

出國報告
(類別:其他)

赴澳洲動物衛生實驗室參加生物風險管
理訓練課程出國報告
(Biorisk Management Training Course
in Australian Animal Health
Laboratory)

計畫機關及姓名職稱：

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

胡書佳助理研究員

奉派國家： 澳洲(Australia)

報告日期： 2015 年 7 月 21 日

出國期間： 2015 年 4 月 12 日至 4 月 23 日

赴澳洲動物衛生實驗室參加生物風險管理訓練課程出國報告 摘要

本次訓練課程為「蝙蝠媒介傳播之人畜共通新興傳染病訓練課程」為第二階段訓練課程，去(103)年度第一階段課程於新加坡杜克大學舉辦，訓練內容涵括蝙蝠介紹、媒介傳播病原介紹、野外蝙蝠捕捉介紹及實作及實驗室診斷等內容。蝙蝠媒介病原中不乏高病原性疾病的病原存在，因此第二階段課程著重於實驗室生物風險管理課程之訓練，旨於訓練研究人員了解實驗室潛在風險因子及其管理等內容，以保障實驗室人員之健康安全，本次課程於本(104)年 4 月 14~21 日於澳洲動物衛生實驗室舉行。

目次

一、 行程綱要.....	1
二、 研習內容.....	2
(一) 實驗室生物風險管理.....	2
(二) WHO 實驗室生物安全手冊.....	3
(三) 生物防護的意識.....	5
(四) 廢棄物管理及汗水處理.....	7
(五) 實驗室廢棄物滅菌的確效.....	9
(六) 實驗室感染的途徑.....	11
(七) 意外及實驗室感染.....	12
(八) 暴露後監控及健康監測.....	13
(九) 標準預防措施及安全操作銳利器具.....	15
(十) Aerosols, respiratory protection and fit testing.....	18
(十一) 意外及潑濺的反應.....	22
(十二) 實作訓練.....	23
三、 心得與建議.....	27
四、 附圖.....	29

一、 行程綱要

Sunday~Saturday, 12~13 April 2015

搭機前往澳洲	
--------	--

14~21 April 2015

Biorisk Management Training Course	Australia Animal Health Laboratory
---------------------------------------	---------------------------------------

Wednesday~Thursday, 22~23 April 2015

搭機返回臺灣	
--------	--

二、 研習內容

蝙蝠分布遍及全球、壽命長，並具有飛行能力，已於全球 12 科超過 200 種蝙蝠品種內證實有超過 15 個病毒科的病毒存在，高病原性疾病的病原如狂犬病病毒及相關麗沙病毒、立百病毒、亨德拉病毒、及 SARS-CoV-like 病毒已被證實會經由蝙蝠傳染，故蝙蝠媒介疾病之監控日趨重要。

本次訓練課程為「蝙蝠媒介傳播之人畜共通新興傳染病訓練課程」為第二階段訓練課程，去(103)年度第一階段課程於新加坡杜克大學舉辦，訓練內容涵括蝙蝠介紹、媒介傳播病原介紹、野外蝙蝠捕捉介紹及實作及實驗室診斷等內容。蝙蝠媒介病原中不乏高病原性疾病的病原存在，因此第二階段課程著重於實驗室生物風險管理課程之訓練，旨於訓練研究人員了解實驗室潛在風險因子及其管理等內容，以保障實驗室人員之健康安全，本次課程於本(104)年 4 月 14~21 日於澳洲動物衛生實驗室舉行。

澳洲動物衛生實驗室(Australian Animal Health Laboratory, AAHL)隸屬於澳洲科學與工業研究組織 (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, CSIRO)，為國家級動物疾病診斷中心，位於澳洲維多利亞省的 Geelong。AAHL 為澳洲負責動物疾病診斷的機構，負責動物疫病爆發時之診斷，是澳洲防止新浮現動物疾病入侵，維護人畜健康之重要機構。AAHL 具備全世界規模最大的生物安全設施，避免家畜疾病及野生動物疾病病原外洩，提供安全、快速且準確的疾病診斷服務；另具備生物安全第4等級 (BSL-4) 實驗室，讓研究人員能夠安全地進行各種具高度傳染性及致病性人畜共通病原的診斷與研究。

(一) 實驗室生物風險管理

為了進行實驗室生物風險之管理，必須要制定生物風險管理辦法(可參考 CWA15793:2011 實驗室生物風險管理規範之內容)。文件內容需涵括：

1. 有害物質之辨識、風險確認、風險管控。
2. 實驗室人員各自的職責。
3. 人員之訓練、警覺及能力。
4. 操作上的管控。
5. 緊急情況發生時的反應及處理計畫。
6. 監督及控制清單。
7. 意外及事故發生時的調查。
8. 查核。
9. 生物風險的回顧。

主要原則為有四點:

1. Plan：計畫，包含辨認危險及風險因子，並確認執行之目標。
2. Do：執行，包含人員之訓練及操作等。
3. Check：確認，包含監控及後續改善措施。
4. Act：回顧，包含程序改革及確認管理系統是否有需要改進。

以獅子為例，進行生物風險管控之訓練。獅子因為利齒、利爪及具有攻擊力而被認為是風險因子(Biorisk assessment, Plan)，可經由撲滅、基因改造使其攻擊力降低、隔離等措施降低生物風險(Biorisk Mitigation, Do)，經由稽查及回顧意外的發生(Biorisk Performance Monitoring, Check)，發現因為柵欄間距過大導致獅子仍可伸利爪造成意外發生，因此考慮其他改善方法(Biorisk Improvement, Act)，如縮小柵欄間距及改用玻璃帷幕等降低意外發生的可能。

(二) WHO 實驗室生物安全手冊

多數國家已制定各自的生物安全法規(biosecurity regulation)，若國家沒有制定相關法規，則 WHO 實驗室生物安全手冊(WHO Laboratory Biosafety Manual)可作為指引(guideline)。

WHO 建議每個國家依據病原體微生物於國內的危險程度及是否為地方流行性(endemic)或是外來性(exotic)將其區分成不同危險群(Risk Group)。

1. 第 1 危險群(Risk Group 1): 對於個體(individual)及社區(community)危險性低，不會引起人類及動物疾病。
2. 第 2 危險群(Risk Group 2): 對於個體及社區危險性中等，實驗室暴露可能會造成感染，通常有預防及治療的方法。
3. 第 3 危險群(Risk Group 3): 對於個體危險性高，對於社區危險性中等。人類及動物可以引起嚴重的疾病，對於實驗室人員有顯著的危險，若散佈至社區有中等程度的危險，可能有預防及治療之方法。
4. 第 4 危險群(Risk Group 4): 對於個體及社區危險性高，會引起致命型疾病，對於實驗室人員有顯著的危險，通常無預防及治療之方法。

