

壹、目的

本手冊提供國內從事結核病（以下簡稱 TB）檢驗（未涉及動物實驗）相關實驗室工作人員遵循，以確保檢驗人員之操作安全。

貳、實驗室操作等級

- (一) TB 相關檢驗項目，依進行之實驗操作及其相關風險，應於生物安全第二等級以上實驗室進行操作。
- (二) TB 實驗室如涉及動物實驗操作，應遵循疾病管制署「動物生物安全第一等級至第三等級實驗室安全規範」之相關規定。

參、生物安全第二等級實驗室之安全規定：

- (一) 適用項目：

處理進行直接塗片鏡檢、自動化核酸增幅檢驗匣（automated nucleic acid amplification test cartridge）試驗（例如 Xpert MTB/RIF assay）之痰檢體等。
- (二) 防護措施：
 1. 工作台空間使用：檢體接收區域及文書與接聽電話之行政區域分開。

2. 生物安全櫃(Biological safety cabinet, 以下簡稱 BSC):

(1) 檢體處理應在 BSC 內進行。

(2) BSC 應遠離通道設置，並避開門口及進氣系統，從 BSC 排出之空氣必須經過高效率空氣微粒過濾器 (HEPA filter) 過濾。

(3) BSC 與天花板之間需有足夠空間，以確保 BSC 排出氣流不受阻礙。

(4) 應使用經檢測合格之 II 級 BSC，並定期維護，每年至少進行一次功能性檢測。建議優先選用 II 級 A2 型式 BSC，可同時對人員及操作物進行保護。

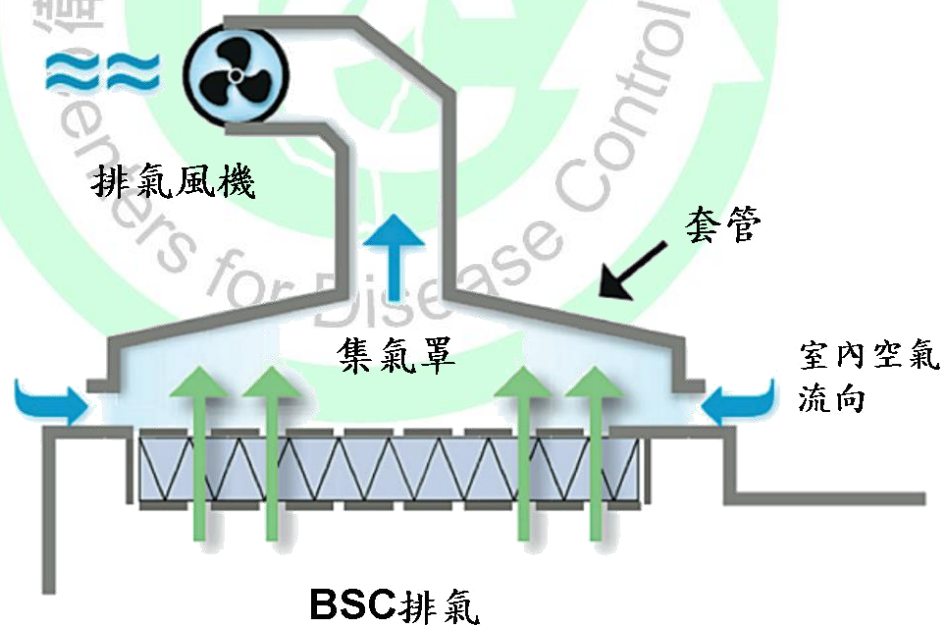
(5) 實驗室所在地如電源不穩定，BSC 及排氣風機需連接不斷電系統。應於 BSC 管道內安裝防止空氣回流裝置，以防止突然停電時，感染性空氣流回至實驗室。可對 BSC 及其他重要設備配置備用發電機。

3. 通風：

(1) 應維持進入實驗室氣流是定向氣流 (directional airflow)，由乾淨區流向可能產生氣膠區，安全的排出房間。



(2)使用套管 (thimble) 將 BSC 的管道連接到室外，並將 BSC 內具感染性空氣經過 BSC 頂端 HEPA 過濾器過濾再排出實驗室(如圖一)。當 BSC 開啟時，套管末端排氣風機同時排出 BSC 及實驗室內之空氣。當 BSC 關閉時，套管末端排氣風機僅排出實驗室內之空氣。最好可以設定套管末端排氣風機於 BSC 關閉後，仍持續運轉一定時間後再停止，以確保所有從 BSC 排出具感染性物質的空氣，能完全排出至室外，並確保每小時換氣次數達 6 至 12 次。



