

## 真菌的實驗室感染及生物安全

施苡巨、陳國緯、鄧華真、廖美惠、陳必智、李雅萍、李淑英\*

### 摘要

近年來，由於人口遷移，氣候及環境之變遷和免疫功能低下族群的增加，使得高致病性與伺機性真菌病越來越受到重視。實驗室工作者以及醫療從業人員有必要瞭解常導致實驗室感染的真菌病原，其導致感染的途徑、潛在生物風險與相關的預防之道。本文回顧歷年全球實驗室感染真菌的案例及相關生物安全意外事故，經統計於 1959 年至 2015 年間計發生 398 例真菌感染案例，其中以皮癬菌 (dermatophytes) 引起感染的 40.5% 佔最大宗，主要發生在動物實驗操作時。處理臨床檢體和菌株方面的感染意外，主要由第三級危險群 (risk group 3, RG3) 微生物之雙型性真菌引起，包括粗球黴菌 (*Coccidioides immitis* 或 *C. posadasii*) 佔 29%，荚膜組織漿菌 (*Histoplasma capsulatum*) 佔 20.8%；第二級危險群 (RG2) 微生物的雙型性真菌引起，包括皮炎芽生菌 (*Blastomyces dermatitidis*) 佔 3.5%，申克氏孢子絲狀菌 (*Sporothrix schenckii*) 的感染佔 3.8%，馬爾尼菲青黴菌 (*Penicillium marneffei*) 佔 0.5%，酵母菌方面的新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 佔 2.0%。主要感染途徑包括接觸動物、針扎、呼吸道接觸分生孢子和氣霧、傷口或黏膜接觸等。為了避免人員遭受感染，RG3 雙型性真菌菌絲型培養或處理含分生孢子檢體時，務必在生物安全第三等級 (biosafety level 3, BSL-3) 實驗室或三級生物安全櫃中進行；RG3 雙型性真菌的動物感染試驗則應在三級動物生物安全設施 (animal biosafety level 3, ABSL-3) 實驗室進行；其他含活菌臨床檢體或酵母菌型菌株處理時務必在適當的 BSL-3 實驗室或二級生物安全櫃中操作。實驗中應配戴個人防護裝備，實驗結束後應該要徹底洗淨雙手，並確實做好實驗環境的清潔與消毒。

**關鍵字：**真菌、酵母菌、絲狀真菌、雙型性真菌、生物安全等級、實驗室感染、生物安全意外

1976 年 Pike 針對全球 3,921 件實驗室感染意外進行調查，發現 9% (353/3,921) 感染事件由真菌引起，其中有 5 個案例造成人員死亡。在這些感染案例中，有 44% (155/353) 發生在研究實驗室，12% (43/353) 發生在臨床醫學診斷實驗室，5% (18/353) 發生在教學實驗課堂中。作者認為研究實驗室發生感染意外比例較高，是因為實驗室人員常忽略使用生物安全設備與遵循優良微生物操作規範的重要性[1]。

衛生福利部疾病管制署研究檢驗及疫苗研製中心

投稿日期：2015 年 06 月 01 日

通訊作者：李淑英\*

接受日期：2015 年 06 月 23 日

E-mail：syl@cdc.gov.tw

DOI：10.6524/EB.20160510.32(9).002

本文統計 1959 年至 2015 年發表的 2 篇實驗室真菌感染的綜合回顧文獻[1-2]以及 22 篇個案報導[3-24]，總計約 398 例實驗室真菌感染案例，其中以單型性絲狀黴菌之皮癬菌(dermatophytes)引起的感染為最大宗，佔 40.5% (161/398)；由第三級危險群(risk group 3, RG3)微生物之雙型性真菌引起的案例次之，包括粗球黴菌(*Coccidioides immitis* 或 *C. posadasii*)佔 28.9%(115/398)，莢膜組織漿菌(*Histoplasma capsulatum*)佔 20.8% (83/398)；第二級危險群(RG2)微生物的雙型性真菌，如皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)佔 3.5% (14/398)，申克氏孢子絲狀菌(*Sporothrix schenckii*)感染佔 3.8%(15/398)，馬爾尼菲青黴菌(*Penicillium marneffeii*)佔 0.5%(2/398)；酵母菌方面，新型隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)佔 2.0% (8/398) (表一)。

表一、實驗室感染真菌的件數、感染途徑及其預防措施 [1-24]

