

95 年中部某大學實驗室感染桿菌性痢疾事件調查報告

吳文超、邱乾順、王佑文、賴明和、吳和生

衛生署疾病管制局研究檢驗中心

摘要

95 年 8 月台中市某大學發生一起實驗室研究生感染桿菌性痢疾事件，為「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」自 95 年 3 月 26 日實施以來，首例經證實之實驗室感染事件。據疾病管制局至該實驗室現場訪查結果研判，應為個案進行痢疾桿菌增菌培養過程中不慎污染到手套，加上實驗室動線規劃不良，以致其穿戴之手套污染實驗室設施或設備，間接造成接觸感染。該校雖於 90 年成立「生物實驗安全委員會」，惟對其所屬實驗室之生物安全管理監督功能仍有待強化。國內從事感染性生物材料實驗研究之單位，應以該事件為鑑，強化單位生物安全委員會功能，定期檢查各等級實驗室設施與設備安全，落實工作人員生物安全教育訓練，以杜絕實驗室感染事件之發生。

緣由

疾病管制局(以下簡稱本局)第五分局於 95 年 8 月 17 日接獲高雄市某醫院通報一例疑似桿菌性痢疾個案，因個案具有研究生身份，發病前曾進行有關痢疾桿菌實驗研究，故懷疑本案可能為實驗室感染事件。

疫情調查

個案就讀於台中某大學研究所博士班，在 8 月 9 日進行有關痢疾桿菌 (*Shigella flexneri*) genomic DNA 萃取實驗，8 月 10 日晚上曾至某夜市食用蝦仁炒飯，於 8 月 11 日離開實驗室返回高雄市家中。當日中午因出現腹瀉、
民國 95 年 10 月 27 日受理事業；民國 95 年 11 月 25 日接受刊載
通訊作者：吳文超；聯絡地址：台北市南港區昆陽街 161 號
E-mail : biosafety @cdc.gov.tw

3 次水樣便及發燒（38.5°C）等症狀，晚上到高雄市某家醫院就醫，醫師初步診斷為疑似腸胃炎。個案懷疑是否與其操作痢疾桿菌實驗有關，遂主動要求院方採其糞便檢體進行細菌性培養。8 月 14 日細菌培養並未分離出痢疾桿菌，然個案仍有腹瀉現象，因此主動要求院方再次採樣檢驗，於 8 月 17 日分離出痢疾桿菌。該院立即通報高雄市政府衛生局及本局，本局第五分局當日立即要求高雄市政府衛生局進行相關防治工作。而個案在確定感染桿菌性痢疾後，亦主動通知該實驗室人員進行相關消毒工作。本局第五分局疫調發現個案發病前之活動範圍均在台中市，因此通知第三分局進行轄區相關防治工作。個案住在高雄市之父母及其實驗室 8 位研究生皆無疑似症狀發生，故屬於單一感染個案。

檢驗室確認

本局研究檢驗中心（以下簡稱研檢中心）於 8 月 17 日接獲第三分局通知後，立即與該實驗室負責人聯絡，適逢該實驗室負責人赴國外開會，直至隔日才取得聯繫，要求該實驗室提供個案曾使用之 3 株痢疾桿菌菌株，以釐清是否為實驗室感染意外。本局研檢中心中區檢驗室於 8 月 21 日將該實驗室 3 株菌株與個案分離菌株進行脈衝電泳（pulsed-field gel electrophoresis, PFGE）之基因分型以及藥物敏感性試驗。由 PFGE 之 DNA 指紋圖譜分析（圖一），確認個案之分離株（編號 SH010579）和該實驗室 2 株菌株（SH2308 及 SH3160）之 DNA 指紋圖譜相符；17 種藥物敏感性試驗結果（表一）顯示，4 株菌株之抗藥圖譜相當相近，其中 SH2308 菌株與個案分離株之抗藥圖譜完全相同。個案雖曾至夜市食用蝦仁炒飯，並自覺蝦仁可能不潔，但因台灣非桿菌性痢疾流行地區，個案感染之 *S. flexneri* 2a 菌株型別，主要流行於中部山地鄉原住民部落間[1]，且近年來山地鄉亦少見此病例，故因飲食不潔所導致感染之可能性不高，加上個案發病前兩天曾在實驗室操作 SH2308 菌株，因此研判，個案很可能是在實驗室操作 SH2308 菌株不慎遭受感染。

