

呼吸照護/治療病房非結核分枝桿菌流行病學調查研究

鐘筊嘉¹、陳盟勳²、黃偉倫²、蘇秋霞¹、黃建中²、
陳慕容¹、陳昶勳³、張雍敏⁴、周如文²

1. 衛生署疾病管制局第一分局
2. 衛生署疾病管制局研究檢驗中心分枝桿菌參考實驗室
3. 衛生署疾病管制局第二組
4. 衛生署疾病管制局第三組

摘要

台灣北部縣市於 91 年 3 月到 92 年 12 月之間，共通報 19 起疑似結核病院內感染事件，大多發生在呼吸照護/治療病房。調查結果顯示，高達 76.9% 疑似病患為痰抹片陽性，培養結果最後證實為非結核分枝桿菌，而排除院內感染結核菌事件調查。因此，為瞭解非結核分枝桿菌在台灣地區呼吸照護/治療病房環境的流行病學狀況，及建立病人與環境採檢方式，於 2005 年 8 月 24 日至 12 月 31 日在北台灣某區域醫院之呼吸照護病房進行調查，檢體則送至疾病管制局分枝桿菌參考實驗室進行檢驗鑑定。共有 27 名病患完成採樣，採集 66 個痰檢體，103 個呼吸治療裝置與飲水用水杯檢體，與 69 個醫院環境檢體。研究發現呼吸照護病房一般情況下痰檢體塗片陽性率為 5.4%，非結核分枝桿菌痰培養陽性比率為 5.4%。其中，痰檢體培養出 *Mycobacterium abscessus*。呼吸治療裝置檢體中之潮氣瓶檢體培養出 *Mycobacterium fortuitum*。至於醫院環境檢體中，病房淋浴間冷水檢體培養出 *Mycobacterium gordonae*；護理站內側洗手台水樣檢體培養出 *Mycobacterium lentiflavum*；製冰機冰塊檢體培養出 *Mycobacterium lentiflavum*。其他種類細菌亦造成 11% 初次痰及 28% 複查痰的培養陽性結果，故菌種鑑定工作相當重要，可作為疑似結核病聚集事件疫情研判之參考。研究中並發現進行環境採檢時，滅菌拭子採檢可大幅增加環境中非結核分枝桿菌檢出率。但仍需後續研究探討不同

採樣方法對非結核分枝桿菌檢出率的影響，以建立有效且實務上可行的環境採檢方法。

前言

目前有超過 100 種已知的分枝桿菌。除了結核菌複合體(*Mycobacterium tuberculosis* complex)與麻瘋桿菌(*Mycobacterium leprae*)之外，其它分枝桿菌種類大部分沒有專一致病性，而多為伺機感染，這樣的分枝桿菌歸類為非結核分枝桿菌(Nontuberculous mycobacteria, NTM)。非結核分枝桿菌一般存在於環境之中，可以在微量的氧氣與有機養分的情況下生存，並適應廣泛的溫度範圍。因為非結核分枝桿菌可抗清潔劑並可以形成生物膜(biofilm)，所以可聚生於輸水管線內。當醫院輸水系統、透析液、醫療器械洗液有非結核分枝桿菌聚落時，即可能經由直接接觸、呼吸道、消化道等途徑造成人體內的菌落增生與伺機感染，而增加院內感染管制及結核病防疫上之困擾¹⁻⁷。

台灣北部縣市(台北縣市、新竹縣市、桃園縣、基隆縣、宜蘭縣)於 91 年 3 月到 92 年 12 月之間，共通報 19 起疑似結核病院內感染事件。經查驗後只有 3 起事件在疑似病患檢體中培養出結核菌。其中，高達 76.9%疑似病患痰抹片陽性檢體，最後經培養結果證實為非結核分枝桿菌，而結束院內疑似結核病感染事件調查。由這 19 起疑似結核病院內感染事件中，主要鑑定出的兩種非結核分枝桿菌為 *Mycobacterium chelonae* 與 *Mycobacterium abscessus*，兩者皆屬快速生長族群，適合在 30°C 環境下生長。皆可導致人體疾病，並曾經造成院內感染。非結核分枝桿菌在台灣地區呼吸照護/治療病房環境的流行病學調查研究仍缺乏。因此，疾病管制局(本局)分枝桿菌參考實驗室商請第一分局協助，進行主動監測先導性研究。本研究採用橫斷式研究設計，以台灣北部區域級醫院呼吸照護病房為對象，建立病人與環境採檢方式，及探究非結核分枝桿菌之種類、分佈與相關因子，以建立監測之基線資料與模式。

材料與方法

設施及對象

研究於 2005 年 8 月 24 日至 12 月 31 日在北台灣某區域醫院之呼吸照護病房進行。此呼吸照護病房位於單一樓層具中央空調，但此樓層空調與其它樓層分開。病房分為單雙二邊：單邊有六間五人病房（其中包含兩間隔離病房）及一間雙人病房；雙邊有二間五人病房及八間雙人病房。每間病房皆有單獨衛浴設施。單邊、雙邊與中央，共有三個護理站。雙邊設有一洗澡間與公共廁所。單及雙邊皆設有污衣室與配膳室。雙邊配膳室各有製冰機一台。呼吸照護病房住民平均為 45 人。以結構性問卷收集個案人口學與疾病史等相關資料(附件一)。

採樣

呼吸照護/治療病房病患經由本人或代理人簽署同意書後始加入研究。加入研究時，由醫院護理人員訪問病患或其代理人，填寫問卷。並由醫院護理人員採集初次痰一次，紀錄採痰當時病患體溫、抗生素使用與相關治療資料(附件二)，痰的採集流程詳見附件五。個案出院或研究結束時，由醫院護理人員採集複查痰，並紀錄採集當時個案相關資料(附件三)。研究期間由本局第一分局人員採取個案呼吸治療裝置與飲水用水杯檢體。紀錄採集當時個案呼吸治療裝置、水杯清潔等相關資料(附件四)。其中，呼吸治療裝置採樣進行方式為，在醫院呼吸治療師協助下，取下個案潮氣瓶/人工鼻與進氣端呼吸管。潮氣瓶採樣時，以滅菌採樣瓶收集瓶中液體，再以拭子螺旋狀塗抹瓶壁採集後，置於採樣瓶中密封。人工鼻與進氣端呼吸管則以滅菌蒸餾水沖洗，再以滅菌拭子螺旋狀塗抹管端採集，並將洗液與拭子一同置於滅菌採樣瓶中密封。而病人飲水用水杯，則以少量無菌蒸餾水潤濕滅菌拭子以螺旋狀塗抹採集，置於無菌離心管中密封。個案環境採樣流程詳見附件六。痰檢體與密封之個案環境檢體皆以低溫運送至本局分枝桿菌參考實驗室進行檢驗鑑定。

