

中國醫藥大學

碩士論文

編號：IEH-1905

我國醫療廢棄物

蒸氣滅菌之實場成效評估

**A performance evaluation of commercial
steam sterilizers for medical wastes in
Taiwan**

所別：環境醫學研究所

指導教授：江舟峰博士 Chiang Chow-Feng

學生：劉厚吾 Liu Hou-Wu

學號：9665005

中華民國九十八年六月

誌謝

兩年碩士生涯中，受到江老師嚴格的訓練，提昇了我工作的品質，得到的不只是單純學術上的知識，更多的是作人作事的道理，十分感謝江老師各方面的指導。同時感謝中國醫藥大學環醫所的全體師生以及系辦的職員在求學過程中給與我充分的幫助。感謝成功大學李俊璋老師、附醫王任賢醫師在百忙之中抽空蒞臨指導，更在學位論文口試中提出寶貴之意見，使得本論文更加完善。此外感謝環資會以及環保署提供研究資源，使得本研究得以順利進行。

感謝生活中的朋友們，在我兩年的求學過程中給我精神上以及學業上的幫助，也感謝系籃的學弟們一起打球，終於在我碩二這年拿到了全國公衛盃、院季盃的冠軍。另外也感謝研究室的同學以及學弟妹們的協助幫忙，當然也要感謝韵玢，謝謝妳一直在我身邊陪伴著我。

最後要感謝我的家人以及北港的親友們，有你們的支持才有我今天的研究成果。感謝我所有的家人、師長、朋友對我的照顧與指導，在此僅將此論文獻給所有我感謝的人。

劉厚吾 謹致

中國醫藥大學 環境醫學研究所 2009/06

摘要

美國於 2002 年修訂 Clean Air Act，廢除醫療廢棄物現地焚化處理的專案申請，因廢棄物含氯量高達 2.7%，加上專用焚化爐操作不穩定，使戴奧辛排放係數高達 3000 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ ，為一般混燒焚化爐的 40 倍。我國目前醫療廢棄物大多採用專用焚化爐處理，物資回收率非常低。政府乃於「資源回收再利用推動計畫」中，規劃醫療廢棄物於民國 109 年 (2020) 之回收率為 45%。醫療廢棄物若要回收必先經過滅菌處理，但目前僅 2.5% 為滅菌處理，其他均受焚化。因此本研究旨在建立快速滅菌判讀法，探討其使用於滅菌處理之成效和可行性，期能藉此提昇我國醫療廢棄物之滅菌處理成效和物資回收率。

本研究前往廢棄物滅菌處理現場進行滅菌效能評估，使用化學指示劑 (chemical integrator, CI) 與生物指示劑 (biological indicators, BI)，比較四個點放置的滅菌效能：(1) 鍋內冷點挑戰包 (CPC)、(2) 鍋內中心點挑戰包 (CPM)、(3) 袋內 (IB)、及 (4) 袋內之針筒內 (IBS)。BI 可進行需時 1~3 小時之快速判讀，及需時 24~48 小時之顏色判讀，亦可將 BI 之孢子桿菌打出後，使用異營菌培養法 (heterotrophic plate count, HPC) 計數菌落數；CI 則可由色變立即目測判讀。十個機組試驗結果顯示，有七個機組滅菌效能符合規定 ($\log \text{kill} \geq 5$)，三個機組不符合規定；其中八個機組之 CPC 滅菌效能與其他三點無顯著性差異 ($p > 0.05$)。因 CPC 之滅菌效能較低，可視為較保守之成效檢測點。若以 HPC 為對照，計算其他判讀法之敏感度 (sensitivity)，快速判讀為 97.8%，顏色判讀為 90.7%，CI 判讀為 95.6% (n=200)。

本研究進一步執行了軟袋、軟管及針筒等三種資源性廢棄物之滅菌成效評估，分別以兩種操作模式進行滅菌試驗：121°C 重力式/60 分鐘

(121G)、及 135 °C 真空式/45 分鐘 (135V)。結果顯示 121 G 之試驗之 CPC 與 IB 測點皆未達標準；135V 則全部符合法規標準；此外 CPC 之滅菌效能較三種廢棄物塑膠為保守。

本研究實廠測試結果顯示：(1) 我國目前醫療廢棄物滅菌品質仍待改善，應建立滅菌效能測試準則並定期查核滅菌程序；(2) 含有指示劑之挑戰包為使用方便且較嚴謹之檢測方法；(3) 135V 為良好之資源性醫療廢棄物回收利用之滅菌條件，而 121G 則無法符合標準。

關鍵字：生物醫療廢棄物、滅菌效能測試、指示劑、挑戰包



Abstract

The US Clean Air Act prohibits incineration of regulated medical wastes using specially permitted incinerators due to the high chlorine content (2.7%) in the wastes and the unstable operation conditions of the general incinerators. Under general conditions, the emission factor of dioxin can be as high as 3,000 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ of medical wastes, i.e. 40 times weight than of that from general refuse incineration. In Taiwan, most medical wastes are being incinerated, resulting in very low materials recovered. The Taiwan Environment Protection Administration has set a goal of recovery rate of 45% for all types of medical waste by the year 2020. At present, only 2.5% of medical wastes are treated by sterilization and recovered. The purpose of this study was to propose the use of a rapid readout method as an indicator of sterilization performance to sterilization of medical wastes and hence increase the recovery rate of medical waste materials.

This study tested the effectiveness of sterilization facilities using sterilization indicators in a field survey in Taiwan. At each facility, a chemical indicator (CI) and a biological indicators (BI) were compared for the effectiveness. We surveyed 4 testing sites: 1) challenge pack at the cold spot (CPC), 2) challenge pack at the middle chamber (CPM), 3) inside the bag (IB), and 4) inside the syringe in bag (IBS). The BI was monitored as a rapid readout (1~3 hr) and as a color change (24 hr). The effectiveness of BI was also tested with heterogeneous plate counts (HPC) using a pour plate technique. The CI was scored by degrees of color changes. The test results indicated that, among 10 sets of autoclaves being tested, 7 sets met the national microbial reduction standard ($\log \text{kill} \geq 5$) and three sets did not. Using CPC as the reference site, in 8 autoclaves evaluated, there was no significant difference ($p > 0.05$) in log kill between CPC and the other three sampling sites. Since the CPC site showed a lower log kill, it was considered

as a relatively conservative reference site. Using HPC as the reference, the sensitivity was 97.8% for the BI rapid readout, 90.7% for the BI color change, and 95.6% for the CI readout.

In consideration of waste recycling, we also evaluated the sterilization efficiency for 3 types of plastic medical wastes (soft bag, soft tubing, and syringe) at two operating conditions: 121 °C/60 min by gravity displacement (121G) and 135 °C/45 min by vacuum displacement (135V). The results based on both CPC and IB testing sites indicated that all the 121G tests failed to meet the national standard, whereas all the 135G tests complied with the standard. In addition, the sterilization efficiency of CPC was equivalent to those tested inside the three types of plastic wastes.

This study concluded that 1) the current practices of medical waste sterilization in Taiwan need improvement, 2) standard operation and auditing procedure need to be established, 3) the use of challenge pack with CI and BI is a reliable and convenient method, and 4) sterilization at 135 °C by vacuum displacement for 45 minutes is a viable pretreatment method for recycling medical wastes.

Keyword : medical wastes 、 sterilization indication 、 material recovery 、 challenge pack

目錄

| | |
|--------------------------------|----|
| 誌謝 | I |
| 摘要 | II |
| Abstract | IV |
| 目錄 | VI |
| 表目錄 | IX |
| 圖目錄 | XI |
| 第一章緒論 | 1 |
| 1-1. 緣起與目的 | 1 |
| 1-2. 研究內容與架構 | 4 |
| 1-3. 研究限制 | 6 |
| 第二章 文獻探討 | 7 |
| 2-1. 蒸氣、微波、化學三種滅菌技術 | 7 |
| 2-1-1. 高溫高壓滅菌鍋 | 7 |
| 2-1-2. 微波滅菌法 (microwave) | 13 |
| 2-1-3. 化學滅菌法 (chemical) | 15 |
| 2-2. 歐洲對於滅菌鍋監測之觀點 | 19 |
| 2-3. 國內外蒸氣滅菌鍋效能檢測準則 | 22 |
| 2-3-1. 比較各滅菌效能檢測 | 24 |
| 2-4. 含氯塑膠醫療耗材使用量調查 | 28 |
| 2-5. 本研究團隊目前成果 | 28 |
| 第三章 研究方法 | 30 |
| 3-1. 各種指示劑使用方法及原理 | 30 |

| | | |
|--------|--------------------------------|----|
| 3-1-1. | 生物指示劑 | 30 |
| 3-1-2. | 整合性化學指示劑 | 36 |
| 3-2. | 菌落培養與計數方法 | 39 |
| 3-2-1. | 嗜熱桿菌芽孢植菌程序 | 41 |
| 3-3. | 滅菌效能評估方式 | 53 |
| 3-3-1. | 醫療廢棄物滅菌處理實場滅菌效能評估檢測 | 53 |
| 3-3-2. | 資源性醫療廢棄物滅菌效能測試-以軟袋、軟管、針筒 為例 | 58 |
| 3-4. | 數據分析統計 | 61 |
| 第四章 | 醫療廢棄物蒸氣滅菌處理實場效能測試..... | 63 |
| 4-1. | 摘要 | 63 |
| 4-2. | 前言 | 64 |
| 4-3. | 研究方法 | 65 |
| 4-3-1. | 指示劑評估方法 | 65 |
| 4-3-2. | 滅菌效能評估 | 67 |
| 4-3-3. | 統計方法 | 68 |
| 4-4. | 結果 | 68 |
| 4-5. | 討論與建議 | 72 |
| 4-6. | 致謝 | 75 |
| 4-7. | 參考文獻 | 76 |
| 第五章 | 資源性醫療廢棄物滅菌效能評估..... | 80 |
| 5-1. | 摘要 | 80 |
| 5-2. | 前言 | 81 |
| 5-3. | 材料與方法 | 82 |

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 5-3-1. 指示劑評估方法 | 82 |
| 5-3-2. 資源性廢棄物滅菌效能評估 | 84 |
| 5-4. 結果 | 87 |
| 5-5. 討論與建議 | 90 |
| 5-6. 致謝 | 91 |
| 5-7. 參考文獻 | 91 |
| 第六章 總結與建議 | 94 |
| 6-1. 滅菌效能實場測試 | 94 |
| 6-2. 資源性廢棄物滅菌效能評估 | 94 |
| 6-3. 其他建議 | 95 |
| 參考文獻 | 98 |
| 附錄一、挑戰包製作方法 | 104 |
| 附錄二、3M Attest 1291 RRBI 產品說明書 | 105 |
| 附錄三、3M Attest 1292 RRBI 產品說明書 | 107 |
| 附錄四、實場滅菌效能評估三種判讀結果原始數據 | 109 |

表目錄

| | |
|--|----|
| Table 2-1 永大明產品型號規格 | 11 |
| Table 2-2 國內外滅菌鍋效能檢測方式比較表 | 27 |
| Table 3-1 不同型號 RRBI 適用的操作條件及判讀時間 | 34 |
| Table 3-2 Quality Control List of Standard method 9215 heterotrophic plate count-B. Pour Plate Method | 40 |
| Table 3-3 本研究所使用均質機之技術規格表 | 43 |
| Table 3-4 本研究檢測各機組之技術規格表 | 54 |
| Table 3-5 本研究實場滅菌效能檢測之指示劑判讀方式與數量 | 58 |
| Table 3-6 本研究資源性廢棄物滅菌效能檢測之指示劑判讀方式與數量 | 61 |
| Table 4-1 本研究各機組之檢測條件、RRBI 放置位置與平均滅菌效能與複 現性測試結 | 70 |
| Table 4-2 本研究 HPC 判讀與三種判讀方式之一致性檢定比 | 71 |
| Table 4-3 本研究三種判讀方式之 sensitivity 與過去文獻之比較 | 72 |
| Table 5-1 滅菌鍋鍋規格資料 | 84 |
| Table 5-2 針筒試驗每一鍋廢棄物填充率組成 | 86 |
| Table 5-3 軟袋軟管試驗每一鍋廢棄物填充率組成 | 86 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| Table 5-4 針筒滅菌效能試驗 HPC 結果 | 88 |
| Table 5-5 針筒滅菌效能試驗指示劑判讀結果 | 88 |
| Table 5-6 軟袋軟管滅菌效能試驗 HPC 結果 | 89 |
| Table 5-7 軟袋軟管滅菌效能試驗指示劑判讀結果 | 89 |
| Table 6-1 滅菌效能測試時機與頻率 | 96 |



圖目錄

| | |
|--|----|
| Figure 1-1 本研究之架構圖 | 4 |
| Figure 2-1 滅菌鍋構造圖 | 9 |
| Figure 2-2 Bondtech 之滅菌鍋..... | 12 |
| Figure 2-3 微波滅菌系統簡圖 | 14 |
| Figure 2-4 化學滅菌系統簡圖 | 17 |
| Figure 2-5 溫度與飽和蒸汽壓之關係曲線 | 20 |
| Figure 2-6 有效滅菌溫度監測座標圖，實線部分 T_a 設定為 $134\text{ }^\circ\text{C}$ ， ΔT_{ns} 為 $1\text{ }^\circ\text{C}$ ，而 ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} 誤差為 $0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 與 1 k Pa ；虛線部分是當 ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} 誤差為 $0.3\text{ }^\circ\text{C}$ 與 0.5 k Pa 時的情形。 | 21 |
| Figure 3-1 4-MUG 與 α -glucosidase 結合釋放 4-MU 螢光物質反應圖。 . | 32 |
| Figure 3-2 RRBI 構造圖 | 32 |
| Figure 3-3 RRBI 試館蓋壓密示意圖 | 34 |
| Figure 3-4 Auto Reader 破碎槽壓碎玻璃安瓿示意圖 | 35 |
| Figure 3-5 290 Auto Reader 培養判讀機之外觀及燈號 | 36 |
| Figure 3-6 3M 1243 CI 結構圖..... | 37 |
| Figure 3-7 3M1243 CI 判讀結果..... | 38 |

| | |
|--|----|
| Figure 3-8 Spore strip 取菌過程 | 42 |
| Figure 3-9 一個獨立的菌落 | 45 |
| Figure 3-10 兩個獨立的菌落 | 45 |
| Figure 3-11 一連串相連的菌落 | 46 |
| Figure 3-12 沿著 plate 邊緣生長的菌落..... | 46 |
| Figure 3-13 plate 無菌落生長 | 47 |
| Figure 3-14 plate 的菌落數為 24 CFU..... | 47 |
| Figure 3-15 plate 的菌落數為 58 CFU..... | 48 |
| Figure 3-16 每 cm^2 之菌落數小於 10 CFU，單格平均為 6 CFU，乘以 57 後，記為 342 CFU。 | 49 |
| Figure 3-17 每 cm^2 之菌落數介於 10~100 CFU，單格平均為 33 CFU，乘以 57 後，記為 1881 CFU。 | 50 |
| Figure 3-18 每 cm^2 之菌落數介於大於 100 CFU，記為 >5700 CFU。 ... | 51 |
| Figure 3-19 菌落計數流程圖 | 52 |
| Figure 3-20 檯車無分層，廢棄物堆疊之示意圖..... | 55 |
| Figure 3-21 檯車有分層，廢棄物堆疊之示意圖..... | 55 |
| Figure 3-22 本研究效能檢測滅菌鍋內指示劑放置示意..... | 57 |