管制措施

本局研檢中心於 8 月 21 日確認該起事件為實驗室感染事件，遂於 8 月 22 日發布新聞稿，標題為「中部某大學發生實驗室感染意外事件，實驗室生物安全不容輕忽」，說明該事件緣由及本局行政措施，並且呼籲國內持有、保存或使用第二級（含）以上感染性生物材料之單位，應加強所屬各級實驗室之生物安全自主管理，以避免類似事件再發生。同時依據「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」第 12 條規定，函請該校要求該實驗室即日起暫停所有痢疾桿菌之實驗研究，並請該校生物安全委員會進行調查及回報。該校於 8 月 29 日函復本局有關該事件調查報告及相關因應改善措施，包括（一）即日起痢疾桿菌相關實驗暫停；（二）修正實驗室標準操作程序：UV 燈照射每日一次、改為雙人一組操作、全程配戴口罩、更換手套材質為乳膠手套、廢棄物當日滅菌消毒、實驗衣以 70 % 酒精消毒；（三）更換負壓生物安全櫃；（四）實驗室動線更動，所有實驗操作於 B 區進行；（五）辦理實驗室操作人員生物安全教育訓練。

經查該實驗室所持有之菌株，係 85 年預防醫學研究所（本局前身）於南投縣某個案所分離提供之菌株。操作痢疾桿菌相關實驗研究，於一般生物安全第二等級（Biosafety Level 2）實驗室操作即可。對於國內各單位感染性生物材料之保存及異動等事宜，從 95 年 3 月 26 起已依「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」納入管理。而該校在發生此感染事件前，已向本局核備生物安全委員會委員名單及所屬實驗室基本資料及持有之菌株名單。

實地訪查

本局研檢中心於 9 月 12 日派員拜會該校生物安全委員會主任委員，了解該校生物安全委員會運作情形及對該感染事件之處理態度；並藉由至該實驗室現場訪查及與相關人員晤談，了解該感染事件之可能原因。當日至該實驗室現場訪查，實驗室及相關設備已暫停使用。據了解該研究生 8 月 7 日從

A 區-20°C 冷凍櫃取出 SH2308 及 SH2308-10A 菌株（實驗室平面圖見圖二），於生物安全櫃（I）進行四區接種培養，將完成接種之培養皿移至 B 區之 37 °C 培養箱培養。8 月 8 日自 B 區 37°C 培養箱取出培養皿至 A 區生物安全櫃（I），將菌落接種於培養液中，再移至 B 區之 37°C 培養箱培養。8 月 9 日自 B 區 37°C 培養箱取出培養液至 A 區生物安全櫃（I），進行 genomic DNA 萃取。上述過程皆穿戴手套，完成操作後將手套丟棄於生物安全櫃之廢棄桶內。由於生物安全櫃與 37°C 培養箱分處兩地，並以滑動式木門區隔（圖三），極可能該研究生在增菌培養操作中不慎污染手套，再經由手套污染到培養皿、培養箱、生物安全櫃或該滑動式木門。加上洗手槽設於 B 區內部，即使完成實驗工作後將雙手洗淨，在離開實驗室前，仍可能因接觸到 A 區或 B 區受污染之設施或設備，而造成間接接觸感染。

對實驗室之建議改善事項

本感染事件研判應為研究生操作不慎污染手套，加上實驗室動線規劃不良，導致接觸感染。故建議該實驗室應改善下列事項：

- 一、從事痢疾桿菌所有相關實驗操作及設備，應固定於 B 區進行，以避免增加污染之可能。
- 二、將 B 區出入口滑動式木門改為自動感應式或腳踏式。
- 三、B 區洗手槽最好能移至出口處，如因空間限制，仍應改為自動感應式或腳踏式開關。
- 四、應加強研究生有關實驗室安全觀念及良好衛生習慣，操作經糞口傳染之感染性生物材料時，應特別注意操作過程中所穿戴之手套，易因操作不慎造成污染，如任意碰觸實驗室任何設備或物品，極可能造成間接接觸感染。

其他建議事項

- 一、有關該校向本局所提報之事件調查報告及相關改善措施，僅止於政策，

未提供相關實施計畫。建議該校生物安全委員會應指派具微生物學背景及實驗室安全管理經驗之專責人員，承委員會之命，負責督導全校微生物實驗室及追蹤相關措施之執行成效，包括全校所有實驗室之安全設備（生物安全櫃及高壓滅菌器等）定期檢測及有效確保所有實驗室人員皆接受一定時數之生物安全訓練課程等，以落實學校實驗室生物安全管理。

