病無關。例如不產生內孢子之 *Bacillus licheniformis*, *Escherichia coli*-K12, adeno-associated virus 第一型至第四型，及重組的不含潛在致癌基因產物或毒素之 adeno-associated virus，且在無輔助病毒存在下進行培養。

### 乙、第二級危險群 (Risk group 2, RG2) 微生物

第二級危險群微生物在人類所引起的疾病很少是嚴重的，而且通常有預防及治療的方法。

#### (一) 細菌包括披衣菌

1. *Acinetobacter baumannii* (以前稱為 *Acinetobacter calcoaceticus*)
2. *Actinobacillus*
3. *Actinomyces pyogenes* (以前稱為 *Corynebacterium pyogenes*)
4. *Aeromonas hydrophila*
5. *Amycolata autotrophica*
6. *Archanobacterium haemolyticum* (以前稱為 *Corynebacterium haemolyticum*)
7. *Arizona hinshawii* (所有血清型)
8. *Bacillus anthracis*
9. *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. vinsonii*
10. *Bordetella* 包括 *B. pertussis*
11. *Borrelia recurrentis*, *B. burgdorferi*
12. *Burkholderia* (以前稱為 *Pseudomonas species*; 列於第三級危險群者除外)
13. *Campylobacter coli*, *C. fetus*, *C. jejuni*
14. *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*
15. *Clostridium botulinum*, *Cl. chauvoei*, *Cl. haemolyticum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. novyi*, *Cl. septicum*, *Cl. tetani*
16. *Corynebacterium diphtheriae*, *C. pseudotuberculosis*, *C. renale*
17. *Dermatophilus congolensis*
18. *Edwardsiella tarda*
19. *Erysipelothrix rhusiopathiae*
20. *Escherichia coli* (所有腸致病性、腸致毒性、腸侵襲性及攜帶有 K1 抗原的菌株，包括 *E. coli* O157:H7)
21. *Haemophilus ducreyi*, *H. influenzae*
22. *Helicobacter pylori*
23. *Klebsiella* (除 *K. oxytoca* (RG1) 以外之所有菌株)

24. *Legionella* 包括 *L. pneumophila*
25. *Leptospira interrogans* (所有血清型)
26. *Listeria*
27. *Moraxella*
28. *Mycobacterium* (除了列於第三級危險群者) 包括 *M. avium* complex, *M. asiaticum*, *M. bovis* BCG vaccine strain, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. paratuberculosis*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. ulcerans*, *M. xenopi*
29. *Mycoplasma* (*M. mycoides* 及 *M. agalactiae* 除外)
30. *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*
31. *Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*, *N. otitidiscaviarum*, *N. transvaiensis*
32. *Rhodococcus equi*
33. *Salmonella* 包括 *S. arizonae*, *S. cholerasuis*, *S. enteritidis*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. meleagridis*, *S. paratyphi*, A, B, C, *S. typhi*, *S. typhimurium*
34. *Shigella* 包括 *S. boydii*, *S. dysenteriae*, type 1, *S. flexneri*, *S. sonnei*
35. *Sphaerophorus necrophorus*
36. *Staphylococcus aureus*
37. *Streptobacillus moniliformis*
38. *Streptococcus* 包括 *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*
39. *Treponema pallidum*, *T. carateum*
40. *Vibrio cholerae*, *V. parahemolyticus*, *V. vulnificus*
41. *Yersinia enterocolitica*

(二) 真菌

1. *Blastomyces dermatitidis*
2. *Cladosporium bantianum*, *C. (Xylohypha) trichoides*
3. *Cryptococcus neoformans*
4. *Dactylaria galopava (Ochroconis gallopavum)*
5. *Epidermophyton*
6. *Exophiala (Wangiella) dermatitidis*
7. *Fonsecaea pedrosoi*
8. *Microsporium*
9. *Paracoccidioides braziliensis*
10. *Penicillium marneffeii*
11. *Sporothrix schenckii*
12. *Trichophyton*

(三) 寄生蟲

1. *Ancylostoma* human hookworms 包括 *A. duodenale*, *A. ceylanicum*
2. *Ascaris* 包括 *Ascaris lumbricoides suum*
3. *Babesia* 包括 *B. divergens*, *B. microti*
4. *Brugia filaria* worms 包括 *B. malayi*, *B. timori*

5. *Coccidia*
6. *Cryptosporidium* 包括 *C. parvum*
7. *Cysticercus cellulosae* (hydatid cyst, larva of *T. solium*)
8. *Echinococcus* 包括 *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*
9. *Entamoeba histolytica*
10. *Enterobius*
11. *Fasciola* 包括 *F. gigantica*, *F. hepatica*
12. *Giardia* 包括 *G. lamblia*
13. *Heterophyes*
14. *Hymenolepis* 包括 *H. diminuta*, *H. nana*
15. *Isospora*
16. *Leishmania* 包括 *L. braziliensis*, *L. donovani*, *L. ethiopia*, *L. major*, *L. mexicana*, *L. peruviana*, *L. tropica*
17. *Loa loa* filaria worms
18. *Microsporidium*
19. *Naegleria fowleri*
20. *Necator* human hookworms 包括 *N. americanus*
21. *Onchocerca* filaria worms 包括 *O. volvulus*
22. *Plasmodium* 包括引起猿猴類疾病之 *P. cynomolgi*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax*
23. *Sarcocystis* 包括 *S. sui hominis*
24. *Schistosoma* 包括 *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. mekongi*
25. *Strongyloides* 包括 *S. stercoralis*
26. *Taenia solium*
27. *Toxocara* 包括 *T. canis*
28. *Toxoplasma* 包括 *T. gondii*
29. *Trichinella spiralis*
30. *Trypanosoma* 包括 *T. brucei brucei*, *T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense*, *T. cruzi*
31. *Wuchereria bancrofti* filaria worms

(四) 病毒

1. Adenoviruses, human-all types
2. Arenaviruses
  - a. Lymphocytic choriomeningitis virus (non-neurotropic strains)
  - b. Tacaribe virus complex
  - c. 其他被特別引述而列名之病毒
3. Bunyaviruses
  - a. Bunyamwera virus
  - b. Rift Valley fever virus vaccine strain MP-12

- c. 其他被特別引述而列名之病毒
- 4. Calciviruses
- 5. Coronaviruses ( SARS-Associated Coronaviruses 列於第三級危險群除外)
- 6. Flaviviruses ( Togaviruses ) - Group B Arboviruses
  - a. Dengue virus serotypes 1, 2, 3, and 4
  - b. Japanese encephalitis virus
  - c. Yellow fever virus vaccine strain 17D
  - d. 其他被特別引述而列名之病毒
- 7. Hepatitis A, B, C, D, and E viruses
- 8. Herpesviruses ( Herpesvirus simiae ( Monkey B virus ) 除外)
  - a. Cytomegalovirus
  - b. Epstein Barr virus
  - c. *Herpes simplex* types 1 and 2
  - d. *Herpes zoster*
  - e. Human herpesvirus types 6 and 7
- 9. Orthomyxoviruses
  - a. Influenza viruses types A, B, and C
  - b. 其他被特別引述而列名之壁蝨攜帶正黏液病毒
- 10. Papovaviruses
  - All human papilloma viruses
- 11. Paramyxoviruses
  - a. Newcastle disease virus
  - b. Measles virus
  - c. Mumps virus
  - d. Parainfluenza viruses types 1, 2, 3, and 4
  - e. Respiratory syncytial virus
- 12. Parvoviruses
  - Human parvovirus ( B19 )
- 13. Picornaviruses
  - a. Cocksackie viruses types A and B
  - b. Echoviruses-all types
  - c. Rhinoviruses-all types
- 14. Poxviruses ( Monkeypox virus 及被管制的 Alastrim, Smallpox 與 Whitepox 除外)
- 15. Reoviruses 包括 Coltivirus, human Rotavirus 及 Orbivirus ( Colorado tick fever virus )
- 16. Rhabdoviruses
  - a. Rabies virus-all strains
  - b. Vesicular stomatitis virus-實驗室調適的病毒株包括 VSV-Indiana, San Juan 及 Glasgow



17.Togaviruses ( 參見 Alphaviruses 及 Flaviviruses )  
Rubivirus ( rubella )

丙、第三級危險群 ( Risk group 3 , RG3 ) 微生物

第三級危險群微生物在人類可以引起嚴重或致死的疾病，可能有預防及治療之方法。

(一)細菌包括立克次氏菌

1.*Bartonella*

2.*Brucella* 包括 *B. abortus*, *B. canis*, *B. suis*

3.*Burkholderia* ( *Pseudomonas* ) *mallei*, *B. pseudomallei*

4.*Coxiella burnetii*

5.*Francisella tularensis*

6.*Mycobacterium bovis* ( 但 BCG 除外 ) , *M. tuberculosis*

7.*Pasteurella multocida* type B - "buffalo" and other virulent strains

8.*Rickettsia akari*, *R. australis*, *R. canada*, *R. conorii*, *R. prowazekii*, *R. rickettsii*, *R. siberica*, *R. tsutsugamushi*, *R. typhi* ( *R. mooseri* )