圖一：II 級 A2 型式 BSC 連接套管排氣圖解

(3) 如果 BSC 內具感染性空氣經 BSC 之 HEPA 過濾器過濾排至實驗室內，應確保實驗室每小時換氣次數達到 12 次。

(4) 實驗室窗戶必須隨時保持關閉。

4. 處理洩漏檢體容器：

(1) 於檢體送達實驗室時立即檢查檢體容器之完整性。

(2) 檢體容器發生洩漏時，可能需要丟棄，並要求重送檢體。若洩漏之檢體容器中仍留有足量檢體，在製備痰塗片之前，可以使用適當消毒劑進行檢體容器表面消毒。

(3) 運送痰檢體時，應該使容器直立，盒蓋朝上，以減少洩漏之發生。

5. 個人防護裝備：

(1) 實驗室必須對其運作風險進行評估(例如：評估實驗室活動及工作量、結核病盛行率及抗藥性菌株流行率等)，決定工作人員之個人防護等級。在實驗室必須隨時穿著實驗衣及手套。



(2) 進行所有涉及直接或可能接觸痰液、血液、體

液及其他潛在感染性物質之步驟時，都應穿戴手套。

(3) 手套必須適時更換，且不應重覆使用。

(4) 工作人員在離開實驗室前應洗手。

(5) 使用功能正常之 BSC，落實優良微生物技術處理檢體，並配戴口罩。

6. 實驗室設計：

(1) 實驗室必須與建築物中無人員管制之區域分開。

(2) 洗手設施應設置於靠近實驗室出口處。

7. 除污及廢棄物處理：所有移出實驗室之感染性廢棄物應進行適當處理，並依據行政院環境保護署相關法規辦理。廢棄物必須在密封的塑膠袋或容器中運送。任何可重覆使用的器材在從實驗室移出之前，必須經適當的消毒劑或高溫高壓滅菌器消毒。

8. 降低氣膠（aerosols）產生：

(1) 應於 BSC 內打開檢體容器蓋子。

(2) 當烘乾塗片時，應避免感染性物質之濺灑。製作痰塗片時，可優先選用拋棄式塗痰棒。於痰塗片製作



完成後，最好的方式是風乾塗片(air-dry)，只有當塗片完全乾燥，再使用塗片之固定。

肆、生物安全第三等級實驗室或 TB 負壓實驗室之安全規定：

(一) 適用項目：

1. 進行痰檢體消化 (digestion)、液化之濃縮法塗片鏡檢及初次(primary)檢體接種 (含固態與液態培養基) 等等。(痰檢體先進行去活化處理之濃縮法塗片鏡檢，可於生物安全第二等級實驗室進行)
2. 使用疑似或經確認為結核菌之培養物進行菌種鑑定及(或)藥物敏感性試驗之實驗室。
3. 操作結核分枝桿菌培養物之分子生物學檢驗前處理。

(二) 防護措施：

1. 所有操作均必須在 BSC 中進行，使用之 BSC 型式為第二級 A2 型式 BSC 時，應使用可拆卸式之集氣罩或套管將排氣排出建築物外。
2. 實驗室工作人員應訓練如何安全進行操作，以避免使用接種環、移液 (pipetting)、開啟檢體容器、處理破損或洩漏容器、離心及振盪時，吸入產生的氣膠。



3. 避免使用本生燈明火造成感染性材料之飛濺 (spattering)，應使用密閉式電子加熱器對重覆使用的接種環進行滅菌。
4. 建議使用已滅菌拋棄式接種環或移液管 (transfer pipette)。
5. 離心機需要配備安全桶 (safety bucket)、安全杯或防護轉子 (containment rotor)。感染性材料若在開放實驗室中進行離心，開啟安全桶、安全杯或防護轉子時，必須在 BSC 中進行。
6. 實驗室設計：
 - (1) 必須有雙門設計之前室 (anteroom)，提供實驗室防護區域與實驗室以外區域之物理屏障，並且是往實驗室之單向氣流 (unidirectional airflow)。前室雙門應自行關閉且互鎖，以便同一時間只有一扇門可開啟。
 - (2) 確保乾淨氣流進入實驗室，可在前室門之下側安裝具有前過濾器 (pre-filters) 之格柵 (grills)，使空氣經由前室進入實驗室。



