



勞工安全衛生研究報告

醫療從業人員之肺結核菌職業危害

TB Occupational Hazards among Health-Care Workers

醫療從業人員之肺結核菌職業性危害

TB Occupational Hazards among Health-Care Workers

研究主持人：陳秋蓉、辜志弘

計畫主辦單位：行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所

研究期間：中華民國九十三年三月一日至九十三年十一月三十日

印製日期：中華民國九十三年十二月

行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所
中華民國九十三年十一月



1. 勞工衛生 2. 肺結核

412.53

94002902

醫療從業人員之肺結核菌職業危害

著（編、譯）者：陳秋蓉、辜志弘

出版機關：行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所

221 台北縣汐止市橫科路 407 巷 99 號

電話：02-26607600 <http://www.iosh.gov.tw/>

出版年月：中華民國 94 年 2 月

版（刷）次：初版一刷

定價：100 元

展售處：

三民書局

<http://www.sanmin.com.tw/>

台北市中正區重慶南路一段 61 號

電話：02-23617511

台北市中山區復興北路 386 號

電話：02-25006600

國家書坊台視總店

<http://www.govbooks.com.tw/>

台北市松山區八德路三段 10 號 B1

電話：02-25781515#643

五南文化廣場

台中市中區中山路 6 號

電話：04-22260330

新進圖書廣場

彰化市中正路二段 5 號

電話：04-7252792

青年書局

高雄市苓雅區青年一路 141 號 3 樓

電話：07-3324910

- 本書同時登載於本所網站之「出版中心」，網址為 <http://www.iosh.gov.tw/>。
- 本所保留所有權利。欲利用本書全部或部分內容者，須徵求行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所同意或書面授權。

【版權所有，翻印必究】

GPN: 1009400495

ISBN: 986-00-0444-7

摘要

為瞭解結核桿菌在醫院空氣環境中對醫護人員之職業危害，我們使用縱貫性研究法來重覆測量此相關及其他之危險因素。

研究方法包括：以 $1\mu\text{m}$ 之濾紙連接在空氣採樣器上，在空氣中採樣 6 小時後用 PCR 來測量空氣中結核桿菌特異 DNA 片段定。並以問卷調查及 PCR 測量醫療從業人員唾液中之結核桿菌特異 DNA 片段定。

在本次研究空氣採樣檢體中，所有的檢體經過分析後都呈陰性反應；從問卷調查的分析結果發現，高危險組有持續咳嗽症狀的危險性是比較組的 2.64 倍；曾經在結核病房工作過的人有體重減輕症狀的危險性是比較組的 4.3 倍；高危險組有夜間盜汗症狀的危險性是比較組的 3.33 倍；高危險組有疲勞症狀的危險性是比較組的 1.9 倍；有飲酒習慣的人痰中有血絲的危險性是沒有飲酒習慣的 3.95 倍。

關鍵詞：結核桿菌、醫院、空氣採樣、縱貫性研究法。

Abstract

To study the tuberculosis exposures among the health care workers, we conduct a longitudinal study to evaluate the occupational hazards and risk factors.

Tuberculosis exposures in working air environment will be collected by using the PTFE filters connected with the personal air pumps, and samples will be detected by the PCR assay. Health effects will be evaluated by a questionnaire for previous working and disease histories, as well PCR for specific-DNA in the body fluids.

Results of the analyzed specimens are all negative. We found that high risk group has 2.64 fold risk to have a cough symptom than comparison group. Subjects who have worked at TB ward have higher a risk of losing weight (OR= 4.3). High risk group have a higher risk of sweat when sleep (OR=3.33) and feeling tired (OR= 1.9). Subjects who drink have a higher risk to have a symptom of blood in sputum (OR= 3.95).

Key Words: Mycobacterium tuberculosis, hospital, air sampling, longitudinal study.