9.*Yersinia pestis*

(二)真菌

1.*Coccidioides immitis* ( sporulating cultures ; contaminated soil )

2.*Histoplasma capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii*

(三)寄生蟲

無

(四)病毒與變性蛋白 ( Prions )

1.Alphaviruses ( Togaviruses ) - Group A Arboviruses

a. Eastern equine encephalomyelitis virus

b. Semliki Forest virus

c. St. Louis encephalitis virus

d.Venezuelan equine encephalomyelitis virus ( 含 TC-83 疫苗株 )

e. Western equine encephalomyelitis virus

f. 其他被特別引述而列名之病毒

2.Arenaviruses

a. Flexal

b. Lymphocytic choriomeningitis virus ( LCM ) ( neurotropic strains )

3.Bunyaviruses

a. Hantaviruses 包括 Hantaan virus

b. Rift Valley fever virus

4.Coronaviruses

a. SARS-associated Coronaviruses ( SARS-CoV )--相關實驗操作必須嚴格遵照本守則附表八之規定

5.Flaviviruses ( Togaviruses ) - Group B Arboviruses

- a. West Nile Virus
  - b. Yellow fever virus
  - c. 其他被特別引述而列名之病毒
6. Picornaviruses
- a. Polioviruses-all types, wild and attenuated
7. Poxviruses
- Monkeypox virus
8. Prions
- Transmissible spongiform encephalopathies (TME) agents (Creutzfeldt-Jacob disease and kuru agents)
9. Retroviruses
- a. Human immunodeficiency virus (HIV) types 1 and 2
  - b. Human T cell lymphotropic virus (HTLV) types 1 and 2
  - c. Simian immunodeficiency virus (SIV)
10. Rhabdoviruses
- Vesicular stomatitis virus

#### 丁、第四級危險群 (Risk group 4, RG4) 微生物

第四級危險群微生物在人類可以引起嚴重或致死的疾病，但通常無預防及治療之方法。

##### (一) 細菌

無

##### (二) 真菌

無

##### (三) 寄生蟲

無

##### (四) 病毒

- 1. Arenaviruses
  - a. Guanarito virus
  - b. Lassa virus
  - c. Junin virus
  - d. Machupo virus
  - e. Sabia
- 2. Bunyaviruses (Nairovirus)
  - Crimean-Congo hemorrhagic fever virus
- 3. Filoviruses
  - a. Ebola virus
  - b. Marburg virus
- 4. Flaviruses (Togaviruses) - Group B Arboviruses
  - Tick-borne encephalitis virus complex 包括 Absetterov, Central European

- encephalitis, Hanzalova, Hypr, Kumlinge, Kyasanur Forest disease, Omsk hemorrhagic fever 及 Russian spring-summer encephalitis viruses
5. Herpesviruses (alpha)
    - Herpesvirus simiae* (Herpes B 或 Monkey B virus)
  6. Paramyxoviruses
    - Equine morbillivirus
  7. Hemorrhagic fever agents and viruses as yet undefined

#### 戊、通用的動物病原性病毒

下列實驗室中常用的動物病原性病毒與健康成人之疾病無關。通常 **RG1** 級的防護等級即可。但對 murine leukemia virus 之 amphotropic 及 xenotropic 病毒株，建議於 **RG2** 級之防護等級下進行實驗。

1. Baculoviruses
2. Herpesviruses
  - a. Herpesvirus ateles
  - b. Herpesvirus saimiri
  - c. Marek's disease virus
  - d. Murine cytomegalovirus
3. Papovaviruses
  - a. Bovine papilloma virus
  - b. Polyoma virus
  - c. Shope papilloma virus
  - d. Simian virus 40 (SV40)
4. Retroviruses
  - a. Avian leukosis virus
  - b. Avian sarcoma virus
  - c. Bovine leukemia virus
  - d. Feline leukemia virus
  - e. Feline sarcoma virus
  - f. Gibbon leukemia virus
  - g. Mason-Pfizer monkey virus
  - h. Mouse mammary tumor virus
  - i. Murine leukemia virus
  - j. Murine sarcoma virus
  - k. Rat leukemia virus

### 附表三、研究實驗用之微生物

#### **P2 原核生物 (細菌) 及真菌**

1. *Acinetobacter baumannii*
2. *Actinobacillus capsulatus*
3. *Actinobacillus ureae*
4. *Actinomadura madurae*
5. *Actinomadura pelletieri*
6. *Actinomyces bovis*
7. *Actinomyces israelii*
8. *Actinomyces pyogenes*
9. *Actinomyces viscosus*
10. *Aeromonas hydrophila*
11. *Aeromonas sobria*
12. *Amycolata autotrophica*
13. *Anaplasma marginale*
14. *Anaplasma phagocytophilum*
15. *Archanobacterium haemolyticum*
16. *Arizona hinshawii*
17. *Ascophaera apis*
18. *Aspergillus fumigatus*
19. *Bacillus anthracis* (一般或抗體檢測)
20. *Bacillus cereus*
21. *Barteroides fragilis*
22. *Bartonella bacilliformis*
23. *Bartonella henselae*
24. *Bartonella quintana*
25. *Bartonella vinsonii*
26. *Blastomyces dermatitidis*
27. *Bordetella bronchiseptica*
28. *Bordetella parapertussis*
29. *Bordetella pertussis*
30. *Borrelia* 屬全種
31. *Brachyspira hyodysenteriae*
32. *Burkholderia cepacia*
33. *Candida albicans*

34. *Campylobacter coli*
35. *Campylobacter fetus*
36. *Campylobacter jejuni*
37. *Chlamydia trachomatis*
38. *Chlamydophila pneumoniae*
39. *Chlamydophila psittaci*
40. *Cladosporium bantianum*
41. *Cladosporium carrionii*
42. *Cladosporium trichoides*
43. *Clostridium botulinum*
44. *Clostridium chauvoei*
45. *Clostridium difficile*
46. *Clostridium haemolyticum*
47. *Clostridium histolyticum*
48. *Clostridium novyi*
49. *Clostridium perfringens*
50. *Clostridium septicum*
51. *Clostridium sordelli*
52. *Clostridium sporogenes*
53. *Clostridium tetani*
54. *Corynebacterium diphtheriae*
55. *Corynebacterium jeikeium*
56. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
57. *Corynebacterium pseudotuberculosis*
58. *Corynebacterium renale*
59. *Corynebacterium ulcerans*
60. *Cryptococcus neoformans*
61. *Dactylaria galopava*
62. *Dermatophilus congolensis*
63. *Edwardsiella tarda*
64. *Ehrlichia chaffeensis*
65. *Ehrlichia ewingii*
66. *Ehrlichia muris*
67. *Epidermophyton*
68. *Erysipelothrix rhusiopathiae*
69. *Escherichia coli*

70. *Exophiala dermatitidis*
71. *Fluoribacter bozemanæ*
72. *Fluoribacter dumoffii*
73. *Fluoribacter gormanii*
74. *Fonseccæ pedrosoi*
75. *Francisella novicida*
76. *Francisella tularensis* subsp. *Holarctica*
77. *Francisella tularensis* subsp. *Mediasiatica*
78. *Fusobacterium necrophorum*
79. *Haemophilus ducreyi*
80. *Haemophilus influenzae*
81. *Haemophilus parasuis*
82. *Haemophilus somnus*
83. *Helicobacter pylori*
84. *Klebsiella granulomatis*
85. *Klebsiella oxytoca*
86. *Klebsiella pneumoniae*
87. *Legionella* 屬全種
88. *Leptospira interrogans*
89. *Listeria monocytogenes*
90. *Melissococcus pluton*
91. *Microsporium*
92. *Moraxella catarrhalis*
93. *Mycobacterium avium*
94. *Mycobacterium bovis* BCG 株
95. *Mycobacterium chelonæ*
96. *Mycobacterium fortuitum*
97. *Mycobacterium haemophilum*
98. *Mycobacterium intracellulare*
99. *Mycobacterium kansasii*
100. *Mycobacterium lepræ*
101. *Mycobacterium malmoense*
102. *Mycobacterium marinum*
103. *Mycobacterium paratuberculosis*
104. *Mycobacterium scrofulaceum*
105. *Mycobacterium simiæ*

106. *Mycobacterium szulgai*
107. *Mycobacterium ulcerans*
108. *Mycobacterium xenopi*
109. *Mycoplasma agalactiae*
110. *Mycoplasma bovis*
111. *Mycoplasma capiricolum subsp. capripeumoniae*
112. *Mycoplasma gallisepticum*
113. *Mycoplasma synoviae*
114. *Mycoplasma fermentans*
115. *Mycoplasma hominis*
116. *Mycoplasma pneumoniae*
117. *Neisseria gonorrhoeae*
118. *Neisseria meningitidis*
119. *Neorickettsia risticii*
120. *Neorickettsia sennetsu*
121. *Nocardia asteroides*
122. *Nocardia brasiliensis*
123. *Nocardia farcinica*
124. *Nocardia otitidiscaviarum*
125. *Paenibacillus larvae subsp. larvae*
126. *Paracoccidioides brasiliensis*
127. *Pasteurella multocida*
128. *Pasteurella pneumotropica*
129. *Pasteurella ureae*
130. *Penicillium marneffeii*
131. *Plesiomonas shigelloides*
132. *Pseudomonas aeruginosa*
133. *Pseudomonas fluorescens*
134. *Rhodococcus equi*
135. *Riemerella anatipestifer*
136. *Salmonella* 屬全種 (不包括 *S. paratyphi* A 型及 *S. typhi*)
137. *Serratia marcescens*
138. *Shigella* 屬全種
139. *Sporothrix schenckii*
140. *Sphaerophorus necrophorus*
141. *Staphylococcus aureus subsp. aureus*