生物安全等級(Biosafety Level, BSL)通常可相對應危險群(RG)分類。依據風險評估，操作第 3 危險群的病原體微生物需於生物安全等級 3 的實驗室，操作第 4 危險群的病原體微生物需於生物安全等級 4 的實驗室，若需操作大量第 2 危險群的病原體微生物，且該病原可經由呼吸傳播，則需於生物安全等級 3 的實驗室進行操作。

生物安全等級的區別包含下列特殊要求：

1. 操作規範(code of practice)
2. 實驗室設計(design)及設施(facilities)
3. 實驗室設備(equipment)
4. 健康及醫學監控(health and medical surveillance)

依據 BSL3 或 BSL4 標準所建立的建築物並不代表其內就是 BSL3 或 BSL4 實驗室，除非搭配相對應的設備及適當的人員訓練，才可稱得上是 BSL3 或 BSL4 實驗室。

(三) 生物防護的意識(Biosecurity awareness)

1990~1999 間美國共計有 153 件生物製劑的非法使用，其中 19 件和恐怖分子有關、40 件和犯罪有關，另有 94 件原因不明。被用於生物恐怖行動及犯罪的生物製劑種類如下表：

表一、用於生物恐怖行動及犯罪的生物製劑種類。

Type	Terrorist	Criminal	Uncertain	Total
Pathogen	15	38	83	136
Toxin	9	15	2	26
Unknown	4	1	1	6

調查獲得生物製劑的來源發現(表二)，有些用於非法行為的生物製劑是由合法供應商所取得，種種資料顯示需要加強生物製劑的生物防護以避免被使用於恐怖行動及犯罪等行為。

表二、非法使用生物製劑之來源。

Type	Terrorist	Criminal	Uncertain	Total
Legitimate Supplier (合法供應商)	1	9	1	11
Theft (竊盜)	1	3	0	4
Self-manufactured (自製)	1	4	1	6
Natural Source (環境中取得)	2	4	0	6
Unknown	2	3	0	6
Total instances	8	23	2	33

分析非法使用生物製劑進行恐怖行動及犯罪等行為的人的背景(表三)，不乏具有醫學及科學專業知識的罪犯。

表三、非法使用生物製劑的人的背景。

Type	Terrorist	Criminal	Uncertain	Total
Medical & Scientific Expertise 具有醫學及科學等專業知識	4	17	2	23
No Known Expertise	6	24	6	36
Unknown	17	15	89	121
Total	27	56	97	180

近年非法使用生物製劑的行為，如北美於 1984 年由 Rajneeshee 使用 *Salmonella enteric* Typhimurium 污染 10 間當地的沙拉吧，造成 751 名感染，其中 45 名住院治療，所幸無人死亡，其所使用之生物製劑是由 ATCC 所購買並於實驗室內增殖；1995 年，於日本地鐵發生的恐怖攻擊，是由 Shoko Asahara(麻原彰晃)等人所策劃，於地鐵使用沙林毒氣共計造成 13 人死亡，超過千人受傷。由 Shoko Asahara 所領導的奧姆真理教於 1990~1995 年共計策畫發動多達 17 次的生物及化學攻擊行動。美國於 2001 年 911 恐怖攻擊事件後國內發生多起炭疽信件，炭疽信件被寄往紐約市的 ABC、CBS、NBC 新聞台及 *New York Post* 及佛羅里達州的 *National Enquirer* 等處，共計造成 5 人死亡。再再顯示顯示提升生物防護的意識是有必要的。

因此聯合國安全理事會第 1540 號決議案要求所有國家採取有效措施以防範 NBC 武器(nuclear, biologic, chemical)落入非國家行為者(non-state actor)中。各國依據此決議訂定國內相關法規，如新加坡於 2006 年訂定 Biological Agents and Toxin Act (BATA)；歐洲標準化組織(European Committee for Standardization; CEN)於 2008 年所公告之 CWA15793(實驗室生物風險管理規範)，其內容為協助實驗室架構一套生物風險管理系統；澳洲於 2009 年訂定 The National Health Security (NHS) Act 對於 Security Sensitive Biological Agents (SSBA) Regulatory Scheme 提出更詳細的規範等。

(四) 廢棄物管理及汗水處理

為了保護人類及環境免於實驗室及動物設施中生物有害物質的影響，需要特別注意實驗室廢棄物管理及汗水處理。

廢棄物包含實驗室拋棄之廢棄物(液體或固體)、實驗室重複使用之玻璃器具、建築物材料、工具及實驗室儀器、洗滌、廁所沖洗及滅菌的液體、動物及動物排泄物等。

汗水處理系統大致可分成化學性、加熱式及混合處理方式，化學性處理系統通常是使用 NaOH、KOH、NaOCl 或是 ClO₂，可處理 38L~>20,000L 的汗水容量。相較於加熱式處理系統花費較低，且不需加熱系統及冷卻系統。加熱式處理系統會依據病原體不同要使其達到不活化的溫度及時間也不同(表四)。

表四、加熱式處理系統所需不活化病原的溫度及時間。

Microorganism	93°C	93°C Peroxide	100°C	121°C
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	> 10 h	< 1 h	~ 10 h	< 15 m
<i>Bacillus atrophaeus</i>	< 45 m	< 45 m	< 30 m	< 1 m
<i>Bacillus anthracis</i>	< 45 m	< 45 m	< 30 m	< 1 m
All vegetative bacterial, fungal, and viral pathogens	< 15 m	< 15 m	< 10 m	< 30 s

*Assumes wet heat, (dry heat requires dramatically longer times).
*10 log 6 reduction is the standard of reduction for this chart.