Figure 3-23 本研究資源性廢棄物效能檢測滅菌鍋內指示劑放置示意圖 60

Figure 5-1 本研究使用之滅菌鍋外觀 85



第一章緒論

1-1.緣起與目的

依據民國 96 年行政院環保署事業廢棄物管制中心統計資料顯示，全國醫療事業廢棄物申報量約為 9 萬公噸，其中屬於生物醫療廢棄物佔 2.3 萬公噸 (25%)，平均全國每天產生 63 公噸生物醫療廢棄物，目前我國感染性廢棄物大多採專用焚化爐處理，但因廢棄物中含氯量高達 2.7% (Li *et al.*, 1993)，加上專用焚化爐操作不穩定，使戴奧辛排放係數高達 3000 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ (UNEP, 2005)，為一般混燒焚化爐的 40~60 倍 (Wang *et al.*, 2003；江，2004)。為加強管制戴奧辛排放，美國環保署 (U.S. Environmental Protection Agency, USEPA) 於 1995 年修訂 Clean Air Act，廢除有害廢棄物現地焚化處理的通案審查，並嚴格審查專案申請。我國環保署亦在「中小型廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準」，規定焚化爐設計處理量未達 4 公噸/小時其戴奧辛排放限值者為 0.5 ng-TEQ/Nm^3 ，設計處理量達 4 公噸/小時以上者為 0.1 ng-TEQ/Nm^3 ，使得許多專用焚化爐無法符合排放標準而停工，加上清運過程必須以冷凍車運送，使得處理成本居高不下 (30~50 kg/NT)。

為推動感染性廢棄物除焚化外的處理方式，環保署於「有害事業廢棄物認定標準」(95.12.14)第五條中規定，有害事業廢棄物符合「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」(95.12.14)之中間處理方式處理（如滅菌處理），其有害性質消失者，得認定為一般事業廢棄物，可併入一般事業廢棄物焚化爐或掩埋場處理，此外某些醫療廢棄物經滅菌解碼 (decoding) 可進行回收利用，例如：針頭、針筒、導管、安瓿瓶等，但一般民眾對於解碼後之廢棄物仍存有感染性之疑慮，因此大部分掩埋場、

一般焚化爐及回收利用廠商因此拒收滅菌後之生物醫療廢棄物，而使得生物醫療廢棄物之滅菌處理管道無法落實。US AHA (America Hospital Association)向 USEPA 承諾 2005 年減量 1/3 之醫療廢棄物，2010 年減量 1/2；我國「資源回收再利用推動計畫」，對於事業廢棄物減廢之中程 (100 年) 為 10%，再利用率 30%，長程目標 (109 年) 減量 20%，再利用率 45%。因此欲達此目標，回收前之滅菌處理非常重要。

依據環保署廢管處 96 年申報資料統計，全國僅約 2.5% 的生物醫療廢棄物採取滅菌處理方式，若要有效推動醫療廢棄物解碼處理，必須了解目前國內廢棄物滅菌處理之現況，並研擬符合我國醫療廢棄物處理體系之滅菌操作規範 (specification) 以及效能評估方法 (performance test method)。整體來說，醫療廢棄物若能事先規劃妥善處理或再利用管道，不僅可以有效減少廢棄物產生量，降低對環境之危害性，並可同時達到資源保育及減少廢棄物處理費用等多重目標。

環保署於「有害事業廢棄物認定標準」(95.12.14)第五條中規定，有害事業廢棄物符合「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」(95.12.14)之中間處理方式處理（如滅菌處理），其有害性質消失者（清除率需達 99.999% 即 $\log \text{kill} > 5$ ），得認定為一般事業廢棄物，可併入一般事業廢棄物焚化爐或掩埋場處理，此外某些醫療廢棄物經滅菌解碼 (decoding) 可進行回收利用，例如：針頭、針筒、軟管、安瓿瓶、軟袋等，但一般民眾之廢棄物仍存有感染性之疑慮，大部分掩埋場、一般焚化爐及回收利用廠商因此拒收滅菌後之生物醫療廢棄物，而使得生物醫療廢棄物之滅菌處理管道無法落實。

有關滅菌效能評估之規定，國內衛生署及環保署皆規定指標菌須採用嗜熱桿菌芽孢 (*Geobacillus stearothermophilus*, G.S)，滅菌程度須達 5 \log_{10} ，但實務上不易執行，目前國內大多使用 3M 公司之快速判讀生物指示劑 (rapid readout biological indicator, RRBI) 來進行成效評估，文獻中 (AAMI, 1993；張等，2004) 亦建議使用生物指示劑 (biological indicator, BI)，此外文獻 (AMMI, 1993；張等，2004) 亦建議使用挑戰包 (challenge pack, CP) 來進行滅菌效能檢測，但目前我國對於 BI 與 CP 之使用尚無測試數據可參考，本研究實際前往廢棄物滅菌處理現場進行滅菌效能評估驗證，了解目前我國廢棄物滅菌處理之現況，並探討使用指示劑以及挑戰包來評估滅菌效能之適切性，為本研究目的之一。

根據環保署 97 年「醫療廢棄物源頭減廢及小型產原輔導專案工作計畫」統計 22 家醫學中心醫療器材年使用量，各類注射軟袋約 2,400 萬個 (含氣比例 32%)，此外血液透析迴流管、抽痰管、鼻胃管、中心靜脈導管、引流管等軟管類每年大約有 700 萬個 (含氣比例 16.75~32.07%)，另外注射針頭組每年約有 2,600 萬個，以一個針頭組一個針筒推估，針筒亦有 2,600 萬個，使用量僅次於手套 (7,400 萬個)。目前大部分醫院對於廢棄軟袋、軟管及針筒皆以焚化處理，若將其處理方式改為滅菌後回收利用，則可降低廢棄物戴奧辛排放總量以及處理費用。本研究將對軟袋、軟管及針筒等三種資源性廢棄物進行滅菌成效評估，探討經由滅菌可否去除其有害性，如感染性，以利我國推動醫療廢物非焚化處理，為本研究目的之二。

1-2. 研究內容與架構

本研究之架構如 Figure 1-1 所示，主要為四個部分：文獻回顧、方法建立、實場醫療廢棄物滅菌鍋效能測試、資源性醫療廢棄物滅菌效能，每部分主要內容如下：

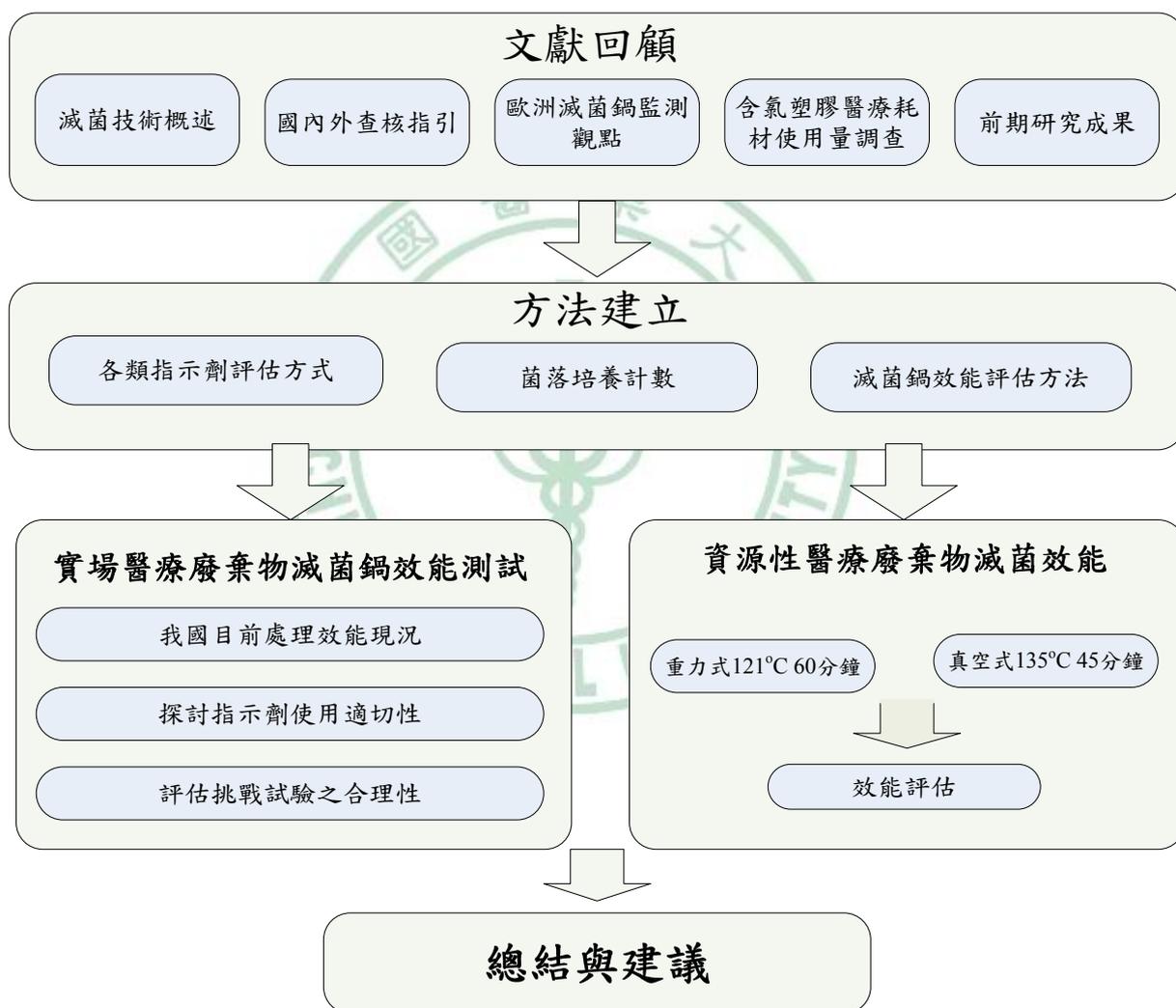


Figure 1-1 本研究之架構圖

1. 文獻回顧

(1) 滅菌技術概述

探討對蒸氣、化學、微波等滅菌方法之原理、優缺點。

(2) 國內外查核指引

比較國內外對於滅菌鍋效能查核之方式。歐洲滅菌監測觀點：探討歐洲對於滅菌鍋對於滅菌效能監測之原理。

(3) 含氯塑膠醫療耗材使用量調查

了解目前我國對於含氯塑膠醫療耗材之使用量。

(4) 前期研究成果

收集 RRBI 相關研究以及效能測試研究。

2. 研究方法

本研究使用之研究方法介紹如下：

(1) 指示劑評估方式

生物指示劑與化學指示劑之原理以及使用方法

(2) 菌落培養計數

殘餘菌落數的取樣程序以及培養記數方法

(3) 滅菌鍋效能評估方法

進行效能評估時指示劑擺放位置以及挑戰試驗方法

3. 實場醫療廢棄物滅菌鍋效能測試

前往十處醫療廢棄物蒸氣滅菌處理現場，了解我國實場滅菌效能之現況，並評估使用指示劑以及挑戰包來評估滅菌效能之適切性。

4. 資源性醫療廢棄物滅菌效能

以中部某間醫療廢棄物滅菌處理場之滅菌鍋，分別以 121°C 重力式/60 分鐘 (121G)、及 135 °C 真空式/45 分鐘 (135V) 兩種模式進行廢棄軟袋、軟管、針筒的滅菌成效評估。

本論文撰寫格式參考本校環醫所畢業生梁永政 (梁, 2007) 之論文格式，將實場醫療廢棄物滅菌鍋效能測試與資源性醫療廢棄物滅菌效能兩部分研究成果撰寫成兩篇期刊，直接納入第四、五章。

1-3. 研究限制

本研究由於受限於經費以及國內市場之趨勢，僅使用 3M 之 RRBI 進行試驗，為本研究研究限制之一所以試驗結果僅供學術研究參考，並不為任何品牌產品背書。

由於目前台灣對於醫療廢棄物滅菌處理並不普遍，本研究僅進行十處機組之效能評估，並非全台所有機組之普查，為本研究研究限制之二。

在資源性醫療廢棄物滅菌效能研究中，由於該處理場原本即有須滅菌之廢棄物，基於維持該場之正常營運，軟袋軟管之試驗次數較少，因此該研究樣本數較少為本研究研究限制之三。

第二章 文獻探討

2-1. 蒸氣、微波、化學三種滅菌技術

微生物可經物理法以及化學法來去除或殺死，目前對於廢棄物滅菌以高溫高壓滅菌鍋滅菌、微波滅菌、化學滅菌三種最為常見，以下將探討上述三種滅菌方法之原理、處理過程、優缺點、情商規範。

2-1-1. 高溫高壓滅菌鍋

高溫高壓蒸氣滅菌 (sterilization) 可殺死所有微生物，包括細菌的芽孢 (spore)、真菌的孢子 (spore) 或休眠體等耐高溫個體。利用高溫高壓使水形成液相與氣相間的飽和蒸氣，一旦接觸溫度較低的物品，飽和蒸氣釋放大量潛熱穿透微生物細胞，首先引起細胞內原生質膠體的變性、酵素結構的破壞，從而使其失去存活機能上的協調、停止生長發育，隨著高溫的繼續作用，細胞內原生質便發生凝固、酵素結構完全破壞、活性消失、生化反應停止、滲透交換等，導致新陳代謝活動消失，細胞立即死亡，這就是高溫高壓蒸氣滅菌的基本原理。應該注意的是乾熱 (dry heat) 的滅菌效能有限，必須使用具高溫高壓的飽和蒸汽，才能有效滅菌 (王昱昇等，2006；王三郎，2008)。

滅菌鍋是一個密封的金屬內鍋 (metal chamber)、蒸汽夾套外鍋 (steam jacket)、蒸氣產生器等其他設備所組成，Figure 2-1 為滅菌鍋之構造；由外鍋產生熱蒸汽注入密封內鍋使鍋內充滿蒸汽並提高壓力，鍋內滅菌物品接觸飽和蒸汽而達滅菌效果。此外空氣是熱的不良導體，因此必須將內鍋空氣移除才能確保蒸汽滅菌的效果，目前滅菌鍋機組有兩種方式來移除鍋內氣體：重力置換式 (gravity-displacement)、預抽真空式 (pre-vacuuming)。重力式滅菌其原理是將飽和水蒸氣導入機體內並填充至

一定程度後，利用蒸氣密度低於冷空氣的原理，將大部分冷空氣重力壓縮至內鍋下方，由排氣口排除出。而另一種更有效的方法就是使用抽氣泵將鍋內空氣抽出，即預抽真空式滅菌，在蒸氣導入內鍋前，以抽氣幫泵將鍋內空氣抽除，使機體內部達到真空負壓，後續再導入飽和水蒸氣，而抽除冷空氣之專業術語稱為預抽真空 (Diaz *et al.*, 2005 ; HCWH, 2001 ; THKSARGEPD, 2000)。一般滅菌鍋的操作過程為：

1. 廢棄物收集 (waste collection)：將廢棄物放進可進行高溫高壓滅菌的袋子或容器中。
2. 滅菌鍋預熱 (pre-heating)：開機先預熱使外鍋產生高溫蒸汽。
3. 廢棄物填充 (waste loading)：將廢棄物以及化學或生物指示劑放入滅菌鍋中，並將鍋蓋緊閉使內鍋密封。
4. 空氣移除 (air evacuation)：利用重力置換或預抽真空將空氣移除。
5. 蒸汽處理 (steam treatment)：蒸汽注入鍋內達操作溫度及壓力後開始滅菌，並且滅菌時間(exposure time)內皆要維持操作溫度及壓力。
6. 蒸汽排出 (steam discharge)：滅菌完後蒸汽由鍋內排氣口排出，降低溫度與壓力。
7. 取出廢棄物 (unloading)：等廢棄物等卻後移出廢棄物與化學或生物指示劑，並進行指示劑判讀。
8. 機械處理 (mechanical treatment)：滅菌完之廢棄物需經過破碎或壓縮處理再進行後續處理，例如：回收利用、掩埋。