142. *Streptobacillus moniliformis*
143. *Streptococcus agalactiae*
144. *Streptococcus equi*
145. *Streptococcus pneumoniae*
146. *Streptococcus pyogenes*
147. *Tatlochia maceachernii*
148. *Tatlochia micdadei*
149. *Taylorella equigenitalis*
150. *Treponema carateum*
151. *Treponema pallidum*
152. *Treponema pertenue*
153. *Vibrio cholerae*
154. *Vibrio fluvialis*
155. *Vibrio mimicus*
156. *Vibrio parahaemolyticus*
157. *Vibrio vulnificus*
158. *Yersinia enterocolitica*
159. *Yersinia pseudotuberculosis*

## **P2 病毒**

1. *Adenovirus, human-all types*
2. *Aino virus*
3. *Akabane virus*
4. *Apoi virus*
5. *Arenaviruses*
  - a. *Lymphocytic choriomeningitis virus (non-neurotropic strains)*
  - b. *Tacaribe virus complex*
  - c. 其他被特别引述而列名之病毒
6. *Avian encephalomyelitis virus*
7. *Avian pox virus*
8. *Avian retrovirus*
9. *Batai virus*
10. *Bluetongue virus*
11. *Border disease virus*
12. *Borna disease virus*
13. *Bovine viral diarrhea virus*



14. *Bovine papular stomatitis virus*
15. *Bovine ephemeral fever virus*
16. *Bunyaviruses*
  - a. *Bunyamwera virus*
  - b. *Rift Valley fever virus vaccine strain MP-12*
  - c. 其他被特别引述而列名之病毒
17. *Calicivirus* ( 包括 *Norwalk virus* 、 *Sapporo virus* 及 *Hepatitis E virus* )
18. *California encephalitis virus*
19. *Canine distemper virus*
20. *Canine herpesvirus*
21. *Chicken anemia virus*
22. *Cowpox virus*
23. *Coronavirus* ( 不包括 *SARS coronavirus* )
24. *Cytomegalovirus*
25. *Dengue virus* ( 1~4 型 )
26. *Duck hepatitis virus*
27. *Epstein-Barr virus*
28. *Ectromelia virus*
29. *Encephalomyocarditis virus*
30. *Epizootic hemorrhagic disease virus*
31. *Equine arteritis virus*
32. *Equine herpesvirus* 1 、 3 、 4 、 9 型
33. *Flaviviruses (Togaviruses) - Group B Arboviruses*
  - a. *Dengue virus serotypes 1, 2, 3, and 4*
  - b. *Japanese encephalitis virus*
  - c. *Yellow fever virus vaccine strain 17D*
  - d. 其他被特别引述而列名之病毒
34. *Feline herpesvirus*
35. *Gibbon ape leukemia virus*
36. *Hepatitis A virus*
37. *Hepatitis B virus*
38. *Hepatitis C virus*
39. *Hepatitis D virus*
40. *Hepatitis E virus*
41. *Hepatitis G virus*
42. *Herpesviruses (Herpesvirus simiae (Monkey B virus) 除外)*

- a. *Cytomegalovirus*
- b. *Epstein Barr virus*
- c. *Herpes simplex* types 1 and 2
- d. *Herpes zoster*
- e. *Human herpesvirus* types 6 and 7
- 43. *Human astrovirus*
- 44. *Human enterovirus*
- 45. *Human herpesvirus* 8 型
- 46. *Human immunodeficiency virus* ( 1 型及 2 型以外)
- 47. *Ibaraki virus*
- 48. *Infectious bursal disease virus*
- 49. *Infectious laryngotracheitis virus*
- 50. *Infectious bovine rhinotracheitis virus*
- 51. *Influenza virus* ( 不包括 *Avian influenza virus* )
- 52. *Japanese encephalitis virus*
- 53. *Kasba virus*
- 54. *La Crosse virus*
- 55. *Langat virus*
- 56. *LCM (Lymphocytic choriomeningitis) virus*
- 57. *Mammalian retrovirus (Bovine immunodeficiency virus (BIV) 及 Human)*
- 58. *Immunodeficiency virus (HIV)* ( 不包括 1 型及 2 型，但包括 *Human T-cell* )
- 59. *Leukemia lymphoma virus (HTLV)* ( 包括 1 型及 2 型 )
- 60. *Marek's disease virus*
- 61. *Molluscum contagiosum virus*
- 62. *Monkeypox virus*
- 63. *Mumps virus*
- 64. *Murine hepatitis virus*
- 65. *Newcastle disease virus*
- 66. *O'Nyong-Nyoun virus*
- 67. *Orthomyxoviruses*
  - a. *Influenza viruses* types A, B, and C
  - b. 其他被特別引述而列名之壁蝨攜帶正黏液病毒
- 68. *Papovavirus* ( 包括 *Human polyomavirus BK*、*Human polyomavirus JC*、*Human papillomavirus* 及 *Bovine papillomavirus*、*Lymphotropic papovavirus*、*Polyomavirus*、*SV40* 以外的 *Non-human papovaviruses* )
- 69. *Parainfluenza virus* 1~4 型

70. *Paramyxoviruses*

- a. *Newcastle disease virus*
- b. *Measles virus*
- c. *Mumps virus*
- d. *Parainfluenza viruses* types 1, 2, 3, and 4
- e. *Respiratory syncytial virus*

71. *Parvovirus*

72. *Pichinde virus*

73. *Picornaviruses*

- a. *Coxsackie viruses* types A and B
- b. *Echoviruses*-all types
- c. *Rhinoviruses*-all types

74. *Poliovirus* 1~3 型

75. *Porcine circovirus*

76. *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus*

77. *Porcine teschovirus*

78. *Poxviruses* ( *Monkeypox virus* 及被管制的 *Alastrim*, *Smallpox* 與 *Whitepox* 除外 )

79. *Pseudorabies virus*

80. *Rabies virus* ( 包括固定株及弱毒性株 )

81. *Rhinovirus*

82. *Rio Bravo virus*

83. *Ross river virus*

84. *Rotavirus* A、B、C、D、E、F、G 型

85. *Reoviruses* 包括 *Coltivirus*, *human Rotavirus* 及 *Orbivirus* ( *Colorado tick fever virus* )

86. *Respiratory syncytial virus*

87. *Rhabdoviruses*

- a. *Rabies virus*-all strains
- b. *Vesicular stomatitis virus*-實驗室調適的病毒株包括 *VSV-Indiana*, *San Juan* 及 *Glasgow*

88. *Rubella virus*

89. *Simbu virus*

90. *Simian herpesvirus* ( 不包括 *Cercopithecine herpesvirus* 1 型及 *Herpes ateles virus* )

91. *Simdbis virus*

92. *Semliki Forest virus*
93. *Swine pox virus*
94. *Swine vesicular disease virus*
95. *Tanapox virus*
96. *Togaviruses* (參見 *Alphaviruses* 及 *Flaviviruses*) *Rubivirus (rubella)*
97. *TT virus*
98. *Vaccinia virus*
99. *Varicella-zoster virus*
100. *Vesicular stomatitis Alagoas virus*
101. *Vesicular stomatitis Indiana virus*
102. *Vesicular stomatitis New Jersey virus*
103. *Yaba monkey tumor virus*
104. *Rinderpest virus*
105. *Vaccinia virus*

## **P2 原蟲&寄生蟲**

1. *Acanthamoeba* 屬全種之人類分離株
2. *Acarapis woodi*
3. *Ancylostoma* 屬全種
4. *Ancylostoma human hookworms* 包括 *A. duodenale*, *A. ceylanicum*
5. *Ascarididae* 科全種 包括 *Ascaris lumbricoides suum*
6. *Ascaridia galli*
7. *Babesia bigemina*
8. *Babesia bovis*
9. *Babesia caballi*
10. *Babesia divergens*
11. *Babesia egui*
12. *Babesia major*
13. *Babesia microti*
14. *Babesia ovata*
15. *Balantidium coli*
16. *Brugia* 屬全種 (*B. malayi* 及 *B. tomori* 包括)
17. *Cryptosporidium* 屬全種 (限制寄生在哺乳類動物上)
18. *Cyclospora cayetanensis*
19. *Coccidia*
20. *Coenurus cerebralis*
21. *Cysticercus bovis*