- 二、有關該校所提報之事件調查報告及相關改善措施，其中要求該實驗室須以雙人一組方式操作實驗，是否合理及可行，宜再評估。以本次事件而言，並非操作人數之不足所造成之感染，而是個人操作習慣不良所致。對第二級感染性微生物，不需以兩人一組方式操作，該校應依據所操作之感染性材料特性，訂定合適可行之操作規範。
- 三、該實驗室 2 台國產生物安全櫃有氣體外洩之疑慮，其中 1 台放置於入口，人員進出恐造成氣流擾動，影響操作安全。因本案之感染原為具高感染性的痢疾桿菌，只要 10—100 個病原體就可能造成感染[2]，非常容易因觸摸到受病原污染之門把、設備、設施，經口食入遭到感染，而非經空氣途徑傳染，故生物安全櫃之不合格應與本次感染事件無關。惟該校其它實驗室如有操作經空氣傳播之感染性生物材料時，則須嚴格要求定期對生物安全櫃進行安全檢測，確保操作人員之安全。

結論

92 年底國內曾發生實驗室感染 SARS 事件，喚起國人對實驗室生物安全的重視。本局為此邀集國內外專家學者研商，修法訂定「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」，並自 92 年 3 月 26 起正式實施。依該辦法分級管理精神，由本局每年定期查核全國生物安全第三級以上實驗室，確保其運作安全無虞；至於生物安全第二級(含)以下實驗室，則由各單位生物安全委員會或專責人員負責督導管理，每年至少辦理一次內部稽核。對於實驗室生物安全防護等級，應依據實驗室實際操作之感染性生物材料特性、設

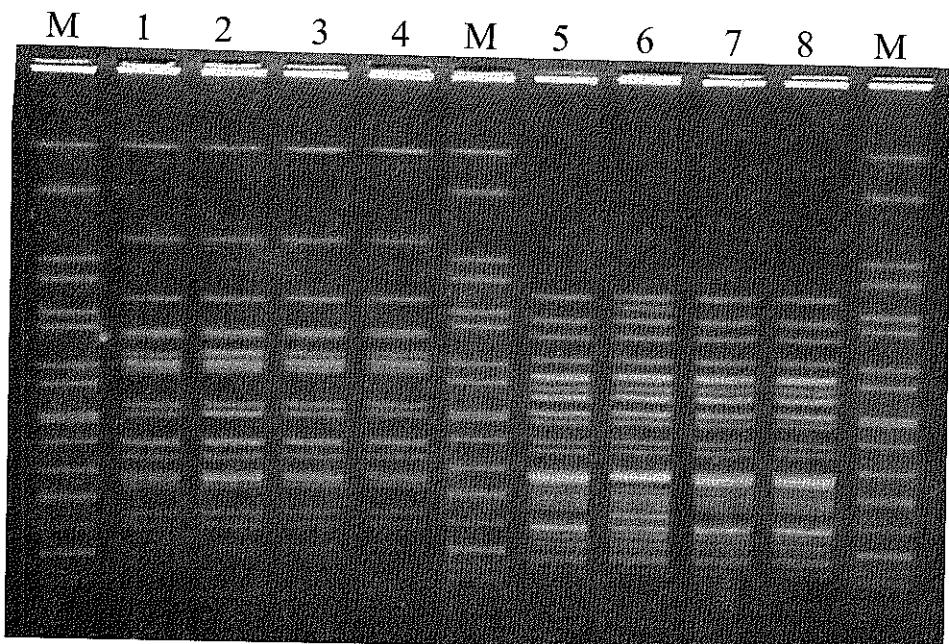
施及設備安全條件、人員防護裝備等級等因素，進行合理風險評估，以訂定適合單位之生物安全管理規定，在兼顧舒適操作及安全防護之考量下，才能有效確保實驗室生物安全無虞。