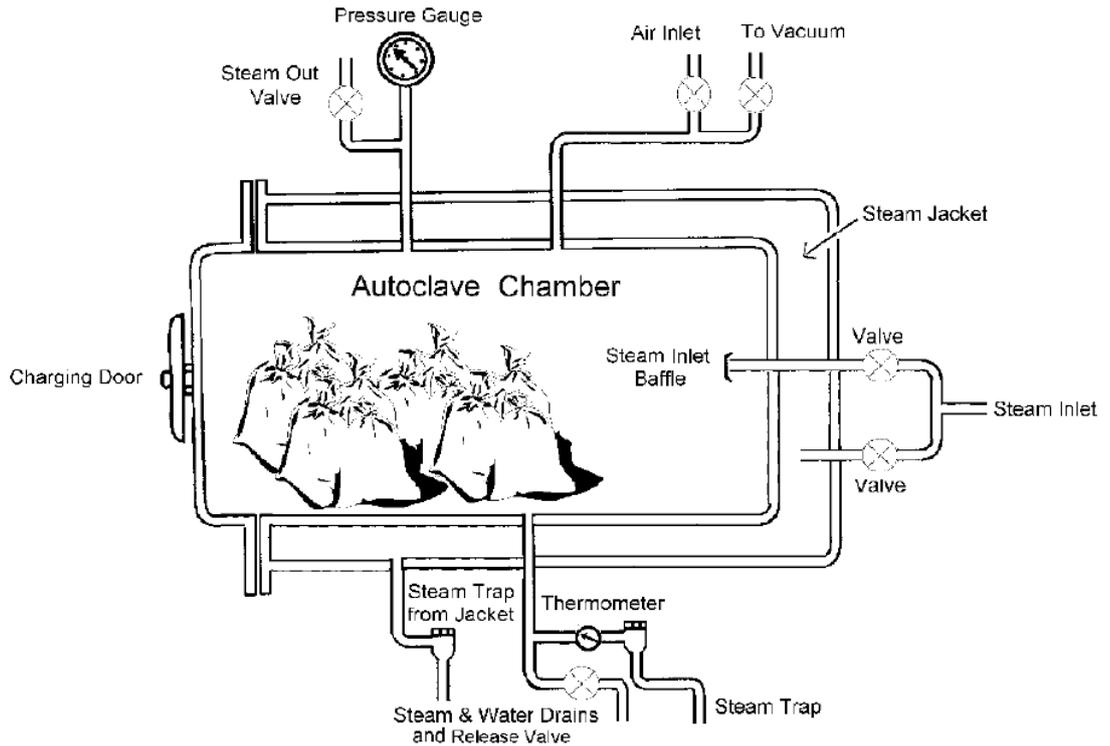


Figure 2-1 滅菌鍋構造圖 (THKSARGEPD, 2000)

以滅菌鍋處理醫療廢棄物之優點如下：

1. 簡單易懂且醫療機構的接受性高，為公認的良好替代處理方法。
2. 溫度與時間的參數是依據高標準的無菌要求所訂定的。
3. 滅菌鍋的廢棄物處理量可多可少，可依機組不同而有不同的處理量。
4. 處理前至當的移除有害物質，滅菌處理完後的有害物極少。
5. 處理成本比焚化處理低。
6. 滅菌完經破碎後可視為一般事業廢棄物併入大型都市焚化爐處理，可減低戴奧辛排放量。
7. 特定物質經滅菌後可回收再製。

以滅菌鍋處理之缺點如下：

1. 如果沒有加裝破碎器或研磨器，所處理的廢棄物無法達到減量及不可辨識 (unrecognizabilty) 之規定。
2. 廢棄物中若有太大或太硬的金屬在破碎時會使破碎機有所損害。
3. 排氣時的氣味有些許臭味，但可用排氣處理裝置將之去除。
4. 若廢棄物中含有有害的化學物質如甲醛、酚、細胞毒素或汞，會溢散到空氣中跟水中，或者殘留在垃圾掩埋場。

目前技術與管理皆能克服上述之缺點，因此欲推動本土醫療廢棄物滅菌處理須有訂定適合的廢棄物管理以及處理辦法。

本土及國外滅菌鍋製造商

目前台灣本土的滅菌鍋製造商以永大明儀器公司市場佔有率最高，該公司開始製作鍋爐時需要送資料給勞委會審核，滅菌鍋完成後需要構造、熔接合格後方可交貨，之後貨主依滅菌鍋規模大小再申請竣工進查合格證明，機組較小的不需申請。新機組都要通過空載溫度佈與滿載熱滲透方可製造。此外該廠商有通過行政院勞工檢查所核准之「壓力容器製造設施型式檢查合格證明第 001 號」、GMP 衛署醫器製字第 001494 號、第 001495 號、第 001630 號、CNS：9788 壓力容器通則、ISO 9001：2000 版等認證取可，其製造的滅菌鍋型號如 Table 2-1 所示，有直立式、落地式、桌上型等不同型式之滅菌鍋，其內容積最小為 24 公升最大則為 2000 公升，亦有環氧乙烷 (EO 鍋) 滅菌鍋。

除了以上基本機組外，該廠商可依需求訂製不同規格之滅菌鍋，但該公司滅菌鍋之設計較適用於醫療器材及實驗室器具滅菌，並未針對醫療廢棄物，考量蒸氣穿透性 (steam penetration) 製造專用的機組。

Table 2-1 永大明產品型號規格

| 型號 | 內容積(公升) |
|--------------------------|-------------------------|
| YTM-A1,2,3,4,5 微電腦高壓滅菌鍋 | 96, 225, 432, 810, 2000 |
| YTM-AF1,2,3,4,落地型高壓滅菌鍋 | 96, 225, 432, 810, 2000 |
| YTM-B1,2,3 直立式高壓滅菌鍋 | 46, 63, 82 |
| YTM-CS1,2,3,4,5 全自動高壓滅菌鍋 | 63, 124, 196, 339, 529 |
| YTM-DSA1,2,3,4,5 快速高壓滅菌鍋 | 63, 124, 196, 339, 529 |
| YTM-E1,2 桌上型高壓滅菌鍋 | 24, 35 |
| YTM-EA1,2 雙層鍋壁式高壓滅菌鍋 | 24, 35 |
| YTM-EO1,2,3,4 環氧乙烷滅菌鍋 | 30, 97, 225, 432 |

以下將根據 Health Care without Harm (HCWH, 2001) 介紹三間國際醫療廢棄物蒸氣滅菌鍋機組之製造廠商：

Bondtech 國外著名的滅菌鍋製造商，該公司有高壓力與高真空的技術，當廢棄物置入滅菌鍋後由微電腦控制滅菌作業。首先預抽真空的步驟將空氣抽除然後將蒸汽注入達到 270~305 °F 才開始滅菌，滅菌完後蒸汽經過冷凝器排出，冷凝水排放到污水管。此外該公司之滅菌鍋有後續真空 (post-vacuum) 的程序，該程序可以移除殘餘蒸汽與保護工作人員以及乾燥廢棄物。Bondtech 也可以依客戶需求製造不同規格的機組，可製造每批次滅菌物 115~2,727 公斤或更高的機組。基本內鍋的規格為直徑 3'5" × 深度 4' 到直徑 6' × 深度 17'，商業機型則為直徑 8' × 深度 32'。每批次可處理 100 磅廢棄物的機組約為 90,000 美元，處理量 250 磅廢棄

物的機組約為 102,000 美元，處理量 750 磅廢棄物的機組約為 123,000 美元，處理量 750 磅廢棄物的機組約為 123,000 美元，處理量 1500 磅廢棄物的機組約為 175,000 美元。Figure 2-2 為 Bondtech 之滅菌鍋。



Figure 2-2 Bondtech 之滅菌鍋

Environmental Tectonics Corrosion (ETC) 公司有自行設計生產建造醫療廢棄物專屬滅菌鍋，可設計雙門或單門之滅菌鍋，有水壓鎖緊鍋門之技術，以及自動進料排料系統，另外破碎機、壓縮機及機械手臂該公司皆可以依消費者之適用性選購。該廠牌機組大小有 1~19 立方碼，標準機型的處理量大概每天 4,000~13,000 噸。

Mark-Costello 該廠商製作滅菌鍋已有 20 年，所製作的滅菌鍋最高壓力可達 75 psi (320 °F)，廢棄物裝進滅菌袋後可放在一個特製的小推車內推入滅菌鍋，當廢棄物進入鍋內後會自動鎖住鍋門並有紀錄器開始紀錄滅菌狀況。基本的設定條件是 275 °F 滅菌時間 1 小時。主要滅菌鍋型號有 AS36 約 26,00 美元，每鍋可處理 225 磅；AS47 約 34,000 美元，每鍋可處理 450 磅；AS58 約 38,000 美元每鍋可處理 565 磅；AS515 約

41,000 美元每鍋可處理 1,125 磅。此外該廠牌之滅菌鍋有外接的軌道與斜坡可輸送廢棄物至滅菌鍋、壓縮機和機械手臂。

2-1-2. 微波滅菌法 (microwave)

微波滅菌法依據是依據蒸汽滅菌的原理，利用微波產生的能量讓使水分變成濕熱的蒸汽接觸廢棄物達滅菌的效果。微波是一種電磁波波長介於 0.01 m 至 0.3 m 之間，微波能容易穿透絕緣物體，但遇到水份便會使水分子和它一起以相同的頻率振蕩，水分子在微波中每秒震盪 24.5 億次，導致分子與分子互相摩擦，而產生熱量，進而產生水蒸氣，微生物所含有的水分與微波一起震動產生熱量，使的蛋白質結構破壞，達滅菌效果。若沒有水分，微波在乾燥的微生物的滅菌效能大幅的減低，其滅菌關鍵因素不是在於微波的範圍而是所產生的熱而是所含的水分。因此在進行微波滅菌時會加入水分或者蒸氣。微波滅菌也可處理尖銳物品或者小金屬片，例如：針頭，一般皆誤認為微波滅菌不可處理金屬物品，但實際原因為有些金屬物品過大或過硬無法破碎，導致在破碎處理時會使破碎機有所損耗 (Diaz *et al.*, 2005 ; HCWH, 2001 ; THKSARGEPD, 2000)。

微波滅菌系統中大概包括自動關蓋系統、破碎器、輸送器帶、蒸汽產生器、微波產生器、二次破碎器、高效能空氣濾網 (HEPA)、微電腦處理控制 Figure 2-3 微波滅菌系統簡圖。其處理過程為：

1. 廢棄物填充 (waste loading)：將廢棄物機體設置的臺車中，倒入機體內。
2. 機體內破碎 (internal shredding)：當廢棄物餵入機體內後進行破

碎。

3. 微波處理 (microwave treatment)：噴灑熱蒸氣於廢棄物上後，由微波產生器 (microwave generator) 將溫度加熱到 95~100 °C。
4. 維持時間 (holding time)：廢棄物在上述環境下最少暴露 30 分鐘以上。
5. 選擇性二次破碎 (optional secondary shredder):處理後的廢棄物可經由二次破碎變的更小。
6. 排出 (discharge)：處理後的廢棄物由輸送帶送出，作後續處理。

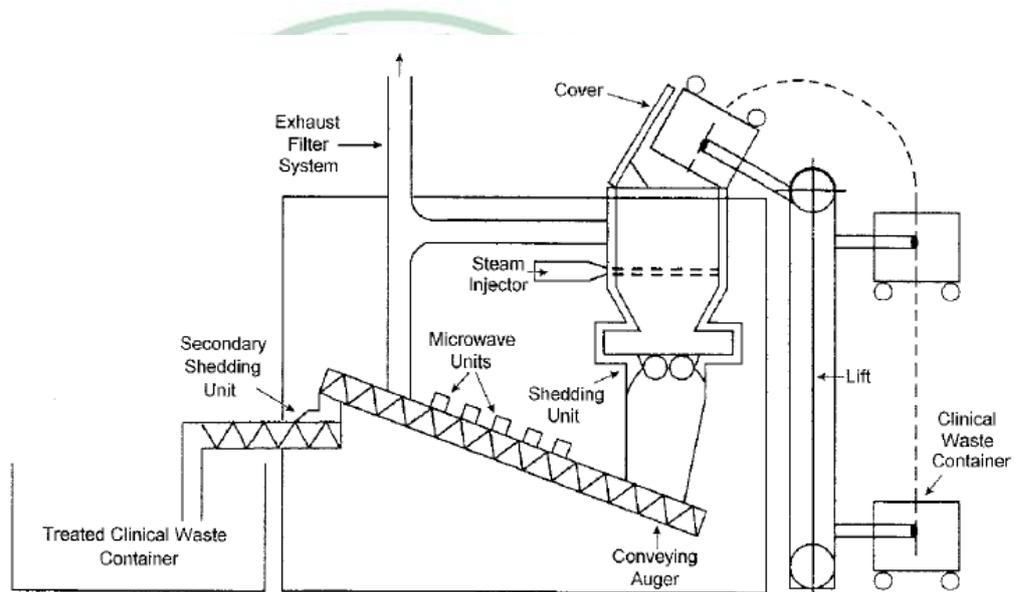


Figure 2-3 微波滅菌系統簡圖 (THKSARGEPD, 2000)

以微波滅菌處理醫療廢棄物之優點如下：

1. 因為家用微波爐普遍，因此微波滅菌原理較容易被醫療機關與社會接收與瞭解。
2. 處理前至當的移除有害物質，滅菌處理完後的有害物極少。
3. 破碎後廢棄物體積可減少 80%。

4. 此種技術為自動化且操作簡單，只需要一個操作者即可。
5. 低噪音
6. 處理成本較焚化處理成本低

以微波滅菌處理醫療廢棄物之缺點如下：

1. 若廢棄物中含有有害的化學物質會溢散到空氣中，或殘留在垃圾掩埋場。
2. 微波滅菌設備附近會有臭味。
3. 尖銳物在二次破碎時會有噪音。
4. 廢棄物裡若有太大或太硬的金屬在破碎時會使破碎機有所損害。
5. 處理成本較滅菌貴。

微波滅菌在本土尚未普遍，與無專門製造微波滅菌機之廠商，而國際間著名的微波滅菌製造商 Sanitec，在美國有 20 個州安裝的 70 台以上該廠牌的機組，另外有超過六個國家也有購買該品牌的微波滅菌設施。其型號有 HG-A 100 處理量為每小時 220~400 磅，HG-A 250 處理量為每小時 550~900 磅；機體呎吋規模 HG-A 100 為長 22” ×高 17’ 9” ×寬 10’，HG-A 250 為長 24” ×高 17’ ×寬 10’；價格 HG-A 100 大約 500,000 美元，HG-A 250 大概 600,000 美元。

2-1-3. 化學滅菌法 (chemical)

化學滅菌法即是使用可殺死病原菌之化學藥劑的滅菌方法，常見的消毒劑 (disinfectant) 主要可分為：酚類、醇類、鹵素、重金屬、酸類、鹼類、鹽類等，其主要的滅菌原理為使菌體的細胞蛋白質變性，細胞膜受損，讓細胞體酵素失去活性達殺菌目的 (王昱昇等，2006；王三郎，

2008)。根據台灣疾病管制局”侵入性醫療感染管制作業基準”(疾管局，2007)常用化學滅菌方法有氧化乙烯氣(ethylene oxide gas)、活性戊乙醛液體滅菌(activated glutaraldehyde)、過醋酸液體滅菌(per acetic acid)。