22. *Cysticercus cellulosae* (hydatid cyst, larva of *T. solium*)
23. *Cysticercus tenuicollis*
24. *Eimeria acervulina*
25. *Eimeria brunetti*
26. *Eimeria maxima*
27. *Eimeria necatrix*
28. *Eimeria tenella*
29. *Entamoeba histolytica*
30. *Echinococcus granulosus*
31. *Echinococcus multilocularis*
32. *Echinococcus vogeli*
33. *Echinostoma* 屬全種
34. *Enterobius* 屬全種
35. *Fasciola gigantica*
36. *Fasciola hepatica*
37. *Giardia lamblia*
38. *Gnathostoma* 屬全種
39. *Hammondia hammondi*
40. *Hartmanella* 屬全種之人體分離株
41. *Haemonchus contortus*
42. *Heterophyes* 屬全種
43. *Hymenolepis diminuta*
44. *Hymenolepis nana*
45. *Hypoderma bovis*
46. *Hypoderma lineatum*
47. *Isospora*
48. *Leishmania* 屬全種
49. *Leucocytozoon caulleryi*
50. *Loa loa*
51. *Microsporidium* 屬全種
52. *Naegleria australiensis*
53. *Naegleria fowleri*
54. *Naegleria italica*
55. *Neospora caninum*
56. *Necator human hookworms* (包括 *N. americanus*)
57. *Nosema apis*

58. *Necator* 屬全種的鈎蟲 (包括 *N. americanus*)
59. *Onchocerca* 屬全種的絲狀蟲 (包括 *O. volvulus*)
60. *Opisthorchiidae* 科全種
61. *Plasmodium* 屬全種 (限制寄生在人和猴子上)  
包括引起猿猴類疾病之 *P. cynomologi*, *P. falciparum*, *P. 64.malariae*, *P. ovale*,  
*P. vivax*
62. *Paragonimus* 屬全種
63. *Psoroptes ovis*
64. *Raillientina cesticii*
65. *Raillientina echinobothrida*
66. *Raillientina kashiwaraensis*
67. *Raillientina tetragoma*
68. *Sarcocystis hominis*
69. *Sarcocystis suihominis*
70. *Schistosoma haematobium*
71. *Schistosoma intercalatum*
72. *Schistosoma japonicum*
73. *Schistosoma mansoni*
74. *Schistosoma mekongi*
75. *Sparganum proliferum*
76. *Strongyloides stercoralis*
77. *Strongylus edentatus*
78. *Strongylus equines*
79. *Strongylus vulgaris*
80. *Syngamus trachea*
81. *Theileria annulata*
82. *Theileria parva*
83. *Toxocara* 包括 *T. canis*
84. *Toxoplasma* 包括 *T. gondii*
85. *Trichinella spiralis*
86. *Trichomonas vaginalis*
87. *Tritrichomonas foetus*
88. *Trypanosoma* 屬全種
89. *Taenia* 屬全種
90. *Trichinella* 屬全種
91. *Varroa jacobsoni*

92. *Wuchereria bancrofti* filaria worms

**P3 原核生物 (細菌) 及真菌**

1. *Bacillus anthracis* (活體培養)
2. *Bartonella*
3. *Blastomyces dermatitidis*
4. *Brucella* 屬全種
5. *Burkholderia mallei*
6. *Burkholderia pseudomallei*
7. *Coccidioides immitis* (sporulating cultures ; contaminated soil)
8. *Coxiella burnetti*
9. *Francisella tularensis* subsp. *tularensis*
10. *Histoplasma capsulatum*
11. *Histoplasma duboisii*
12. *Histoplasma farciminosum*
13. *Mycobacterium africanum*
14. *Mycobacterium bovis*
15. *Mycobacterium tuberculosis*
16. *Mycoplasma mycoides*
17. *Orientia tsutsugamushi*
18. *Paracoccidioides braziliensis*
19. *Pasteurella multocida* type B - "buffalo" and other virulent strains
20. *Penicillium marneffeii*
21. *Rickettsia akari*
22. *Rickettsia australis*
23. *Rickettsia prowazekii*
24. *Rickettsia canada*
25. *Rickettsia conorii*
26. *Rickettsia montana*
27. *Rickettsia parkeri*
28. *Rickettsia rhipicephali*
29. *Rickettsia rickettsii*
30. *Rickettsia sibirica*
31. *Rickettsia typhi*
32. *Rickettsia tsutsugamushi*
33. *Salmonella paratyphi* A 型

34. *Salmonella typhi*

35. *Yersinia pestis*

**P3 原蟲&寄生蟲**

無

**P3 病毒與變性蛋白**

1. *Alphaviruses (Togaviruses) - Group A Arboviruses*

a. *Eastern equine encephalomyelitis virus*

b. *Semliki Forest virus*

c. *St. Louis encephalitis virus*

d. *Venezuelan equine encephalomyelitis virus* (含 TC-83 疫苗株)

e. *Western equine encephalomyelitis virus*

f. 其他被特別引述而列名之病毒

2. *African horse sickness virus*

3. *African swine fever virus*

4. *Arenaviruses*

a. *Flexal*

b. *Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM) (neurotropic strains)*

5. *Avian influenza virus*

6. *Bunyaviruses*

a. *Hantaviruses* 包括 *Hantaan virus*

b. *Rift Valley fever virus*

7. *Cercopithecine herpesvirus 1 型 (B-virus)*

8. *Chikungunya virus*

9. *Colorado tick fever virus*

10. *Coronaviruses*

a. *SARS-associated Coronaviruses (SARS-CoV)*

11. *Eastern equine encephalitis virus*

12. *Foot-and-mouth disease virus*

13. *Flaviviruses (Togaviruses) - Group B Arboviruses*

a. *West Nile Virus*

b. *Yellow fever virus*

c. 其他被特別引述而列名之病毒

14. *Herpes ateles virus*

15. *Hog cholera virus*

16. *Human immunodeficiency virus 1 型及 2 型* (不包括增殖力缺陷株)

17. *Kyasanur Forest disease virus*



18. *Mayaro virus*
19. *Murray Valley encephalitis virus*
20. *Negishi virus*
21. *Picornaviruses*
  - a. *Polioviruses-all types, wild and attenuated*
22. *Powassan virus*
23. *Poxviruses Monkeypox virus*
24. *Prionsb Transmissible spongiform encephalopathies ( TME ) agents*  
( *Creutzfeldt-Jacob disease and kuru agents* )
25. *Rabies virus* ( 不包括固定株及弱毒性株 )
26. *Retroviruses*
  - a. *Human immunodeficiency virus (HIV) types 1 and 2*
  - b. *Human T cell lymphotropic virus (HTLV) types 1 and 2*
  - c. *Simian immunodeficiency virus (SIV)*
27. *Rinderpest virus*
28. *Rhabdoviruses*
  - a. *Vesicular stomatitis virus*
29. *Tacaribe virus*
30. *Tick-borne encephalitis virus complex* 包括 *Absetterov, Central European encephalitis, Hanzalova, Hypr, Kumlinge, Kyasanur Forest disease, Omsk hemorrhagic fever* 及 *Russian spring-summer encephalitis viruses*

**P4 原核生物 (細菌) 及真菌**

無

**P4 寄生蟲及原蟲**

無

**P4 病毒**

1. *Arenaviruses*
  - a. *Guanarito virus*
  - b. *Lassa virus*
  - c. *Junin virus*
  - d. *Machupo virus*
  - e. *Sabia*
2. *Bunyaviruses (Nairovirus)*
3. *Crimean-Congo hemorrhagic fever virus*
4. *Crimean-Congo hemorrhagic fever virus*

5. *Cote d'Ivoire Ebola virus*
6. *Filoviruses*
  - a. *Ebola virus*
  - b. *Marburg virus*
7. *Reston Ebola virus*
8. *Sudan Ebola virus*
9. *Zaire Ebola virus*
10. *Herpesviruses (alpha)*
11. *Herpesvirus simiae (Herpes B 或 Monkey B virus)*
12. *Hemorrhagic fever agents and viruses as yet undefined*
13. *Hendra virus*
14. *Nipah virus*
15. *Paramyxoviruses*
  - a. *Equine morbillivirus*
16. *Russian spring-summer encephalitis virus*
17. *Variola major virus*
18. *Variola minor virus*

## 附表四、病原微生物之分類

已知在自然界裡，染色體 DNA 可以相互交換的微生物群

### (1) 第一群

*Escherichia* 屬

*Shigella* 屬 (除了 *S. dysenteriae*)

*Salmonella* 屬

*Klebsiella* 屬

*Serratia* 屬

*Enterobacter* 屬

*Citrobacter* 屬

*Erwinia* 屬

*Pseudomonas aeruginosa*

*P. putida*

*P. fluorescens*

說明：

這些以腸內細菌群為中心之革蘭氏陰性的微生物群，現在其遺傳學上的知識已廣為知曉，其遺傳組成有互相交換的近緣種的微生物群。

這些微生物，相互之間可交換其質體 (plasmid)，而且這些質體可嵌入在染色體 DNA，因此也認為在自然界中，染色體 DNA 可以相互交換的微生物群。

### (2) 第二群

*Bacillus subtilis*

*B. licheniformis*

*B. pumilus*

*B. giobigii*

*B. niger*

*B. natto*

*B. amyloliquefaciens*

*B. atterimus*

說明：

這些屬於 *Bacillus* 屬以 *B. subtilis* 為中心的親源關係 (遺傳組成) 很近的微生物群，在自然條件下可以有形質的轉換，互相之間可以交換染色體 DNA。此外也知道利用噬菌體為媒介也可使各物種間行形質的轉換及染色體 DNA 的交換。這些事件在自然界普遍存在。