加熱式處理系統可分為 Continuous Flow System (連續流式)及 Batch System (批次系統)(圖一~四)。Continuous Flow System 較節省能源，但是汗水內不可有大於 4mm 的顆粒存在或是有超過 1% 的固體顆粒存在(尤其是動物排泄物)，則需要搭配研磨機幫浦(macerator pump)，控制及維持系統較為複雜，每小時可處理的汗水流量 500~12,000L；Batch System 為全世界最常使用的汗水處理系統，操作使用成本較高，可加熱至 129°C 以上 1 分鐘使 *G. stearothermophilus* 被破壞，

可處理含有較多固體成分的污水(動物排泄物)



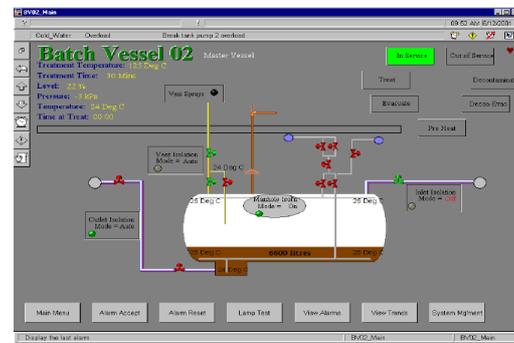
圖一、AAHL Continuous Flow System 污水處理系統。



圖二、Continuous Flow System 的冷卻系統。



圖三、AAHL Batch System 污水處理系統。



圖四、Batch System 操作管理介面。

屍體廢棄物處理方式：焚化、鹼水解屍體(Alkaline hydrolysis)、化製。焚化是實驗室廢棄物處理最常使用的方法，但使用成本昂貴，且需符合空氣品質排放標準(隨著空氣品質排放標準的提高，要達到標準越來越困難)，溫度達到 850°C 以上可以破壞 BSE；鹼水解屍體可容納的容量 4,000~10,000 磅(lb)不等(依設備不同)，處理時間約 3~6 小時，可使用高溫(需搭配加壓系統)或低溫(<97°C)處理，於 >150°C 處理 6 小時，可破壞所有已知病原。

高溫高壓滅菌(autoclave)為高壓情況下使用蒸氣及熱破壞病原微生物，壓力可使蒸氣獲得高能量以增加滅菌能力。濕熱滅菌遠較乾熱滅菌來得有效。

Autoclave 的效率由下列因素所影響：

1. 移除空氣：若待滅菌物品有空氣存在，空氣會作為熱傳導的絕緣物質，隔絕待滅菌物與濕蒸氣之間的接觸。打包實驗室廢棄物時需注意盡可能排空其內的空氣。
2. 廢棄物時，可於袋內或容器內倒入適量的水，增加袋內蒸氣之產生。
3. 是否潮濕。
4. 熱穿透力。
5. 蒸氣品質。

其他使用高溫高壓滅菌器注意事項包含滅菌器裝載量不要過多(越少越好)、勿將化學物質、電池、易燃液體、及福馬林等放入滅菌器、銳利物品放置容器及袋中加入適量的水、相關文件登記供追蹤回溯用等。

高溫高壓滅菌器開啟前必須需確認壓力已被釋放或是降至 0，且溫度已降低室溫，避免過熱液體的噴發(勿移動或搖動)，並穿戴安全設備(防水圍裙、全臉面罩或護目鏡、耐熱手套等)。

(五) 實驗室廢棄物滅菌的確效

廢棄物滅菌到達預期滅菌溫度的時間會受到:待滅菌物的大小、密度、導熱能力等都會影響(例：塑膠桶內 8L 的水到達 121°C 需 1 小時)(表五)。待滅菌物放入滅菌器內需注意：裝瓶液體滅菌前需旋開瓶蓋、待滅菌容器內添加水(如蒸氣無法進入 bio-can 內進行滅菌)、滅菌袋口勿細綁(會使蒸氣無法進入袋內)等。

表五、不同待滅菌物達到預期溫度所需的時間。

Load type	Time to reach 121°C
400mL in 500mL Schott bottle	5 minutes (therefore 20min cycle req.)
500mL in 1L conical flask	10 min
1L in 2L conical flask	15 minutes
40L –various sized Schott bottles	15 minutes
Inside base of dry 60L bins	2 hrs (DD cycle)

Rabbit carcass (core temp. 6°C)	4.5 hrs
2 x 20kg pig carcasses at 4°C	118°C after 7.5 hrs (DD cycle)
Bio Can –dry	86 minutes
Bio Can –water added	4 minutes
Autoclave bag -neck taped	20 minutes
Autoclave bag -no tape, neck open	0 minutes
Tip boxes stacked 2 high	5 minutes
Tip boxes stacked 4 high	17 minutes
20L water in tote box	23 minutes
6L water in plastic tub	66 minutes

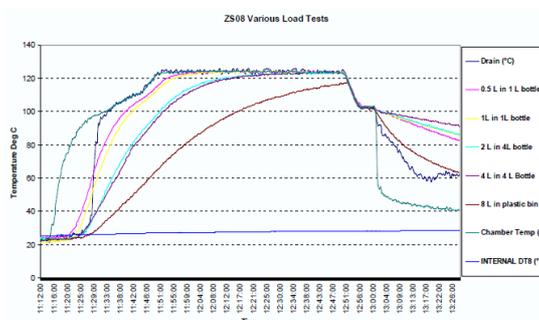
另需注意不是所有放置銳利物品容器皆可滅菌，有些會因滅菌溫度而溶解導致銳利物品穿刺出來，需特別小心。

高溫高壓滅菌器的確效方式：放置探針於待滅菌物品內監控滅菌流程(到達預期溫度的時間)(圖五~六)、生物指示劑、化學指示劑、酵素指示劑、滅菌指示帶(不準確)等方式。

蒸汽消毒(steam sterilization)是最好破壞感染性物質的方法，而高溫高壓滅菌器(autoclave)是實驗室最主要用來破壞感染性物質的裝置，然而高溫高壓滅菌器並不總是 100% 有效，問題點在於滅菌器的效率。蒸氣及熱只能消毒和其接觸的物品上的感染性物質。於實驗室丟棄已滅菌的廢棄物前，請確保實驗室的高溫高壓滅菌鍋及操作相關過程可確實使得廢棄物被滅菌。



圖五、待滅菌物放置探針監控滅菌流



圖六、待滅菌物滅菌過程中達到要求溫

程。

度的時間。

(六) 實驗室感染的途徑

實驗室感染的途徑大致可分為下列幾種：

1. 直接接觸：經由皮膚或眼進入。
 - (1) 經由皮膚進入：如 Rabies、West Nile、Dengue、HPV 可經由咬傷、穿刺傷、紋身、破孔等進入造成感染。為避免病原經由此途徑造成感染，實驗室人員盡可能不使用銳利物品，若需操作銳利物品則需完成相關訓練。丟棄針筒時，直接丟棄針筒入銳利物質收集容器(勿試圖要蓋上針蓋及勿試圖將針和針筒分離)，配戴防切防穿刺手套進行操作。
 - (2) 經由眼進入：如 Adenovirus、Herpesvirus、Influenza 病毒，實驗室人員可能會經由潑濺或用手指揉眼而經由眼結膜而感染。為避免感染，實驗室人員應降低實驗室潑濺的發生，實驗室工作期間避免用手碰觸臉及眼睛。於生物安全操作櫃操作相關實驗(仍需配戴安全眼鏡)，有必要時配戴全臉面罩或是安全眼鏡及口罩。
2. 吸入：如 Influenza、rhinoviruses、SARS、RSV 等病毒經由呼吸道進入造成感染。為避免感染，實驗室人員操作超音波處理(sonicating)、震盪混合時避免產生懸浮微粒。實驗室工作期間避免用手碰觸鼻子。離心機選用可完全密封的離心機轉子。穿戴呼吸道保護用具如口罩、呼吸器、PAPR 等。
3. 食入：如 Norovirus、Astrovirus、Hepatitis A&E 等病毒經由胃腸道進入造成感染。為降低此途徑造成感染的可能性，實驗室人員應降低實驗室潑濺的發生。實驗室工作期間避免用手碰觸口。穿戴面部保護用具如口罩、PAPR 等
4. 泌尿生殖道：如 HIV、Papillomaviruses、Hepatitis B、HSV 可經由泌尿