1. 氧化乙烯氣體滅菌法：可處理不耐熱醫療器材，滅菌鍋容量大，無腐蝕性，可透過所有透氣物品。對環境有毒性殘存，影響工作人員健康，須長時間排氣，滅菌週期長。
2. 活性戊乙醛液體滅菌法：處理不耐熱醫療器材，對金屬腐蝕性低，在有效期限內可重複使用。滅菌時間長，3至10小時，對環境環境會有毒性殘存(<0.2 ppm)，只能使用浸泡滅菌法，且要無菌水沖洗，無法使用生物指示劑來監測。
3. 過醋酸液體滅菌：滅菌時間短，30至40分鐘，對環境無毒性殘存(醋酸、氧氣及水)，不影響工作人員健康，適合任何材質及器械。不適用於鋁製品或鋁合金，會破壞表面金屬光澤，只能使用浸泡滅菌法，無法使用生物指示劑來監測，每次只能處理少量物品。

上述介紹的是重複利用的醫療器材的化學滅菌方法。化學滅菌處理應用在廢棄處理上會面臨幾個重要的問題，例如：如何確認化學試劑跟廢棄物是否接觸，以及要多少濃度化學試劑與暴露時間才能達到滅菌標準。因此廢棄物化學滅菌技術都須考量機體破碎與混和，以解決接觸和暴露的問題，因為藥劑濃度會因微生物作用、廢棄物表面的吸附作用、揮發作用、分解作用而減低濃度，因此要維持其濃度必須要有添加試劑的功能，對於其他因素如酸鹼值、溫度等皆會影響滅菌效果(HCWH, 2001; THKSARGEPD, 2000)。

在過去滅菌用的化學試劑都是含氯，的因為氯和次氯酸根皆有消毒

的作用，漂白水即是一個常見的化學滅菌藥劑。進年來在市面上增加了許多不含氯的化學滅菌試劑像是過氧乙酸、戊二醛、氫氧化鈉、臭氧、氧化鈣等 (HCWH, 2001)。Figure 2-4 化學滅菌處理系統簡圖，一般化學滅菌法處理過程為：

1. 廢棄物填充 (waste loading)：將廢棄物放置於輸送帶上餵入機體內。
2. 滅菌與破碎 (sterilization and shredding)：當廢棄物餵入機體內後噴灑消毒劑並破碎廢棄物。
3. 排出 (discharge)：處理後的廢棄物由輸送帶送出，作後續處理。

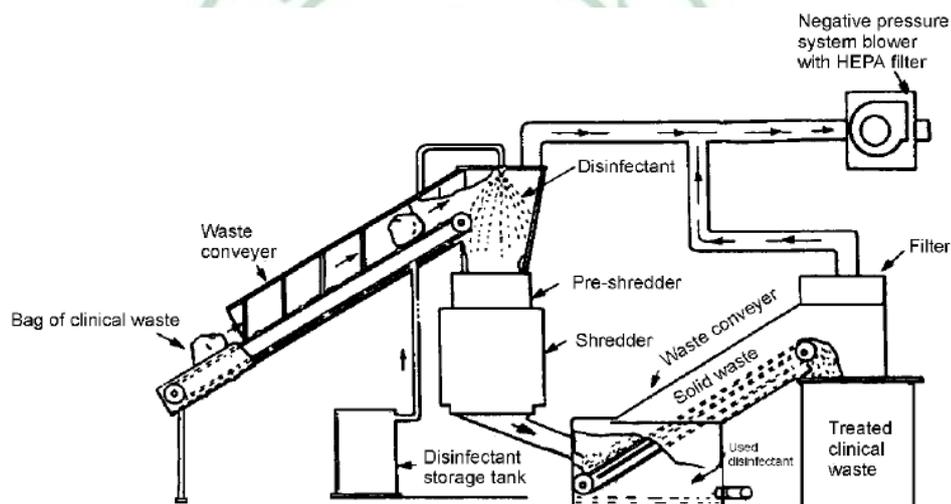


Figure 2-4 化學滅菌系統簡圖 (THKSARGEPD, 2000)

以化學滅菌法處理醫療廢棄物之優點如下：

1. 從 1980 年起即使用氫氧化鈉進行滅菌消毒，這個方法是去有歷史且大眾所熟悉的方法，易被接受。
2. 方法簡單又可以自動化進行。

3. 廢液可排放置衛生下水道。
4. 沒有燃燒的副產物產生。
5. 結合破碎過程使廢棄物有不可辨識性。

以化學滅菌法處理醫療廢棄物之缺點如下：

1. 大量含氯與含次氯酸根之廢水可能會產生有毒的副產物。
2. 有潛在化學危害。
3. 若廢棄物據有化學危害，則可能會經毒性釋放在空氣中或廢水，或才留在廢棄物種污染掩埋場，也可能因為與滅菌試劑反應產生危害性。
4. 化學處理設備附近會有臭味。
5. 較大的物品或者硬的金屬會使設備受損。

目前台灣如上述之化學滅菌機組較不普遍，大多以氣體滅菌的 EO 鍋最為大宗，但也僅限於醫院醫療器材之滅菌，國際間 WR2 公司的廢棄物化學滅菌處理的機種有分小、中、大三種規模，小機組型號 100-18-20 處理量 20 磅；中機組型號 100-30-26 處理量 200 磅、100-48-32 處理量 750 磅，大機組型號 100-48-52 處理量 1,500 磅、100-72-52 處理量 3,000 磅、100-96-68 處理量 7,000 磅 (HCWH, 2001)。

目前對於醫療廢棄物滅菌最常見的方法是蒸汽滅菌，該方法也是目前世界非焚化處理技術最普遍接受程度最高的，本土製造之滅菌鍋為一般醫療用之滅菌鍋，並非專門處理廢棄物之機型，因此在廢棄物投料、破碎等上皆需人力操作，滅菌完後所排放之廢氣以及廢水鮮少有專門的處理單元，而使民眾感觀不佳，建議可多與國外廠商技術交流，提升滅

菌鍋製造技術，以共同推動醫療廢棄物滅菌處理。

2-2. 歐洲對於滅菌鍋監測之觀點

醫療器材的滅菌是醫院對於感染控制重要的一環，大部分醫院皆有供應中心提供無菌的醫療器材，因此保證醫療器材的無菌是非常重要的課題，對於滅菌鍋的效能查核，各國都是用物理性的監測 (physical measurements) 或者使用生物指示劑 (biological indicators)、化學指示劑 (chemical indicators) 來進行的查核 (validation)，歐洲學者認為物理性監測可直接得到滅菌狀況的物理參數，因指示劑欠缺明確之參數值，比較適用的滅菌效能查核方法(Doornmalen *et al.*, 2008)。

Doornmalen 等人指出歐洲國家比北美和開發中國家常使用物理性監測來查核滅菌效能，且認為理想的滅菌溫度應該是 $T_c \leq T_p$ ， T_c 系指是指滅菌鍋內鍋所測得之溫度， T_p 是依所測得的壓力使用溫度飽和蒸汽壓關係曲線所換算得的理論溫度。Figure 2-5 為溫度與飽和蒸汽壓的關係曲線，圖中曲線為在飽和蒸汽時溫度與壓力之關係，若在該曲線以下之溫度壓力關係為過飽和蒸汽 (supersaturated steam)，在該曲線以上之溫度壓力關係為過熱蒸汽 (superheated steam)； T_c 與 T_p 之關係有三種情形，如下

- $T_c = T_p$ 時為飽和蒸汽 (saturated steam) 為良好的滅菌環境
- $T_c < T_p$ 時為過飽和蒸汽 (supersaturated steam) 為良好的滅菌環境
- $T_c > T_p$ 時為超熱蒸汽 (superheated steam) 非良好滅菌環境

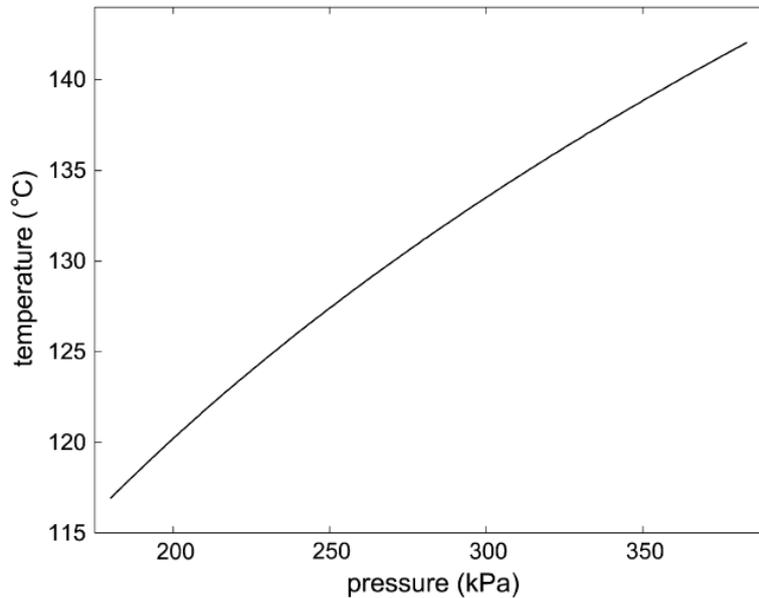


Figure 2-5 溫度與飽和蒸汽壓之關係曲線 (Doormmalen *et al.*, 2008)

此外於滅菌溫度監測的規範也以座標圖與方程式更進一步的解析有效的滅菌情形，說明如下：

$$T_{mc,min} \leq T_{mp} - \Delta T_{mc} - \Delta T_{mp} + \Delta T_{ns} \dots \dots \dots (1)$$

$$T_{mc,max} \geq T_a + \Delta T_{mc} \dots \dots \dots (2)$$

- T_{mp} (x 軸)：滅菌鍋內所測得的壓力經飽和蒸汽壓溫度壓力關係曲線所換算得的理論溫度。
- T_{mc} (y 軸)：滅菌鍋所測得較不精確的溫度。
- ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} ： T_{mc} 與 T_{mp} 不穩定的變動
- ΔT_{ns} ：指不可壓縮的水汽或者超熱的蒸氣的溫度
- T_a ：滅菌設定溫度

假設 T_a 設定為 134°C ， ΔT_{ns} 為 1°C ，而 ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} 為 0.5°C 與 1kPa 誤差，方程式 (1) 與 (2) 所夾擠的面積內的座標關係則為有效滅菌的飽

和蒸汽溫度，如 Figure 2-6 所示。該方程式可寫入滅菌鍋遠端監測程式上，可即時掌控滅菌狀況，避免滅菌失敗。

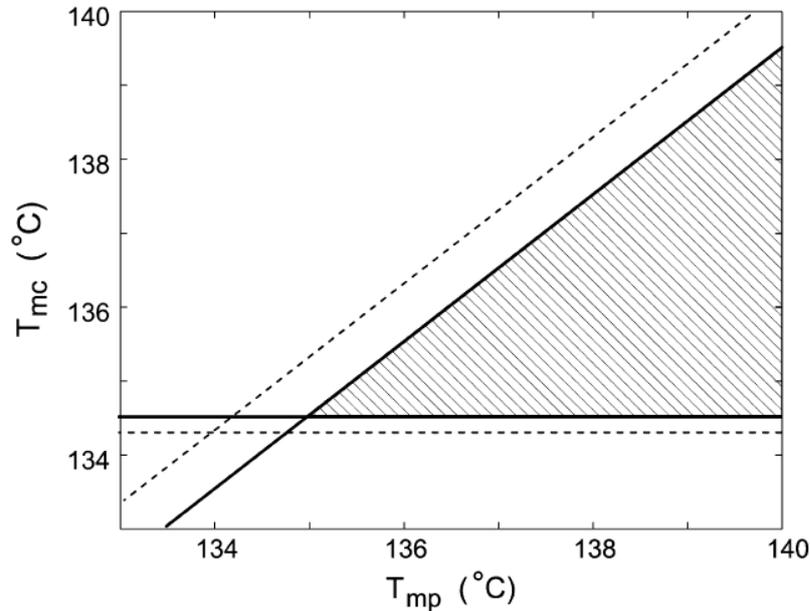


Figure 2-6 有效滅菌溫度監測座標圖 (Doornmalen *et al.*, 2008)，實線部分 T_a 設定為 $134\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， ΔT_{ns} 為 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，而 ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} 誤差為 $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 與 1 kPa ；虛線部分是當 ΔT_{mc} 、 ΔT_{mp} 誤差為 $0.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 與 0.5 kPa 時的情形。

滅菌作業最重要目地就是要得到無菌的物品，很多國家都是使用指示劑來查核滅菌效能，指示劑的使用的優點在於使用簡單，另一方面而言物理監測更可在滅菌過程中自體顯示重要的參數訊息。指示劑監測較物理監測而言較無法顯示數據，若依照使用說明使用的話仍可被接受，但是像生物指示劑須有培養，要等培養完結果出來方可使用該批次滅菌的東西，這是生物指示劑的缺點。指示劑僅能單方面的測試滅菌是否過與不過，如果沒過並不能提供是因何種因素而造成滅菌失敗，例如：蒸氣不夠飽合、滅菌溫度持續不夠。

歐洲國家比北美和開發中國家常使用物理性監測來查核滅菌效能，例如滅菌鍋內每 100 L 須有 1 個熱感應器 (thermo-sensor) 以及壓力偵測器 (pressure-sensor)，但每壹機組最少須有 6 個熱感應器以測量溫度 (EN554,1994)；達有設定溫度開始滅菌後，過程中監測的溫度必須維持在設定溫度與設定溫度加 3 °C 之間 (EN285, 2006)。一般而言，歐盟的規範相當注重機械式量測，特別是多點的溫度與壓力，並與理論飽和蒸汽壓比對，作為滅菌效能評估的參考，其優點是有正確的學理依據，可線上即時監測，雖然初設費較高，但長期監測成本卻較經濟。由於這些標準技術規範指引皆須線上購買且價格不匪，建議由環保署另行編列預算購買，才能詳細評比這些規範與其他規範的異同，彙整成適合本土醫療廢棄物滅菌設施的標準品管規範。

2-3. 國內外蒸氣滅菌鍋效能檢測準則

目前各種滅菌方法中，以高溫蒸氣滅菌法為主流，市面上滅菌機組，皆可調整其操作參數，以達到良好的滅菌效能，為確保醫療廢棄物滅菌後可達規定標準，評估滅菌效能，是高溫蒸氣滅菌法重要的一環，也是推動醫療廢棄滅菌處理的關鍵，以下將介紹國內外滅菌效能的查核準則，並比較其效能查核方法。

USEPA

美國於 1988 年通過 Medical Waste Tracking Act 法案，其中要求美國 EPA 必須製作醫療廢棄物相關議題報告書提交國會，內容包含各種醫療廢棄物滅菌方式的評估標準，以保障民眾健康及環境衛生。目前 USEPA 已制訂一套滅菌效能的查核準則 “Guidance for Evaluation Medical Waste Treatment Technologies” 共揭示

- Incineration
- Steam Autoclaving
- Chemical Treatment
- Nonionizing Radiation
- Gamma Irradiation

等 5 種滅菌方式的評估準則。

美國醫療設備促進協會

美國 Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) 所發行之「Good hospital practice: Steam sterilization and sterility assurance」，已通過 American National Standards Institute 的認可，提供各級醫療院所蒸氣滅菌 (Steam sterilization) 之建議措施，目前美國各級醫療院大多以此作為操作及效能查核的準則，該準則是針對醫院供應中心醫療器材的滅菌所制定的，可作為醫療廢棄物滅菌之參考。

其內容包含

- Functional and physical design criteria for sterilization processing areas
- Staff qualifications, education, and other personnel considerations
- Processing procedures
- Installation, care, and maintenance of steam sterilizers
- Quality control.