### (3) 第三群

#### *Streptomyces* 屬

說明：

屬於 *Streptomyces* 屬的微生物，在土壤中普遍存在，做為抗生物質產生菌在應用研究及醫學工業上，人類也常常接觸之。

這些微生物，在遺傳上極其近緣，在混合培養時，時常發生染色體 DNA 之互換，因此認為 *Streptomyces* 屬的所有微生物其染色體 DNA 可以相互交換。

### (4) 第四群

#### *Nocardia* 屬

說明：

*Nocardia* 屬的微生物，普遍存在於土壤中及自然環境中，有些為抗生物質產生菌。

這些微生物，其遺傳組成極為近緣，混合培養時也可使其染色體 DNA 相互交換，也可用噬菌體做為媒介使染色體 DNA 交換，因此認為 *Nocardia* 屬的微生物在自然界中可以使其染色體 DNA 相互交換。

附表五、供研究實驗用之 DNA 載體是源自真核細胞（屬於真菌屬者除外）之病毒及類病毒安全分類

(1) 需 **P3-B1** 或 **P2-B2** 防護的研究環境之 DNA 載體之來源：

Avian influenza virus (highly pathogenic strain)  
California encephalitis virus  
Chikungunya virus  
Hantavirus (Hemorrhagic fever with renal syndrome virus)  
Herpes ateles virus  
Herpes saimiri virus  
Hog cholera virus  
HIV (Human immunodeficiency virus) \*<sup>1</sup>  
SIV (Simian immunodeficiency virus) \*<sup>2</sup>  
Japanese encephalitis virus  
La Crosse virus  
LCM (Lymphocytic choriomeningitis) virus  
Monkeypox virus  
Murray Valley encephalitis virus  
O'nyong-nyong virus  
Powassan virus  
Rabies virus (street strain)  
St. Louis encephalitis virus  
Tacaribe virus  
Vesicular stomatitis virus  
West Nile virus

\*<sup>1</sup> HTLV-III = HIV-1, HTLV-IV = HIV-2,  
LAV-1 = HIV-1, LAV-2 = HIV-2。

\*<sup>2</sup> STLV-III 包含於 SIV。

(2) 需 **P2-B1** 或 **P1-B2** 防護的研究環境之 DNA 載體之來源：

Adenovirus (human)  
Avian reticuloendotheliosis virus  
Batai virus  
Cowpox virus

Cocksackie virus ( A, B )  
 Cytomegalovirus ( human, animal )  
 Dengue virus ( 1-4 )  
 Eastern equine encephalitis virus  
 EB ( Epstein-Barr ) virus  
 Echovirus ( 1-34 )  
 Ectromelia virus  
 EMC ( Encephalomyocarditis ) virus  
 Enterovirus ( 68-71 )  
 Equine rhinopneumonitis virus  
 Hepatitis A virus  
 Hepatitis B virus  
 Hepatitis C virus  
 Hepatitis D virus  
 Hepatitis E virus  
 Herpes simplex virus ( 1, 2 )  
 Human herpes virus 6 ( HHV6 )  
 Human herpes virus 7 ( HHV7 )  
 Infectious bovine rhinotracheitis virus ( bovine herpesvirus )  
 Influenza virus ( human )  
 Mammalian retrovirus\*<sup>3</sup>  
     HTLV ( Human T-cell leukemia virus ) \*<sup>4</sup>  
     STLV ( Simian T-cell leukemia virus ) \*<sup>5</sup>  
     Other mammalian retrovirus  
 Measles virus ( 含 SSPE )  
 Molluscum contagiosum virus  
 Mouse hepatitis virus  
 Mumps virus  
 Newcastle disease virus  
 Norwalk virus  
 Papovavirus  
     human : BK virus, JC virus, human papilloma virus  
     non-human : Bovine papilloma virus, lymphotropic  
                 papovavirus, polyoma virus, SV40,  
                 other non-human papovaviruses  
 Parainfluenza virus ( 1-Sendai, 2-4 )  
 Parvovirus B19  
 Pichinde virus

Poliovirus ( 1-3 )  
Rabies virus ( fixed strain, attenuated strain )  
Rhinovirus  
Rinderpest virus ( vaccine strain )  
Rotavirus  
RS virus ( Respiratory syncytial virus )  
Rubella virus  
Semliki Forest virus  
Simian herpesvirus ( 除去 Herpes B virus, Herpes ateles virus, Herpes saimiri virus )  
Suid herpesvirus 1 ( Aujeszky's disease virus )  
Swine vesicular disease virus  
Tanapox virus  
Vaccinia virus  
Varicella virus  
Venezuelan equine encephalitis virus  
Western equine encephalitis virus  
Yaba virus  
\* 3 HIV, SIV, HTLV, STLV 除外  
\* 4 HTLV-III, HTLV-IV 除外  
\* 5 STLV-III 除外

(3) 如當 DNA 供應體等使用時，**P1-B1** 或 **P1-B2** 為必需之防護：

Adenovirus ( avian, canine, bovine, equine, porcine, murine )  
Aino virus  
Akabane virus  
Avian encephalomyelitis virus ( Picornaviridae )  
Avian enterovirus  
Avian nephritis virus  
Avian poxvirus  
Avian reovirus  
Avian retrovirus ( Avian reticuloendotheliosis virus 除外 )  
Bovine papular stomatitis virus  
Bovine ephemeral fever virus  
Bluetongue virus  
Bovine viral diarrhea virus ( Togaviridae )

Bunyamwera virus  
 Calicivirus ( human, animal )  
 Canine distemper virus  
 Canine herpesvirus  
 Chicken anemia virus ( Circoviridae )  
 Coronavirus ( mammalian, avian )  
 Epizootic hemorrhagic disease virus  
 Enterovirus ( swine, bovine )  
 Equine arteritis virus ( Togaviridae )  
 Feline herpesvirus  
 Fish viruses ( 只限於 eel virus from American eel, eel virus from European eel, infectious pancreatic necrosis virus, infectious haematopoietic necrosis virus, lymphocystis virus )  
 Getah virus  
 Infectious bursal disease virus ( Birnaviridae )  
 Infectious laryngotracheitis virus ( Herpesviridae )  
 Influenza virus ( avian, equine, swine )  
 Insect viruses ( Arbovirus 等，對脊椎動物具感染性者除外 )  
 Kasba ( Chuzan ) virus  
 Kilham rat virus  
 Lactic dehydrogenase virus  
 Langat virus  
 Live virus vaccine strains ( Rinderpest vaccine strain 除外 )  
 Lucke virus  
 Marek's disease virus ( 含 herpesvirus of turkey )  
 Mouse encephalomyelitis virus ( Picornaviridae )  
 Orf virus  
 Parvovirus ( B19 除外 )  
 Plant viruses  
 Pneumonia virus of mice ( PVM ) ( Paramyxoviridae )  
 Poikilothermal vertebrate retrovirus  
 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus  
 Ross River virus  
 Reovirus ( 1-3 )  
 Shope fibroma virus  
 Simbu virus  
 Sindbis virus  
 Swinepox virus



Turkey rhinotracheitis virus

Viroids

(4) 如當 DNA 供應體等使用時，未標示出適用防護者：

不屬於(1)、(2)及(3)者。

## 附表六、作為 DNA 供應體等使用的脊椎動物之原蟲的安全度分類

(1) 當作 DNA 供應體等使用時，不需 **P3-B1** 或 **P2-B2** 之防護：  
無。

(2) 當作 DNA 供應體等使用時，需要 **P2-B1** 或 **P1-B2** 之防護：

|                                  |                        |
|----------------------------------|------------------------|
| <i>Balantidium</i>               | <i>B. hominis</i>      |
| <i>Entamoeba</i>                 | <i>E. histolytica</i>  |
| <i>Giardia</i>                   | <i>G. lamblia</i>      |
| <i>Hartmanella</i>               | 所有種                    |
| <i>Leishmania</i>                | <i>L. braziliensis</i> |
|                                  | <i>L. donovani</i>     |
|                                  | <i>L. mexicana</i>     |
|                                  | <i>L. peruviana</i>    |
|                                  | <i>L. tropica</i>      |
| <i>Naegleria</i>                 | 所有種                    |
| <i>Plasmodium</i>                | <i>P. falciparum</i>   |
|                                  | <i>P. malariae</i>     |
|                                  | <i>P. ovale</i>        |
|                                  | <i>P. vivax</i>        |
| <i>Simian malarial parasites</i> |                        |
| <i>Sarcocystis</i>               | <i>S. suihominis</i>   |
| <i>Schistosoma</i>               | 所有種                    |
| <i>Toxoplasma</i>                | <i>T. gondii</i>       |
| <i>Trypanosoma</i>               | <i>T. cruzi</i>        |
|                                  | <i>T. ganbiense</i>    |
|                                  | <i>T. rhodesiense</i>  |