研究期間並由本局第一分局人員進行醫院環境採樣。採樣前，先實地調查

病房診療設備與飲用水設施以決定採樣點。本調查採樣點包含：自來水(冷、熱水分別採樣)、飲水、製冰機及病房用裝常用藥品之瓶子。藥品瓶以拭子採集。自來水與飲水採樣前，先打開龍頭排水約 3 分鐘，以排出管線內之餘水及如鐵銹之污染物，調整水量使水流成柱狀而不致於濺灑。採樣 1.5 至 2 公升，密封後運送至本局分枝桿菌參考實驗室檢驗^{8,9}。醫院環境採樣流程詳見附件七。所有檢體採樣時，遵守無菌操作規範，病人環境採樣與醫院環境採樣時，並以陰性對照組來監控採樣與運送品質(詳見附件六採樣流程第五項)¹⁰。

檢驗

檢體依採樣方式可區分為拭子、痰以及水三種類型。拭子及痰檢體直接置入 50 毫升離心管內，並加入 5 毫升體積之 N-Acetyl-L-Cysteine-Sodium Hydroxide (NALC-NaOH)，以進行消化去污染處理。然後，加一滴經消化去污染之痰檢體於玻片上，以加熱固定製作塗片後，進行抗酸性染色與顯微鏡檢驗。水檢體需先經過濾處理，以無菌之濾紙放入 0.22 μ m 孔徑之過濾器(Corning, New York, USA)內，再將水檢體倒入過濾器內以真空抽氣方式過濾後，將濾紙取下置入 50 毫升離心管內，進行消化去污染。消化去污染後檢體，分別接種於 Lowenstein-Jensen (LJ) 固態培養基(啓新公司，台北，台灣)與 Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) 液態培養基(Becton Dickson, Franklin Lakes, USA)。將 LJ 培養基置於 37°C 培養箱培養，觀察 2 個月；而 MGIT 培養基置於 MGITTM960 培養箱觀察 2 週。當 MGIT 培養陽性時，以抗酸菌染色法確認後，再接種於 Middlebrook 7H11 培養皿(啓新公司，台北，台灣)。

培養陽性菌株續以聚合酶連鎖反應-限制酶片段長度多型性分子鑑定法 (polymer chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 與基因定序 (gene sequencing) 進行菌種鑑定。以接種環將陽性菌株，接種於裝有 0.4 毫升 TE 緩衝液之微量離心管內，以 95°C 加熱去活性。將 PCR 產物分別以

Bst EII 及 *Hae* III (BioLab, Mulgrave, Australia)限制酶進行切割,續以 4% NuSieve 3:1 agarose 進行電泳分離 (Cambrex, East Rutherford, USA),最後與 PRAsite 網路資料庫(網址:<http://app.chuv.ch/prasite/index.html>)進行菌株比對。當 PCR-RFLP 無法鑑定出菌種時,則將純化之 PCR 產物以 ABI 3730 (Applied Biosystems, Foster City, USA)進行定序。定序結果再與 National Center for Biotechnology Information (NCBI)資料庫做菌種比對。檢驗流程列於圖一。

資料分析

個案資料與檢驗結果以統一資料格式,使用 Microsoft Excel 進行紀錄與管理。計算不同檢體中非結核分枝桿菌檢出比率。運用敘述性統計分析,完成研究與中斷研究個案人口學及疾病史資料異同。並分析完成研究個案人口學特徵與呼吸治療裝置資料。

結果

研究期間呼吸照護病房住民平均為 45 人。參與研究人數為 37 人,其中 27 人(73.0%, 27/37)收集到完整資料。中斷研究者 10 人,原因為健康狀況不佳而於研究期程中去世(7 人)或自行辦理轉院(3 人)。中斷研究個案與繼續研究個案於人口學特徵並無顯著差別。完成研究個案年齡中位數為 72 歲,男女各半。入住呼吸照護病房日數最少者為 17 日,最長為 1,630 日,中位數為 414 日。其他人口學特徵如表一。有完成病人環境採檢的 33(89.2%, 33/37)名個案中,除一人可自行呼吸外,其餘 32 人皆使用呼吸器,其中 6(18.8%, 6/32)名使用潮氣瓶,26(81.3%, 26/32)名使用人工鼻。更換管路時間與採檢時間間隔日數最短為當日(1 人),最長為 9 日(6 人),中位數為 7 日(22 人)。研究期間共計採集 66 個痰檢體,103 個呼吸治療裝置與飲水用水杯檢體,69 個醫院環境檢體。檢體數量、種類與陽性率列於表二。兩個(5.4%, 2/37)初次痰塗片陽性個案中,一個驗出非結核分枝桿菌,另一為培養陰性。一個(3.4%, 1/29)複查痰塗片陽性檢體培養為陰性。三個培養陽性初次痰檢體分屬三名個案。一名