生殖道進入造成感染。希望實驗室感染不是經由此途徑所造成。

為避免實驗室感染的發生，除操作人員配戴相關安全防護裝備外，養成良好的實驗室操作習慣外，實驗室人員需養成於實驗室操作結束後清潔雙手的習慣。

(七) 意外及實驗室感染

20%的實驗室感染(動物造成的傷害、使用銳利物質時發生的意外、食入、皮膚或黏膜受到潑濺、吸入感染性懸浮微粒等)和明顯的微生物危害有關。

實驗室可能發生的意外，如離心機運轉時，離心管破裂；培養細菌的培養皿掉到地上；於顯微鏡觀察時，細胞培養瓶破裂液體漏出；動物接種時，發生針穿刺傷的意外等等。

1978~1998年及2000~2009年造成實驗室感染的病原微生物如表六~七，歷年常見造成實驗室感染的病原微生物為 *Brucella sp.*、*Salmonella spp.*、*Mycobacteria tuberculosis* 等。

表六、1978~1998年十大造成實驗室感染的病原微生物。

10 most common infections (1978-1998)
Accounted for 1,074 (85%) of 1,267 overt infections
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Coxiella burnetii</i>
Hantavirus
Arboviruses (VEE)
Hepatitis B virus
<i>Brucella spp.</i>
<i>Salmonella spp.</i>
<i>Shigella spp.</i>
Hepatitis C virus
<i>Cryptosporidium spp.</i>

表七、2000~2009年造成實驗室感染的病原微生物。

Organism	Numbers infected / deaths
<i>Brucella sp.</i>	13 infected
<i>Neisseria meningitidis</i>	3 infected 2 deaths
<i>Francisella tularensis</i>	2 infected
Anthrax	1 infected
West Nile virus	2 infected
Vacciniavirus	7 infected
Ebola virus	2 infected 1 death
<i>Yersinia pestis</i>	1 infected 1 death
SARS	10 infected 1 death
<i>Salmonella enteritidis</i>	18 infected
<i>Mycobacteria tuberculosis</i>	3 infected
<i>Vibrio cholera</i>	1 infected
<i>E. coli</i> O157:H7	4 infected
TOTAL(not a complete listing)	>67 (7.1 LAIs per year)

回顧實驗室感染病例之發生原因，可能是因為病原經由空氣傳播、未配戴口罩及安全眼鏡導致病原經由黏膜接觸而感染、病原經由處理後未完全不活化、裝有病原之容器於運送途中意外破裂、使用針筒時發生穿刺意外、操作病原微生物未穿戴個人保護性裝置。實驗室感染的意外仍持續發生，實驗室人員不可輕忽實驗室感染所造成的危害。實驗室人員需了解所操作的病原微生物為何及所造成的症狀為何，且是否有相關疫苗可供免疫，於實驗室穿戴個人保護性裝置於生物安全操作櫃內操作病原微生物以降低實驗室感染的可能。

(八) 暴露後監控及健康監測

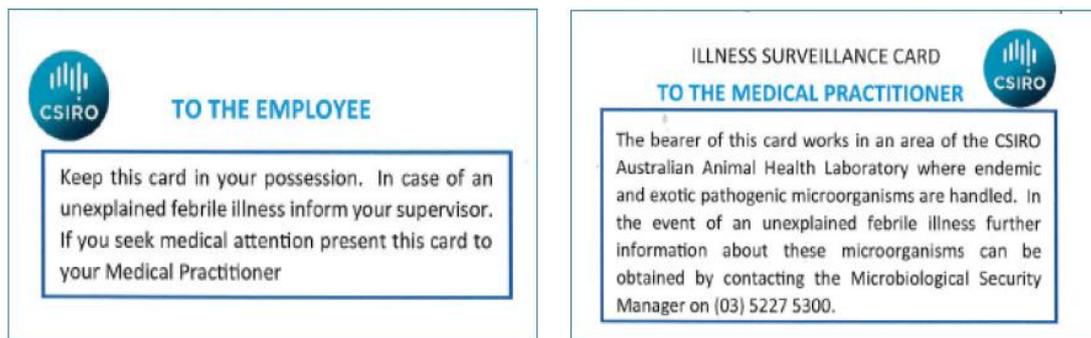
實驗室人員暴露後監控包含：醫療諮詢及緊急應變計畫、醫療監測、基礎血清檢測、免疫、操作第4危險等級病原的實驗室人員特別應變措施。試驗機構應詢求醫療諮詢以確保試驗機構之人員健康監測及醫療監控計畫。

並應建立暴露後醫療處理的反應計畫，內容包含實驗室人員暴露後的立即處理回報、可能的暴露後預防方式、建議的診斷測試、醫學專家的評估等。此反應

計畫應免費提供給試驗機構的所有員工。

有暴露於病原風險的實驗室人員都應進行基礎血清的收集，血清收集後應標示血清來源、儲存方式、誰是可授權使用血清進行測試的授權者、誰是可要求使用血清進行各項測試及檢視測試結果的人等，當試驗人員離開試驗機構後其儲存之血清應被銷毀。有些機構並不會採集所有人員的基礎血清(依據試驗人員工作的暴露風險的不同)，取而代之將會於人員已知暴露於病原後立即進行血清收集，並於暴露後 2 週再次進行血清收集，以觀察血清中針對病原的特異性抗體是否有上升。

操作病原的實驗室人員若出現身體不適，尋求醫療協助時，需攜帶 illness surveillance card(圖七)並告知醫療人員，自身有接觸操作相關病原的情況，以幫助醫療人員進行診斷並作相對應的處理(但亦有操作高危險病原的實驗室人員反應，攜帶 illness surveillance card 就醫，反而使得醫院立即啟動高規格的隔離措施)。