(3) 當作 DNA 供應體等使用時，需要 **P1-B1** 或 **P1-B2** 之防護：

|                        |                    |
|------------------------|--------------------|
| <i>Babesia</i>         | 所有種                |
| <i>Chilomastix</i>     | <i>C. mesnili</i>  |
| <i>Cryptosporidium</i> | 所有種                |
| <i>Dientamoeba</i>     | <i>D. fragilis</i> |
| <i>Eimeria</i>         | 所有種                |

|                      |                        |
|----------------------|------------------------|
| <i>Enbadomonas</i>   | <i>E. intestinalis</i> |
| <i>Endolimax</i>     | <i>E. nana</i>         |
| <i>Entamoeba</i>     | <i>E. coli</i>         |
|                      | <i>E. gingivalis</i>   |
|                      | <i>E. hartmanni</i>    |
| <i>Enteromonas</i>   | <i>E. hominis</i>      |
| <i>Iodamoeba</i>     | <i>I. butschlii</i>    |
| <i>Isospora</i>      | <i>I. belli</i>        |
|                      | <i>I. hominis</i>      |
| <i>Histomonas</i>    | 所有種                    |
| <i>Leucocytozoon</i> | 所有種                    |
| <i>Pneumocystis</i>  | <i>P. carinii</i>      |
| <i>Plasmodium</i>    | <i>P. berghei</i>      |
| <i>Retortamonas</i>  | <i>R. intestinalis</i> |
| <i>Sarcocystis</i>   | <i>S. hominis</i>      |
|                      | <i>S. lindemaniae</i>  |
| <i>Theileria</i>     | 所有種                    |
| <i>Trichomonas</i>   | <i>T. tenax</i>        |
|                      | <i>T. hominis</i>      |
|                      | <i>T. vaginalis</i>    |
| <i>Trypanosoma</i>   | <i>T. brucei</i>       |
|                      | <i>T. rangeli</i>      |

- (4) 當作 DNA 供應體等時，不標示防護者：  
不屬於(1)、(2)或(3)者。

## 附表七、不必向主管機構生物實驗安全委員會報備之載體實驗

使用下列之革蘭氏陽性細菌之質體所製成之載體，可以不必向主管機構生物實驗安全委員會報備。

1. *Bacillus amylosacchariticus*
2. *Bacillus anthracis*
3. *Bacillus atterimus*
4. *Bacillus brevis*
5. *Bacillus licheniformis*
6. *Bacillus natto*
7. *Bacillus niger*
8. *Bacillus pumilus*
9. *Bacillus subtilis*
10. *Bacillus thuringiensis*
11. *Bacillus globigii*
12. *Bacillus megaterium*
13. *Clostridium acetobutylicum*
14. *Lactobacillus bulgaricus*
15. *Lactobacillus casei*
16. *Lactobacillus lactis*
17. *Listeria grayi*
18. *Listeria monocytogenes*
19. *Listeria murrayi*
20. *Pediococcus acidilactici*
21. *Pediococcus cerevisiae*
22. *Pediococcus damnosus*
23. *Pediococcus pentosaceus*
24. *Staphylococcus carnosus*
25. *Staphylococcus epidermidis*
26. *Streptococcus agalactiae*
27. *Streptococcus anginosus*
28. *Streptococcus avium*
29. *Streptococcus cremoris*
30. *Streptococcus dorans*
31. *Streptococcus equisimillis*
32. *Streptococcus faecalis*
33. *Streptococcus ferus*
34. *Streptococcus lactis*
35. *Streptococcus milleri*
36. *Streptococcus mitior*
37. *Streptococcus mutans*
38. *Streptococcus pneumoniae*
39. *Streptococcus pyogenes*
40. *Streptococcus sanguis*
41. *Streptococcus salivarius*
42. *Streptococcus sobrinus*
43. *Streptococcus thermophilus*
44. *Streptomyces coelicolor*
45. *Streptomyces lividans*
46. *Streptomyces mediterranea*
47. *Streptomyces parvulus*
48. *Nocardia mediterranea*

## 附表八、SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) Associated Coronaviruses 及 Avian Flu Viruses 實驗安全準則

SARS安全準則參照美國疾病管制局2003年12月18日公佈之標準訂定；H5、H7及其它高病原性亞型之禽流感病毒 (Avian Flu Viruses) 亦需比照相同標準操作

美國疾病管制局 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 和世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 根據至目前為止，來自國際和國內各種來源的SARS病例報告，判定冠狀病毒 (Coronaviruses) 是SARS的主要致病原。

SARS主要傳播途徑是經由人對人的SARS的傳染途徑是近距離的飛沫傳染或密切接觸。大部份的病例是曾經照顧SARS病患或曾與其共同生活的人，或者是曾經接觸SARS病患之感染性物質 (例如：呼吸道分泌物) 的人。傳播途徑可能經由接觸被SARS病患分泌物污染的皮膚或物體，然後再觸摸自己的眼睛或口鼻。SARS患者有可能在咳嗽或打噴嚏時將病毒傳播到自己身上、其他人身上或周圍物體表面。目前對於SARS病毒能否經由空氣傳播更廣或其他方式傳播還不清楚。

在有關SARS致病原實驗室傳播的更多資訊被瞭解之前，處理這些檢體時仍應該採取合理的防範措施。為使處理疑似SARS病患檢體所招致的危險減到最低，臨床和實驗室人員之間有效且適時的溝通是十分重要的。來自疑似SARS病患的檢體應該明確標示，並提醒該實驗室以確保檢體的正確處理。

以下所列是處理SARS病患檢體及進行SARS Associated Coronaviruses的生物安全準則。(H5、H7及其它高病原性亞型之禽流感病毒 (Avian Flu Viruses) 則比照相同標準操作)

### A. 血液和尿液檢體

血液及尿液檢體的例行性檢查 (包括血液學及生化學檢查)。這些檢體可依照標準防範措施 (Standard Precautions, 以前稱Universal Precautions)，在生物安全等級第二級實驗室 (P2) 處理。實驗室人員應該穿戴的防護裝備，包括：丟棄式手套、實驗衣、護目鏡、外科面罩或護面罩以避免黏膜表面的暴露。脫掉手套後，尤其在觸摸眼睛或黏膜表面前，應該特別注意洗手以保持清潔。

任何可能產生微小顆粒或氣霧的步驟 (例如：檢體在無蓋的管子中進行vortexing或sonication) 都應該在生物安全操作台 (Biological Safety Cabinet, BSC) 中操作。如果可以的話，離心時應該使用密閉的轉子或加蓋子，這些離心轉子或蓋子有關之操作應在生物安全操作台中進行。

在生物安全操作台外操作的流程應該考慮將檢體釋出的意外減到最小。

檢體處理完後須消毒工作檯和相關設備。使用可對抗具有外膜之病毒的標準消毒劑便已足夠。若發生潑濺，可使用5%漂白水消毒。

如果無法取得以上描述的安全設備，可以藉由管理方式或其他個人防護裝備等來減少危險，但必須由實驗室安全官謹慎地做危險評估。例如：調整實驗室的工作流程，當檢體離心時盡可能減少在場的工作人員等。

在從事離心或其他操作可能因不注意而將檢體釋出的步驟時，工作人員可以考慮使用呼吸道防護裝備。可接受的呼吸道防護方法包括配戴密合度恰當且通過美國國家職業安全衛生研究所（National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH）驗證核可之N95或以上之防塵口罩，或其他國家驗證核可之同等品，或使用高效率濾材（High Efficiency Particulate Airfilter, HEPA）的動力過濾式呼吸防護具（Powered Air-purifying Particulate Respirator, PAPRs）。密合度測試（fit test）及密合檢點（fit check）是口罩有效使用的關鍵部分。受面部頭髮等限制，而無法戴合適口罩的人員應該戴較鬆的頭罩式或頭盔式的PAPRs。

## B. 其他檢體

1. 以下操作可在P2實驗室，以P2的操作規範來進行：

- a. 福馬林固定過或以其他方式去活化之組織的處理和病理檢查。
- b. 已萃取之病毒核酸成份的分子分析。
- c. 以glutaraldehyde固定過之玻片的電子顯微鏡檢查。
- d. 細菌和真菌培養的常規檢查。
- e. 已固定抹片的常規染色和顯微鏡的檢查。
- f. 為運送檢體至其它實驗室檢驗，所做的最後包裝（檢體應被放置在密封無污染的容器中）。