個案之初次痰檢體培養出 *Corynebacterium kroppenstedtii*，此名個案入院時 60 歲、參與研究時已住院 1,311 日，患有糖尿病、心血管疾病，並有 1 年以上之吸菸史。兩名個案初痰檢體培養出 *M. abscessus*。一名個案入院時 75 歲，參與研究時已住院 443 日，有肺炎病史；另一名個案入院時 76 歲，參與研究時已住院 57 日，有肺炎病史並患有腎臟疾病，在採檢時有接受洗腎治療，此個案於研究期間死亡。培養陽性之呼吸治療設備檢體同屬一名個案，其潮氣瓶檢體培養出 *M. fortuitum*，但此個案的驗痰結果皆為陰性。此個案入院時 58 歲，參與研究時已住院 17 日，有結核病與肺炎病史，其使用 t-bird VSO2 型呼吸器。再者，三個培養陽性醫院環境檢體，分屬三個地點：淋浴間冷水檢體培養出 *M. gordonae*；護理站內側洗手台水樣檢體培養出 *M. lentiflavum*；製冰機冰塊檢體培養出 *M. lentiflavum*。除了非結核分枝桿菌以外，其他細菌亦會造成檢體培養陽性。不同檢體之培養結果列於表二。其中，造成(1)痰檢體培養陽性之細菌有：2 株 *Chryseobacterium meningosepticum*；及各 1 株之 *Achromobacter xylosoxidans*、*Agrobacterium tumefaciens*、*Brevibacterium otitidis*、*Burkholderia cepacia*、*Corynebacterium kroppenstedtii*、*Proteus mirabilis*、*Staphylococcus aureus*、*Tsukamurella paurometabola*、*Uncultured gamma proteobacterium*，其中 1 名個案檢體在不同培養基培養出 2 株不同細菌；(2) 造成潮氣瓶檢體培養陽性為 *Bacillus cereus*；(3) 造成呼吸管進氣端檢體培養陽性為 *Acinetobacter baumannii*、*Achromobacter xylosoxidans*、*Bacillus spp.*、*Corynebacterium atermantans* 與 *Ochrobactrum intermedium*，其中 1 名個案檢體在不同培養基培養出 2 株不同細菌；(4) 個案飲水用水杯檢體中鑑定出 *Gordonia spp.*、*Gordonia aichiensis*、*Gordonia sputi* 與 *Tsukamurella paurometabola*。

討論

據悉此區域醫院落實呼吸照護病房感染控制措施。呼吸治療師一般每週為使用呼吸器院民更換管路清消。研究發現，檢驗此呼吸照護病房 82%(37/45)

住院院民初次痰時，痰塗片陽性率為 5.4%，非結核分枝桿菌痰培養陽性比率為 5.4%。此結果可作為類似設施發生疑似結核病聚集事件疫情研判之參考。初次痰檢體鑑定之 *M. abscessus* 與 *M. massiliense*、*M. chelonae* 屬於同一亞群，為快速生長非結核分枝桿菌，為人體伺機感染源。*M. chelonae* 與 *M. abscessus* 有臨床上造成淋巴腺炎與軟組織感染報導；*M. chelonae* 亦曾因污染支氣管鏡清洗過程而造成偽院內感染事件(pseudonocomial outbreak)^{6,11,12}。*M. massiliense* 曾在咯血性肺炎病人的痰與氣管肺泡沖洗液中發現¹³。研究中亦發現，其它細菌可以造成初查痰 11% 及複查痰 28% 的培養陽性結果。其中包含常見的：院內感染菌種，如 *Staphylococcus aureus*；與伺機感染菌，如 *Chryseobacterium meningosepticum* 及 *Proteus mirabilis*。因此，菌種鑑定工作相當重要，係為診療與防疫上的重要判定依據。

使用呼吸器病人可以使用潮氣瓶或人工鼻兩種系統。研究中發現，與人工鼻檢體相較之下，潮氣瓶檢體培養陽性率高，可能因潮氣瓶內壁可供細菌形成生物膜附著。除非結核分枝桿菌外，潮氣瓶檢出的另一種菌 *Bacillus cereus*。其亦會形成生物膜以度過營養缺乏時期，並對抗飲用水系統中的餘氯與清潔劑¹⁴。本次研究中，只有在一名個案呼吸治療設備驗出快速生長非結核分枝桿菌 *M. fortuitum*。*M. fortuitum* 會造成淋巴腺炎及傷口感染，並造成院內感染¹⁵⁻¹⁷。其他在呼吸器檢體中，亦檢出院內常見感染菌種如 *Acinetobacter baumannii*，值得注意。

在醫院環境檢體中，*M. gordonae* 為水中常見的非結核分枝桿菌，但其亦能造成伺機感染，如感染cystic fibrosis病患¹⁸；而 *M. lentiflavum* 為慢速生長非結核分枝桿菌，在臨床上可能造成頸部淋巴腺炎¹⁹，亦會伺機感染免疫力低下病患。^{20,21} 尤其曾報導非結核分枝桿菌在醫院製冰機中增生而造成院內感染之例¹⁶⁻¹⁷。本研究中，亦在冰塊檢體中，驗出可能造成疑似院內感染事件的 *M. lentiflavum*。醫院製冰機的清潔消毒與冰塊的使用方式亦可需納入感染控制之一環。

針對前述鑑定之結果，建議在進行類似的調查或研究時，考慮除了以多種培養溫度搭配適當培養基，以提高所有可能的分枝桿菌之檢出率。另外，亦需在檢體進行去污染步驟處理前，先取樣進行其他種類細菌之培養。以便確認所有可能造成呼吸照護/治療病房病患感染或聚生之細菌，供院內感控措施制定與執行參考。

本研究之前趨研究於 2005 年 5 月 1 日至 6 月 30 日在北台灣另一區域醫院呼吸治療病房進行。總計 36 名病患同意加入，其中 27 名完成採樣。前趨研究結果發現，由於非結核分枝桿菌會形成生物膜的特性，進行環境採檢時，加上滅菌拭子採檢方式，可以大幅增加環境中非結核分枝桿菌檢出率。並據此修正採樣方法於正式研究中使用。但是否僅用滅菌拭子採樣取代滅菌蒸餾水沖洗管路，以加強實際操作的便利性。則需要後續研究，探討不同採樣方法對非結核分枝桿菌檢出率的影響。此研究協助建立環境採檢方法，並初步探究非結核分枝桿菌於呼吸照護病房中常見種類與分佈。相關結果除可提供診治參考以及防疫調查中，疑似結核病聚集事件疫情研判之參考外，也可作為基線資料供未來研究規劃。但是此研究有樣本數小之限制。本研究中，因資源與人力有限，執行初次與複查痰檢體採集時皆只採一套，可能減弱檢驗結果的可信度與效度，導致低估陽性率與檢出率。此外，問卷調查結果也可能因受訪者記憶而有誤差。再者，不同層級之醫療院所，在人員編制、感染管制執行流程與措施等可能皆不同，研究結果於應用參照採行時，須特別注意。

