

## 第二章 實驗室的安全

由於實驗室工作人員長時間與感染原接觸，受感染機會相對增加，研究顯示，結核菌實驗室工作人員感染結核病之危險性較其他工作人員高三到五倍。結核病是一種慢性疾病，一般約需六至十二個月的藥物治療後才可痊癒，但若是被抗藥性結核菌感染則不易治癒，所以從事相關檢驗者更應特別重視實驗室之安全。實驗室的安全應自管理階層即開始，管理者對於工作人員應予定期健康檢查，訓練其檢驗室的安全操作技術，告知工作人員對特別危險性技術或處理的應注意事項，意外事件的正確處理方法，並提供適當安全的設備等以減低工作人員之危險性；實驗室工作人員則應正確地使用安全的設備，遵守相關實驗室規定，擔負安全操作的責任。

大多結核菌實驗室的感染主要可歸因於操作過程中產生含感染性抗酸菌霧滴(aerosols)，雖然產生的大霧滴(大於 5  $\mu\text{m}$ )會很快沉降於皮膚，衣服或工作台面，但最危險的是那些小於 5  $\mu\text{m}$  的細小霧滴，這些細小的霧滴內可能含 1-2 隻活的結核菌，除非經排氣抽風送走，否則仍會懸浮於空氣中。若這些感染性小霧滴被吸入肺部則可能造成感染。常見會造成小霧滴之操作包括如下：

- 一、倒出經離心處理後的培養液或檢體的上清液。
- 二、使用定量自動吸管吸取含菌液體。
- 三、以滴管混合含菌培養液。
- 四、使用高速攪拌器。
- 五、含培養液之試管或錐形瓶掉落至桌面或地面。
- 六、離心時試管破損。
- 七、含細菌之懸浮液自滴管滴到堅硬的桌面而濺開。

雖然實驗室之感染大多為吸入含結核菌的小霧滴所造成，但有時被帶菌的針或注射器扎到、污染的玻璃碎片割到、或操作者的傷口等情形將會造成肺外感染，所以分離室內的台面或設備均需視為具強烈感染性，應定期清理消毒並隨時保持清潔。

## 一、實驗室之配置及注意事項

理想上，自收到檢體到發出報告，所有結核菌檢驗相關工作應在配備有全部設備的獨立單位內進行，實驗室內要有 Class II 或 Class III 的生物安全操作櫃(BSC, Biological Safety Cabinet) 才能進行分枝桿菌檢驗，同時室內空調最好為單向換氣系統(非循環式)，使室內氣流維持由較清潔區域流向污染區域之單向換氣。

有關於結核菌實驗室的設計可參考美國疾病防治中心 (Centers for Disease Control, CDC) 於 1994 年 10 月 28 日所發表的「醫療中心肺結核病傳染防治規範 (the Guidelines for Preventing the Transmission of *Mycobacterium Tuberculosis* in Health-Care Facilities)」，目前台北榮總有一新設計的分枝桿菌實驗室，可供其他實驗室參考(如圖 1)。

走廊區域應維持最高氣壓，一般 TB 工作區則氣壓稍低，如此氣流將自走廊流入 TB 實驗室。若配置有滅菌室(如用於製備培養基的房間)，則其氣壓應稍高於一般工作區，以防止污染性空氣流入，分離室應維持最低的氣壓，自分離室所排出的空氣需經 HEPA (High Efficiency Particulate Air) 系統過濾再經送風管排出。於實際監測工作環境的氣流流向時，可將小紙條貼於門、牆或 BSC 邊緣以觀察氣流的流向，若實驗室內不是呈負壓狀態則不可進行檢驗操作(例如氣流方向相反或不流動時)。配備 BSC 的分離室應有獨立的空間，所有可能產生小霧滴之操作(如處理檢體、製作塗片、接種、各種試驗)均應於 BSC 內進行。自 BSC 排出的空氣需經能除去 99.97% ， $> 0.3 \mu\text{m}$  的 HEPA 系統過濾才能排出室外。一般狀況下，房間內空氣作每小時 6-12 次的交換，可於 30~40 分鐘內除去 99% 以上的污染性粒子，實驗室所排出的空氣應自建築物最高處並遠離進風口處排出，以減少污染性空氣再流入建築物內。