2. 未經處理之檢體，其操作可在P2實驗室，但以至少P3的操作規範來進行。

P3的操作規範包括：

- a. 任何可能引起氣膠或霧滴之實驗必須在認證過之生物安全操作台裏（如音波或振盪）。
- b. 實驗室人員應穿戴防護裝備，包括：丟棄式手套、前罩或全罩式長袖防護衣、鞋套、眼罩、手術口罩、或全面罩。
- c. 檢體離心時應該使用密閉的離心蓋子或轉子，離心轉子或蓋子有關之操作應在生物安全操作台內進行。
- d. 檢體處理完後須消毒工作檯和相關設備，使用可對抗具有外膜之病毒的標準消毒劑便已足夠。若發生潑濺，可使用5%漂白水消毒。
- e. 疑似或確定SARS檢體或病原體廢棄物須經滅菌處理後方可丟棄，處

理方式，可參照WHO Laboratory Biosafety Manual, 2nd revised edition。

若有無法在生物安全操作台內操作之情形，須同時注意個人的防護裝備（例如：口罩、護面罩等）和物理性的防護措施（例如：離心時加安全蓋或密閉的轉子等）。可接受的呼吸道防護方法包括密合度恰當且通過檢驗的NIOSH批准的防塵口罩（N-95同等級或者更高）；或者用HEPA過濾材的PAPRs。密合度測試（fit test）及密合檢點（fit check）是口罩使用有效的關鍵部分。受面部頭髮等限制，而無法戴合適口罩的人員應該戴較鬆的有罩式或頭盔式的PAPRs。

這些操作包括：

- a. 檢體的分裝或稀釋。
  - b. 細菌或真菌培養基的接種。
  - c. 從事鑑定試驗，但不包括病毒在體外或體內的培養。
  - d. 未處理過檢體的核酸萃取步驟。
  - e. 抹片的製備和化學或熱固定，以用於顯微鏡分析。
3. 以下操作要在P3實驗室，由受過P3操作規範訓練的人員來進行。
- a. 病毒感染細胞的培養。
  - b. 檢體病毒培養後的初步鑑定。
4. 限定P3實驗室內進行之實驗，每次操作最後總量不超過200 ml，且總病毒數不超過 $1 \times 10^9$ ，超過前述數量之實驗則必須在P4實驗室內進行。
5. 於P3實驗室進行實驗中接觸過病毒之器皿等感染性廢棄物，須於P3實驗室中完成滅菌方可攜出。
6. 以下操作要在動物P3實驗室，以至少動物的P3操作規範來進行：
- a. 檢體的病毒接種到動物。
  - b. 飼養已感染病毒之動物。
  - c. 檢體的病毒接種到動物後之鑑定。
  - d. 實驗必須在P3等級進行動物實操作須遵照「實驗動物管理與使用指南」之相關注意事項。【查詢網站：<http://las.nhri.org.tw>】
7. 實驗室品質管制規範及違規處置
- a. 生物安全第三等級實驗室品質管制規範—疾病管制局 2003（草案）查詢網站：<http://www.cdc.gov.tw>。
  - b. 國內新設立生物安全第三等級實驗室之啟用，應行文向衛生署疾病管制局申請現場查核，並檢附下列書面資料：
    - 該機關（構）生物安全委員會同意實驗室啟用之會議紀錄
    - 生物安全櫃、高壓蒸氣滅菌鍋、生物安全第三級實驗室室內完整

性測試、HEPA洩漏測試、空調系統性能與控制系統測試、實驗室安全設施設備功能性驗證等檢測合格報告

- 相關標準操作程序 (SOP)
- 生物安全第三等級實驗室設施管理作業程序、生物安全第三等級實驗室工作人員進出實驗室及操作程序、感染性廢棄物處理標準程序等
- 年度人員及新進人員訓練計畫及緊急應變計畫

衛生署疾病管制局將排定該局生物安全第三等級實驗室查核小組現場訪查日期，並進行實地查核。查核報告由疾病管制局提報衛生署生物安全委員會審核，經委員會同意後，實驗室始可正式啟用。

(衛生署疾病管制局聯絡人：吳科長Tel 02-26531333或02-27850513分機803，電子郵件wcwu@cdc.gov.tw，地址：台北市林森南路六號。)

- c. 進行SARS-Associated Coronaviruses及禽流感 (Avian Flu) viruses所有相關實驗，若違反規定，經確認屬實者，國科會將予以停止其提出任何申請經費補助之權力三年以上之處分。若因前述過失造成人員感染或對環境造成負面衝擊，則須受相關法律之制裁。

## 8. 相關網站

- a. WHO post-outbreak biosafety guidelines for handling of SARS-CoV specimens and cultures, 可進入世界衛生組織網站查詢  
[http://www.who.int/csr/sars/biosafety\\_2003\\_12\\_18/en/](http://www.who.int/csr/sars/biosafety_2003_12_18/en/)
- b. 有關 SARS 及禽流感病毒 (Avian Flu Viruses) 疑似病例和可能病例之檢體包裝及運送必須遵循的規則可進入下列網站查詢：  
ITAT： [www.iata.org/dangerousgoods/index](http://www.iata.org/dangerousgoods/index)  
US DOT 49 CFR Parts 171-180： [hazmat.dot.gov/rules.htm](http://hazmat.dot.gov/rules.htm)  
CDC： [www.cdc.gov/ncidod/sars/pdf/packingspecimens-sars.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/sars/pdf/packingspecimens-sars.pdf)



【樣式】本表各機構可視各自情況自行修改使用

## 基因重組實驗申請同意書

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：\_\_\_\_\_

計畫主持人：\_\_\_\_\_ 職稱：\_\_\_\_\_ 電話及傳真：\_\_\_\_\_

執行機構、系所：\_\_\_\_\_

- 1、實驗內容： 是否進行基因重組之實驗？ -----是  
是否進行微生物培養的實驗？ -----是  
是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----是  
是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----是  
是否為自交植物？ -----是

2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考基因重組實驗守則附表二）

a. 重組基因來源名稱：\_\_\_\_\_

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物

b. 進行重組基因之微生物或病毒宿主之名稱：\_\_\_\_\_

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群

c. 進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：\_\_\_\_\_

3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法

a. 具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；

其他〔名稱〕\_\_\_\_\_

b. 具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；

其他〔名稱〕\_\_\_\_\_

c. 基因轉殖方法：virus； microinjection； liposome； gene gun； \_\_\_\_\_

4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4

5、進行本研究之實驗室 \_\_\_\_\_ 其生物安全等級：P1 P2 P2+ P3 P4

計畫主持人(申請人)簽名：\_\_\_\_\_ 年 月 日

**生物實驗安全委員會查覈欄** (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會查覈人覈實同意後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

生物實驗安全委員會負責人(或查覈人)簽名：\_\_\_\_\_ 年 月 日



|           |                                  |  |
|-----------|----------------------------------|--|
| 反突變率      | Revertant rate                   | p28  |
| 5 劃       |                                  |  |
| 主任委員      | Chair person                     | p42,43,44  |
| 半封閉性設施    | Semi-closed facility             | p40  |
| 去氧        | Deoxygenate                      | p1   |
| 外源性       | Exogenous                        | p1,29,36   |
| 未分化的細胞    | Undifferentiated cell            | p2   |
| 未確認 DNA   | Uncharacterized DNA              | p1   |
| 正壓        | Positive pressure                | p9   |
| 生物安全操作台   | Biosafety apparatus              | p2,5,6,7,8,9,10,11,14,15,16,17,45,80,81,<br>82   |
| 生物材料      | Biological material              | p4,5,6,8,11,14,15,16                             |
| 生物性防護     | Biological containment           | p2,20,22,37,44                                   |
| 生物試驗材料    | Biological experimental material | p11  |
| 生物實驗安全委員會 | Biosafety committee              | p3,26,28,29,30,31,32,34,36,40,42,43,44,<br>79,84 |
| 生物體       | Biological subject               | p1   |
| 生長箱       | Growth chamber                   | p31,40,84  |
| 田間試驗      | Field trial                      | p30,31,40,41                                     |
| 甲醛        | Formaldehyde                     | p5,6,7,9,11,16,17,47                             |
| 白金環       | Platinum loop                    | p5,7,8,11  |
| 白喉毒素      | Diphtheria toxin                 | p32  |
| 立克次小體     | Rickettsia                       | p20,21   |
| 6 劃       |                                  |  |
| 安全度       | Safety level                     | p19,22,25,26,36,37,77                            |
| 血清        | Serum                            | p44,48,49  |
| 7 劃       |                                  |  |
| 低等真核細胞    | Lower eucaryotic cell            | p29,31   |
| 冷凍乾燥機     | Lyophilizer                      | p14  |
| 卵         | Egg                              | p1,37,39   |
| 志賀毒素      | Shiga toxin                      | p32  |
| 抗生素       | Antibiotic                       | p44  |
| 抗藥性       | Drug resistance                  | p25  |
| 抗藥性基因     | Drug resistant gene              | p31  |
| 防護基準      | Basis for prevention             | p3,22,32,36                                      |