真菌	件數	%	RG 等級 [25]	實驗室感染途徑	實驗室預防措施
<b>雙型性真菌</b>					
粗球黴菌 <i>Coccidioides immitis</i> / <i>Coccidioides posadasii</i>	115	28.9	RG3	吸入分生孢子或內芽孢氣霧、意外皮下接種、培養細胞汙染	1. 處理含感染性分生孢子的菌株或環境樣本應在 BSL-3 實驗室二級或三級生物安全櫃(class II BSC or class III BSC)進行。 2. 動物感染試驗應在三級動物生物安全設施 (ABSL-3) 中進行。 3. 任何含酵母菌型的檢體需在 BSL-2 實驗室二級生物安全櫃(class II BSC)操作。 4. 非必要無需進行型態學鑑定，或不活化後再為之。 5. 活菌運送盡量以酵母菌型為之。
莢膜組織漿菌 <i>Histoplasma capsulatum</i>	83	20.8	RG3	處理環境檢體或菌株吸入分生孢子(≤ 5µm)、針扎、黏膜噴濺	
皮炎芽生菌 <i>Blastomyces dermatitidis</i>	14	3.5	RG2	意外皮下接種、處理環境檢體或菌株吸入分生孢子	
申克氏孢子絲狀菌 <i>Sporothrix schenckii</i>	15	3.8	RG2	意外接種、黏膜噴濺、抓傷、動物咬傷	1. 臨床檢體、疑似受感染的人或動物組織以及菌株培養繁殖必須在 BSL-2 實驗室二級生物安全櫃(class II BSC)操作。 2. 動物感染試驗應在二級動物生物安全設施(ABSL-2)中進行。
馬爾尼菲青黴菌 <i>Penicillium marneffeii</i>	2	0.5	RG2	吸入分生孢子、針扎	
<b>絲狀真菌</b>					
皮癬菌 Dermatophytes ( <i>Epidermophyton</i> spp., <i>Microsporum</i> spp., and <i>Trichophyton</i> spp.)	161	40.5	RG2	接觸老鼠、兔子、天竺鼠等罹病動物的毛髮/皮膚/棲所墊材或動物抓傷	
<b>酵母菌</b>					
新型隱球菌 <i>Cryptococcus neoformans</i>	8	2.0	RG2	意外皮下接種、老鼠咬傷、處理鴿糞等環境檢體	
<b>總件數</b>	398	100.0			

註：RG=risk group; BSL=biosafety level; BSC=biosafety cabinet; ABSL=animal biosafety level

皮癬菌雖然佔真菌實驗室感染的最大宗，但多半發生在從事動物實驗時；處理臨床檢體和菌株最常造成感染的真菌仍以RG3微生物之雙型性真菌為主，如粗球黴菌、莢膜組織漿菌，及RG2雙型性真菌皮炎芽生菌等。人類的呼吸道系統可以容許粒徑介於0.5至5  $\mu\text{m}$ 的微粒通過，這些雙型性真菌在絲狀形式時，皆產生粒徑小於5  $\mu\text{m}$ 的感染性分生孢子(infectious conidia)[26]，這些分生孢子極容易隨氣流逸散空氣而污染環境。因此，發生在實驗室工作人員或醫護人員的真菌感染，是以在操作絲狀黴菌型態的菌株時，可能因為不慎打翻培養容器、未使用或使用不合格之生物安全櫃，因而吸入分生孢子造成原發性的肺部感染[2, 27]。此外，大多數的RG3微生物之雙型性真菌在自然界中常以菌絲的形態存於土壤、木材或植物殘體中，並產生大量的分生孢子，一旦土壤或環境樣本中的分生孢子被激起，就可能被實驗人員吸入造成感染。曾經有一名真菌學家在處理莢膜組織漿菌症(histoplasmosis)疫區的土壤樣品時，因為沒有採取適當的呼吸道保護措施，導致吸入致病性*H. capsulatum*孢子而感染致死[13]。

RG3微生物之雙型性真菌所引起的系統性真菌症(systemic mycoses)通常並不會在個體間傳播，因為在人或動物組織中這些病原會轉變成為酵母菌形式，並不會產生高致病性的分生孢子，然而曾有一不尋常案例為一名獸醫師在解剖動物屍體的過程中，因為吸入含有*C. immitis*內芽孢(endospores)的氣霧遭受感染[10]。另一方面，少部分實驗室真菌感染事件的受害者僅是實驗室的訪客並非實驗室工作者，一名患有愛滋病的學生到教室附近的真菌學實驗室拜訪朋友，因為吸入空氣中的*P. marneffei*分生孢子而遭受感染 [11]。

除了吸入性感染以外，其他實驗室感染的途徑，還包含在進行動物接種或屍體解剖時，被帶有病原的尖銳物體扎傷或割傷，皮膚傷口接觸檢體或動物罹病組織，或者是被含有病原的感染性氣霧噴濺眼睛黏膜組織而感染。*S. schenckii*、*C. neoformans*及1970年代以後發生*B. dermatitidis*和*C. immitis*的實驗室感染案例，多屬於這一類[5, 8, 9, 14]。有別於雙型性真菌的感染模式，實驗室感染皮癬菌的人員多半有照護或處理實驗動物的經驗，經由接觸到罹病動物的毛髮、皮屑、棲所墊材(animal bedding)或者被動物抓咬的傷口而感染[28–29]。