### 實驗室基本結構及配置

結核菌實驗室是由緩衝室及操作室所組成，為標準無塵室，依據各醫院環境採用特殊設計之供排風系統及自動壓差監控設計，並利用動力學阻斷原理建造而成，能防止環境受到污染，能夠確保操作人員的安全。

### 1、緩衝室

為操作室與外界隔離用之準備空間，為進入操作室之第一層保護，有下列設備：

- a、99.99%之高效率濾網二張（24”×48”）。
- b、不鏽鋼自動門（電眼感應式開關）。
- c、配電盤及自動控制系統。
- d、數位式壓力顯示器。
- e、120 W 嵌入式無塵燈（二盞）。
- f、30 W 吸頂式紫外燈（二盞）。

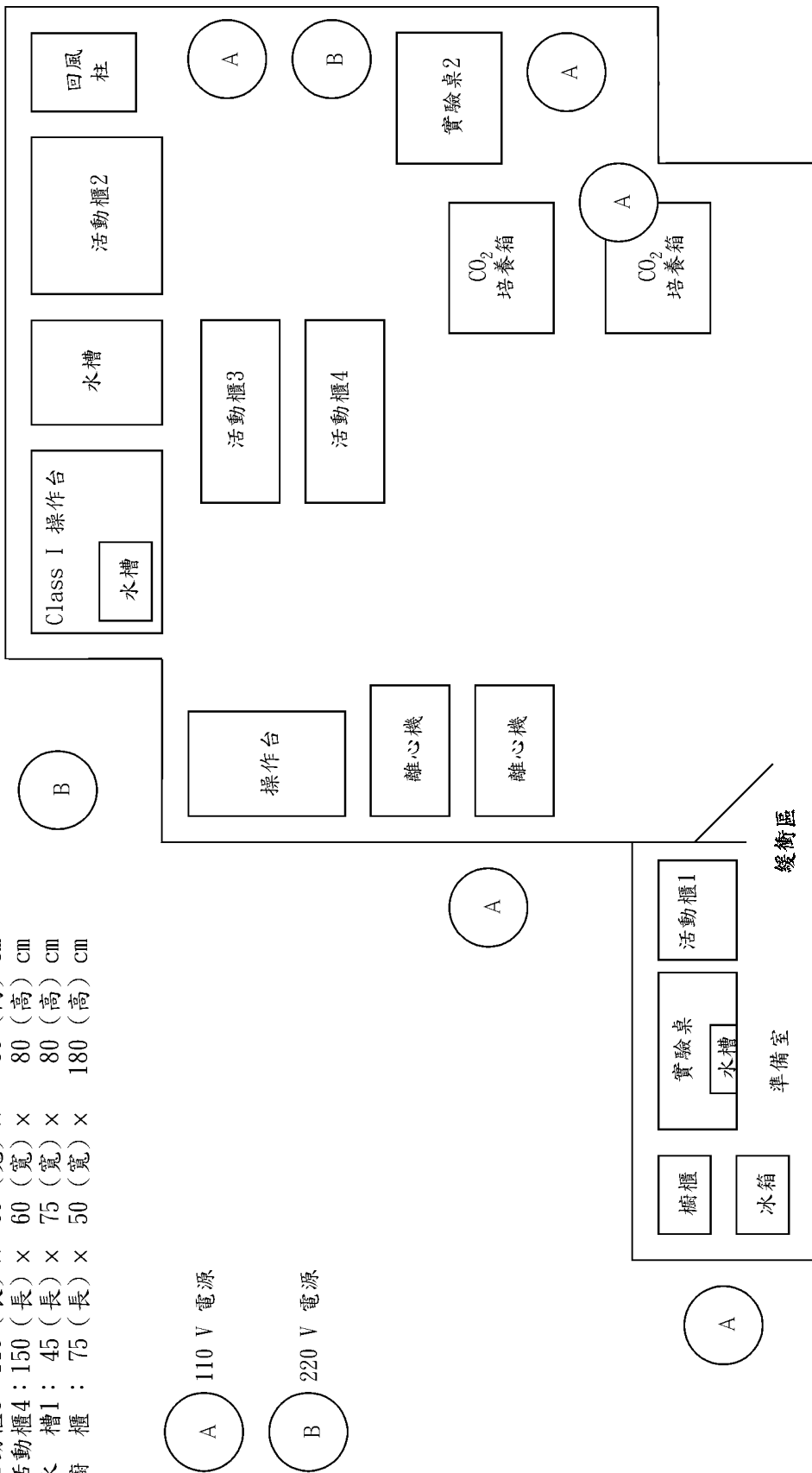
### 2、操作室

為檢驗人員對於結核菌之檢驗，烤片，染色及培養之場所，有可能遭受結核菌污染之危險性存在，故需有特殊設計之負壓系統及安全的染色烤片操作箱；離心機排氣罩，及生物安全操作箱來保護檢驗人員，操作室可包括下列設備：

- a、99.99%之高效率濾網二張（24”×48”）。
- b、回風柱並有 99.995%之排氣高效率過濾網。
- c、數位式壓力顯示器。
- d、離心機排氣罩（含 99.995%之排氣高效率過濾網）。
- e、離心機 1~2 台。
- f、二氧化碳培養箱二台。
- g、微生物安全操作櫃一台。
- h、120 W 嵌入式無塵燈（六盞）。
- i、30 W 吸頂式紫外燈（八盞）。
- j、全負壓式安全操作櫃一台。

第二章

圖一 結核菌室平面配置圖 (以台北榮總TB室為例)  
 實驗室1: 150 (長) × 60 (寬) × 80 (高) cm  
 實驗室2: 180 (長) × 75 (寬) × 80 (高) cm  
 活動櫃1: 90 (長) × 60 (寬) × 80 (高) cm  
 活動櫃2: 40 (長) × 75 (寬) × 80 (高) cm  