目錄

摘 要	i
Abstract	ii
目錄	iii
表目錄	iv
第一章 計畫緣起	1
第一節 前言	1
第二章 研究目的	3
第二章 文獻探討	4
第一節 結核桿菌特性	4
第二節 結核病的危險因子	5
第三節 Cobas Amplicor 原理	6
第三章 研究方法與步驟	8
第一節 研究對象	8
第二節 作業環境空氣中結合桿菌之採樣方法	9
第三節 結合桿菌之偵測方法	10
第四節 問卷調查	12
第五節 統計方法	13
第四章 結果	14
第一節 研究對象人口學特性	14
第二節 研究對象之生活習慣與暴露情形	15
第三節 研究對象之罹病情況與自覺症狀	16
第四節 自覺症狀之相關因素探討	17
第五節 空氣採樣之結果	18
第五章 討論與建議	19
誌謝	21
參考文獻	22

表目錄

表 1 研究對象之人口學變項	25
表 2 研究對象之生活習慣與暴露情況	26
表 3 研究對象之罹病情況與自覺症狀	27
表 4 咳嗽之影響因素	28
表 5 體重減輕之影響因素	29
表 6 盜汗之影響因素	30
表 7 疲勞之影響因素	31
表 8 痰中有血絲之影響因素	32
表 9 空氣採樣檢體分析結果	33

第一章 計畫緣起

第一節 前言

結核分支桿菌（*Mycobacterium tuberculosis*）分佈範圍廣泛，以開發中國家為主要盛行地區，世界衛生組織評估全球將近三分之一的人口曾感染過肺結核；且每年約有 1%的人口受到感染，而每年死於肺結核者則大約有兩百萬人 [1]，是死亡人數及死亡率最高的感染性疾病。

民國九十年台灣地區肺結核發生率總計為十萬人口 64.84 人，男性為十萬人口 87.99 人，女性為十萬人口 40.64 人，男性結核病發生率約為女性 2.2 倍；年齡別發生率以 5-9 歲發生率最低（十萬人口 2.29 人），大致隨年齡逐漸增加，80 歲以上肺結核發生率為十萬人口 610.98 人；結核病歷年發生率有逐漸增加的趨勢。[2]

根據我國現行「勞工安全衛生法」第一章第四條第十一款之規定：「醫療保健服務業」為該法適用之行業。而「職業災害」係指就業場所之建築物、設備、原料、材料、化學物品、氣體、蒸氣、粉塵等或作業活動及其他職業上原因引起之勞工疾病、傷害、殘廢或死亡（第一章第二條）。「雇主對防止…生物病原體等引起之危害應有符合標準之必要安全衛生設備」（第二章第五條第七款）。雖然「勞工安全衛生法」第二章第七條明文規定「雇主對於經中央主管機關指定之作業場所應依規定實施作業環境測定；對危險物及有害物應予標示，並註明必要之安全衛生注意事項」。

雖然「勞工安全衛生法」第二章第七條明文規定「雇主對於經中央主管機關指定之作業場所應依規定實施作業環境測定；對危險物及有害物應予標示，

並註明必要之安全衛生注意事項」。但國內對職場作業環境中生物病原體之研究少之又少。尤其對傷、病患聚集之醫療保健作業環境及其從業人員之職業安全與衛生更付諸缺乏。

有鑑於此，本研究遂以結核桿菌科(Tuberculosis)，為研究之致病原(Agent)；來探討醫療保健作業環境(Environment)對其從業人員(Host)之危害。

以往有關 *Mycobacterium tuberculosis* 之研究大都集中在 1)其所感染部位之研究，例如：肺結核、腎臟結核等之疾病；或 2) *Mycobacterium tuberculosis* 對醫事人員之健康威脅[3][4][5]，例如：牙醫師之職業威脅[6]、對急診室工作(含醫護)人員之職業威脅[7]；而對其感染來源之環境偵測，則因採樣方法未標準化，相關之研究則少之又少。所幸美國國家職業安全及衛生研究所(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)於 1998 年 1 月 15 日公佈了標準化之 airborne *Mycobacterium tuberculosis* 之環境採樣及鑑定方法[8]。雖然 2001 年 4 月，美國加州柏克萊大學(UC Berkeley)公共衛生學院曾發表以 Double Repetitive Element- Polymerase Chain Reaction(DRE-PCR)之方法來診斷結核病，其檢體乃以實驗室之人體檢體為主[9]。至目前為止，除了發展 NIOSH 標準化之 airborne *Mycobacterium tuberculosis* 之環境採樣及鑑定方法之原作者外[10]，按照 NIOSH 之標準化環境採樣方法並不多見。本研究即在應用此項分子生物技術，來探討醫療作業空氣環境中結核桿菌暴露，對醫療保健服務從業人員之健康危害。

第二章 研究目的

1. 結核桿菌在醫療保健作業空氣環境中之盛行情形。
2. 結核桿菌對醫療保健作業人員之潛在性危害。
3. 提供決策當局對目前醫療保健作業人員之生物性危害預防政策之參考。