除了要了解處理臨床檢體或操作實驗時可能受到感染的風險之外，實驗用品或器材也可能在製造過程中受到高致病性真菌污染，透過貿易行為散播到各個實驗室，甚至進到非疫區的實驗室，成為實驗室工作人員的一大健康威脅。2012年在美国發生一則病毒接種實驗用的初代恆河猴腎臟細胞(primary rhesus monkey kidney cells)受到*C. posadasii*污染的意外事件，調查結果發現受污染的細胞係取自豢養在粗球黴菌疫區的恆河猴的腎臟組織，由於供應細胞的廠商沒有確實做好生物的檢測工作，隨即貿然出貨導致RG3真菌病原意外釋出[30–31]。

雖然大部分高致病性雙型性真菌症屬於地方性疾病(endemic disease)，然而隨著國際旅遊逐漸興盛，這些疾病很可能境外移入非疫區的國家[32]。因此對於非疫區的臨床醫學真菌實驗室，實驗室主管應教育其實驗工作人員操作人體病原真菌

時要注意的生物安全知能，包括對不明真菌應保持高度警覺心，並建立相關的標準操作程序，一旦有從業人員可能遭受暴露風險時，也應當了解相關的緊急處理程序[33]。在處理 RG3 微生物之真菌，例如 *Coccidioides* spp 和 *H. capsulatum* 絲狀黴菌的培養繁殖及處理環境或土壤樣本時一定要在二級或三級生物安全櫃(class II or class III biological safety cabinet, class II BSC or class III BSC) 操作並遵守生物安全第二等級或第三等級(biosafety level 2 or 3, BSL-2 or BSL-3)實驗室操作規範，動物感染試驗應該在三級動物生物安全設施(animal biosafety level 3, ABSL-3) 中進行。若是處理臨床檢體或動物組織，則可以在 BSL-2 的實驗室操作[34-36]。由於曾經有獸醫師在解剖動物屍體時發生感染粗球黴菌的案例，因此若懷疑待解剖動物可能患有疾病時，必須做好相關安全防護措施，包括戴上面罩、手套、穿著實驗衣，並盡量減少感染性氣霧的產生[10]。在處理 RG2 微生物之真菌，例如 *B. dermatitidis*, *S. schenckii*, *P. marneffeii*, *C. neoformans* 和皮癬菌的臨床檢體、疑似受感染的人或動物組織以及菌株培養繁殖時，必須在二級生物安全櫃進行，並且遵守 BSL-2 實驗室操作規範則，動物感染試驗應該在二級動物生物安全設施(ABSL-2)中進行[34-35]。曾經有人針對臨床醫學真菌診斷實驗室中常見的儀器或設備做微生物的菌相調查，結果許多人體潛在病原菌被分離出來，顯微鏡、天秤、離心機以及本生燈的使用者操作介面，有多種髮癬菌屬真菌(*Trichophyton* spp.) 被分離出來（包括許蘭氏髮癬菌 *T. schoenleinii*, 紫色髮癬菌 *T. violaceum* 和疣狀髮癬菌 *T. verrucosum*），實驗室櫥櫃以及實驗衣上也分離出星狀奴卡菌(*Nocardia asteroides*) 以及 *S. schenckii*。為了降低實驗室感染風險，操作實驗儀器時應該要戴手套，脫除手套後也要徹底做好手部清潔工作，實驗衣應該要定時清洗，實驗室也應該要定時清消[37]。

## 誌謝

感謝疾病管制署 MOHW104-CDC-C-315-000402（實驗室汙染及人員感染風險評估研究）及 MOHW104-CDC-C-315-000404（真菌及特殊病原菌檢驗、監測與流行病學研究）二項研究計畫的經費支持。

## 參考文獻

1. Pike RM. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Sci* 1976; 13: 105-14.
2. Hanel Jr E and Kruse RH. Laboratory-acquired mycoses. *Miscellaneous Publication* 28. Department of the Army, Fort Detrick, Frederick, Maryland. 1967: 29-31.
3. Baum GL and Lerner PI. Primary pulmonary blastomycosis: a laboratory-acquired infection. *Ann Intern Med* 1970; 73: 263-5.
4. Landay ME and Schwarz J. Primary cutaneous blastomycosis. *Arch Dermatol* 1971; 104: 408-11.