未來研究主要有兩方面：(一)採檢方法之後續研究，建議可針對臨床上判定有非結核分枝桿菌感染或聚生之病人為對象，運用不同採檢方法，比較檢出率與不同採檢方法之可信度與效度；(二)在疫情調查方面，在疑似結核病聚集事件發生時，可紀錄並比較痰檢體塗片陽性率、培養陽性率與分枝桿菌檢驗鑑定結果，可與此研究結果相比較，累積更多相關資料，以協助未來相關院內感染及疑似結核病群聚事件疫情研判與防治工作之進行。

誌謝

財團法人天主教耕莘醫院呼吸照護中心林恆毅醫師、郭修儀護理長、王玉美護理師、林英芬呼吸治療師、王亞蘭呼吸治療師；行政院衛生署台北醫院呼吸照護中心徐明光醫師、簡林楨醫師、張琬淑護理長、李恆宜護理師、曾瑪俐護理師、余文玲呼吸治療師、何瑞瓊呼吸治療師。衛生署疾病管制局第一分局防疫科及研究檢驗中心分枝桿菌參考實驗室同仁。衷心感謝陸坤泰教授對本文的指正。

備註

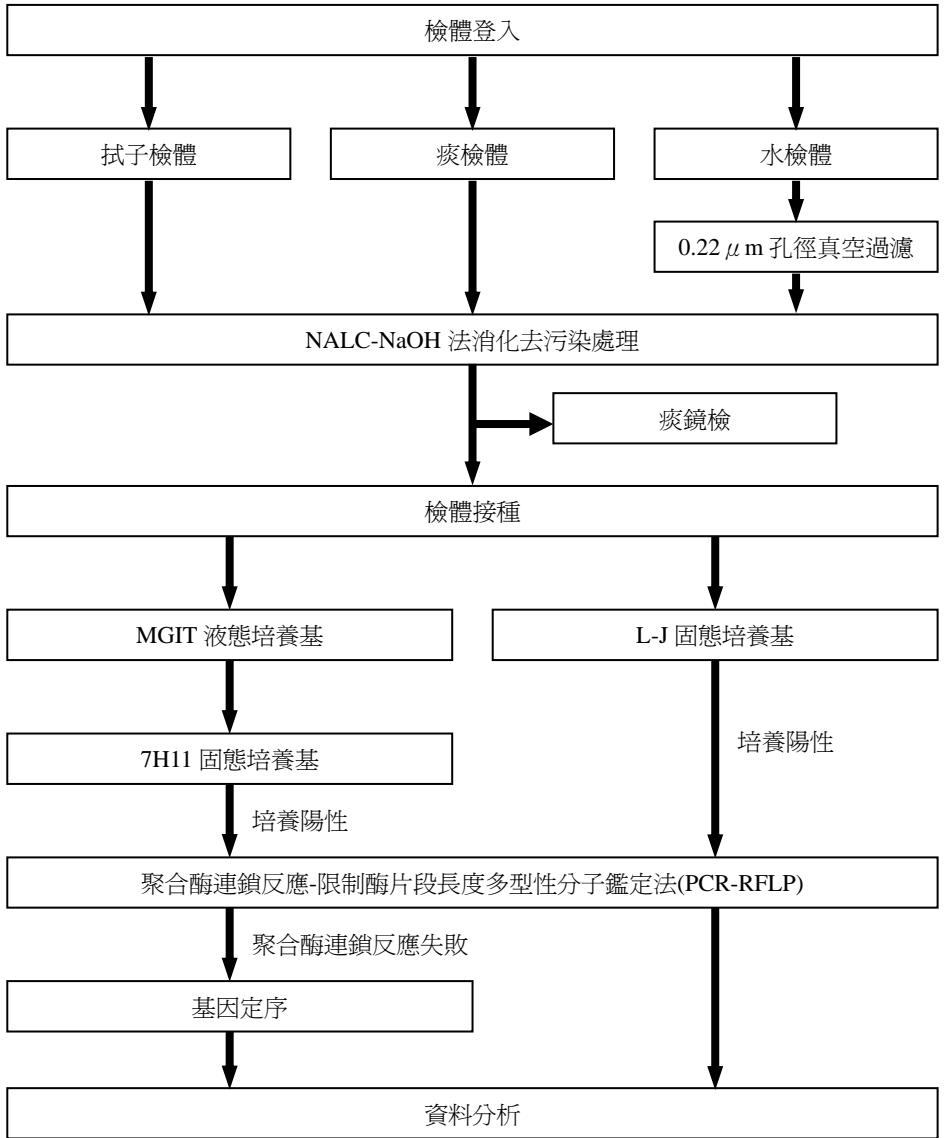
執行本計畫所需之採樣資料與流程詳敘於附件二至七。附件請由本局全球資訊網頁電子期刊疫情報導第二十二卷第九期中參閱。

參考文獻

1. Murray PR et al. (eds). Manual of clinical microbiology, vol 1. Washington, D.C.: ASM Press, 2003. pp 549-576.
2. Wimm RE et al. Nontuberculous mycobacteriosis. In Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia J.B. Lippincott Company, 1994, pp 472-485.
3. Vaerewijck MJ et al. Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health. FEMS Microbiology Review, 2005, 29: 911-34.
4. Primm TP et al. Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical Microbiology Review, 2004, 17: 98-106.
5. Falkinham JO 3rd et al. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and other Mycobacteria in drinking water distribution systems, Applied Environmental Microbiology, 2001, 67: 121225-31.
6. Wallace RJ Jr et al. Nosocomial outbreaks/pseudo-outbreaks caused by nontuberculous mycobacteria. Annual Review Microbiology, 1998, 52: 453-490.

7. Phillips MS et al. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. *Clinical Infectious Disease*, 2001, 15: 1363-1374.
8. Le Dantec C et al. Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution systems. *Applied Environmental Microbiology*, 2002, 68: 5318-5325.
9. Covert TC et al. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. *Applied Environmental Microbiology*, 1999, 65: 2492-2496.
10. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1995.
11. Fraser VJ et al. Contamination of flexible fiberoptic bronchoscopes with *Mycobacterium chelonae* linked to an automated bronchoscope disinfection machine. *American Review Respiratory Disease*, 1992, 145(4 Pt 1): 853-855.
12. Cox R et al. A pseudo-outbreak of *Mycobacterium chelonae* infections related to bronchoscopy. *Infection Control Hospital Epidemiology*, 1997, 18: 136-137.
13. Adekambi T et al. Amoebal coculture of "*Mycobacterium massiliense*" sp. nov. from the sputum of a patient with hemoptoic pneumonia. *J. Clinical Microbiology*, 2004, 42: 5493-5501.
14. Lindsay D et al. Biofilm-spore response in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* during nutrient limitation. *J Food Protection*, 2006, 69: 1168-1172.
15. Burns DN et al. Nosocomial outbreak of respiratory tract colonization with *Mycobacterium fortuitum*: demonstration of the usefulness of pulsed-field gel electrophoresis in an epidemiologic investigation. *American Review Respiratory Disease*, 1991, 144: 1153-1159.