## 8 劃

|                |                                       |   |
|----------------|---------------------------------------|---|
| 供應體            | Source of supply                      | p1,13,18,19,20,21,22,25,26,27,29,33,38,41,74,76,77,78 |
| 受精卵            | Fertilized egg                        | p1,39   |
| 披衣菌            | Chlamydia                             | p20,21,48   |
| 昆蟲             | Insect                                | p4,5,7,9,10,11,14,15,17,23,37,40                      |
| 物理性防護          | Physical containment                  | p2,4,14,19,25,26,29,34,35,36,37,44                    |
| 花粉             | Pollen                                | p2,40   |
| 金黃色葡萄球菌 A 型外毒素 | Staphylococcus aureus exotoxin type A | p32   |
| 非病原性原核細胞       | Nonpathogenic procaryotic cells       | p29,31  |
| 孢子             | Spore                                 | p2,28,40,48   |

## 9 劃

|         |                                   |   |
|---------|-----------------------------------|---|
| 染色體     | Chromosome                        | p27,28,70,71  |
| 枯草桿菌    | Bacillus subtilis                 | p32   |
| 毒素      | Toxin                             | p25,26,31,32,33,37,40,48                                  |
| 毒素休克症候群 | Toxin shock syndrome              | p32   |
| 毒素基因    | Toxin gene                        | p31,32  |
| 毒蛋白     | Toxic protein                     | p31   |
| 疫苗      | Vaccine                           | p44,52,67   |
| 研究機構主管  | Director of research organization | p2,3,32,34,35,42,43,44                                    |
| 突變株     | Mutant strain                     | p23,28,29   |
| 胚       | Embryo                            | p1,2,37,39  |
| 胚珠      | Ovule                             | p2  |
| 胚幹細胞    | Embryonic stem cell               | p1  |
| 胎       | Fetus                             | p1,2  |
| 致癌性     | Carcinogenic                      | p25,26,37,40  |
| 計畫主持人   | Principal investigator            | p2,4,6,7,9,11,14,15,17,30,34,42,43,44,84                  |
| 負壓      | Negative pressure                 | p8,10,47  |
| 重組體     | Recombinant                       | p1,4,5,6,7,9,11,14,15,16,17,20,22,24,25,26,33,34,35,40,44 |
| 革蘭氏陽性細菌 | Gram – positive bacteria          | p28,79  |

## 10 劃

|      |                |        |
|------|----------------|--------|
| 穿梭載體 | Shuttle vector | p28    |
| 致病性  | Pathogenicity  | p30,48 |

|           |                          |  |
|-----------|--------------------------|--|
| 原核細胞      | Prokaryotic cell         | p28,29,31  |
| 原蟲        | Protozoa                 | p21,63,67,68,77  |
| 核糖核酸      | Ribonucleic acid         | p1   |
| 滅菌        | disinfect                | p4,5,6,8,10,11,14,15,16,17,37,39,40,47,81,82   |
| 浸漬槽       | Soaking tank             | p11  |
| 病毒        | Virus                    | p1,4,13,18,19,20,21,22,23,26,28,29,30,31,33,36,38,41,<br>48,50,51,52,53,54,59,60,61,62,67,68,72,80,81,<br>82,83,84 |
| 病原性       | Pathogenic               | p13,18,19,25,26,29,31,33,36,38,40,41,42,54,80  |
| 病原微生物     | Pathogenic microorganism | p2,31,44,48,70   |
| 真核生物      | Eukaryotic               | p21,27   |
| 真菌        | Fungus                   | p21,49,52,53,55,66,68,72,81,82   |
| 脊椎動物      | Vertebrate               | p21,31,32,33,36,75,77  |
| 高壓滅菌器     | Autoclave                | p5,6,8,10,11,16,47   |
| 11 劃      |                          |  |
| 健康管理      | Health management        | p42,43,44  |
| 國家科學委員會   | National Science Council | p3,28,30,31,32,43  |
| 基本守則      | Primary principle        | p3,32  |
| 基因重組      | Gene recombination       | p1,2,3,28,30,31,43,84  |
| 基因剔除      | Gene knockout            | p1,2   |
| 基因轉殖      | Transgenic               | p1,2,30,31,36,37,39,40,41,84   |
| 培養裝置      | Culture apparatus        | p14,15,16,17,25  |
| 寄生性       | Parasitic                | p25  |
| 寄生蟲       | Parasite                 | p30,49,52,53,63,67,68  |
| 宿主        | Host                     | p1,2,4,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,<br>28,29,30,31,32,33,34,35,36,38,40,41,84                     |
| 宿主 - 載體系統 | Host - vector system     | p13,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,<br>31,34,38,41   |
| 第一級危險群    | Risk group 1             | p29,48,84  |
| 第二級危險群    | Risk group 2             | p29,48,84  |
| 第三級危險群    | Risk group 3             | p29,48,49,51,52,84   |
| 第四級危險群    | Risk group 4             | p29,53,84  |
| 粒線體       | Mitochondria             | p28  |
| 細胞        | Cell                     | p1,2,4,5,6,7,13,14,16,18,20,21,22,23,24,25,26,28,29,30,<br>31,32,34,35,36,38,41,72,82,84                           |
| 細菌質體      | Bacterial plasmid        | p28  |
| 蛋白質產物     | Protein product          | p30  |

## 12 劃

|          |                   |   |
|----------|-------------------|---|
| 媒介       | Vector            | p70,71  |
| 植物       | Plant             | p2,13,18,19,20,21,22,23,29,30,31,34,35,40,41,84 |
| 紫外線      | Ultraviolet light | p10   |
| 超音波細胞打碎機 | Cell sonicator    | p5,6,7,14                                       |

## 13 劃

|         |                               |   |
|---------|-------------------------------|---|
| 植物病原微生物 | Phytopathogenic microorganism | p31   |
| 植物宿主    | Plant host                    | p31   |
| 傳播性     | Transmissible                 | p20,25,26,37  |
| 微生物     | Microorganism                 | p1,2,4,13,18,19,20,21,25,29,30,31,32,33,36,38,39,40,41,42,44,45,47,48,52,53,55,70,71,84 |
| 感染性     | Infectivity                   | p13,18,20,21,22,23,25,26,29,30,33,75,80,82,83   |
| 滅菌設備    | Sterilization equipment       | p10   |
| 溫室      | Green house                   | p31,40,84   |
| 督導機關    | Supervisory organization      | p43   |
| 農業委員會   | Council of Agriculture        | p30,31,40,41,43   |
| 過濾器     | Filter                        | p5,6,7,8,9,10,11,14,15,16,17,45,47  |

## 14 劃

|             |  |            |
|-------------|--|------------|
| 葉綠體         | Chloroplast                              | p28        |
| 實驗計畫        | Research project                         | p2,3,42,43 |
| 種子          | Seed                                     | p2,40,41   |
| 精子          | Sperm                                    | p1,39      |
| 綠膿桿菌 A 型外毒素 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> exotoxin A | p32        |
| 緊急避難室       | Emergency shelter                        | p2         |
| 網室          | Screened growth room                     | p40        |
| 酵素          | Enzyme                                   | p1         |

## 15 劃

|      |                      |   |
|------|----------------------|---|
| 實驗人員 | Laboratory personnel | p2,4,9,11,30,31,36,40,42,44   |
| 實驗室  | Laboratory           | p2,4,5,6,7,8,9,10,11,16,17,20,23,25,34,36,37,44,51,54,62,80,81,82,83,84 |
| 實驗區域 | Experimental area    | p2,6,8,9,10,11,14,15,16,17,34,40,44                                     |
| 廢氣   | Exhaust air          | p10,14,45   |
| 模板   | Mold                 | p1  |
| 緩衝室  | Buffer zone          | p2,8,9,10,11,37   |

|         |                                  |                                  |
|---------|----------------------------------|----------------------------------|
| 質體      | Plasmid                          | p23,27,28,70,79                  |
| 16 劃    |                                  |                                  |
| 霍亂毒素    | Cholera toxin                    | p32                              |
| 衛生署     | Department of Health             | p29,30,31,43,82,83               |
| 噬菌體 DNA | Bacteriophage DNA (or Phage DNA) | p28                              |
| 選殖      | Cloning                          | p1,22,25,26,28,29,31,32,33,34,36 |
| 選殖實驗    | Cloning experiment               | p28,32,33                        |
| 遺傳物質    | Genetic material                 | p1                               |
| 18 劃    |                                  |                                  |
| 離心機     | Centrifuge                       | p5,6,7,14,16                     |
| 轉導      | Transduction                     | p28                              |
| 19 劃    |                                  |                                  |
| 類病毒     | Viroid                           | p21,72                           |
| 23 劃    |                                  |                                  |
| 變性蛋白    | prion                            | p52,67                           |

總召集人：行政院國家科學委員會主管副主任委員

編審召集人：國科會生物處處長  
林榮耀

編審委員：包家駒 李德章 胡念台 徐源泰  
梁善居 陳振陽 張文昌 張智芬  
趙裕展 黎耀基 羅時成 戴謙  
蔡英傑

執行編審：程沛文 劉昭麟 林世芳

編修作業單位：行政院國家科學委員會 生物科學發展處

「基因重組實驗守則」網址：<http://www.nsc.gov.tw/bio/>

|     |         |
|-----|---------|
| 初版  | 78年9月   |
| 修訂版 | 89年11月  |
|     | 91年1月增修 |
|     | 92年5月增修 |
|     | 93年6月增修 |