(3)應安裝玻璃視窗以便從實驗室外部觀察防護實驗室。

(4)實驗室為密閉空間，且氣密狀態維持良好，實驗室內空間無明顯裂縫或未密封之貫穿孔洞。

(5)實驗室負壓穩定，無負壓不足或正壓等異常情形。

(6)實驗室之內、外均已設置壓差（力）值顯示儀器，並明確標示該壓差（力）值代表之區域。

(7)實驗室前室之氣壓應低於公共通道；實驗室內部相鄰房間壓差至少達-12.5 Pa。

(8)實驗室之排氣管路呈現負壓狀態，排氣經 HEPA 過濾器過濾後排放。

(9)實驗室空間之氣流方向為單向、定向氣流，換氣次數至少每小時達 12 次。通風空調處理系統已設置警報裝置，於系統故障時可向實驗室人員發出警報。

7. 個人防護裝備：

(1)每項設施必須對其風險進行評估，以確定適用於工作人員之個人防護等級。



- (2) 必須穿戴具有防護功能之防護衣。防護衣應具有堅固前幅，並可防水。防護衣應為長袖且為彈性袖口（至少 3 公分長度）或具束口設計。
- (3) 必須戴手套。工作人員在離開實驗室之前必須洗手。
- (4) 可選擇使用頭套、鞋套或專用鞋，以作為額外防護措施。
- (5) 配戴 N95 口罩，或視需要採用呼吸防護具。呼吸裝備可提供高風險步驟（例如：操作菌種鑑定和藥物感受性試驗之液體培養物等）產生高濃度具感染性氣膠之額外保護。
- (6) 在任何情況下，必須遵循優良微生物操作技術以降低實驗室感染之風險。
8. 新進人員教育訓練：應比照生物安全第三等級實驗室之新進人員，依「生物安全第三等級以上實驗室新進人員生物安全訓練課程認可規定」，進行相關生物安全訓練。
9. 除污及廢棄物處理：在實驗室內應配備高溫高壓滅菌器，以利裝有結核分枝桿菌培養物之試管及培養瓶在



移出實驗室處理前，已完成滅菌。所有其他感染性廢棄物移出實驗室前，亦應進行適當處理。必須依照相關法規要求處理，並以密封、堅固、耐用的有蓋防漏容器運送廢棄物。任何可重覆使用之器材，必須在移出實驗室前，使用適當消毒劑消毒或高溫高壓蒸氣滅菌。

備註：於 103 年前開始使用之 TB 負壓實驗室，對於結核分枝桿菌培養物之試管及培養瓶可移至鄰近實驗室外之高溫高壓滅菌器，進行滅菌。惟應對於如何確保移出動線，不會造成前開感染性廢棄物之滲漏或洩漏，訂定標準作業程序。

伍、緊急整備及應變計畫

(一) 緊急整備計畫(Emergency preparedness plan)

1. 緊急整備計畫應提供以下處理程序：

(1)對於天然災害（例如：火災、水災、地震或爆炸）

之應變。

(2)對於新增或修訂程序進行相關風險評估。

(3)對於暴露及除汙之管理。



- (4) 對於事故現場之人員緊急疏散。
 - (5) 對於人員暴露及受傷之緊急醫療處理。
 - (6) 對於事故人員暴露之醫學監視。
 - (7) 對於事故人員暴露之臨床管理。
 - (8) 對於流行病學之調查。
 - (9) 對於事故之後續作業。
2. 訂定緊急整備計畫，應考慮以下事項：
- (1) 確定高風險區域位置，例如實驗操作區及儲存區域。
 - (2) 鑑別具有風險的人員及民眾。
 - (3) 依據風險等級鑑別採取之程序。
 - (4) 鑑別應變人員及其職責，例如生物安全官、安全人員、臨床醫生、微生物學家、獸醫、流行病學家、地方衛生單位、消防單位及警察單位。
 - (5) 可收容暴露或感染人員之醫療及追蹤機構。
 - (6) 暴露或感染人員之運送。
 - (7) 提供緊急裝備，例如：防護衣、消毒劑、化學及生物溢出物處理套組、除汙裝備及供應品。