 活動櫃3: 110 (長) × 60 (寬) × 80 (高) cm  
 活動櫃4: 150 (長) × 60 (寬) × 80 (高) cm  
 水槽1: 45 (長) × 75 (寬) × 80 (高) cm  
 櫥櫃: 75 (長) × 50 (寬) × 180 (高) cm



A 110 V 電源

B 220 V 電源

### 實驗室安全及保護設計

針對結核菌的感染性和特性以及對環境保護的理念，所規劃之實驗室及設備應有多項安全防護設計，能夠兼顧操作人員及環境安全。

- a、由白鐵烤漆組合庫板合成的實驗室，結構安全能防火，並加以矽膠做氣密處理能夠避免污染及被污染。
- b、實驗室內採用獨立排風過濾系統，利用單一獨立排風管經回風柱高效率過濾網過濾後由屋頂排至大氣，絕不會對院內有任何危險污染。
- c、壓力控制系統使緩衝室恆為正壓，且大於操作室 30 Pa 以上，穩定而安全的隔離環境。
- d、採用西德進口之天然橡膠無縫地板，利用高週波熔接可以避免細菌滋生及殘留，且易於清理及保養。
- e、利用大面積 99.99% 高效率 HEPA 過濾 0.3  $\mu\text{m}$  以上的粒子，創造標準無塵室環境，達到無塵效果。
- f、使用腳踏防塵墊提高實驗室潔淨度。
- g、消防灑水系統可以避免火災發生。
- h、對講機方便操作人員與在外的人員溝通協調。
- i、全負壓式安全操作箱可以讓檢驗人員在其內進行烤片及抗酸性染色，以確保人員的絕對安全性。
- j、檢體離心時需有離心排氣罩加強抽氣，並經 99.995% 高效率 HEPA 過濾，避免離心時檢體外洩而污染人員及環境。

### 實驗室使用說明

要進入實驗室的人員，首先要建立自我保護的觀念，做好所有的防範及準備措施，仔細檢查所有裝置及設備，如此才能避免及意外，唯有瞭解各項設備操作及使用方法才能工作於安全環境。