第二章 文獻探討

第一節 結核桿菌特性

結核桿菌屬於結核分支桿菌(*Mycobacterium*)，型態稍微彎曲，長約 1 至 10 微米，寬 0.2 至 0.6 微米，有時候會有分支。生長為絲狀或菌絲型態，但是容易分段成桿狀或是球菌狀的片段。結核桿菌具有細胞壁，且細胞壁脂質含量很高，且富含蠟質。[11]

細胞壁因為富含脂質，一般的苯胺染色劑無法有效的染色（格蘭氏染色法無法有效地將結核桿菌染色，但是仍然將結核桿菌分類為格蘭氏陽性），必須使用特殊的染色方法，主要是使得染劑容易留在分支桿菌細胞壁上，一旦染色後，即使用酸-醇也不容易將結核桿菌細胞壁上的染劑脫色，這個方法即是 acid-fast 染色法，可是在某些種別的分枝桿菌，則有例外發生，其特定部位的細胞在一些生長階段時，仍然可以使用酸-醇脫色。

分支桿菌屬於好氧菌、不會產生孢子，且不會運動，菌落的形狀因種別不同而有異，有的形狀平滑，有的粗糙，有的有顏色，有些則無。

另一個重要的特性就是其生長速度緩慢（約 2 至 20 小時才分裂一次），因此培養肺結核菌所需要的時間也相對較久；而由於抗生素的濫用，抗藥性肺結核菌因此出現。

第二節 結核病的危險因子

一、擁擠

在 1933 年，Frost 就已經發現在居家時所接觸到肺結核病患的人，會有較高的肺結核侵襲率[12]。在 1954 年時，stein 發現肺結核死亡率與擁擠高度相關，且肺結核的新個案數與過度擁擠(Overcrowding)亦呈高度相關[13]，近期的研究仍顯示同樣的結果，居住在非常擁擠區域的五歲以下兒童發生肺結核病的危險性比居住在不擁擠地區的兒童多了四倍[14]；但也有一個研究沒有發現擁擠與感染肺結核之間有顯著的關聯性[15]，與上述研究結果迥然不同。

二、社經狀態(Socioeconomic status)

許多研究皆發現社經狀態與感染肺結核是相關的。1963 年一個針對 maryland 州高中生的研究結果顯示，一家之主的教育程度高、居家不擁擠的狀態下，研究對象的結核菌素陽性率較低[16]，另外，在一個以教育程度高、收入高、技術性的職業者為研究對象的美國全國性健康檢查調查中顯示，其結核菌素陽性率是最低的[17]。

三、年齡與性別

早期的結核菌素皮膚測試調查發現，肺結核菌感染會隨著年齡的增長而增加，但熟齡者的感染機率卻開始減少[18]。在青春前期以前，男女性的結核菌素測試陽性率一直都相似，但是在青春後期之後，男性結核菌素陽性盛行率就高於女性[19]，這樣的差別可能是因為成年男性與女性在所扮演的社會角色及所參與的經濟活動不同，使得男性有較高的暴露機會而造成的[20]。

四、感染人類免疫缺乏病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)

HIV 感染的出現，成為了由感染結核桿菌者發展為結核病最重要的一個危險因子[21][22][23][24]。由於 HIV 病毒抑制宿主的免疫系統；已經感染結核桿菌及近期感染結核桿菌的 HIV 感染病患，便會快速的發展為結核病[25]。感染 HIV 的病患發展為結核病的危險性是沒有感染 HIV 的人的 2-26 倍[26]。

第三節 Cobas Amplicor 原理

COBAS AMPLICOR MTB Test 有四個主要步驟：檢體的製備；使用生物素化之引子以 PCR 增幅目標 DNA；增幅產物與具目標 DNA 專一性的核苷酸探針雜交；以呈色偵測與探針結合之增幅產物。

COBAS AMPLICOR MTB Test 可同時進行 MTB 目標 DNA 和分枝桿菌內部對照品(Myco IC) DNA 之增幅。Master Mix 試劑含有具 MTB 及 Myco IC 專一性的生物素化引子對。增幅的 Myco IC DNA 之偵測由使用者決定是否進行。

一、檢體的製備

NALC/NaOH, NaOH 或 SDS-NaOH 液化、去污染及濃縮之呼吸檢體(包括痰、支氣管清洗液、支氣管肺泡灌洗液)以呼吸檢體清洗液清洗，有機體以呼吸檢體溶解劑溶解，再加入呼吸檢體中和劑完成檢體準備。