(二) 緊急應變程序(Emergency response procedures)



1. 感染性溢出物（於 BSC 外面）

在 BSC 外面發生感染性物質溢出為重大事件。感染性液體之溢出會產生感染性氣膠。人員應儘速離開發生溢出之區域。應立即通報實驗室管理者。工作人員避免再進入實驗室，至少 1 小時。以利氣膠之沉降及經實驗室通風系統排除。

在清理過程，張貼人員禁止進入之標示。處理人員必須穿著適當防護衣及呼吸防護裝備。

應遵照溢出清理程序：

- (1) 戴上手套、穿著實驗袍及口罩。
- (2) 進入發生溢出之區域。
- (3) 以布料或紙巾覆蓋溢出物。
- (4) 倒入適當消毒劑於紙巾上以及周圍區域(一般使用 5% 漂白水溶液)。
- (5) 以同心圓方向將消毒劑從溢出物外圍往中心方向倒入。
- (6) 等待消毒劑作用約 30 分鐘至 1 小時，再進行溢出物之清除。若含有玻璃碎片或尖銳物，則以畚箕或硬紙板將溢出物收集到防穿刺容器中再丟棄)。



(7)其餘感染性物質放置於密封塑膠袋，以利處理。

(8)清潔並消毒溢出區域。

任何暴露於溢出物之人員應進行醫療諮詢，事故應記錄並保存。

2. 感染性溢出物（於 BSC 內部）

當在 BSC 內發生感染性物質溢出時，應立即進行清理程序，並且 BSC 應持續運轉。

(1)放置吸水紙巾覆蓋溢出區域，並充分倒入消毒劑。

(2)若潑濺到 BSC 側邊，則以充分浸濕消毒劑的吸水紙巾進行清理。

(3)消毒劑覆蓋溢出區域約 30 分鐘至 1 小時。

(4)小心收集汙染尖銳物品，丟棄於防穿刺容器內。

(5)任何設備或重複使用器具(例如離心桶)，若有潑濺，應以同樣的消毒劑清理。

(6)使用電器設備前，應仔細檢查。確認電源保護斷路器及接地故障斷流器之完整性。

(7)收集其他汙染物質於密閉塑膠袋內，進行適當丟棄。

3. 離心機內試管破裂



離心機應使用密閉安全桶或安全杯，並在 BSC 內進行開啟。若離心過程中試管發生破裂，則應將破裂試管丟棄於防穿刺容器內並立即進行處理。

遭汙染之安全桶或安全杯以適當消毒劑浸泡。不可使用漂白水消毒金屬零件，因其可能會導致腐蝕。有些安全桶或安全杯可以經高溫高壓蒸氣滅菌。

(三) 溢出物清理套組(Spill response kit)

實驗室管理者有責任維護溢出物清理套組。應準備兩套：分別置於防護實驗室外部與內部。套組應包含以下項目：

1. 次氯酸鹽 (hypochlorite) 溶液(或其他適當消毒劑)儲存於不透明瓶內 (次氯酸鹽溶液最好現場配製)；
2. 口罩(一盒)；
3. 手套(一盒)；
4. 防護衣(4 至 6 件拋棄式)；
5. 畚箕及刷子(必要時可拋棄)；
6. 氯胺錠(Chloramine tablets) (10 錠)；
7. 紙巾；
8. 肥皂；
9. 尖銳物收集筒；



10. 生物危害專用袋(Biohazard bags)；

11. 護目鏡(兩副)。

陸、參考資料：

1. WHO. Tuberculosis laboratory biosafety manual. Available at: http://www.who.int/tb/publications/2012/tb_biosafety/en/index.html.
2. Tuberculosis Laboratory in Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. Recommendations of a CDC-convened, Biosafety Blue Ribbon Panel. MMWR Surveill Summ. 2012 Jan 6; 61 Suppl:1-102.
3. CDC/National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th ed. Available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL.pdf>.
4. Public Health Agency of Canada. *Mycobacterium tuberculosis* complex. Available at: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/tuber-eng.php>.
5. 衛生福利部疾病管制署 103 年實驗室生物安全查核基準。