其中 Quality control 部分建議了效能評估之方法。

我國衛生署

衛生署疾管局 (TCDC) 於民國九十三年制定「台灣滅菌監測建議措施」，提供滅菌效能評估的參考，該建議措施大致參考 AAMI 準則；衛生署 (TDOH) 另於民國九十年四月二十六日公告「部分感染性醫療廢棄物滅菌處理標準及相關規定」，該規定為我國感染性廢棄物高溫高壓滅菌操作規範，及效能評估的主要依據，其規範內容包括滅菌處理標準、高溫高壓滅菌處理操作規定、效能測試等。

我國環保署

我國環保署 (TEPA) 對於滅菌鍋效能之檢測標準僅在「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」僅規範了削減率 (reduction rate) 至少須達 99.999% 者，以嗜熱桿菌芽孢測試，而測試方法及檢測頻率等皆無詳細規範。

2-3-1. 比較各滅菌效能檢測

上述滅菌效能檢測方法中 AAMI 以及「台灣滅菌監測建議措施」是適用於院內醫療器材，而其他皆適用於醫療廢棄物，有異於其他準則使用生物指示劑檢測，USEPA 試驗時是自行製備孢子 strip 或 disc，或採用商業生產之孢子 strip，並於使用前先行稀釋植菌求得原始菌落密度。檢測時將 strip 或 disc 置入封套及蒸氣可穿透的容器內，再置入廢棄物中央部位做為模擬。滅菌完成後取出 strip 或 disc，轉植到 5 mL 的 soybean-casein digest broth media 中，經 72 小時培養後觀察是否有孢子繁殖生長，呈現陽性反應之培養液再轉植到 soybean-casein digest agar plates，經至少 24 小時培養後，再確認是否殘留菌種做為最終判讀，此方

法過程很繁複，而一般實務上所使用的生物指示劑判讀方法只須將指示劑培養 48 小時即可以培養液 (media) 顏色變化作判讀，目前美國 3M 公司之快速判讀生物指示劑 (rapid readout biological indicator, RRBI) 在 3 小時內即可完成判讀 (Alfa *et al.*, 2002)。

Geobacillus stearothermophilus (G.S) 是最抗熱的菌種，目前皆以該菌作為滅菌效能檢測的指標菌，USEPA 規定檢測時菌數須達 10^6 ，TDOH 與 TEPA 亦規定菌落數最少須有 10^5 以上，AAMI 與 TCDC 並無規定生物指示劑或者 spore strip 之最少菌落數。此外在進行檢測時須模擬物品蒸氣阻絕及穿透性，USEPA 是將裝有 strip 的容器放入廢棄物本體內，這樣的動作將使檢測人員暴露感染的風險，因此 AAMI、TCDC 建議使用挑戰包 (challenge test pack) 進行檢測，以模擬嚴苛的蒸氣阻絕情形，此外對於滅菌袋之封口，USEPA 與 TDOH 認為可將封口打開以利蒸氣穿透廢棄物，但是此舉將使處理人員有感染之風險，應該規範保持完封投料 (intake feeding)，對於蒸氣穿透問題可另尋其他方式解決。

TDOH 規定每個月進行一次效能檢測，USEPA 則是兩週進行一次檢測，AAMI 與 TCDC 則是建議每週最少一次，此外對於削減率之檢測，由於該種檢測方法必須知道原始菌落數，經滅菌後再將所剩餘菌落培養至培養皿 (plate) 上計數殘餘菌落，以計算削減率，計算方法如下：

- $\text{Log (kill)} = \log (C_0/C)$
- C_0 滅菌前初始菌落數
- C 滅菌後菌落數

該方法過程繁複，必須遵守的管品基準甚多，一般醫院或者處理業者難以執行，不過此種檢測方式也是唯一可將滅菌效能量化，也是最精確的效能檢測方式，避免二次感染、保護處理人員健康以及環境危害。TCDC、TDOH 皆規定削減率需達 99.999%，但卻無規定必須進行削減率檢測，建議每年進行一次削減率檢測，以確保滅菌品質。Table 2-2 為國內外滅菌鍋效能檢測方式比較表。



Table 2-2 國內外滅菌鍋效能檢測方式比較表

| 項目 | USEPA | AAMI | TCDC ¹ | TDOH ² | TEPA ³ |
|----------|-----------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 滅菌物品 | 醫療廢棄物 | 醫療器材 | 醫療器材 | 醫療廢棄物 | 醫療廢棄物 |
| 檢測方式 | 培養生長判定 | 生物指示劑 | 生物指示劑 | 生物指示劑 | 未規定 |
| 最低菌落密度 | 10 ⁶ | 未規定 | 未規定 | 10 ⁵ | 10 ⁵ |
| 包封模擬 | 置入廢棄物本體 | 挑戰包 | 挑戰包 | 滅菌物容器中 | 未規定 |
| 包封袋口 | 鬆開 | 無此規定 | 無此規定 | 鬆開 | 未規定 |
| 檢測頻率(最少) | 每兩週一次 | 每週一次 | 每週一次 | 每月一次 | 未規定 |
| 削減率檢測 | 未規定 | 未規定 | 未規定 | 未規定 | 未規定 |

1. 我國衛生署疾管局民國九十三年制定滅菌監測建議措施
2. 我國衛生署「部分感染性醫療廢棄物滅菌處理標準及相關規定」
3. 我國環保署「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」

2-4. 含氯塑膠醫療耗材使用量調查

過去文獻指出醫療廢棄物之塑膠比例為 50% (江, 2004), 大約為一般廢棄物的一倍 (22.29%), 且醫療廢棄物焚化爐之戴奧辛排放係數為一般混燒焚化爐的 40~60 倍 (Wang *et al.*, 2003; 江, 2004), 要降低醫療廢棄物焚化所產生的戴奧辛污染, 可從產源含氯塑膠醫療耗材的減量著手, 搭配完善的滅菌處理系統以及後續的資源回收利用, 減少這類廢棄物以焚化處理, 即可有效降低焚化過程中所產生的戴奧辛污染。

環保署 97 年調查全國 24 醫學中心含氯塑膠醫療耗材使用量 (環保署, 2008), 每年使用量前十名分別為: 手套 (73,929,073 個)、注射針筒組 (26,707,680 個)、各類注射液軟袋 (24,181,268 個)、抽痰管 (10,617,548 個)、鼻胃管 (2,645,806 個)、輸液套組 (1,819,740 個)、血液透析迴流管 (1,070,709 個)、中心靜脈注射導管 (735,586 個)、引流管 (654,691 個)、人工腎臟 (647,600 個), 總重約 1700 公噸/年, 總含氯量約 340 公噸/年。

若將這 1700 公噸之廢棄物以非焚化處理, 利用聯合國環境規畫署 (United Nations Environment Programmer, UNEP) 之「Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Releases, 2005」來估算戴奧辛排放, 以設置有良好空氣污染防治設備的醫療廢棄物焚化爐的戴奧辛排放係數建議值 (525 μg I-TEQ/公噸) 估算, 每年可減少大約 8.9×10^5 μg 戴奧辛的排放, 此外每年亦可節省 5100 萬之處理費用 (假設清運費 30 元/公斤)。

2-5. 本研究團隊目前成果

本研究團隊調查我國醫院使用快速判讀生物指示劑 (RRBI) 進行高

溫高壓滅菌生物檢測的現況，探討 RRBI 一定的操作條件下，是否錯用型號。另以實驗探討 RRBI 快速判讀法及顏色判讀法的一致性，以及錯用 RRBI 對一致性的影響。結果顯示，受訪醫院的 31 組高溫高壓滅菌鍋中，錯用 RRBI 比例達 16.1 %，其中又以真空式滅菌鍋，操作溫度 121 °C 時錯用比例最高，占全部錯用 60 %。在快速判讀法和顏色判讀法一致性方面，正確選用 RRBI 時，兩種判讀系統一致性達 75.3%，並呈現出快速判讀法較為保守的結果；而在錯用 RRBI 方面，兩種判讀系統一致性降至 40.7 %，並出現 59.3 % 的偽陰性 (江等，2006；梁，2007)。

此外為評比不同操作條件之滅菌效能，並實證包封程度對滅菌效能的影響，採用 121G (重力模式、121 °C、60 分鐘) 及 135V (真空模式、135 °C、45 分鐘) 兩種操作條件，分別進行 4 重複試驗。試驗時將團狀報紙及空針筒填充於滅菌袋中，封緊袋口置入滅菌鍋，於袋內 (IB)、針筒內 (IBN) 及袋外 (OB) 各放置 2 支 3M 1292 快速判讀生物指示劑 (RRBI) 及 3 支 3M 1243 化學指示劑 (CI) 後進行滅菌，試驗後 CI 以肉眼判讀，2 支 BI 分別進行快速與顏色判讀，以及 HPC 計數殘餘菌落數計算 log kill。結果在 121G 試驗中，OB、IB 及 IBN 快速判讀陽性比例分別為 0%、75%、75%，顏色判讀及 CI 結果亦同。OB 的 log kill 平均值達 5.0，而 IB 及 IBN 的平均值則降至 1.7 以下；在 135V 方面，OB、IB 及 IBN 所有判讀方式的陽性比例皆為 0%，且 OB 的 log kill 皆>5，IB 及 IBN 的平均 log kill 皆為 5.2。該研究證實 121G 的滅菌效能易受包封程度所影響，而 135V 較能克服包封的蒸氣阻絕，因此建議修訂滅菌操作規範，規定廢棄物的包封材質，或於滅菌時將廢棄物同時破碎，以克服包封對蒸氣阻絕的影響，或操作於真空模式 135 °C，以確保完善之滅菌 (江等，2007；梁，2007；劉等，2006)。

第三章 研究方法

本研究主要為進行實場醫療廢棄物滅菌效能評估，以了解目前滅菌處理之現況。本研究之研究方法以下分 4 節說明，包括各種指示劑使用方法及原理、菌落培養與計數方法、滅菌效能評估方式、數據分析統計。

3-1. 各種指示劑使用方法及原理

3-1-1. 生物指示劑

本研究使用快速生物指示劑 (3M Attest Rapid Readout Biological Indicator, RRBI) 是運用高菌落密度 (至少 1×10^5 CFU) 的嗜熱桿菌芽孢 (*Geobacillus stearothermophilus*, G.S) 作為評估指標，該菌種較一般致病菌抗熱之外，菌落數量也高於一般受污染物上的致病菌 (Rutala et al., 1993)，以求保守估計滅菌效能。以下將分別說明 RRBI 的發展沿革、構造、適用條件及使用方式、自動培養判讀機使用方法。

1. 發展沿革

自 1970 年至今，RRBI 經過 2 次的型態改良 (Rutala et al, 1996)，其發展過程可分為：

第一代：1970 前，於細紙片上植塗布指標菌，裝入特製封套中，進行滅菌。滅菌後取出細紙片，置入無菌培養液培養七天後判讀，以目視判讀，混濁培養液表示滅菌不完全。其缺點為培養時間過長，轉移細紙片至培養液時易受污染。

第二代：1970 年發展出第二種類型的 BI (Rutala et et al., 1996)，將孢子紙條與添加 pH 指示劑的培養基放於塑膠管柱中，滅菌完後將裝載培

養液的玻璃甌壓碎，使其與孢子紙條接觸開始培養，該類型之 BI 具自體培養判讀系統 (self-contained system)，菌種生長過程中會產生酸性物質，導致 pH 指示劑變色，培養 48 小時後可用肉眼觀察，若顏色改變，判定為滅菌不完全。其優點為大幅縮短培養時間 (由七天縮減至 24~48 小時) 以及自體培養判讀系統，但已滅菌物品須貯存至判讀完成後方能進行後續處理 (Alfa *et al.*, 2002; Vesley *et al.*, 1992)，貯存過程中會提高二次污染的風險以及處理成本。

第三代：1991 年發展快速判讀生物指試劑 (Schneider *et al.*, 2005)，縮短判讀時間至 1~3 小時。因 G.S 可分泌一種外細胞的 α -D-葡萄糖苷酶 (α -D-glucosidase) 活性酵素，較孢子更具抗熱性 (Albert *et al.*, 1998)，可作為更嚴格的指標。培養液中添加 4-甲基繖形基- α -D-葡萄糖苷 (4-methylumbelliferyl- α -D-glucoside, 4-MUG)，該物質為非螢光物質，但與活性酵素結合反應後，會釋放出螢光物質 4-methylumbelliferone (4-MU)，其轉變過程如 Figure 3-1 所示。滅菌後將 RRBI 放入自動培養判讀機中 (290 Auto Reader) 中進行培養判讀，如有活性酵素存殘留，則 290 Auto Reader 可在 1~3 小時內偵測到 4-MU 物質的螢光反應，此時即代表滅菌失敗。該類型之 BI 具有快速判讀之功能之外，亦有第二種類型的培養 48 小時之顏色判讀。

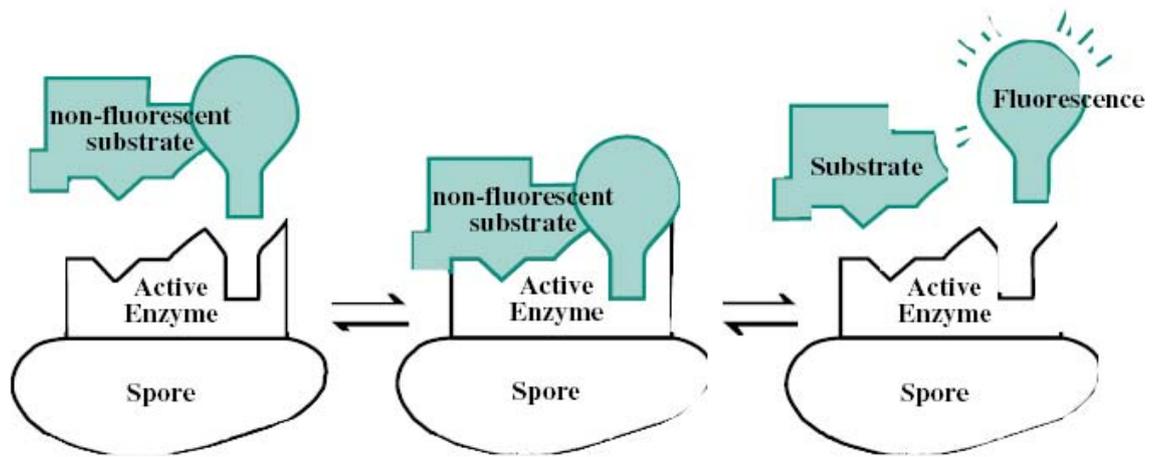


Figure 3-1 4-MUG 與 α -glucosidase 結合釋放 4-MU 螢光物質反應圖 (3M Health Care, 2005)。

2. 構造

RRBI 之構造如 Figure 3-2 所示，以下依各部位分別說明：

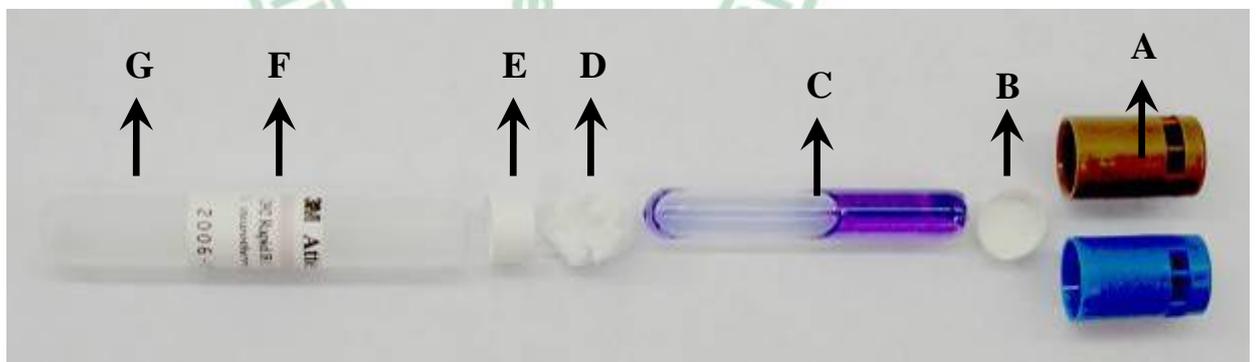


Figure 3-2 RRBI 構造圖

- A. Cap：BI 之試管蓋，上緣有六個孔隙可供蒸氣通入內部，依不同型號分為 2 種顏色，1291 及 1292 分為藍色蓋及褐色蓋。

- B. Filter：覆蓋於試管蓋及試管間，其材質可讓水蒸氣穿透，並阻絕外來細菌進入試管內而造成污染。
- C. Growth Medium：主要為 tryptic soy broth，另添加 4-methylumbelliferyl-alpha-D-glucoside 及紫色溴甲酚 pH 指試劑，未使用前保存於玻璃安瓿 (ampule) 中與孢子隔離，待滅菌後壓碎玻璃使其流出，潤濕孢子進行培養判讀。
- D. Macroporous Material：具孔隙之吸水織物，可將螢光物質濃縮聚集於試管底部協助判讀。
- E. Spore Strip：乾式孢子紙條 (dry spore strip)，其中包含至少 1×10^5 colony forming unit (CFU) 的 G.S 孢子 (American Tissue and Culture Collection 編號 7953)。
- F. Label：可填寫試驗日期、批次及相關資訊的標籤，其上含有製造日期、菌種名稱、產品型號及玫瑰色之化學指示條 (暴露高溫蒸氣則轉變成褐色)。
- G. Vial：軟式聚丙烯塑膠試管，裝載孢子紙條 (spore strip)、吸水織物 (macroporous material) 及培養液的玻璃安瓿 (ampule of media)。