#### 1、進入結核菌室注意事項

人員方面：

- a、穿戴單次使用的帽子、口罩（如 N95）、聚氧乙稀手套。
- b、無塵衣使用後需經高壓滅菌及清洗後再穿著。
- c、每天使用 75% 酒精清理安全操作箱，使用完後並開啓紫外燈殺菌。
- d、定期對檢驗人員做健康檢查。

環境方面：

- a、開啓電源並檢查自動控制系統是否運作。
- b、待數位壓差顯示 30 Pa 以上負壓後才可進入。

## 2、各項設備使用說明

對講機操作：

- a、拿起話筒直接按下呼叫鍵送信號到副機。
- b、等對方拿起聽筒就可直接對話。
- c、通話完畢後，請放好聽筒準備下一次的呼叫。

自動門：

- a、自動門使用電眼控制，須讓電眼偵測到人時才會打開。
- b、運轉平順，直流電動機用來提高開關速度，這有利於使用繁忙地區進出更加暢通。
- c、微電腦控制器自動調整門扇，使其運轉平順，當門扇快速倒退時，能使自動控制恰到好處，這有利於防止門卡住或振動。

腳踏防塵墊：

- a、撕去背面雙面膠帶固定在地板上。
- b、每片腳踏防塵墊共有 25 張膠膜，如發現防塵墊污損或黏力不足時，由右上角撕下舊的膠膜便能更新。

## 二、實驗室應配備的安全設備與器材

結核菌實驗室進行保養及維修時應特別小心，分離室設備之保養、清潔、檢查等更需要專業人員執行以確保安全。需要進行大保養時，BSC 及整個空間要作消毒處理，若只是一小部份設備需要保養時，則應以消毒劑消毒後再移出分離室進行保養或維修。結核菌實驗室應配備的基本設備與器材如後：

### 1、生物安全操作櫃

易於保養，功能良好的 BSC 是結核菌實驗室最重要的設備，處理檢體及活菌培養之操作只可在 BSC 內進行，實驗室應備有 BSC 的使用，保養及去污染處理手冊。一般適用於結核菌實驗室的 BSC 有兩型，一為第一級

負壓生物安全操作櫃 (Class I Negative Pressure Biological Safety Cabinet, NPBSC)，本型 BSC 於操作面之氣流至少 70 ft/min，並排出 100% 空氣至室外；另一型為第二級垂直負壓生物安全操作櫃 (Class II Vertical Laminar Flow Biological Safety Cabinet, LFBSC)，為利用 HEPA 系統過濾空氣，低危險性實驗室，僅操作結核菌的抗酸性染色，而高危險性的實驗室，除了染色外也操作培養、鑑定及藥敏試驗。會產生氣霧的動作，必需在 Class II BSC 內操作，同時必須在負壓實驗室，工作人員必須有保護性的衣物及口罩等，而 Class II BSC 只能裝置在使用非循環式排氣系統或能直接將空氣排出室外的實驗室。有關結核菌實驗室的要求，可參考 CDC/NIH 建議的生物安全性使用規定 (Biosafety guide)，網站為 [www.cdc.gov/ohs/biosfty/bmb14](http://www.cdc.gov/ohs/biosfty/bmb14)。

一般 BSC 之氣流至少為 70 ft/min，每年應請專業人員檢查，灰塵較多地區甚至應每季檢查，當氣流不對時，表示可能風扇故障或濾片被阻塞，應予以消毒後，由專業人員維修或更換濾片。

## 2、紫外線燈

紫外線燈放出 253.7 nm 波長放射線，可裝置於 BSC 內、牆上或天花板，用於工作區域表面的消毒及殺死空氣中懸浮的微生物，裝置於牆上或天花板的紫外線燈應使用適當燈具使工作區的幅射線不超過 0.1 uwatt/cm<sup>2</sup> 以確保安全，於紫外線燈打開時不可進行作業或直視燈源以避免眼睛或皮膚被灼傷，應於工作結束後開燈至少一小時以上以達到殺菌效果。紫外線的穿透力弱，如灰塵、油脂等即可阻斷光線，應每週以酒精棉擦拭燈管，每三個月檢查殺菌力，若輸出力低於 70% 時即予以更換。