圖七、AAHL 試驗人員尋求醫療協助時需攜帶的 illness surveillance card。

實驗人員操作病原前須接受相關疫苗免疫(如操作狂犬病病原的試驗人員須先進行人用狂犬病疫苗免疫)，需特別注意沒有疫苗是 100% 有效，實驗室人員正確穿戴個人保護性裝備及良好安全的操作病原才可以降低暴露於病原的風險。

當於生物安全等級 4 的實驗室操作第 4 危險群的病原時，應設置相關系統，如若發生意外或暴露於病原時須立即回報，監控人員出缺勤、與實驗室相關疾病

的醫療監測等。年度須進行醫療評估，以確定於穿著 P4 正壓防護衣進行操作是沒問題的，另人員需進行強制急救培訓以應對需於生物安全等級 4 的實驗室進行心肺復甦的情況。

(九) 標準預防措施及安全操作銳利器具

試驗人員無法得知操作的檢體其內所感染病原為何，操作所有血液、體液及其他可能是感染性物質的檢體就視為操作感染性物質，標準預防措施如圖八。進行實驗室、動物、及野外操作時，需先確認暴露於感染性物質及被污染之物品表面的風險。並依據風險選擇適當的個人保護性裝備(PPE)，確保實驗室人員穿戴個人保護性裝備為例行動作。



圖八、操作檢體時的標準預防措施，以降低和感染性物質接觸的可能。

當可能暴露於感染性物質時，實驗室人員皆須穿戴 PPE，PPE 可作為與感染性物質之間的隔離屏障。穿戴 PPE 時有一些基本規範，於可能暴露於潛在感染性物質的情況下需穿戴 PPE(當操作可能會有潑濺的可能，穿戴實驗室長袍、手套及護目鏡)、當 PPE 喪失作為與潛在感染性物質之間的隔離屏障的功能時，移除並重新穿戴新的 PPE、在離開實驗室工作區域前移除 PPE、被污染的 PPE 需

妥善丟棄於生物廢棄物容器(biohazard containers)。

各項 PPE 簡介如下：

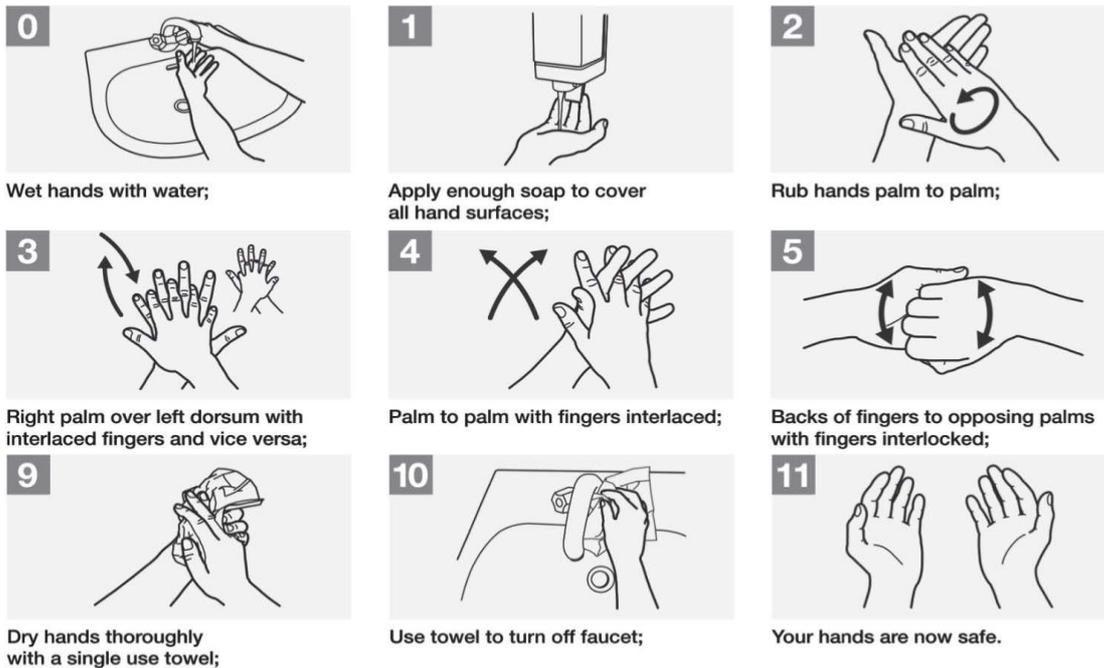
1. 手套：於實驗室、野外或操作動物時需穿戴。與潛在感染性物質接觸後進行不同試驗操作時需更換手套。於試驗操作後，接觸非污染性物質與桌面前更換手套。移除手套後，立即進行手部清潔。
2. 臉部保護(眼、鼻、口)：進行感染性或潛在感染性物質(或化學物質)操作時可能會產生潑濺時需穿戴外科口罩及眼睛保護器具(護目鏡、安全眼鏡等)或是穿戴全臉面罩以保護眼鼻口黏膜。
3. 實驗衣長袍：進行感染性或潛在感染性物質操作時可能會產生潑濺時，穿戴實驗衣長袍以保護皮膚及避免衣服被汙染。離開實驗室前移除髒的實驗衣長袍，並立即進行手部清潔。實驗衣長袍需經常進行滅菌及清洗。

實驗室人員需進行手部清潔的時機：不論使否有穿戴手套，於動物、感染性物質或潛在性感染性物質直接接觸前及接觸後；手套移除後立即進行；接觸血液、體液、分泌物、排泄物及汙染物後(不論是否有穿戴手套)；於實驗室接觸非生命物質後，皆應進行手部清潔。