3. 適用條件及使用方法

3M Attest RRBI 不同的型號有不同的滅菌是用條件，包括滅菌模式、溫度，判讀時間亦不相同。RRBI 可分為 1291 及 1292 兩種型號，Table 3-1 為兩種 RRBI 之滅菌適用條件及判讀時間。1291 適用於 132°C 重力式滅菌，快速判讀須 3 小時，顏色判讀須 24 小時；1292 適用於 132°C 真

空式滅菌以及 121 °C 重力式滅菌，快速判讀須 3 小時，顏色判讀須 48 小時，此外目前 3M 未有適用 121 °C 真空式滅菌模式之 BI，於該操作條件下選用其他效能評估方式。

Table 3-1 不同型號 RRBI 適用的操作條件及判讀時間

| 型號 | 操作模式 | | 判讀時間 | |
|------|--------|--------|------|-------|
| | 重力式 | 真空式 | 快速判讀 | 顏色判讀 |
| 1291 | 132 °C | 不適用 | 1 小時 | 24 小時 |
| 1292 | 121 °C | 132 °C | 3 小時 | 48 小時 |

RRBI 使用方法如下：

1. 選用正確 RRBI 型號，參考 Table 3-1。
2. 於 label 上註明試驗相關資料，如日期、編號等
3. 在適合的托盤或測試包裡置入滅菌鍋進行滅菌
4. 滅菌後取出立即壓下試管蓋使其密閉，如 Figure 3-3 所示。

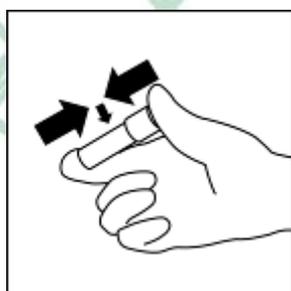


Figure 3-3 RRBI 試管蓋壓密示意圖

5. 待約 5~10 分鐘使 BI 冷卻
6. 置入 290 Auto Reader 破碎槽壓碎玻璃安瓿，如 Figure 3-4 所示。

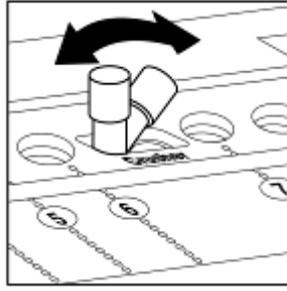


Figure 3-4 Auto Reader 破碎槽壓碎玻璃安瓿示意圖

7. 輕敲 BI 底部使培養液潤濕 spore strip
8. 置入 290 Auto Reader 進行快速判讀
9. 快速判讀後移至潮濕培養箱繼續培養 24~48 小時

4. 自動培養判讀機

3M Attest 290 自讀式快速培養判讀機 (Auto-Reader) ，可偵測 RRBI 的螢光反應，並提供 BI 培養的溫度條件 ($60\pm 2^{\circ}\text{C}$)。290 Auto-Reader 具有 12 個 BI 培養槽及一組壓碎槽 (crusher)，藍色及褐色培養槽分別用來判讀 Attest 1291 及 1292 RRBI。每次使用時，需暖機 30 分鐘使培養槽升溫至適當溫度後再進行判讀 (3M Health Care, 2003)，並將一支未經滅菌的 BI 進行判讀作為陽性控制組 (positive control, PC)，PC 須與該次使用的 BI 同一批次，其目的為查驗 Auto-reader 功能是否異常，是否有正確培養溫度，孢子是否因儲存不當而失去活性，該批次 BI 生長力受改變。

290 Auto Reader 具有紅、黃、綠 3 種指示燈，黃燈表示正在進行培養判讀程序，不可移動或碰觸 BI；紅燈亮起 (+) 表示偵測到螢光反應，判讀為陽性表示滅菌失敗，如機體已開啟響鈴功能，則會響起警示鈴聲；快速判讀時限內未偵測到螢光反應，則綠色指示燈 (-) 亮起，表示滅菌成功，290 Auto Reader 外觀及燈號如 Figure 3-5 所示。

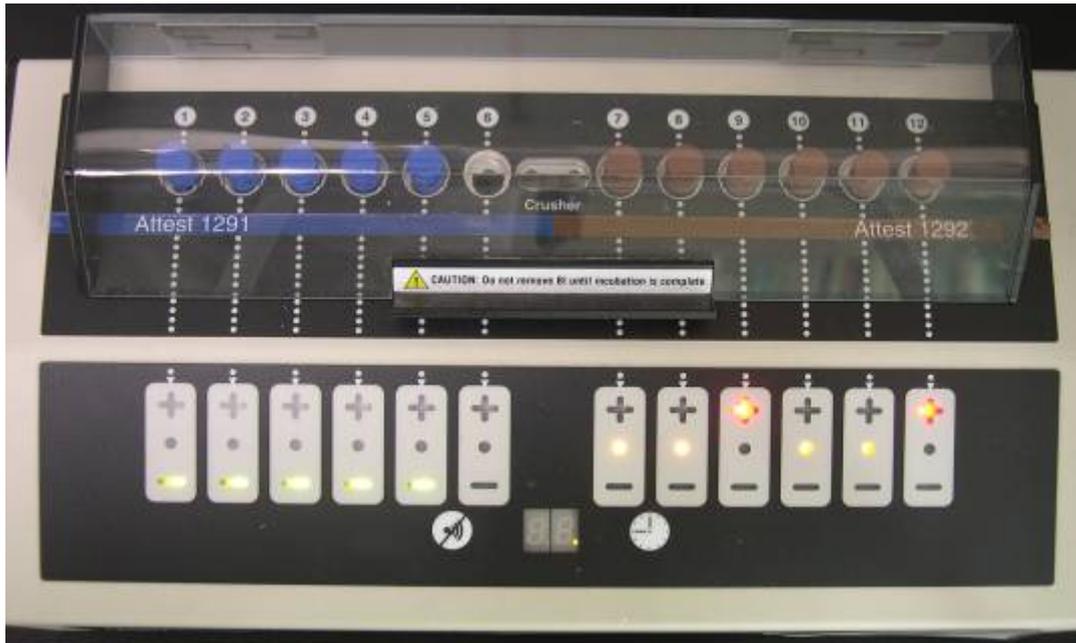


Figure 3-5 290 Auto Reader 培養判讀機之外觀及燈號

3-1-2. 整合性化學指示劑

參考文獻建議監測措施 (AAMI, 1993；疾管局, 2004)，滅菌過程可用化學指示劑監測各種操作參數，因此本研究採用 3M 1243 Steam Chemical Integrator (CI) 監測滅菌操作參數，依據 AAMI ST-60 的化學指示劑可分 5 級，如下：

- Class 1 (Process Indicators)：僅能證實是否暴露過滅菌過程及區別已滅菌或未滅菌，例如：滅菌指示帶 (Thermal tape)。
- Class 2 (Specific Indicators)：可驗證滅菌鍋的是否被蒸汽完全注入與抽真空時是否有冷空氣進入，例如：Bowie-Dick。
- Class 3 (Single-parameter Indicators)：可查核滅菌過程中時間或者溫度其中一種參數是否符合操作條件。
- Class 4 (Multi-parameter Indicators)：可以同時查核兩種參數是否

符合操作條件，例如：溫度與時間、時間與飽和蒸汽。

- Class 5 (Integrating Indicators)：整合型化學指示劑可查核各種操作條件，如溫度、時間、飽和蒸汽等因子。

3M 1243 CI 屬於第5級多種參數測定指示劑，屬於整合性 (integrator) 化學指示劑，可查核滅菌過程是否符合各種操作條件，如溫度、時間及飽和蒸氣等因子，可快速檢測滅菌過程是否異常。

1. 構造

3M 1243 CI 為整合性化學指示劑，構造如 Figure 3-6 所示 (3M Health Care, 2006)，內部包含蒸氣溫度感應化學藥片(chemical tablet) 及化學物滲透紙蕊條 (paper strip for chemical wicking)，而外部以鋁箔薄片 (AL-foil bottom cover) 及蒸氣穿透調節紙片 (steam rate controlling paper) 加以包覆，鋁箔薄片可阻礙蒸氣穿透，而表層紙片則控制蒸氣的穿透率。

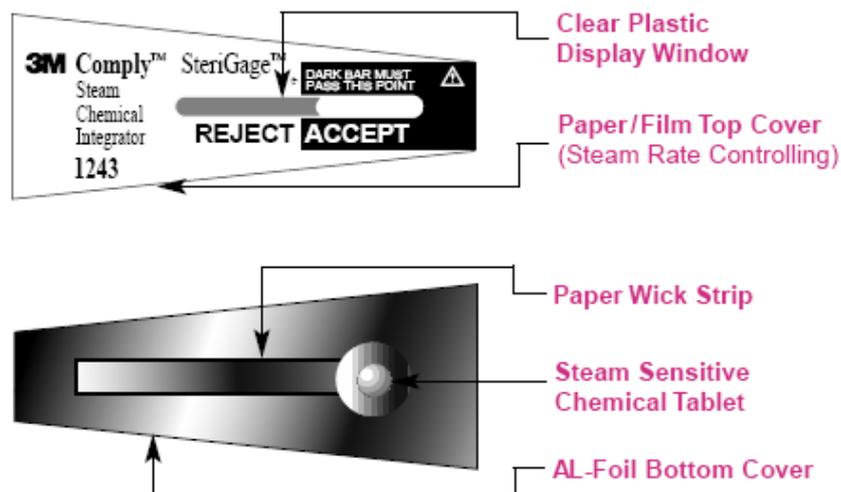


Figure 3-6 3M 1243 CI 結構圖 (3M Health Care, 2006)

2. 適用條件及用法

chemical tablet 在乾燥環境下熔點為 139 °C，接觸水蒸氣則熔點降低，適用於 118~138 °C 的高溫蒸氣滅菌程序，不適用於乾熱式、環氧乙烷或其他低溫的滅菌方式。chemical tablet 接觸高溫飽和蒸氣熔融為黑色液態物，透過紙蕊條向前方滲透，當高溫蒸氣維持足夠的時間，黑色物質滲透至 accept 區域，即可視為陰性反應，可透過 display window 觀察。使用時將 CI 置入機體內各角落或滅菌布包內，滅菌後取出可立即判讀，判讀結果如 Figure 3-7 所示。

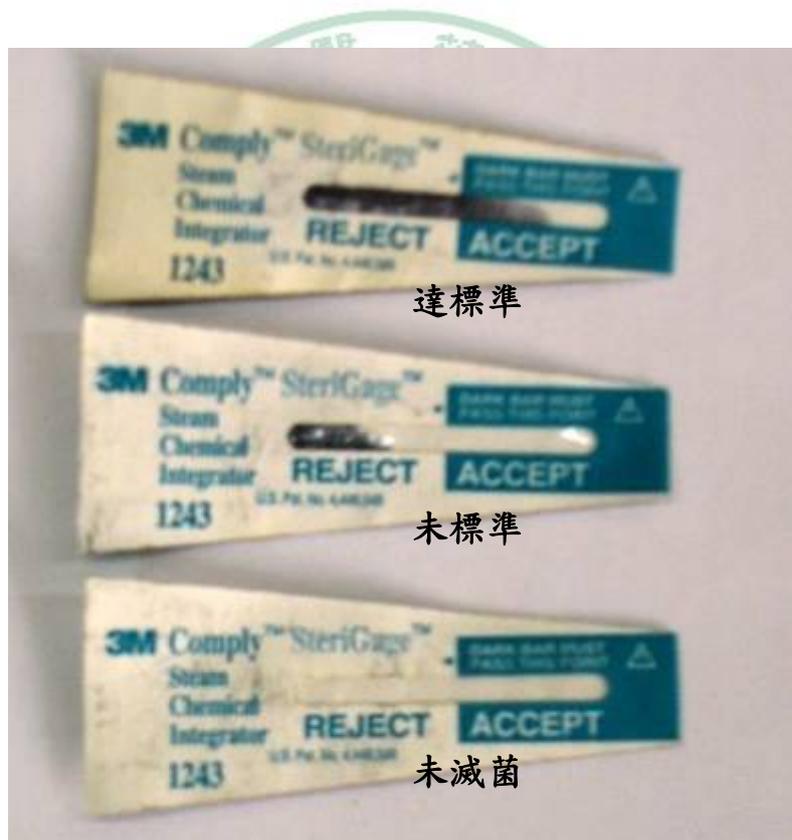


Figure 3-7 3M1243 CI 判讀結果

3-2. 菌落培養與計數方法

依據衛生署 90 年公告之「部分感染性廢棄物滅菌處理標準及相關規定」及環保署 95 年公告之「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」生物醫療廢棄物以滅菌法處理者，應以 G.S 做為效能測試的指標菌種，且削減率須 99.999 % 以上即 $\log_{10} \text{kill} \geq 5$ ，計算該指標效能的公式為 $\text{Log}(\text{kill}) = \log(C_0/C)$ ，其中 C_0 為滅菌前初始菌落數， C 為滅菌後殘餘菌落數，單位皆為 CFU (colony form units)。

由於菌種培養過程有許多變異性，以及滅菌後菌落數量通常較低，為確保殘餘菌落數的精確性與準確性，必須特別注重低濃度樣本的品管基準 (QC criteria)，本研究參考美國公共衛生學會 (American Public Health Association, APHA) 出版之 Standard Methods 之異營菌植菌計數法 (9215 Heterotrophic Plate Count, HPC) 中之傾倒法 (Pour Plate Method, Method 9215B) 以及本研究團對過去之研究成果 (江等，2005；江等，2006；江等，2007；梁，2007)，自行建立 G.S 植菌 (HPC) 程序、菌落計數準則及各項品管基準 (QC criteria)。

本研究團隊將 9215 Heterotrophic Plate Count 詳述之品管基準，如培養基使用溫度、培養基體積、樣本體積、控制樣品等，整理簡化如 Table 3-2 所示，以供本研究將遵循，並作為後續研究之參考。