5. Carroll GF, Haley LD, and Brown JM. Primary cutaneous coccidioidomycosis: a review of the literature and a report of a new case. *Arch Dermatol* 1977; 113: 933–6.
6. Larsh HW and Schwarz J. Accidental inoculation blastomycosis. *Cutis* 1977; 19: 334–5, 337.
7. Thompson D and Kaplan W. Laboratory-acquired sporotrichosis. *Sabouraudia* 1977; 15: 167–70.
8. Graham WR, Jr. and Callaway JL. Primary inoculation blastomycosis in a veterinarian. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 785–6.
9. Cooper C, Dixon D, and Salkin I. Laboratory-acquired sporotrichosis. *J Med Vet Mycol* 1992; 30: 169–71.
10. Kohn GJ, Linne SR, Smith CM, et al. Acquisition of coccidioidomycosis at necropsy by inhalation of coccidioidal endospores. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15: 527–30.
11. Hilmarsdottir I, Coutellier A, Elbaz J, et al. A French case of laboratory-acquired disseminated *Penicillium marneffe* infection in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 357–8.
12. Mattar ZR, Abugiazya A, Torok N, et al. Laboratory-acquired coccidioidomycosis. *Chest* 2009; 136: 28S-d-S.
13. Hartung M and Salfelder K. Histoplasmose mit tödlichem Ausgang als Berufserkrankung bei einem Mykologen. *Internationales Archiv für Gewerbepathologie und Gewerbehygiene* 1962; 19: 270–89.
14. HALDE C. Percutaneous *Cryptococcus neoformans* inoculation without infection. *Arch Dermatol* 1964; 89: 545.
15. 病原体検出マニュアル. Coccidioidomycosis. Available at: <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Coccidioides.pdf> 2013.
16. Buitrago MJ and Cuenca-Estrella M. Current epidemiology and laboratory diagnosis of endemic mycoses in Spain. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica* 2012; 30: 407–13.
17. Schell W, Fleming D, and Hunt D. Mycotic agents of human disease. *Biological Safety: Principles and Practices* 2006: 163–78.
18. Segretain G. *Penicillium marneffe*: agent of a mycosis of the reticuloendothelial system. *Mycopathologia* 1959; 11: 327–53.
19. Larson DM, Eckman MR, Alber RL, et al. Primary cutaneous (inoculation) blastomycosis: an occupational hazard to pathologists. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 253–5.
20. Glaser JB and Garden A. Inoculation of cryptococcosis without transmission of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1985; 313: 266.

21. Kantor GR, Roenigk RK, Bailin PL, et al. Cutaneous blastomycosis. Report of a case presumably acquired by direct inoculation and treated with carbon dioxide laser vaporization. *Cleve Clin J Med* 1987; 54: 121–4.
22. Reed KD, Moore FM, Geiger GE, et al. Zoonotic transmission of sporotrichosis: case report and review. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 384–7.
23. Casadevall A, Mukherjee J, Yuan R, et al. Management of injuries caused by *Cryptococcus neoformans*-contaminated needles. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 951–3.
24. Baron EJ and Miller JM. Bacterial and fungal infections among diagnostic laboratory workers: evaluating the risks. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 241–6.
25. 衛生福利部：衛生福利部感染性生物材料管理辦法。取自：  
<http://www.cdc.gov.tw/downloadfile.aspx?fid=003B199BDD620794> 2015。
26. DiSalvo AF. Mycotic morbidity—An occupational risk for mycologists. *Mycopathologia* 1987; 99: 147–53.
27. Schwarz J and Kauffman CA. Occupational hazards from deep mycoses. *Arch Dermatol* 1977; 113: 1270–5.
28. Alteras I. Human dermatophyte infections from laboratory animals. *Sabouraudia* 1966; 4: 143–5.
29. Collins CH. Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and prevention. Brisbane: Butterworth & Co, 1988.
30. Ginocchio CC, Lotlikar M, Li X, et al. Identification of endogenous *Coccidioides posadasii* contamination of commercial primary rhesus monkey kidney cells. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1288–90.
31. Purfield A, Ahmad N, Park BJ, et al. Epidemiology of Commercial Rhesus Monkey Kidney Cells Contaminated with *Coccidioides posadasii*. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 2005.
32. Kantarcioglu AS, Sandoval-Denis M, Aygun G, et al. First imported coccidioidomycosis in Turkey: A potential health risk for laboratory workers outside endemic areas. *Med Mycol Case Rep* 2014; 3: 20–5.
33. Stevens DA, Clemons KV, Levine HB, et al. Expert opinion: what to do when there is *Coccidioides* exposure in a laboratory. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 919–23.
34. WHO. Laboratory Biosafety Manual. 3rd ed. 2004.
35. CDC. Agent Summary Statements: Fungal Agents, in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL). 5th ed. 2009: 170–7.
36. CDC. Section IV-Laboratory Biosafety Level Criteria. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th ed. 2009: 30–59.
37. Mahmoudabadi A. Laboratory instrument contamination with dermatophytes—a risk for dermatophytosis. *Lett Appl Microbiol* 2007; 44: 112–3.