16. Labombardi VJ et al. Pseudo-outbreak of *Mycobacterium fortuitum* due to contaminated ice machines. American J Infection Control, 2002, 30: 184-186.
17. Laussucq S et al. Nosocomial *Mycobacterium fortuitum* colonization from a contaminated ice machine, American Review Respiratory Disease, 1988, 138: 891-894.
18. Pierre-Audigier C et al. Age-related prevalence and distribution of nontuberculous mycobacterial species among patients with cystic fibrosis, J Clinical Microbiology, 2005, 43: 3467-3470.
19. Piersimoni C et al. *Mycobacterium lentiflavum* as an emerging causative agent of cervical lymphadenitis. J Clinical Microbiology. 2004, 42: 3894-3897.
20. Molteni C et al. *Mycobacterium lentiflavum* infection in immunocompetent patient. Emerging Infectious Disease, 2005, 11: 119-122.
21. Legrand E et al. A molecular epidemiological study of *Mycobacterium simiae* isolated from AIDS patients in Guadeloupe. J Clinical Microbiology, 2000, 38: 3080-3084.
22. El Sahly et al. *Mycobacterium simiae* pseudo-outbreak resulting from a contaminated hospital water supply in Houston, Texas. Clinical Infectious Disease, 2002, 35: 802-807.



圖一 檢體前處理、菌株培養及鑑定流程

表一 27 名完成研究者之人口學特徵

變項	人數	百分比 (%)
性別		
男	13	48
女	14	52
年齡		
60 以下	5	19
61~70	4	15
71~80	12	44
81~90	3	11
91~100	2	7
101 以上	1	4
教育程度		
不識字	9	33
小學	8	30
中學	6	22
專科	2	7
大學	1	4
研究所	1	4
結核病病史		
有	2	8
無	24	92
癌症		
有	1	4
無	26	96
糖尿病		
有	3	11
無	24	89
氣喘		
有	1	4
無	26	96
肺炎		
有	6	22
無	21	78
肺氣腫及慢性氣管炎		
有	2	7
無	25	93
心臟及血管病變		
有	2	7
無	25	93
個案是否曾抽菸達一年以上		
有	6	22
無	21	78

表二 檢體分類與檢驗結果分析

檢體			培養				
種類	檢體數	檢體陽性數 (%)	分枝桿菌菌種鑑定		陽性數 (%)	其他菌種鑑定	培養陽性無法鑑定數 (%)
			陽性數 (%)	菌名			
初查痰	37	7(19)	2(5.4)	<i>Mycobacterium abscessus</i>	4(11)	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> * <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Corynebacterium kroppenstedtii</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Uncultured gamma proteobacterium</i> *	1(3)
複查痰	29	9(31)	0	--	8(28)	<i>Brevibacterium otitidis</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Corynebacterium kroppenstedtii</i> <i>Chryseobacterium meningosepticum</i> (2 株) <i>Proteus mirabilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Tsukamurella paurometabola</i>	1(3)
病人環境	6	4(67)	1(17)	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1(17)	<i>Bacillus cereus</i>	2(33)
潮氣瓶	28	1(11)	0	--	0	--	1(4)
人工鼻	35	7(20)	0	--	4(11)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2(6)
進氣端呼吸管						<i>Achromobacter xylosoxidans</i> <i>Bacillus spp</i> * <i>Corynebacterium atementan</i> <i>Ochrobactrum intermedium</i> *	
水瓶	34	9(26)	0	--	3(9)	<i>Gordonia sputi</i> <i>Gordonia aichiensi</i> <i>Tsukamurella paurometabola</i>	6(18)
醫院環境							
冷/溫水龍頭	32	2(6)	2(6)	<i>Mycobacterium gordonae</i> <i>Mycobacterium lentilavum</i>	0	--	0
熱水龍頭	22	0	0	--	0	--	0
配膳室製水機	1	1(100)	1(100)	<i>Mycobacterium lentilavum</i>	0	--	0
飲水器/水壺	8	0	0	--	0	--	0
藥品	6	0	0	--	0	--	0

同一個案檢體在不同培養基中，培養出 2 株不同細菌。

(醫院電腦標籤黏貼處)個案姓名：

(CDC 電腦標籤黏貼處)個案編號：

【附件一】

呼吸照護/治療病房非結核分枝桿菌流行病學研究問卷

訪問者：_____ 訪問時間：民國__年__月__日
受訪者：_____ (與個案之關係：_____)

一、個人基本資料

- 1. 姓名：_____
- 2. 身分證字號：_____
- 3. 病歷號：_____
- 4. 性別(請在□中勾選)：
 - 男
 - 女
- 5. 個案入住呼吸照護/治療病房日期：民國__年__月__日
- 6. 個案入住呼吸照護/治療病房之診斷：_____

【以下請受訪者作答】

- 7. 出生日期：民國__年__月__日
- 8. 教育程度(請在□中勾選)：
 - 不識字
 - 小學
 - 中學
 - 專科
 - 大學
 - 研究所
 - 其他_____
- 9. 個案是否有結核病病史?
(請在□中勾選)：
 - 是
 - 否
- 10. 個案是否合併患有以下疾病?
(請在□中勾選)：

是 否

 - 癌症：病名_____
 - 腎臟疾病
 - 糖尿病
 - 免疫系統疾病
 - 其 他 _____

- 11. 個案是否合併患有以下胸腔疾病?
(請在□中勾選)：

是 否

 - 氣喘
 - 肺炎
 - 肺癌
 - 塵肺症
 - 肺氣腫及慢性氣管炎
 - 心臟及血管病變
 - 其他_____

- 12. 個案是否曾接受器官移植?
(請在□中勾選)：
 - 是
 - 否
- 13. 個案是否曾任職礦工?
(請在□中勾選)：
 - 是
 - 否
- 14. 個案是否曾抽菸達一年以上?
(請在□中勾選)：
 - 是
 - 否