Table 3-2 Quality Control List of Standard method 9215 heterotrophic plate count-B. Pour Plate Method (梁，2007)

| Item | QC Criteria | Remarks |
|---------------------------------------|---|--|
| Time limit of preparation agar | < 3hrs | |
| Agar temperature | Maintain 45 ± 1 °C | Heating and mixing |
| Agar volume | at least 10~12 mL | Spread plate method is 15 mL |
| Sample size | 0.1~2.0 mL | Spread plate method is 0.1~0.5 mL |
| Plate count | 30~300 colonies | If counts isn't in this range, refer to standard method text |
| Holding time of sample after dilution | < 20 mins | Preferably < 10 mins |
| Replicate | 2 for each dilution ratio | |
| DW blank control | At least one plate/per lot | |
| Agar blank control | At least one plate/per lot | |
| Plate weight loss during incubation | < 15% | Maintain humidity within the incubator |
| Allowable lag time for plate counting | In 24hrs after complete incubation | If must be delayed, store at 5 to 10 °C |
| CV | <ul style="list-style-type: none"> • 20 % at R = 109% of 31 cfu • 5 % at R =130% of 155 cfu | |

3-2-1. 嗜熱桿菌芽孢植菌程序

依據 3M General outline 1292 Pop 之 G.S 孢子培養方法與美國 Standard method 之 HPC，建立 RRBI 孢子標準植菌程序，如下：

1. 製備稀釋水 (Dilution Water, DW)

(1) Stock solution₁：

將 32 公克之磷酸二氫鉀 (KH_2PO_4) 溶於 0.5 公升的去離子水 (DI water) 中，以 1 N 的氫氧化鈉 (NaOH) 調整 pH 至 7 ± 0.5 ，再用 DI water 定量至 1 公升。

(2) Stock solution₂：

將 81.1 公克之氯化鎂 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 溶於 1 公升的 DI water 中。

(3) Dilution Water：

將 1.25 毫升的 Stock solution₁ 與 5 毫升 Stock solution₂ 混合後，再用 DI water 定量至 1 公升，滅菌後冷卻備用。

2. 製備培養基 Tryptic Soy Agar (TSA)

(1) 以秤藥紙量取 40 公克的 TSA 粉末加入 1000 毫升的錐型瓶中。

(2) 將 1 公升之 DI water 加入錐型瓶與 TSA 粉末充分混合直至全數溶解。

(3) 攪拌加熱至沸點，並維持一分鐘。

(4) 以 121°C 滅菌 15 分鐘後，取出即可進行 Pour Plate。

(5) 進行植菌時以攪拌加熱維持培養基之溫度。

3. 孢子條 (Spore strip) 取菌方法

- (1) 將 RRBI 之 Cap 拔除，將底層之 spore strip 以無菌鑷子取出，放入 50 毫升之燒杯內。
- (2) 加入 10 毫升的 DW，使用均質機 (homogenizer) 以 10^4 rpm 絞碎 2 分鐘，攪碎過程如 Figure 3-8 所示。
- (3) 完成菌種取樣，該樣本標示為 Sample 1，稀釋率為 10^{-1} 。



Figure 3-8 spore strip 取菌過程 (梁，2007)

本研究建議使用可調式數位顯示均質機，操作體積至少低於 10 毫升，且均值棒能確時絞碎 spore strip，並能承受高溫高壓滅菌。Table 3-3 為本研究所使用均質機之技術規格表。

Table 3-3 本研究所使用均質機之技術規格表 (梁, 2007)

| 項目 | 規格 |
|---------|------------------|
| 廠牌 | Heidolph |
| 型號 | SilentCrusher M |
| 轉速範圍 | 5000 ~ 26000 rpm |
| 可操作體積 | 1 ~ 1500 mL |
| 均質棒直徑 | 1.2 cm |
| 均質棒轉子寬度 | 9.3 mm |
| 齒縫寬度 | 2 mm |
| 均質棒長度 | 15 cm |

4. 樣品菌液稀釋程序

- (1) 將 9 毫升之 DW 加入稀釋管中。
- (2) 取 1 毫升之 Sample 1 加入稀釋管中均勻混合，此稀釋率則為 10^{-2} 。
- (3) 利用上述之方法可連續稀釋樣品，後進行植菌。

5. 傾倒植菌法 pour plate method

- (1) 參考品管基準，取適當體積之稀釋樣品加入 dish 中。
- (2) 倒入大約 15 毫升之液態 TSA 至 dish 中，輕晃 dish 使 TSA 與菌液均勻混合。
- (3) 每一稀釋率之樣品至少進行 2 重複植菌。
- (4) 待 TAS 凝固後送入培養箱培養。

6. 菌落培養

- (1) 將已凝固之 plate 倒置放入培養箱。
- (2) 放置水盤於培養箱內維持箱內濕度。

(3) 以 $56\pm 2^{\circ}\text{C}$ 培養 48 小時後取出計數菌落。

7. 菌落計數方法 plate count

本研究團隊參考美國 Standard Method 9215 (APHA, 1998) 之菌落計數方法以計數經植菌培養後 RRBI 之殘餘菌落數，由於 Standard Method 皆為文字敘述，若無實作經驗難以了解，因此本研究團隊整理將過去研究之成果 (江等，2007，梁，2007；江等，2006；劉等，2006) 以圖片說明以便後續研究參考，說明如下：

(1) 計數為一個 CFU (colony-forming units) 之菌落型態如下：

- 一個獨立的菌落，Figure 3-9 所示。
- 兩個以上菌落生長的非常相近，但仍可觀察出為數個獨立的菌落生長而成，則分別視為獨立菌落，如 Figure 3-10 所示。
- 一連串相連的菌落，如 Figure 3-11。
- 生長在 plate 邊緣的菌落，如 Figure 3-12。



Figure 3-9 一個獨立的菌落



Figure 3-10 兩個獨立的菌落



Figure 3-11 一連串相連的菌落



Figure 3-12 沿著 plate 邊緣生長的菌落

(2) plate 無菌落生長，如 Figure 3-13，則記為<1。

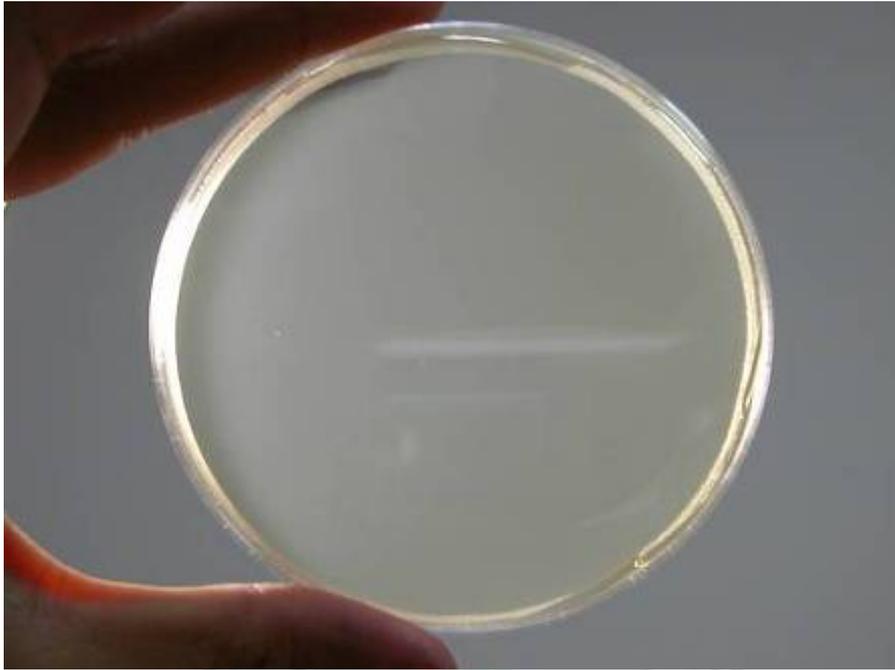


Figure 3-13 plate 無菌落生長

(3) plate 的菌落數小於 30 CFU，則照實記錄菌落數，如 Figure 3-14 有 24 CFU，則記為 24 CFU。



Figure 3-14 plate 的菌落數為 24 CFU

- (4) plate 的菌落數介於 30~300 CFU 之間，則照時記錄菌落數，如 Figure 3-15 有 58 CFU，則記為 58 CFU。

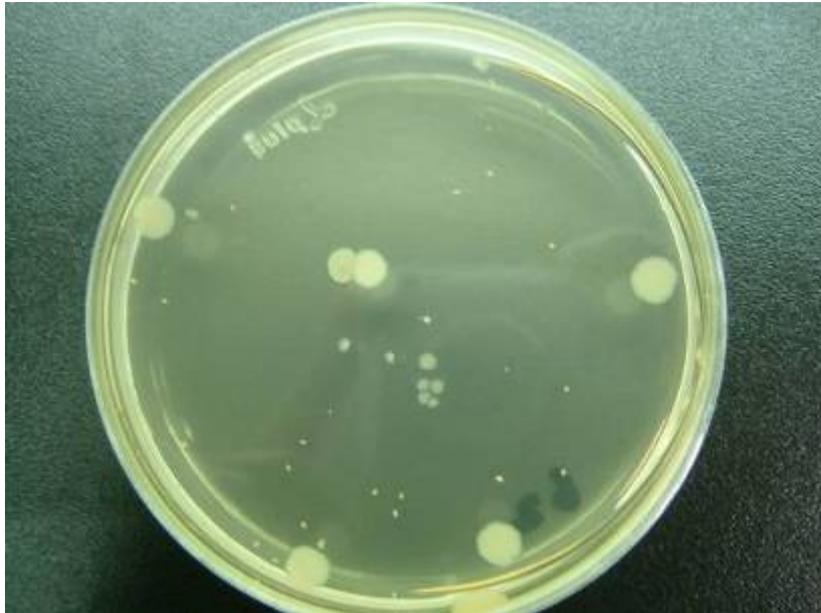


Figure 3-15 plate 的菌落數為 58 CFU

- (5) 若 plate 的菌落數大於 300 CFU，則有三種不同的計數方式，分別說明如下：
- 若 plate 上，每 cm^2 之菌落數小於 10 CFU，則以 1 cm^2 為一格，選取 6 個連續以及 7 個連續的格子十字交叉，計數該 13 個格裡面的 CFU，並計算單格之平均數，後將單格之平均數乘上該 plate 的面積數，則為該 plate 之菌落數。例如：在 57 cm^2 之 plate 上單格平均為 6 CFU，則 6 乘以 57，該片 plate 記為 342 CFU，如 Figure 3-16 所示。

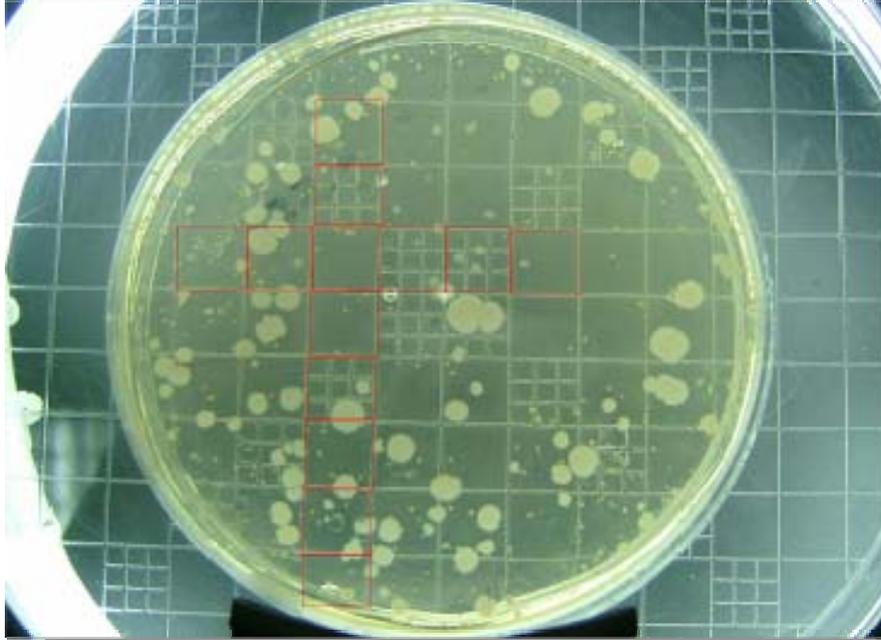


Figure 3-16 每 cm^2 之菌落數小於 10 CFU，單格平均為 6 CFU，乘以 57 後，記為 342 CFU。

- 若 plate 上，每 cm^2 之菌落數介於 10~100 CFU，則以 1 cm^2 為一格，選取 4 個具代表性之格子，計數該 4 個格裡面的 CFU，並計算單格之平均數，後將單格之平均數乘上該 plate 的面積數，則為該 plate 之菌落數。例如：在 57 cm^2 之 plate 上單格平均為 33CFU，則 33 乘以 57，該片 plate 記為 1881 CFU，如 Figure 3-17 所示。

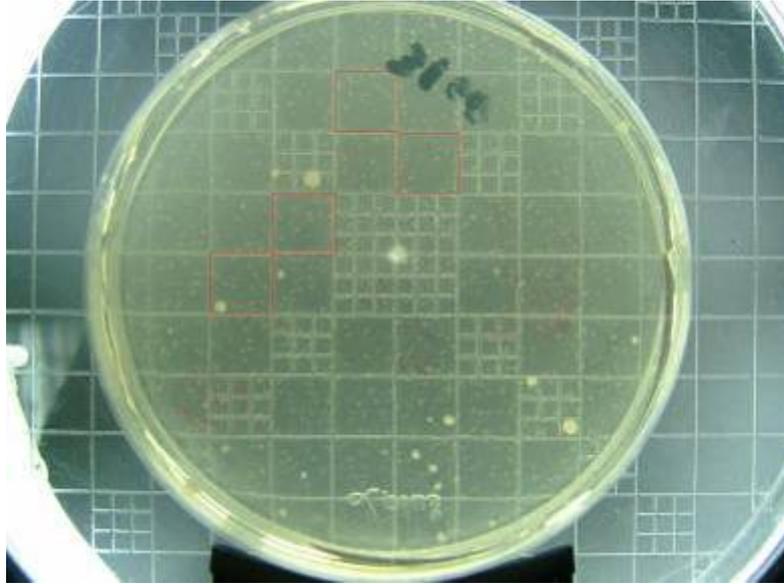


Figure 3-17 每 cm^2 之菌落數介於 10~100 CFU，單格平均為 33 CFU，乘以 57 後，記為 1881 CFU。

- 若 plate 上，每 cm^2 之菌落數大於 100 CFU，依 plate 之面積換算菌落數。例如：在 57 cm^2 之 plate 上，每 cm^2 之菌落數大於 100 CFU，則記為 >5700 CFU 如 Figure 3-18 所示。



Figure 3-18 每 cm^2 之菌落數介於大於 100 CFU，記為 >5700 CFU。

菌落計數完成後，若 CFU 為三位數以上，則四捨五入取有效數字到前兩位，例如：168 CFU 則記錄為 170 CFU；1252 CFU 則記錄為 1300 CFU。記錄完後，依照實驗時之加樣體積換算成 CFU/mL 支單位，例如：加樣體積為 0.5 mL，菌落計數為 150 CFU，則樣本菌液濃度為 300 CFU/mL。以上之詳述之菌落計數方法皆根據 Standard Method 所訂定，本研究團隊將其簡化所示如 Figure 3-19 所示，其中包括菌落計數原則、數據紀錄方式及報告規定，以便後續研究參考。