## 3、防護衣著

由於 BSC 不可能提供 100% 的防護效果，所以需要其它附加防護裝備，使用可過濾 90% 以上 0.5~1.0 μm 粒子的面罩 (如 N95 口罩) 以減少吸入感染性粒子的危險性；結核菌實驗室使用外科手術服除了可用於防止 > 5 μm 的霧滴污染皮膚及衣服外，並可用以作為辨示為具強感染性衣物；手套可用於避免手部污染或割傷，鞋套及帽子則可減少將污染原帶出實驗室的危險性；所有更換的衣物應放入有蓋容器，經高壓蒸氣消毒完全後再送洗。

#### 4、呼吸道保護裝置（呼吸面罩）

在呼吸面罩還不普遍的台灣，目前工作人員必須選用合適的口罩，如 N95，但要注意戴口罩時，必需要緊密；工作量大的結核菌檢驗室最好採用經過美國職業安全衛生之國家機構(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) 認證的呼吸口罩 N95 (95% 效率)，美國疾病防治中心 (CDC) 建立呼吸面罩必需符合如下要求 (i) 濾膜必需可以去除大於 0.3  $\mu\text{m}$  顆粒 (ii) 臉部的緊密度必須不可超過 10% 的漏氣 (iii) 必須適合臉部的大小，通常有三種大小的規格讓工作人員選擇，(iv) 每次必須檢查戴呼吸面罩者的緊密度，以符合美國職業安全衛生署 (OSHA) 的標準，一般的外殼口罩並非 NIOSH 認證通過，不可用於結核菌室。

#### 5、離心機

離心時，若離心管破損則會釋放感染性粒子，甚至散播到房間中，所以所有疑似含致病原的檢體於離心處理時均應使用防霧戴具，以防萬一離心管破損後，能於 BSC 內操作，減少感染原散播的危險性。

#### 6、安全吸球

絕對不可用嘴吸吸管，因為除了可能直接自嘴部吸入感染性物質外，還可能將操作時產生的霧滴由嘴或鼻吸入肺部造成感染，需使用吸管吸取任何液體時，一定要使用安全吸球。

#### 7、高壓蒸氣消毒鍋

理想上，高壓蒸氣消毒鍋應裝置於結核菌實驗室內作為污染衣物送洗前的消毒及感染性廢棄物消毒之用。使用時，應利用生物指試劑 *Bacillus stearothermophilus* 之芽孢試紙或其它方式如留點溫度計或變色試紙條定期或不定期檢查是否滅菌完全。

#### 8、廢液瓶

檢體經消化去污染處理後，可將上清液倒入廢液瓶內以減少霧滴之產生及污染 BSC 內的工作台面，廢液瓶應為廣口容器以利廢液倒入，瓶內需裝適當消毒劑如之次氯酸鈉（約 50 ppm 漂白水）或 Amphyl 以殺死廢液內細菌。



### 9、酒精砂瓶

當含有菌塊或有機碎片之接種環或接種匙要利用火燄清潔時，可先將接種環或接種匙插入瓶中，瓶中砂礫可刮去菌塊或有機碎片，而酒精於火燄清潔時可用以迅速將殘餘的碎片燒掉，一般可利用附蓋的廣口瓶或錐形瓶裝入約 5 cm 高的乾淨海砂及 2.5 cm 高的 95 % 酒精，即成為相當實用的酒精砂瓶。

### 10、無菌塑膠接種環

為了避免接種檢體產生氣霧，除了使用丟棄式無菌滴管接種外，可再利用可棄式無菌塑膠接種環劃種檢體。可棄式塑膠接種環以具有彈性者為佳，操作時以手指持中間部位，二端均可劃種檢體或移菌。

### 11、接種匙

接種匙可利用於將固體培養基上菌落轉接種於另一培養基或菌落的乳化。可利用 18 號鎳線將前端打薄成約 5 ~ 10 mm 長，1 ~ 2 mm 寬，0.3 ~ 0.5 mm 厚製成；或利用約 6- 8 吋的木棒將前端削成 30 ~ 45 度角製成，前者消毒後可重複使用，後者為可棄式不可重複使用。