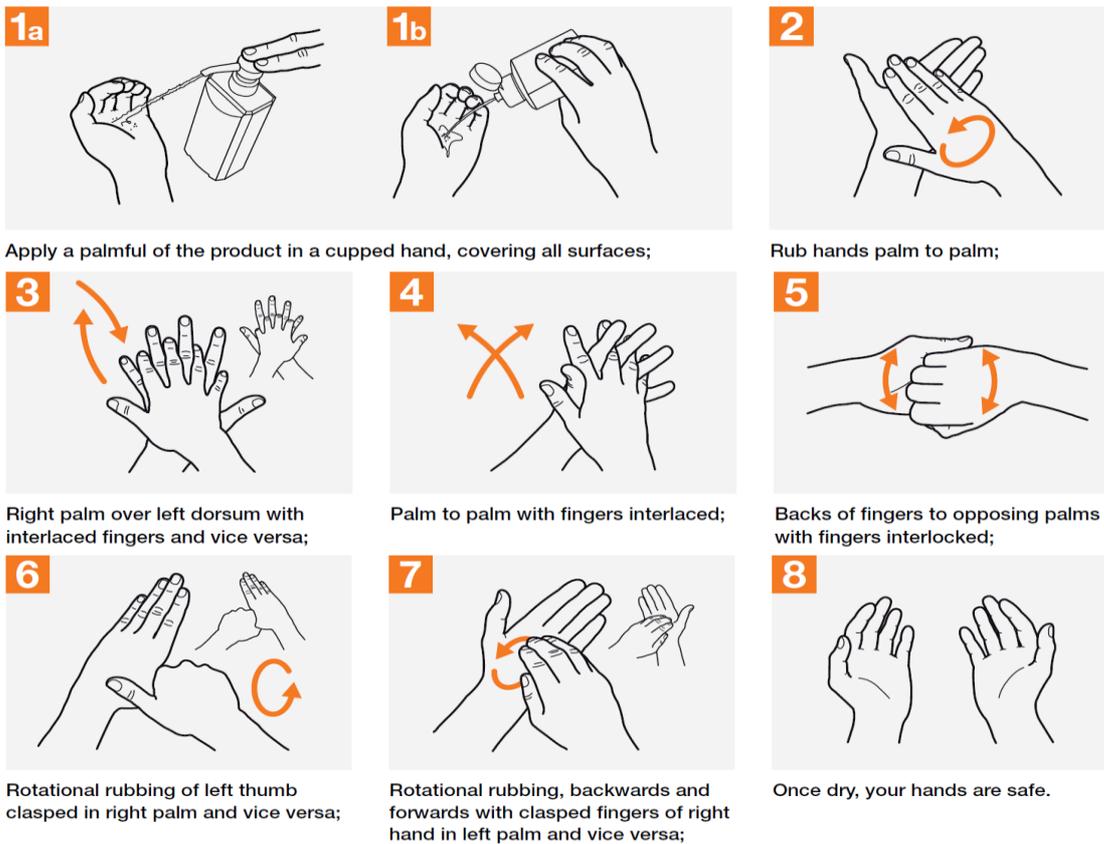
正確移除手套步驟如圖九。手部清潔技巧說明，可分為洗手(hand washing，約需 40~60 秒)及搓手(hand rubbing，約需 20~30 秒)，清潔步驟如圖十~十一。



圖九、正確移除手套之步驟。

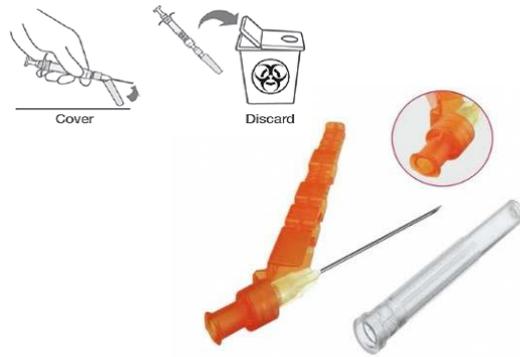


圖十、實驗室人員手部清潔(洗手)之步驟。



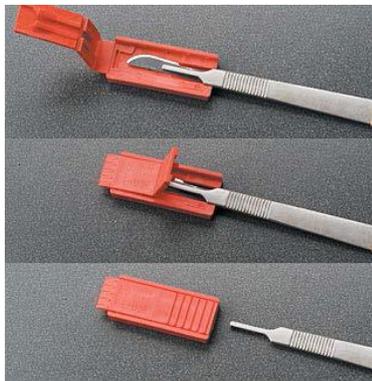
圖十一、實驗室人員手部清潔(搓手)之步驟。

為了降低實驗室人員操作銳利器具造成的皮下傷害，建議降低操作銳利器具的需求、操作針筒時勿回蓋、針筒連針直接丟棄、操作銳利器具時搭配安全裝置使用、操作時穿戴防穿刺手套、動物實驗操作時確保動物已被適當地鎮靜等(圖十二~十三)。



圖十二、藥品抽取時可搭配使用之安全裝置。圖十三、取代針蓋使用的安全裝置。

降低使用手術刀所造成的傷害，部分發生於拆卸重複使用的手術刀刀片時，建議拆卸時穿戴防穿刺手套，或是使用安全移除裝置(圖十四)。



BladeFLASK
100 | Scalpel Blade Removal System



圖十四、各式拆卸手術刀刀片的安全裝置。

實驗室使用剪刀避免使用雙尖頭剪刀，建議使用雙鈍頭剪刀或一尖頭一鈍頭剪刀以降低傷害發生。建議以塑膠製產品取代玻璃製產品(如滴管及吸管等)。

(十) Aerosols, respiratory protection and fit testing

多數的實驗室感染都被推測為經由懸浮微粒(aerosol)所造成。操作樣本的

titer 越高導致產生感染性懸浮微粒產生的可能性增加，懸浮微粒亦可能起源自 dry material，如動物的墊料、細菌培養皿、冷凍乾燥物質等。

於實驗室操作感染性物質時發生意外(如離心時發生破裂、培養瓶破裂、瓶子掉落或發生潑濺等等)，產生的懸浮微粒數目如表八。

表八、模擬實驗室意外發生時，產生感染性懸浮微粒的數量。

Accident (10⁹ spore/ml suspension)	Aerosol Generated (cfu/m³)	CONTROL
Centrifuge Rotor Leak*	2.30 x 10 ⁴	SEALED ROTOR
Flask Breaks in Shaking Incubator*	1.15 x 10 ³	USE PLASTICWARE
Dropping Large 2L Bottle*	1.37 x 10 ⁴	USE PLASTICWARE
15ml Spill from 1m*	2.07 x 10 ³	WORK IN CABINET

實驗室意外發生產生之懸浮微粒存在於空氣時間會依產生之懸附微粒越小存在時間越長(表九)。對應病原顆粒大小(表十)，以布氏桿菌為例，顆粒大小為 0.566μm，而大小 0.5μm 的顆粒可存在於空氣中長達 41.7 小時。

表九、懸浮微粒顆粒大小及存在於空氣之時間。

Particle Size (μm)	Time aloft
20	1.5 min
10	8.3 min
5	35.7 min
2	2.8 hrs
1	12.0 hrs
0.5	41.7 hrs

表十、病原顆粒大小。

Particle	Size (μm)
Pollen	20

<i>Clostridium sp</i>	5.0
<i>Bacillus anthracis</i>	1.118
<i>Brucella sp.</i>	0.566
<i>Coxiella burnetii</i>	0.283
Hantavirus	0.096
Ebola	0.088
Parvovirus	0.022

