

結核病檢驗：生物安全篇

臺灣微生物學會理事 周如文博士

前言

臨床或公共衛生檢驗實驗室之運作，對病人醫療照護及相關傳染病防治至關重要，相對應之實驗室生物安全管理亦日趨完整及嚴謹。在臺灣操作或保存特定**感染性物質**，若涉及持有、保存、使用、處分、輸出入病原體及特定生物毒素，則一律由疾病管制署（簡稱疾管署）依據「傳染病防治法」訂定之「感染性生物材料管理辦法」（命令）及「衛生福利部感染性生物材料管理作業要點」（行政規則）進行監管。雖然如此，實驗室導致之人員感染仍陸續發生。於疾管署第一件正式登錄有案事件是：2003年臺灣爆發嚴重性呼吸道症候群（Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS）期間，發生實驗室研究人員因為第3危險群 SARS-CoV 呼吸道病毒溢出後處置不當，造成近距離暴露感染源後發病。雖然，已隨即加強人員生物安全訓練與相關管理規範及機制，時至2021年同一位實驗室研究員之團隊再度發生操作第3危險群 SARS-CoV-2 呼吸道病毒時，因為人員生物安全訓練未及、防護不足及未使用生物安

全操作櫃，造成人員暴露感染源而確診。雖然，通常暴露感染源後導致疾病風險，會因為病原體來源及傳播途徑不明而不易確認。但是，其中以吸入未受到懷疑的含有感染性物質之氣膠，為主要感染途徑。

有鑑於結核病之病原體結核菌亦屬於第3危險群，雖迄今臺灣尚未有結核病實驗室人員感染通報事件，但其檢驗步驟會產生氣膠，若實驗室人員操作或處理**感染性物質**之程序有所閃失，則具相對高度之被感染風險。依據早期生物安全制度尚未完善時，監測結核病檢驗人員感染風險之文獻報導指出，人員只要感染到1至10隻結核菌，就足以造成結核病；且實驗室人員受到結核菌感染風險，比一般大眾高出3至9倍。遂簡要分享相關生物安全概念。

感染性物質是什麼？

感染性生物材料，包含病原體、病原體衍生物（主要係指生物毒素）及傳染病檢測陽性之檢體。因此，並未

包含尚待檢驗 (或疑似) 之傳染病檢體。然而，尚待檢驗之傳染病檢體在包裝、運送、檢驗、輸出入作業流程上，依生物風險概念，仍有必要依生物安全及生物保全規範進行管理及監督。故將感染性生物材料以及待檢驗 (或疑似) 傳染病檢體統稱為「**感染性物質**」。例如：經培養鑑定之結核菌為感染性生物材料，若是加上疑似結核病之尚未檢驗痰檢體，統稱為感染性物質，皆須監管。

生物安全是甚麼？

生物安全是臨床醫學、公共衛生及生物相關等實驗室活動之重要關鍵部分，可藉由實施結構式控制方法及減害策略，除降低實驗室人員遭受感染性、化學性及物理性之危害風險外，亦確保感染性物質之保全及社區及外部環境之安全。生物安全應從總體生物風險角度考量，至少包含：病原體風險評鑑 (確定病原體及生物安全實驗室等級等)、局部風險評鑑 (鑑別人員特定活動及制定減害措施等) 及生物保全風險評鑑 (確定生物材料保全風險等)。

生物安全首要了解病原體特性，造成人類感染或疾病之病原體依其對人類健康危害風險高低、感染途徑等，區分為4級危險群 (Risk Group, RG)：(1) 第1危險群 (RG1)，未影響人體健康；(2) 第2危

險群 (RG2)，輕微影響人體健康，且有預防及治療方法，例如：B 型肝炎病毒；(3) 第3危險群 (RG3)，嚴重影響人體健康，或可能致死，且有預防及治療方法，對公眾造成疾病傳播之風險低。例如：結核菌；(4) 第4級危險群 (RG 4)，嚴重影響人體健康，或可能致死，且通常**無預防及治療可能**，對公眾造成疾病傳播之風險高。例如：伊波拉病毒。以上，RG2至 RG4病原體 (包含人畜共通病原體) 或特定生物毒素之實驗室須受監管。

生物安全實驗室分級，依「感染性生物材料管理辦法」規定，考量操作規範、硬體屏障與設備及設施要求，區分為4個生物安全等級 (biosafety level, BSL)；另，高防護實驗室則是包含：第二等級**負壓**、第三等級及第四級實驗室。

至於，生物安全實驗室等級之選用仍須依感染風險進行專業評鑑，不盡然應該與生物危險群相對應。例如：第2危險群 (RG2) 病原體若操作過程會產生高濃度之氣霧，則須考慮使用第三等級實驗室，提高防護以策安全。