### 12、消毒劑

消毒劑之效力與其濃度、作用時間、微生物種類及有機碎片之存在等因素有關，除了一些新產品外，一般四級銨類化合物不能殺死分枝桿菌，5 % 酚溶液由於其對皮膚之毒性，不推薦使用，但其它酚衍生物如 Amphyl (Reckitt Benckiser North America, Wayne, N.J. USA)、Osyl、Staphene、Vesphene 等為有效的消毒劑，其它如 0.05 ~ 0.5 % 次氯酸鈉(Sodium hypochloride solution) 溶液 (依照物體表面污染的程度決定濃度)，至於 3 ~ 8 % 甲醛 (Formaldehyde) 溶液雖然很有效，但由於具強氧化性、刺激味及具有毒性等性質使用時較不安全，選用時應注意。所以不論選用何種消毒劑，最重要的是要選擇能殺死結核菌者。日常操作時若手部被污染，一般可用 70% Isopropyl 或 70% Ethyl 酒精清洗後，再以肥皂及清水洗淨即可達到消毒的效果，於結核菌實驗室內應備有適當消毒劑，以供操作時或污染工作區域時之用。

### 13、抗酸性染色抹片加熱盤

特殊設計的加熱盤（約放置 20 個抹片，如美國 SDL 公司製造）可把溫度固定在 65°C 左右，抹片製作後，放在上面乾燥，除了可避免產生氣霧外，亦可同時殺菌。目前，有些實驗室利用紫外線燈殺死抗酸性抹片上的細菌，仍具有危險性，因為紫外線燈穿透力差，容易受灰塵及空氣中浮游物阻擋，而防害殺菌力，因此，可能會有「漏網之魚」，同時，紫外線燈在使用 600 個小時後必須要換新，否則，殺菌力將變低。

## 三、實驗室工作人員的安全

為確保結核菌實驗室工作人員的安全，除了須提供安全的硬體環境及設備外，尚應選擇適任的人選。於從事結核菌實驗室工作前，應訓練其實驗室之安全操作技術、危險性技術或處理時應注意事項、意外事件的正確處理方法、如何正確地使用安全的設備、遵守相關實驗規定等事項，同時應實施定期胸部 X 光檢查，以確保工作人員的安全。一般實驗室的工作人員多採輪調制度，但是由於從事結核菌實驗室工作被感染的危險性較高，同時為了維持操作的熟練及結果的精確，一般認為以不採用輪調制度為宜。

分離室為實驗室內具強烈感染性的區域，所以進入時應特別注意下列事項：

- 1、任何未穿防護衣著者不應進入分離室。進入分離室前，應將工作所需檢體及材料預先準備妥當，計劃預定完成的工作項目，並儘量不要帶手錶或手鍊等裝飾品以避免影響操作。進入分離室後，完成預定工作後再離開分離室。若臨時需要其它設備或材料，應請其它工作人員送入分室，不可任意進出分離室以避免造成環境的污染。
- 2、進行檢體處理或培養時，一定要在 BSC 內操作，並隨時利用含消毒劑濕巾以減少污染。污染性廢棄物如廢液、玻片、應先經消毒液殺菌後再高壓蒸氣消毒，檢驗申請單若與檢體接觸亦應經過消毒再進行登錄等作業。吸取檢體時，絕對不可用嘴吸吸管，應使用安全吸球。
- 3、工作完成後，應將所有廢棄物裝入附蓋容器以消毒劑擦拭外表後高壓蒸氣滅菌，BSC 內及工作區域應以消毒劑擦拭消毒，然後打開紫外線燈一小時以上以殺死工作區域表面及懸浮的微生物，更換工作服後離開分離室，更換的衣著應高壓蒸氣滅菌後再送洗。