二、PCR 增幅作用

(一)目標之增幅

依分枝桿菌基因體中，各種結核分枝桿菌複合物基因型中最大保存性序列的鑑別區域來選擇標的物 DNA 之序列。適當選擇引子及探針對於試劑偵測所有結核分枝桿菌複合物之能力是很重要的。分枝桿菌基因體含有 16S rRNA 基因約 1,500 個核苷酸，COBAS AMPLICOR MTB Test 使用專一性生物素化引子 KY18 及 KY75 來偵測此區域約 584 個核苷酸序列。

將處理好之檢體加入反應管(A-tubes)之增幅混合物中，熱循環器加熱使雙股 DNA 變性分離並暴露目標引子序列，當混合物冷卻，生物素化引子 KY18 及 KY75 會黏著於結核分枝桿菌及 Myco IC 目標 DNA；在過量 dNTPs 包括 deoxyadenosine, deoxyguanosine, deoxycytidine, deoxyuridine(取代 deoxythymidine) triphosphates 存在下，熱穩定性之 DNA 聚合酶 Taq polymerase 會延著標的物模板延伸黏著的引子，產生一 DNA 序列，稱為 amplicon；這個過程被重覆數個循環，每個循環可有效的倍增 amplicon DNA 含量。在此測試中，需要之循環數由 COBAS AMPLICOR 自動執行。

(二)內部對照品增幅

以酵素增幅之步驟，如：PCR，其效能可能因存於臨床檢體之抑制物而降低。加入 Myco IC 於 COBAS AMPLICOR MTB Test 中，以鑑別處理之檢體中是否含有可能干擾 PCR 增幅的物質。Myco IC 是一 DNA 質體，含與 MTB 目標 DNA 序列相同的引子結合區域、類似於 MTB 標的物序列長度和鹽基組成之隨機內部序列以及一獨特可區別 Myco IC 與標的物 amplicon 之探針結合區域，這些特性確保 Myco IC 及 MTB 標的物 DNA 被同等增幅。Myco IC 加入各增幅反應中，與臨

床檢體之目標 DNA 共同被增幅。

(三)選擇性增幅

COBAS AMPLICOR MTB Test 使用 AmpErase® LD 自臨床檢體中選擇性增幅目標 DNA，AmpErase® LD 含純化、去除細菌 DNA 污染之 uracil-N-glycosylase (UNG)，會分辨及催化破壞含 deoxyuridine 之 DNA，但不會破壞含 thymidine 之 DNA。Deoxyuridine 不存在於自然發生的 DNA，但存在於 amplicon。在 Master Mix 試劑使用 deoxyuridine triphosphate 替代 thymidine triphosphate 作為 dNTPs 之一種，故只有 amplicon 含 deoxyuridine。Deoxyuridine 使受污染的 amplicon 在目標 DNA 增幅前易被 AmpErase® LD 破壞，AmpErase® LD 催化 DNA 中的 deoxyuridine 打開 C1 位置的 deoxyribose 鏈，使 deoxyuridine 被去除。當於 Master Mix 試劑鹼性環境中，在第一次溫度循環加熱時，amplicon DNA 在 deoxyuridine 的位置斷裂，使 DNA 無法增幅。AmpErase® LD 在溫度高於 55°C 時不具活性(即全部熱循環過程)，因此不會破壞標的物 amplicon；增幅後，添加變性溶液使任何殘留之酵素變性，因而避免任何標的物 amplicon 分解。COBAS AMPLICOR MTB Test 之 AmpErase® LD 已證實每次 PCR 可去除至少 10^3 複製數的含 deoxyuridine MTB amplicon。

三、雜交反應

PCR 增幅作用後，COBAS AMPLICOR 會自動將變性溶液添加於每個 A-tubes 中以使得 amplicon 變性成單股 DNA，此液狀的混合物會被移至比色反應偵測管(D-cups)中。覆被有結核分枝桿菌複合物(或 Myco IC) 專一性寡核苷探針的懸浮磁珠會被加入每個 D-cups 中。生物素標幟之 amplicon 會被磁珠上的探針捕捉，此 amplicon 與標的物專一性探針之雜交可增加整個試驗的特異性。