懸浮微粒直徑大於 0.1mm，會污染環境表面。懸浮微粒直徑 5~100 μ m 是可被吸入的，可於 0.4~1.7 秒間被蒸發，且感染性懸浮微粒可停留於空氣中。而 50~100 μ m 的懸浮微粒可被鼻腔黏膜所捕捉，實驗室會導致產生 >50 μ m 懸浮微粒的操作為使用微量吸管操作時(沒有明顯的潑濺)、打開冷凍乾燥的培養瓶時、離心等動作。<5 μ m 的懸浮微粒可進入肺泡，實驗室會導致產生 >5 μ m 懸浮微粒的操作為震盪、自動微量吸管操作時、蛋接種後收穫時、培養皿／瓶掉落時等動作。

實驗室人員依據其需求穿戴適當的呼吸器(respirator)。呼吸器等級分為下列三種，其等級會標示於呼吸器表面：

1. P1：可阻隔機械性產生之顆粒。
2. P2：可阻隔機械性及熱所產生之顆粒(可用於 RG2 及 RG3 等級病原)。
3. P3：可阻隔所有顆粒，可提供最高層級的保護(可用於 RG2 及 RG3 等級病原)。

呼吸器防護係數(Protection factor, PF)為環境中有害物質濃度／防護具內有害物質濃度。指定防護係數(Assigned Protection factor, APF)為裝置在時間內可提供的 95%的保護。一 APF 係數為 10 的呼吸器可使用於有害物質濃度為 10 倍容許濃度(Permissible exposure limit, PEL)的情況下。不同呼吸器的防護係數如表十一。

表十一、各式呼吸器的防護係數。

MPF*	Respirator type	Comment
10	Half-facepiece (P2 or N95)	Respirator needs to be fit tested to the individual
50	Powered air purifying respirator (PAPR) with half-facepiece	Devices covering half-face provide lower levels of protection
50	Full-facepiece respirator with P3 or HEPA filter	Respirator needs to be fit tested to the individual
100	PAPR with P3 or HEPA filter and head-covering hood	Considered to provide high protection. Fit testing to the individual not required
10 000	Self-contained breathing apparatus (SCBA) with positive pressure demand	Not practical for most microbiological applications

* Minimum protection factor that could be assigned to the respirator type

呼吸器穿戴的基本原則：當呼吸器變潮濕時，需更換新的呼吸器、當呼吸器被移除後，不可再次穿戴被移除的呼吸器、碰觸呼吸器後及丟棄呼吸器後須立即清潔手部、確認呼吸器沒有任何破損等。每次穿戴呼吸器需自行確認是否穿戴合適，絕對不要重複使用呼吸器，一旦呼吸器變潮濕或有破損需立即更換，穿戴呼吸器前及丟棄呼吸器後需進行手部清潔。

影響呼吸器穿戴是否完全合適的因子：是否有鬍鬚、臉型、長髮、耳環、眼鏡等因子。新進人員或第一次使用呼吸器人員、改變使用的呼吸器廠牌等的情況下需進行呼吸器 Fit testing。Fit testing 有兩種：Qualitative 及 Quantitative，比較如表十二。

表十二、Qualitative及Quantitative Fit testing之比較。

Qualitative	Quantitative
Inexpensive (\$400for 3M kit)	Expensive(\$18K)
Relies on subjective response	Objective measurement
Simple to use	Allows quick determination
Particle test (not gas or vapour)	Generates particles or measures existing
Not suitable for high Factor devices PF>100	Can test PF>100
Some people don't respond to reagents	Maintenance and calibration required

(十一) 意外及潑濺的反應

實驗室發生針頭穿刺、切傷或咬傷等的處理方式如下：

1. 移除手套前先用肥皂清除污染(decontaminate)動作。
2. 立即使用肥皂及流動清水清潔傷口(若無法取得肥皂及清水，可使用80%酒精清潔)。
3. 如果針頭穿刺導致出血，勿過度擠壓造成額外創傷。
4. 如果是切傷，使用乾淨繃帶加壓止血。
5. 盡速告知實驗室主管或是生物安全辦公室人員意外的發生，並確保後續監控流程可及時展開。

實驗室發生潑濺(Splash)的處理方式如下：

1. 以清水或生理食鹽水沖洗黏膜及眼睛(移除隱形眼鏡)。
2. 若眼睛被潑濺到，張開眼睛以清水或生理實驗水沖洗至少30秒。
3. 若血液或體液潑濺入口中，將其吐出並用清水沖洗口腔數次。
4. 若皮膚未受傷但被潑濺到，立即以肥皂及清水清洗。
5. 若衣物被污染，移除衣物，必要時進行淋浴。
6. 立即回報意外的發生。

實驗室發生溢出(Spill)的處理方式會依據病原的生物安全等級、意外發生的位置及病原的溢出量及感染性而有所不同。針對溢出的處理方式如下(RESPOND)：

1. Remove contaminated clothing：移除所有污染衣物。
2. Exit the area：立即離開實驗室(避免吸入感染性懸浮微粒)。
3. Stop others entering：於實驗室進出口貼出警告，避免其他實驗人員進入。
4. Phone：通知生物安全辦公室人員意外的發生及後續處理方式。

5. Organise clean up：與實驗室主管及生物安全辦公室人員討論後續處理溢出的方式，準備消毒劑、拖把、吸收物質、及 PPE(手套、安全眼鏡、呼吸器、實驗衣長袍、鞋子等)做清潔的準備。
6. No rush：進行感染區域及感染性懸浮微粒的消毒，至少要 30 分鐘。若實驗室有定向氣流，則會經由 HEPA 移除懸浮微粒。
7. Decontaminate area：於實驗室主管及生物安全辦公室人員指導下進行污染區的清潔消毒。若生物安全辦公室人員認為有必要的情況下，進行實驗室福馬林燻蒸消毒。

消毒劑的選擇：依據病原特性及溢出量做消毒劑的選擇，並配置新鮮的消毒劑藥水。70%酒精不適合作為溢出清潔時使用的消毒劑，但可用於乾淨的生物安全操作櫃的表面清理。

(十二) 實作訓練

訓練期間除了課程講解外，亦實際操作相關訓練內容。實際進行滅菌鍋的溫度確效試驗，於不同情況下的實驗室廢棄物安裝探針(圖十五~十六)，觀察滅菌過程中不同情況下廢棄物的溫度上升情況。