#### 四、意外事故之處理

實驗室的意外事故最好不發生，但若發生應有完整的防護計畫以阻止感染原的散播，我們可依產生感染性霧滴的量及空氣處理系統的種類來討論因應對策。

##### 1、單向式空氣處理系統

單向式空氣處理系統可供給 100%新鮮空氣入實驗室，污染性空氣經過 BSC 之 HEPA 系統過濾後排出。其它大部份空氣(BSC 外區域)則不經過濾直接由抽風管排出，使用單向式空氣處理系統實驗室若產生霧滴，霧滴將不會在建築物或實驗室內循環，所以能有效的減低被污染的危險性，大多新建的公共衛生實驗室都採用此種空氣處理系統。若發生只產生少量感染性霧滴之意外事故時，例如打破一支含細菌的固體培養基試管或培養皿或痰檢體濺出等，這種情況，基於固體培養基及痰的黏稠性不致於產生大量含菌霧滴，此時應採取的處理如下：

- (1) 將受污染區域迅速以抹布或實驗衣覆蓋以防止進一步產生霧滴。
- (2) 噴灑消毒劑浸泡整個抹布或實驗衣。
- (3) 離開房間兩小時以上，讓空氣處理系統排除所產生的霧滴。
- (4) 穿著防護衣著再進入房間清理受污染區域。
- (5) 將所清理的污染物丟入適當容器再高壓蒸氣消毒。
- (6) 以消毒劑擦拭地面及工作檯面。

若發生產生大量感染性霧滴之意外事故時，例如打破一瓶或一支含高濃度細菌的培養液，此時應採取的處理如下：

- (1) 立即疏散房間的工作人員，因為此時將產生大量感染性霧滴。
- (2) 讓 BSC 持續開機四小時以上，人員不得進入，此時除了可經由 BSC 內 HEPA 過濾系統清除大部份感染性霧滴外並能減低建築物外人員被感染的危險性。
- (3) 若可能，於 4 小時後以甲醛氣體消毒整個房間。(本方法不適用於有天花板、有孔牆壁及再循環式空氣處理系統的環境)

甲醛氣體的消毒方法：

- (a) 封閉所有空氣的進出管路及門縫。
- (b) 取適量福馬林 (36 % ~ 40 % formaldehyde) 依房間大小，以電熱板蒸乾，(約 1 mL/cu.ft., 例如房間為 12 x 10 x 10 feet = 1,200 cu.ft. 時，可使用 1,200 mL 福馬林。使用時濃度不能太高 (> 8%)，以避免爆炸的危險性。
- (c) 將房間相對濕度調整至約 70 %，以得到最好效果。(例如若房間為 12 x 10 x 10 feet = 1,200 cu.ft.，以 500 ml 水蒸乾即成。)
- (d) 讓福馬林蒸氣薰蒸房間 4 小時以上或隔夜後，再穿上防護衣著進入房間，除去房間空調管路的封塞讓房間空氣流通至無福馬林，最後再擦拭整個房間。(若房間有白色粉狀殘留物，可利用 10% NH<sub>4</sub>OH 溶液擦去。)

## 2、再循環式空氣處理系統

許多建築物的空氣處理系統為利用抽入 20% 新鮮空氣混合建築物內原有的 80% 空氣循環利用，這種處理系統雖可節省能源的耗費，但並不適用於會產生傷害性或感染性物質的實驗室，因為容易造成整個建築物的污染。一般再循環式空氣處理系統建築物的消毒可使用製霧機\*(fogging machine)進行，因為以製霧機加上消毒劑，能使懸浮的污染性霧滴迅速沉降並予以消毒，一般處理方法如下：

- (1) 除了造成意外的當事人外，立即疏散其他人員。
- (2) 封閉整個空調系統的進出管路。
- (3) 開啓裝好適量消毒劑的製霧機，離開房間並封閉門縫。
- (4) 讓製霧機\*將消毒劑散佈整個房間，使含消毒劑的霧氣充滿一小時以上。
- (5) 穿上防護衣著再進入房間，以消毒劑擦拭房間。
- (6) 除去空氣管路之封塞讓房間的空氣流通。

本處理方法雖然麻煩，但是能迅速有效的應用於使用再循環式空氣處理系統，懸吊式天花板、有孔牆壁等情況的建築物。

\* 製霧機: Fogmaster (Germfree Laboratories, Inc., Miami, FL), Oxford Jet Fogger (Oxford Chemicals, Inc., Camblee, GA)