(醫院電腦標籤黏貼處)個案姓名：

(CDC 電腦標籤黏貼處)個案編號：

【附件二】

【初次採樣資料】

初次採樣時間：民國____年____月____日 上/下午____時____分

【個案痰檢體】

1. 採樣時個案體溫：_____°C
2. 採樣時是否接受抗生素(口服/靜脈注射)治療?
(請在□中勾選)：
 是
 否
3. 採樣時是否接受免疫抑制治療?
(如固醇類藥品、化療、放射治療等，請在□中勾選)：
 是
 否
4. 此次住院期間是否曾接受洗腎治療?
(請在□中勾選)：
 是
 否

採樣人員簽名：_____

請貴院協助填寫

(醫院電腦標籤黏貼處)個案姓名：

(CDC 電腦標籤黏貼處)個案編號：

【附件三】

【第二次採樣資料】

第二次採樣時間：民國____年____月____日 上/下午____時____分

1. 採樣時個案體溫：_____°C
2. 採樣時是否接受抗生素(口服/靜脈注射)治療?
(請在□中勾選)：
 是
 否
3. 採樣時是否接受免疫抑制治療?
(如固醇類藥品、化療、放射治療等，請在□中勾選)：
 是
 否
4. 此次住院期間是否曾接受洗腎治療?
(請在□中勾選)：
 是
 否

採樣人員簽名：_____

請貴院協助填寫

(醫院電腦標籤黏貼處)個案姓名：

(CDC 電腦標籤黏貼處)個案編號：

【附件四】

【個案環境採樣資料】

個案環境採樣時間：民國____年____月____日 上/下午____時____分

【潮氣瓶採樣】

- 潮氣瓶/人工鼻採樣採集量：_____mL
- 呼吸管採樣採集量：_____mL

1. 採樣時個案是否使用呼吸器？

(請在□中勾選)：

- 是
 否

1.1. 呼吸器是否為人工鼻？

(請在□中勾選)：

- 是
 否

1.2 呼吸器種類：_____

1.3 呼吸器是否使用自動給水(Autofeed)調節設備？

1.4. (請在□中勾選)：

- 是
 否

2. 承第 1 題，若採樣時此個案使用呼吸器，此個案由何時開始使用呼吸器？

民國____年____月____日

3. 承上題，個案呼吸器管線之更換日期？

民國____年____月____日

4. 進行個案環境採樣時，個案呼吸次數：_____

5. 承第 1 題，若此個案不使用呼吸器，此個案呼吸治療方式？

- 無
 鼻導管
 氣切但不使用呼吸器
 其他_____

【水瓶採樣】

- 水瓶採樣採集量：_____mL

1. 水瓶是否曾消毒/滅菌？

- 是，上次消毒/滅菌時間：民國____年____月____日
 否

2. 水瓶是否曾清洗？

- 是，上次清洗時間：民國____年____月____日
 否

採樣人員簽名：_____

請貴院協助填寫

【附件五】
【痰採樣流程】

一、設備

1. 醫院【呼吸照護/治療病房結核非分枝桿菌流行病學研究】資料夾，包含：
 - 1-1 病人資料：以黏貼電腦標籤之活頁資料保護套裝載，內含
 - 【研究同意書】乙張
 - 【呼吸照護/治療病房結核非分枝桿菌流行病學研究問卷】乙張
 - 【初次採樣檢體資料】乙張
 - 以上三張資料合釘在一起-----
 - 【第二次採樣檢體資料】乙張
 - 【個案環境採樣清單】乙張（附件七）
 - 1-2 【個案檢體運送清冊】（附件九）兩張，以活頁資料保護套裝載
 - 1-3 【個案採樣清冊】（附件十）兩張，以活頁資料保護套裝載
 - 1-4 標籤
2. 【痰採樣】加封條之無菌痰盒：每個病人兩盒
3. 承裝收集好之痰檢體之密封箱

二、流程

1. 研究採樣期間開始前，採樣人員先將【呼吸照護/治療病房結核非分枝桿菌流行病學研究】資料夾與無菌痰盒送至待採樣醫院。並與對口確定流程、與護理人員溝通研究所需配合辦理事項
2. 研究採樣期間開始時採樣現有病患之痰檢體一次，在研究採樣期間中途住進呼吸照護/治療病房之病患亦採樣入院時痰檢體一次，採集時需先取得署名之研究同意書，並填寫【呼吸照護/治療病房結核非分枝桿菌流行病學研究問卷】與【初次採樣檢體資料】
3. 研究採樣期間中途由呼吸照護/治療病房出院之病患亦採樣出院時痰檢體一次，至於研究採樣期間未出院而在採樣期間結束時仍住院之病患亦須再次採樣痰檢體，採集時需填寫【第二次採樣檢體資料】
4. 採樣人員在研究採樣期間每逢週一、週二、週四會至該醫院收取檢體，並進行合適個案之環境採樣。進行個案環境採樣採集時需填寫【個案環境採樣資料】。採樣人員將痰盒、採集瓶依檢體運送流程，4℃運送至分枝桿菌實驗室。收取檢體時需填寫【個案檢體資料運送清冊】。（清冊影本帶回，正本醫院留存直到採樣結束）
5. 採樣人員將一並帶回相關問卷與檢體資料，並影本一份醫院留存。
6. 採樣人員收取檢體之後，連同清冊送昆陽分枝桿菌實驗室檢驗。
7. 採樣人員將個案同意書、問卷等資料建檔，再匯整分枝桿菌實驗室提供之檢驗結果建檔。