所以，屬於 RG3 結核菌之細菌培養檢驗可於 (1) 第三等級實驗室執行，或 (2) 早期既有之第二等級 (BSL-2) 負壓 (由實驗室外部向內部流動之定向氣流) 操作，但是人員必需嚴格遵守生物安全

生物安全等級	可操作之感染性生物材料
第一等級 (BSL-1)	不會造成人類疾病者
第二等級 (BSL-2)	會造成人類疾病者
第三等級 (BSL-3)	造成人類嚴重或潛在致命疾病者
第四等級 (BSL-4)	造成人類嚴重致命疾病及無疫苗或治療方法者

第三等級操作規範及程序，以避免導致人員感染或造成社區及環境污染。

確效合格的生物安全操作櫃處理及操作臨床檢體或結核菌株。

生物安全規範是什麼？

疾管署於2021公布「實驗室生物安全規範」，明訂在設置單位（例如：醫療院所、研究機構等）內處理或保存感染性物質之各生物安全等級實驗室，須依循之實體阻隔要求、操作規範要求、性能及查證測試要求。

結核病檢驗與生物安全

結核病實驗室所依循之實體阻隔，可藉由工程控制及設施設計與公共及行政區域分隔，設有門禁管制等，以達成降低風險之目的。其中，最核心關鍵是**通風空調**處理，須確保設置備援之排氣系統，將可能的感染性空氣經高效率空氣微粒（HEPA）過濾後，依規範要求以密閉管道及注意管道行經路徑排出戶外；實驗室各項設施與安全設備皆需要定期保養及維護，並依國家／國際標準經過性能查證與確效合格。例如：使用

由於實驗室感染事件，大部分是人為因素所造成，而非硬體工程控制失效所導致。因此，需藉由特定行政管制及執行特定文件化程序，以符合操作規範要求。主要包括但不限於以下項目：

一、生物安全計畫管理：

人員嚴謹遵守實驗室生物安全守則，藉由實驗室主管嚴格執行流程管理，落實各項生物安全措施於例行運作中。結核病檢驗實驗室之生物安全管理，非僅為使用者的責任。除檢驗人員應該落實生物安全之知能與技術外，必須有設置單位之資源支持、生物安全委員會之稽核監督、實驗室級生物安全主管扛責等，共同構成防護權責網絡。

二、醫學監測計畫：

內容可包括：監測實驗室暴露、感染、個人醫學評估、疫苗接種、進行

中之醫學監測、暴露後之應變計畫、高防護實驗室之額外要求等。例如：結核病實驗室人員可進行日常咳嗽監測、年度一般健康檢查 (至少含胸部 X 光檢查) 及潛伏感染 (例如 IGRA) 檢測等。

三、個人防護裝備 (PPE)：

依據局部風險評鑑選擇 PPE，例如：結核病檢驗人員應選用適合之 N95 口罩，並進行定期配戴密合度測試。此外，應不得重複使用隔離衣及手套等 PPE。

四、除汙及廢棄物處理：

實驗室設備、設施及廢棄物之有效除汙很關鍵。滅菌、消毒及除汙之原則是：符合法規、建立程序 (含頻率)、建立標準作業程序 (SOP) 及文件化、確認消毒劑 / 化學品、技術、設備、方法等之有效性，能降低阻隔區域內病原體及毒素散佈或釋出到環境或社區的風險。例如：必須選擇能殺死結核菌群之消毒劑，例如：酚類 (phenolics) 衍生物及氯化化合物等，最佳使用種類、方式及處理時間，須經過測試與確效。由於結核菌可以抵抗乾燥及存活於固體表面，應每天執行清消工作。感染性廢棄物處理以能在實驗室內進行高壓高溫滅菌為佳，如果必須在生物安全第二等級負壓實驗室外處置，則需置放於防滲漏密閉容器中運送。

五、緊急應變：

實驗室意外應變計畫應依實驗室實際的軟、硬體狀況進行規劃，提報單位生物安全委員會審議後實施。該計畫之實施，可做為生物安全意外發生前防範及發生後處置依據。已知結核病實驗室主要之感染途徑是吸入含菌的氣膠，依照洩漏產生的氣膠多寡，清消處理時間可以配合實驗室每小時換氣率來訂定處理時間。例如：如果每小時的換氣率為 15 次，則清除空氣中 99% 及 99.9% 污染物所須的時間，各為 18 及 28 分鐘。