四、偵測反應

雜交反應後，COBAS AMPLICOR 會清洗 D-cups 中的磁珠並將所有未結合物質移除，再加入 avidin-horseradish peroxidase 偶合物(Av-HRP)至各個 cups 中，Av-HRP 會與磁珠上核苷酸探針捕捉之生物素標幟 amplicon 結合。COBAS AMPLICOR 會再次清洗 D-cups 以移除未結合的 Av-HRP，最後再加入含過氧化氫及 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)之受質溶液至各個 cups 中，在過氧化氫之存在下，結合的 horseradish peroxidase 催化 TMB 氧化形成一有顏色的複合物，COBAS AMPLICOR 會於 660 nm 之波長下測量其吸光值。

第三章 研究方法與步驟

第一節 研究對象

一、研究設計：

本研究為縱貫性研究法（longitudinal study）。

二、研究對象：

以北部一家教學醫院員工為研究對象，在評估肺結核暴露之高危險群（high risk）科別後，研究組別分為：

（一）高危險組：結核病房、血液腫瘤科病房、胸腔內科病房、門診、急診室、加護病房及臨床病理科實驗室等。

（二）對照組：非上述科別。

第二節 作業環境空氣中結核桿菌之採樣方法

一、採樣設備

- (一) 採樣器：AirChek Sampler. Model 224-PCXR, SKC
- (二) 濾紙：(Polytetrafluoroethylene, PTFE)，直徑 37 毫米，孔徑 1 微米。
- (三) 流量校正器：DC-Lite Calibrator, SKC
- (四) 石蠟膜(American National Can™ 4IN.X125FT. ROLL)

二、採樣前準備：

- (一)採樣前一天，對採樣器進行放、充電，並紀錄放、充電情形。
- (二)完成充電後，以流量校正器進行流量校正。

三、現場採樣方法：

- (一)打開濾紙匣，連接在空氣採樣器上，將流速設定為 4L/Min，放置於採樣 6 小時，
- (二)採樣結束後，在現場取下濾紙匣，蓋上進、出氣塞，送回實驗室進行分析。

第三節 結核桿菌之偵測方法

- 1.將 1.5 ml 的離心管標上檢體之編號。
- 2.將 Specimen Preparation kit 中之 Respiratory Specimen Wash Solution (RW)混合均勻後，分別取 500 μ l RW 加到每一個管子中。
- 3.取 100 μ l 的檢體(液狀、濃縮且已經 decontaminated 處理之檢體)分別加到已裝了 RW 之管子中。
- 4.以 vortex 混合均勻後將管子拿去在 12500g 的離心力下離心 10 分鐘。
- 5.離心後以 tip 或 dropper 將上清液小心吸出，注意不要吸取到沉澱物。
- 6.加入 100 μ l 混合均勻的 Respiratory Specimen Lysis Reagent(RL)，以 vortex 將沉澱物完全打散並混合均勻後將管子移到 60°C 培養箱中反應 45 分鐘。
- 7.製備對照組：
 - (1)將 MTB Positive control 混合均勻後取 25 μ l 加到已裝有 75 μ l RL 並標記上 MTB(+)的管子中的管子中，以 vortex 混合均勻；
 - (2)將 MTB Negative control 混合均勻後取 25 μ l 加到已裝有 75 μ l RL 並標記上 MTB(-)的管子中的管子中，以 vortex 混合均勻；將這兩支 MTB(+)和 MTB(-)和之前的檢體一樣一起放到 60°C 培養箱中反應 45 分鐘。
- 8.反應完 45 分鐘後，將管子都先用離心機快速的離心一下,將殘留在管壁上的液體都離心下來。
- 9.取 100 μ l 混合均勻的 Respiratory Specimen Neutralization Reagent (RN)分別加到每一個檢體和 control 管中，以 pipet 稍微上下吹吸混合均勻後即萃取完成 j.製備 Master Mix 作用溶液取 100 μ L IC 和 100 μ L AmpErase LD 加到一支 MTBMMX 管中(無需測量 Master Mix 的體積) 來製備 Master Mix 作用溶液。重新蓋好 MMX 試管，將試管翻轉 10-15 次使其充分混合。

※切忌以振盪器振盪混合作用溶液。

IC 中的粉紅色染料乃供目視確認 IC 是否已經加入 MTB MMX 裡。剩餘的 IC 和 AmpErase LD 請丟棄。此作用溶液需保存於 2-8°C 並在 7 天內使用。