請貴院協助填寫

【附件六】

【病人環境採樣流程】

【設備】

1. 無菌 500 mL 採樣瓶。
 - 1 瓶/每次採樣：進行每次病人環境採樣時皆需加採 1 個陰性對照。
 - 2 瓶/病人：1 瓶採人工鼻；1 瓶採呼吸管。
2. 無菌離心管。
 - 2 個/病人：1 個採潮濕器瓶；1 個採呼吸管。
3. 無菌棉棒。
 - 4 支/病人：1 支採潮濕器瓶/人工鼻；2 支採呼吸管與呼吸管集水瓶；1 支採水瓶。做 swab 用。
4. 無菌蒸餾水(以可高溫滅菌的 250 mL 塑膠瓶分裝滅菌。)
 - 1 瓶/病人：swab 採樣呼吸管、沖洗呼吸管用。
5. 紫外線消毒之塑膠袋：
 - 1 個/病人：裝換下之呼吸管。
6. 70%酒精（消毒用）。
7. 乾淨拋棄式手套(無粉)。
8. 夾鏈袋。
9. 醫院【呼吸照護/治療病房結核非分枝桿菌流行病學研究】資料夾
10. 石臘薄膜(Parafilm)
11. 剪刀。

【採樣步驟】

1. 收取痰檢體時、準備待醫院環境採樣病人之姓名標籤 4 張。
2. 準備採樣瓶與空白樣本
 - 將滅菌過採樣採集瓶與空白樣本採集瓶貼上空白封條、資料庫標籤及病人姓名標籤。
3. 準備含滅菌蒸餾水之滅菌離心管。
 - 在滅菌離心管中加入約 5-10 mL 滅菌蒸餾水，以高壓滅菌器於 121°C，滅菌 15 分鐘。滅菌時將螺旋蓋稍微放鬆，待滅菌後冷卻至室溫時再轉緊螺旋蓋
 - 將滅菌蒸餾水貼上空白封條。
4. 準備沖洗呼吸管用之滅菌蒸餾水
 - 在可高溫滅菌 250 mL 塑膠瓶中裝入約 150 mL 蒸餾水，以高壓滅菌器於 121°C，滅菌 15 分鐘。滅菌時將螺旋蓋稍微放鬆，待滅菌後冷卻至室溫時再轉緊螺旋蓋。
 - 將滅菌蒸餾水貼上空白封條。
5. 採樣
 - 每週進行一次病人環境採樣，視病人出入院情形增減病人環境採樣次數。
 - 進行病人環境採樣時，需有護理或感控人員陪同。
 - 陰性對照 500 mL 樣品 1 處：將準備好之空白樣本採樣瓶攜至採樣點，曝露於採樣狀況下(打開蓋子，加入潤洗潮濕瓶/水瓶之滅菌蒸餾水)，再與採集之樣品一同攜回檢驗。
 - 依病人入院時間、痰採樣時間，設定病人採樣資料庫編號，將病人姓名標籤對應於採樣資料庫編號標籤。
 - 依照無菌操作程序，用滅菌包鋪在休息室以設置無菌操作區，並準備冰桶，及剪取適量石臘薄膜。
 - 在消毒塑膠袋上，貼上病人姓名標籤（1 個/人）。
 - 戴上乾淨手套，在呼吸治療師協助下，取下潮濕瓶，並將換下的呼吸管裝入貼上病人姓名標

籤的消毒塑膠袋內（注意手不要碰到呼吸管），帶回無菌操作台採樣。

【潮氣瓶採樣】

1. 戴上乾淨手套
2. 旋鬆潮氣瓶檢體採樣瓶之瓶蓋，將潮氣瓶內之液體倒入採樣瓶中，蓋上瓶蓋。【等到拭子放入再旋緊】
3. 旋鬆滅菌離心管蓋【勿打開以免污染】，打開滅菌棉棒包裝，取出滅菌棉棒，打開滅菌離心管蓋，快速將滅菌棉棒置入沾濕，取出滅菌棉棒，並蓋回滅菌離心管蓋。
4. 用潤濕的滅菌棉棒塗抹潮器瓶內壁取生物膜樣本，在取樣時需不時旋轉滅菌棉棒。
5. 將棉棒尾多餘處折斷，打開採樣瓶蓋，將滅菌棉棒置入採樣瓶，用酒精棉片消毒瓶口，蓋上瓶蓋並旋緊，用石臘薄膜密封瓶蓋接縫。
6. 將密封採樣瓶裝入消毒塑膠袋中，封好後置入冰桶中。
7. 取下手套丟棄。

【人工鼻採樣】

1. 戴上乾淨手套。
2. 旋鬆滅菌蒸餾水瓶蓋【勿打開以免污染】，打開滅菌棉棒包裝，取出滅菌棉棒，打開滅菌蒸餾水瓶蓋，快速將滅菌棉棒置入沾濕，取出滅菌棉棒，並蓋回滅菌蒸餾水瓶蓋。
3. 用潤濕的滅菌棉棒塗抹人工鼻管端取生物膜樣本，在取樣時需不時旋轉滅菌棉棒。
4. 用滅菌蒸餾水沖洗人工鼻，將沖洗液集中於呼吸管檢體採樣瓶中
5. 將棉棒尾多餘處於折斷，打開採樣瓶蓋，將滅菌棉棒置入採樣瓶，用酒精棉片消毒瓶口，蓋上瓶蓋並旋緊，用石臘薄膜密封瓶蓋接縫。
6. 將密封採樣瓶裝入消毒塑膠袋中，封好後置入冰桶中。
7. 取下手套丟棄。

【呼吸管採樣】

1. 戴上乾淨手套。
2. 旋鬆呼吸管檢體採樣瓶瓶蓋，將呼吸管集水瓶內之液體倒入採樣瓶中，蓋上瓶蓋。【等到拭子放入再旋緊】
3. 旋鬆滅菌蒸餾水瓶蓋【勿打開以免污染】，打開滅菌棉棒包裝，取出滅菌棉棒，打開滅菌蒸餾水瓶蓋，快速將滅菌棉棒置入沾濕，取出滅菌棉棒，並蓋回滅菌蒸餾水瓶蓋。
4. 用潤濕的滅菌棉棒塗抹呼吸管集水瓶內壁取生物膜樣本，在取樣時需不時旋轉滅菌棉棒。
5. 旋鬆滅菌蒸餾水瓶蓋【勿打開以免污染】，打開滅菌棉棒包裝，取出滅菌棉棒，打開滅菌蒸餾水瓶蓋，快速將滅菌棉棒置入沾濕，取出滅菌棉棒，並蓋回滅菌蒸餾水瓶蓋。
6. 用潤濕的滅菌棉棒塗抹呼吸管內壁取生物膜樣本，在取樣時需不時旋轉滅菌棉棒。
7. 用滅菌蒸餾水沖洗呼吸管，將沖洗液集中於呼吸管檢體採樣瓶中
8. 將棉棒尾多餘處折斷，打開採樣瓶蓋，將滅菌棉棒置入採樣瓶，用酒精棉片消毒瓶口，蓋上瓶蓋並旋緊，用石臘薄膜密封瓶蓋接縫。
9. 將密封採樣瓶裝入消毒塑膠袋中，封好後置入冰桶中。
10. 取下手套丟棄。