圖十五、於各式廢棄物內安裝探針。



圖十六、利用監測器觀察溫度上升情況。

實驗室人員良好操作訓練可利用螢光粉末進行，人員穿戴實驗衣長袍及手套後，以手沾取粉末(其內混入螢光粉末)，請實驗室人員依據各自操作習慣脫除手

套，再以藍光觀察實驗衣是否有螢光粉末附著，以測試人員是否正確脫除手套，而不汙染實驗衣物。

實驗室人員良好手部清潔習慣亦是利用螢光粉末進行，依據洗手及搓手分組，洗手人員使用洗手液(內混入螢光粉末)依據手部清潔步驟後，以清水洗淨手部。搓手人員使用凝膠洗手液(內混入螢光粉末)依據手部清潔步驟清洗。以藍光觀察手部，洗手人員若有確實清洗乾淨，則手部不會有螢光物質殘留，搓手人員若有確實清潔，則螢光物質會均勻遍布手部(圖十七~二十)。



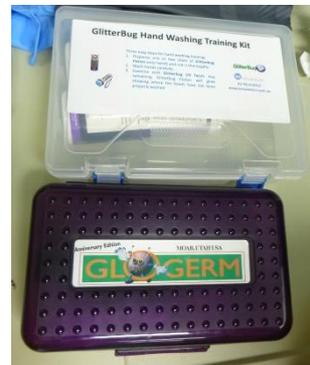
圖十七、人員以洗手液清洗手部。



圖十八、人員以凝膠搓洗手部。



圖十九、以藍光觀察，搓手人員可見螢光物質均勻分布於手部。



圖二十、人員訓練手部清潔的訓練用品。

實驗人員練習穿戴呼吸器，並介紹穿戴 PAPR 前需先進行數項檢查(確認電池、確認正常運作等)後，再進行配戴(圖二十一~二十二)。

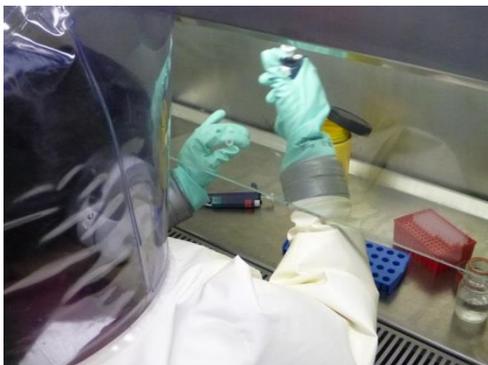


圖二十一、講師講解配戴 PAPR 前需先 圖二十二、人員進行 PAPR 的穿戴。
進行測試有無正常運作。

P4 正壓防護衣測試及穿戴實作，P4 正壓防護衣穿戴前須先選擇試驗人員配戴之手套，以膠帶纏繞手套於 P4 正壓防護衣後，將拉鍊拉起後，進行壓力測試，確認防護衣不會洩漏或洩漏仍於容許範圍內，便通過測試。人員穿戴 P4 正壓防護衣後，於生物安全操作櫃內模擬實驗操作微量吸管分裝樣本。操作結束後，P4 正壓防護衣需進行 chemical shower 以消毒防護衣外表(圖二十三~二十六)。



圖二十三、講師講解 P4 正壓防護衣的 圖二十四、人員穿戴 P4 正壓防護衣。
壓力測試。



圖二十五、人員穿著 P4 正壓防護衣操作微量吸管。 圖二十六、進行 chemical shower 清潔防護衣。

實驗室意外發生處理之模擬操作，以螢光染劑作為感染性物質模擬實驗室潑濺意外發生之處理(圖二十七~三十)。實驗室培養盤不小心掉落後，以藍光觀察螢光染劑之分布，觀察掉落後螢光物質潑濺的範圍，意外發生後依照 RESPOND 針對實驗室潑濺進行反應處理。



圖二十七、模擬實驗室發生潑濺，觀察螢光物質分布。



圖二十八、潑濺發生後以 RESPOND 反應，禁止人員進入意外發生實驗室。



圖二十九、人員穿戴 PPE 後進行清理。



圖三十、講師建議最後環境消毒，可將消毒劑大量噴灑於環境中進行消毒。

三、 心得與建議

感謝行政院農業委員會科技處提供經費及本所長官提供本次珍貴機會參加本次研習，感謝澳洲動物衛生實驗室舉辦本次研習，並感謝 Dr. Greg Smith 及 Dr. Andrew Hill 於研習期間課程教授及實作之講解。本次研習內容主要著重於實驗室生物安全訓練。相關心得整理如下：

- 專業分工

澳洲動物衛生實驗室為澳洲國家級動物疾病診斷中心，並具有生物安全第 4 等級 (BSL-4) 實驗室，此次研習有幸參觀設施內部，對 AAHL 機構內水電、負壓系統、空氣過濾系統、廢水系統有粗略了解，為了管理並維持實驗室有效運作，AAHL 並有專業機電團隊，負責整個試驗機構的機械、水電、廢棄物等的維護，以維持整個系統的良好運作。

AAHL 並有 Microbiological Security Group 主要負責機構內病原微生物管理、人員生物安全訓練、實驗室儀器定期確效等工作項目。並提供機構內實驗室人員對於生物安全的疑問及提出建議。

試驗機構並不是僅由試驗人員所組成，維持機構運轉的機電專業人員，及確保實驗機構生物安全的生物安全人員都有必要存在的價值。

- 實驗室儀器定期確效

確保實驗人員及環境安全，儀器的定期確效十分重要。滅菌器有正常運作並不代表其內的感染性廢棄物便有被完全破壞，未被完全滅菌的感染性廢棄物便可能汙染環境及造成人員感染。生物安全操作櫃有在運作，並不代表抽氣速率及 hepa 功能是正常的，在不是正常運作的生物安全操作櫃內操作病原微生物，便可能使得人員發生實驗室感染的可能性大增。

實驗室儀器定期確效十分重要，除了定期確效外，在滅菌鍋改變其滅菌程序

時也必須重新進行確效工作，以保護人員及環境安全。

- 嚴格的實驗室生物安全訓練

參加本次生物安全研習時了解,AAHL 人員要進入生物安全等級 3 實驗室進行操作前需進行 40 小時生物安全訓練，訓練通過後並經實驗室主管審核通過後才可於生物安全等級 3 實驗室進行相關試驗操作。若人員要進入生物安全等級 4 實驗室進行操作，需有相關生物安全等級 3 實驗室操作經驗，接受生物安全等級 4 實驗室安全訓練，訓練通過後並經相關主管同意後，才可進入生物安全等級 4 實驗室進行操作。嚴格的實驗室生物安全訓練皆是為了確保實驗室人員之安全，建議未來可逐步加強我國實驗室人員生物安全訓練，以保人員安全。

四、 附圖



圖一、參觀 AAHL 的生物安全等級 4 實驗室。



圖二、參觀 AAHL 的動物舍設施。



圖三、研習人員與講師於 AAHL 負壓設施內合影。



圖四、研習人員與講師 AAHL 入口前合影。