誌謝

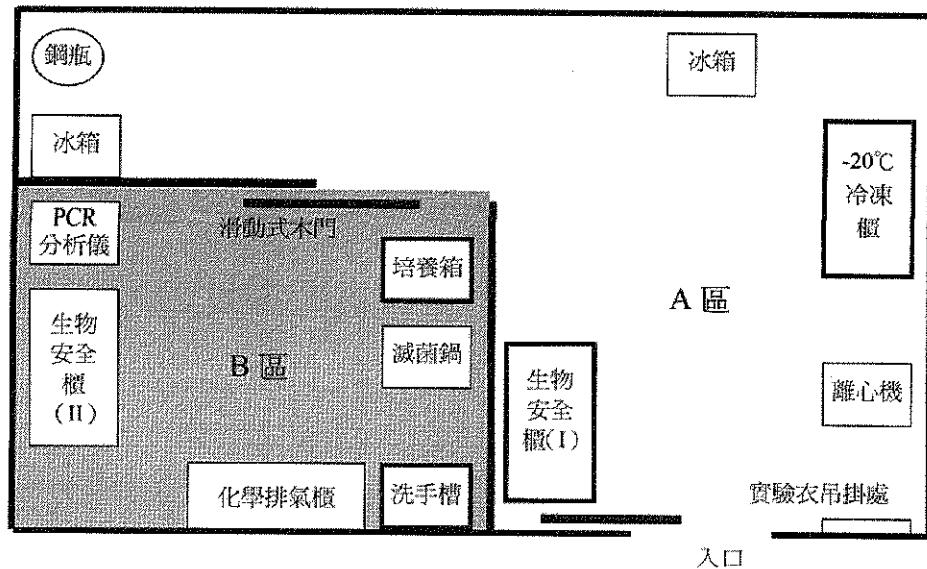
感謝本局第三分局及第五分局同仁之疫情調查工作與訪查行程之協助，南區實驗室快速寄送菌株進行比對，以及該校生物安全委員會與實驗室人員之充份配合，使本調查與報告得以順利完成。

參考文獻

1. Chen JH, Chiou CS, Chen PC, et al. Molecular epidemiology of *Shigella* in a Taiwan township during 1996 to 2000. *J Clin Microbiol* 2003;41:3078-3088.
2. DuPont HL, Levine MM, Hornick RB, et al. Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. *J Infect Dis* 1989;159:1126-1128.
3. Centers for Disease Control and Prevention. One-day (24-28 h) standardized laboratory protocol for molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, non-typoidal *Salmonella* serotypes, and *Shigella sonnei* by pulsed field gel electrophoresis. In: <http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols.htm>. 2004.
4. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. NCCLS document M2-A7. Wayne, Pa: NCCLS; 2000.



圖一 菌株 PFGE(DNA)指紋圖譜。菌株以標準化之 PFGE 操作步驟[3]，進行菌株之包埋、清洗與電泳分析。電泳前，基因體 DNA 分別以限制酶 NotI (lanes 1-4) 與 XbaI (lanes 5-8) 切割。Lanes 1, 5 為實驗室菌株編號 SH2308；lanes 2, 6 為編號 SH2308-10A；lanes 3, 7 為編號 SH3160，lanes 4, 8 為分離自個案之菌株編號 SH010579。M 為 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Braenderup H9812 之基因體 DNA 以 XbaI 切割之 DNA 片段，做為分子標幟。





圖三 該實驗室 A 區及 B 區以滑動式木門區隔，洗手槽設置於 B 區後方。

**表一 分離自個案之 *Shigella flexneri* 2a 菌株與 3 株實驗室菌株之藥物
敏感性試驗結果。**

抗生素 ^b	菌株編號 ^a			
	SH010579	SH3160	SH2308-10A	SH2308
Amikacin	S	S	S	S
Ampicillin	R	R	R	R
Cefazolin	S	S	S	S
Cefixime	S	S	S	S
Cefotaxime	S	S	S	S
Cephalothin	S	S	S	S
Chloramphenicol	I	R	R	I
Ciprofloxacin	S	S	S	S
Enrofloxacin	S	S	S	S
Gentamicin	S	S	S	S
Kanamycin	S	S	S	S
Nalidixic acid	S	S	S	S
Norfloxacin	S	S	S	S
Ofoxacin	S	S	S	S
Streptomycin	R	R	R	R
Tetracycline	R	R	R	R
Tobramycin	S	S	S	S

^a 菌株編號 SH010579 為分離自個案之菌株，其餘 3 株為實驗室菌株。

^b NCCLS 制訂之紙綫擴散法[4]，進行藥物敏感性試驗。