630 疫情報導

民國 95 年 9 月 25 日

【水瓶採樣】

1. 戴上乾淨手套。
2. 旋鬆滅菌離心管蓋【勿打開以免污染】，打開滅菌棉棒包裝取出滅菌棉棒，打開滅菌離心管蓋，

快速將滅菌棉棒置入沾濕，取出滅菌棉棒，並蓋回滅菌離心管蓋。

3. 用潤濕的滅菌棉棒塗抹水瓶內壁取生物膜樣本，在取樣時需不時旋轉滅菌棉棒。
4. 將棉棒棒尾多餘處折斷，打開採樣瓶蓋，將滅菌棉棒置入採樣瓶，用酒精棉片消毒瓶口，蓋上瓶蓋並旋緊，用石臘薄膜密封瓶蓋接縫。
5. 將密封滅菌離心管蓋裝入八號密封袋中，封好後置入冰桶中。
6. 取下手套丟棄。

【記錄與運送】

1. 填寫【個案環境採樣資料】。
2. 確認檢體標籤標示正確性，並比對【個案檢體資料運送清冊】上檢體標籤資料。
3. 將採集之樣本連同【個案環境採樣資料】，依檢體運送流程，將樣本於4°C下運送至分枝桿菌實驗室。運送前需填寫資料夾中【個案檢體資料運送清冊】(清冊影本帶回，正本醫院留存直到採樣結束)。
4. 採樣人員收取檢體之後，送分枝桿菌實驗室檢驗。

【檢驗】

- 以濾膜前處理法檢測水樣中之非結核分枝桿菌。
- 水樣應於採集後 24 小時內，完成前處理並置入培養箱中培養。
- 分枝桿菌實驗室提供檢查結果，由研究人員匯整建檔。

【器械棄置】

用過的採樣瓶先判定其是否沾染感染源再依(1)感染/非感染：棄置在感染/非感染垃圾桶中；或是(2)高感染性：先高壓滅菌後再棄置。

【附件七】

【醫院環境採樣流程】

【設備】

1. 溫度計：使用攝氏溫標，量測範圍 0 至 100 °C(或適合範圍)，刻度須準確至± 0.1 °C，其外殼最好套有金屬或軟、硬塑膠保護裝置，以防破裂。
2. 2L 滅菌採樣瓶
3. 500 mL 無菌採樣瓶
4. 250 mL 無菌採樣瓶
5. 70%酒精(消毒用)
6. 無菌蒸餾水(以可高溫滅菌的 150 mL 塑膠瓶分裝，數量依需要而定)
7. 無菌拋棄式手套(無粉或低粉)
8. 紫外線消毒之塑膠袋
9. 石臘薄膜(Parafilm)

【採樣步驟】

1. 準備採樣瓶（無購買無菌採樣瓶情況下）
 1. 以高壓滅菌器於 121°C 下，滅菌 15 分鐘。滅菌時，應將螺旋蓋稍微放鬆，待滅菌後冷卻至室溫時，再轉緊螺旋蓋。
 2. 將滅菌過採樣瓶貼上空白封條。
2. 準備空白樣本
 1. 在可高溫滅菌 250 mL 塑膠瓶中裝入約 150 mL 蒸餾水，以高壓滅菌器於 121°C 下，滅菌 15 分鐘。滅菌時，應將螺旋蓋稍微放鬆，待滅菌後冷卻至室溫時，再轉緊螺旋蓋。
 2. 將無菌蒸餾水貼上空白封條。
3. 採樣
 1. 實地訪視醫院決定採樣點
 - 調查採樣點環境硬體措施，輸水系統以決定採樣點
 - 自來水採樣 1.5 L 樣品。
 - 飲用水採樣 1.5 L 樣品。
 - 製冰機採樣 1.5 L 樣品。
 - 病房用瓶裝常用藥品採樣 500 mL 樣品。
 - 陰性對照 500 mL 樣品：將準備好之空白樣本採樣瓶攜至採樣點，曝露於採樣狀況下(打開蓋子，加入潤洗潮氣瓶/水瓶之滅菌蒸餾水)，再與採集之樣品一同攜回檢驗。
 2. 戴上乾淨手套。
 3. 以 70%酒精擦拭溫度計。
 4. 以 70%酒精擦拭雙手。
 5. 自來水管線採樣點採樣前，必須打開水龍頭排水約 3 分鐘，排出管線內之自來水餘水及如鐵銹之污染物，繼續排水 20 秒以上，調整水量使水流成柱狀而不致濺散。
 6. 撕破封條，打開採樣瓶瓶蓋【注意瓶蓋內不被細菌污染】。
 7. 以 2L 滅菌採樣瓶採水 1.5L，【注意水樣表面要離瓶口 3 至 5 公分】，蓋上瓶蓋。
 8. 以 250 mL 滅菌採樣瓶採水 150 mL，測量水樣溫度。
 9. 記錄採樣時間，水樣溫度與相關資料於現場記錄簿上。
 10. 測量完畢後，貼上標示醫院環境採樣之標籤、用石臘薄膜密封瓶蓋接縫。
 11. 貼上標示醫院環境檢體之標籤，裝入消毒塑膠袋中，封好後置入冰桶中。
 12. 洗淨雙手後，以 70%酒精擦拭雙手
 13. 以 70%酒精擦拭溫度計。
 14. 取下手套丟棄。
 15. 依檢體運送流程，於 4°C 下依檢體運送規定，運送至疾病管制局第一分局（【高溫飲用水採樣後測量，蓋妥瓶蓋，避免水樣遭受污染。俟水溫降至適當溫度，再於 4°C 冷藏保存，注意須避免採樣瓶損壞。】）
4. 檢驗
 - 以濾膜前處理法檢測水樣中之非結核分枝桿菌。
 - 水樣應於採集後 24 小時內完成前處理，並置入培養箱中培養。

請貴院協助填寫