六、訓練計畫：

需針對參訓人員設計訓練計畫，藉以確認具體訓練需求及適用於參訓人員學習樣態之訓練類型。訓練是持續性程序，不限於新進人員。訓練包含學理、技術及緊急應變，方式可採用實體或線上課程、實務操作等，重要的是要經過嚴謹考核，通過後才授權執行，並須定期重新授權。結核病檢驗專業人員因技術難度 (自動化程度低) 及生物安全操作要求高，養成期長。

七、操作規範：

「優良微生物操作規範」是對涉及生物感染物質相關安全工作規範之基礎。安全工作規範至少包含正確使用及維護生物阻隔系統、生物安全設備及一

般阻隔區域維護；而將標準作業程序 (SOP) 之安全工作規範文件化，可使所有相關人員易於了解及執行。例如：結核病實驗室需與一般微生物實驗室之操作區域作適當區隔，工作流程嚴守乾淨區至髒污區之動線管制。以下概略敘述結核病檢驗主要步驟與生物安全：

1. 檢驗前

檢體包裝、運送及收發各式檢體運送，須採低溫且確實採防漏三層包裝。第一層為防水材質，容器含有螺旋蓋可防止檢體滲漏，標示生物危害標誌及檢體相關資訊。第二層亦為防滲漏及防水材質，內含可包覆第一層檢體容器之防碰撞緩衝物質及可吸附滲漏的物質。第三層包裝需有符合國際通用之生物感染性物質安全標示及相關規定。

2. 檢驗中

2.1 抗酸菌抹片顯微鏡檢查

疑似結核病個案檢體之檢驗，若只需進行抗酸菌抹片顯微鏡檢查，若先以等量的5%次氯酸鈉 (sodium hypochlorite) 處理15分鐘後，則可以在一般微生物實驗室進行液化及濃縮步驟。但是，由於抹片製作過程會產生氣膠、液滴或飛濺物。因此，後續需進行細菌培養步驟的檢體，無論是直接或濃縮抹片的製作，皆需在生物安全操作櫃

中執行。製作直接抹片，至少於生物安全第二等級實驗室進行；而製作濃縮抹片，至少於生物安全第二等級**負壓**實驗室執行。

2.2 細菌培養

培養步驟至少需要在生物安全第二等級**負壓**實驗室之生物安全櫃中進行。至於在觀察或判讀培養結果時，如果使用密閉式非玻璃培養試管，在清消培養管表面後，則可以在生物安全櫃櫃外進行判讀。

2.3 結核菌鑑定

若使用免疫呈色法進行結核菌群鑑定，可直接運用於初步培養 (primary culture) 之抗酸菌陽性培養液，可至少需要在生物安全第二等級**負壓**實驗室之生物安全櫃中進行中執行。

2.4 藥物敏感性試驗

結核菌群之藥物敏感性實驗，因需增菌培養，相對風險性較高，又考慮可能有抗藥性菌株存在，原則上需於**生物安全第三等級實驗室**中進行。如果僅能在生物安全防護第二等級**負壓**實驗室中進行，則個人安全防護及主管監督，相形重要，需遵循生物安全第三等級實驗室操作規範，以確保工作人員安全無虞。

2.5 分子生物試驗

分子生物試驗包含鑑定及藥物敏感性試驗，如果是直接檢測活菌，則須在至少生物安全第二等級**負壓**實驗室之生物安全櫃中進行。如果是先將菌體不活化或已完成核酸抽取，則可以在生物安全第一等級或第二等級實驗室進行檢驗。

3. 檢驗後

操作過程所有接觸之器材及工作檯面，於每天工作完成後，應確實使用有效之消毒劑（例如：酒精、滴露或來舒等）進行清消作業。個人 PPE、檢驗廢棄物及汙水需經高溫高壓滅菌或其他相等效能之方法消毒並驗證後，再依環保署等法規程序棄置。最後，檢驗完成需確認所有檢驗程序皆有文字化完整紀錄。

後記

結核病人員除須具備精良技術能力外，仍須有生物安全深厚之基礎，才能在高防護實驗室內長時間執行高感染風險檢驗工作。筆者在 2002 年規劃中央參考實驗室前期，即陸續至歐、美、日及香港等地之世界衛生組織跨國結核病參考實驗室觀摩檢驗及生物安全相關技能及文化，並在陸坤泰教授督導下，藉以推動結核病檢驗各項軟、硬體精進方案。此外，雖然持續致力於爭取第一線檢驗人員危險津貼，然而至今未果，甚是遺憾。所幸，2024 年已落實結核病專業醫檢人員驗證機制，以改善人員津貼及職場環境，藉以留才。此文再次由生物安全面向說起，希冀能喚起大家對結核病防疫上少數且關鍵檢驗專家們之珍惜。



▲ 113年結核病專業醫事檢驗師人員驗證頒證典禮合影。