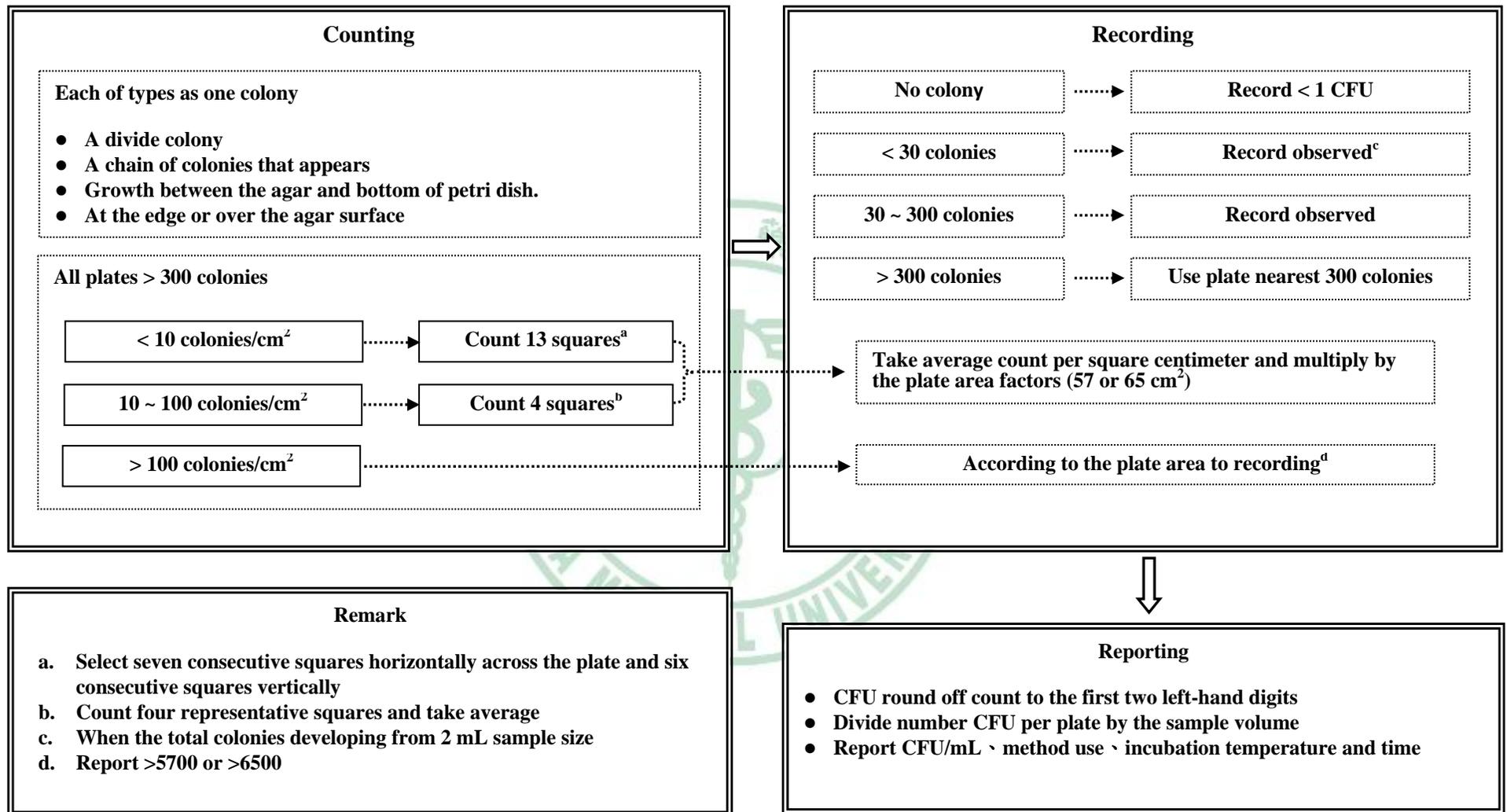


Figure 3-19 菌落計數流程圖 (梁, 2007)

3-3. 滅菌效能評估方式

為了解我國醫療廢棄物滅菌處理之現況及滅菌效能，本研究選定八間醫院與二間處理場進行實機檢測，為正確模擬實際操作廢棄物之蒸氣穿透性，取該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入該處理場已滅菌後的實際醫療廢棄物作為填充物，此外並參考 AAMI (AAMI, 1993) 於進行挑戰包測試，挑戰包之製作方式詳見附錄一。本研究除了進行現場實機測試外也針對資源性廢棄物的滅菌效能進行評估，選定一間處理場之機組使用兩種滅菌操作參數進行比較。

3-3-1. 醫療廢棄物滅菌處理實場滅菌效能評估檢測

本研究所檢測之機組技術規格如 Table 3-4 所示，其中僅 Hosp 1 之機組為國外品牌 SAN-I-PAC，其他皆為本土機組，在本次檢測十機組中有六機組為本土廠牌 YTM (永大明) 我國目前市場占有率最高之廠牌。內腔容體最大為 Hosp 6 有 5070 L，處理量約有 25 噸/月，僅次於 Fact 2 之 50 噸/月。大部分醫院因有蒸氣鍋爐所以滅菌所需之蒸氣可由外部蒸氣鍋爐產生，但亦有機組為自體電熱產生蒸氣，一般而言機組皆有溫度壓力監測系統，但並非每一機組之溫度壓力監測皆有記錄資料，在歐洲是以溫度壓力監測檢測滅菌效能 (Doornmalen *et al.*, 2008)，因此溫度壓力之監測記錄亦為效能檢測之參考依據之一。大體來說滅菌鍋可由程控面板自由變換滅菌操作參數與模式，例如：溫度、時間、重力式、真空式、真空次數等，但並非有程控版面皆可變換所有操作參數，例如 Hosp 8 可調整溫度與時間卻不能變換真空與重力模式。各機組之進料方式可分為徒手餵入以及檯車餵入，對現場操作員來說檯車餵入之進料方式比較安

全且方便，檯車亦可分層可使廢棄物不會過度堆疊能充分接觸蒸氣確保滅菌品質，如 Figure 3-20、Figure 3-21 所示。

Table 3-4 本研究檢測各機組之技術規格表

| 受測單位 | 廠牌型號 ¹ | 內容積 (L) | 蒸氣來源 ² | 溫度監測 | 壓力紀錄 | 模式變換 ³ | 進料方式 ⁴ | 程控式面板 |
|--------|---------------------|---------|-------------------|------|------|-------------------|-------------------|-------|
| Hosp 1 | SAN-I-PAC MARK 241L | 630 | 外部 | 有 | 有 | 不可 | 徒手 | 有 |
| Hosp 2 | YTM-A | 810 | 自體 | 有 | 有 | 可 | 檯車 | 無 |
| Hosp 3 | 大昌- | 340 | 自體 | 無 | 無 | 不可 | 徒手 | 有 |
| Hosp 4 | YTM-A | 1300 | 自體 | 無 | 無 | 可 | 檯車 | 有 |
| Hosp 5 | YTM-AF | 1960 | 外部 | 有 | 有 | 可 | 檯車 | 有 |
| Hosp 6 | YTM-A | 5070 | 外部 | 有 | 有 | 可 | 檯車 | 有 |
| Hosp 7 | YTM-A | 2500 | 外部 | 有 | 有 | 可 | 檯車 | 有 |
| Hosp 8 | HUXLEY- | 620 | 外部 | 有 | 有 | 不可 | 徒手 | 有 |
| Fact 1 | YTM-A | 662 | 自體 | 有 | 有 | 可 | 檯車 | 有 |
| Fact 2 | TAIJUNE- | 600 | 外部 | 有 | 有 | 可 | 徒手 | 有 |

1. SAN-I-PAC 為外國知名廠牌，YTM、HUXLEY、TAIJUNE 為本土廠牌，別為永大明、宏霖、大震，大昌亦為本土品牌。
2. 可分為外部鍋爐注入和自體電熱產生。
3. 可變換真空模式或重力模式。
4. 台車可分為單層、雙層或數層，Factory 1、Hospital 4、7 為單層，Hospital 2、5、6 為雙層。



Figure 3-20 檯車無分層，廢棄物堆疊之示意圖



Figure 3-21 檯車有分層，廢棄物堆疊之示意圖

本研究取用該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入該處理場已滅菌後的實際醫療廢棄物作為填充物並參考過去文獻（江等，2005；梁，2006），設計四種包封情形以模擬蒸氣阻絕之情形如下：

1. 將 2 支 RRBI 與 3 片 CI 放入裝有廢棄物之滅菌袋之中央，標示為 IB (in bag)。
2. 將裝有 2 支 RRBI 與 3 片 CI 的針筒放入裝有廢棄物之滅菌袋中，標示為 IBS (inside the syringe in bag)。
3. 參考 AAMI (AAMI, 1993) 在機組之冷點與鍋內中點位置放置挑戰包 (challenge test pack) 進行挑戰試驗 (challenge test) 挑戰包中亦放入 2 支 RRBI 與 3 片 CI，分別標示為 CPC (challenge pack at the cold point) 與 CPM (challenge pack at the middle point)。

本研究以四種包封 IB、IBS、CPC、CPM 評估滅菌效能，以了解目前廢棄物處理之現況以及使用挑戰包與指示劑之適切性。以該機組之日常操作條件進行五次檢測，並將積體填充率控制於 60~70%，四種包封之設置如 Figure 3-22 所示。

滅菌完成後，每種包封情形皆取 1 支 RRBI 進行快速螢光判讀及顏色生長判讀，另 1 支 RRBI 進行 HPC 細菌培養以換算 log kill，每支 RRBI 之 HPC 試驗進行 4~5 個稀釋率，每 1 稀釋率進行 2 次重複試驗，總共有 8 片或 10 片的 dish，Table 3-5 為本研究之指示劑判讀方式與數量。

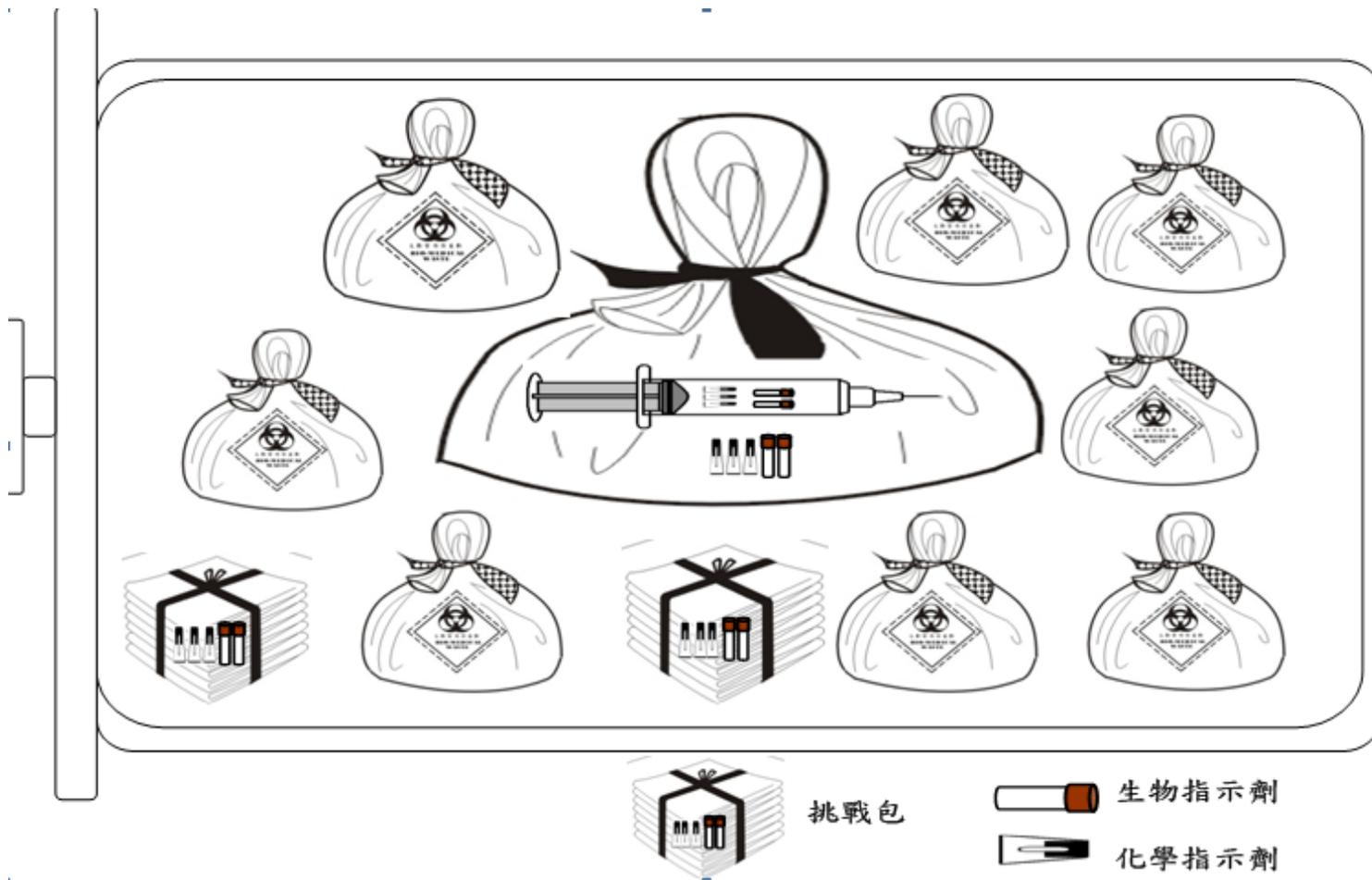


Figure 3-22 本研究效能檢測滅菌鍋內指示劑放置示意

Table 3-5 本研究實場滅菌效能檢測之指示劑判讀方式與數量

| 代號 | 放置地點 | RRBI | | | CI |
|-----|------|------|-------------------|-------------------|-----|
| | | 快速螢光 | 顏色生長 ¹ | 細菌培養 ² | |
| CPC | 鍋內冷點 | | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| CPM | 鍋內中點 | | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| IB | 袋內 | | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| IBS | 袋內 | | 1 支 | 1 支 | 3 片 |

1. 使用快速判讀相同之 RRBI 進行顏色判讀
2. 細菌培養每支 RRBI 進行 4~5 個稀釋率，每一稀釋率進行 2 次重複試驗。

3-3-2. 資源性醫療廢棄物滅菌效能測試-以軟袋、軟管、針筒為例

1. 針筒滅菌效能試驗

本研究選定 Fact 2 之機組進行檢測，取用該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入已滅菌之針筒作為填充物並參考過去文獻（江等，2005；梁，2006），設計二種包封情形以模擬蒸氣阻絕之情形如下：

- (1) 將 2 支 RRBI 與 3 片 CI 放入裝有針筒之滅菌袋之中央，標示為 SG (syringe)。
- (2) 參考 AAMI (AAMI, 1993) 在機組之冷點位置放置挑戰包 (challenge test pack) 進行挑戰試驗 (challenge test) 挑戰包中亦放入 2 支 RRBI 與 3 片 CI，標示為 CPC (challenge pack at the cold point)。

本研究以兩種包封 ND、CPC 評估滅菌效能，每一次之積體填充物為 5 袋之玻璃安剖瓶與 8 袋之針筒（包含放有指示劑之滅菌袋），每袋體積皆為 32 L，機體填充率約為 63%，選定重力式 121 °C/60 分鐘 (121G) 與真空式 135 °C/45 分鐘 (135V) 兩種模式分別進行五次檢測，以比較兩種

操作參數之滅菌效能以及挑戰包與袋內滅菌效能之差異，二種包封之設置如 Figure 3-23 所示。

2. 軟袋及軟管滅菌效能試驗

亦選定 Fact 2 之機組進行檢測，取用該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入已滅菌之廢棄物作為填充物並參考過去文獻 (江等，2005；梁，2006)，設計三種包封情形以模擬蒸氣阻絕之情形如下：

- (1) 將已用完之點滴軟袋割開，放入 2 支 BI 與 3 片 CI 後用膠帶將割口封好，並將該軟袋放入裝有軟袋的滅菌袋內，並封緊袋口，標示為 SB (soft bag)。
- (2) 另取與一條 PVC 材質的管子，依適當長度裁剪，放入滅菌袋中模擬醫療軟管，然後將 2 支 BI 與 3 片 CI 放入袋中封緊袋口，標示為 ST (soft tube)。
- (3) 參考 AAMI (AAMI, 1993) 在機組之冷點位置放置挑戰包 (challenge test pack) 進行挑戰試驗 (challenge test) 挑戰包中亦放入 2 支 RRBI 與 3 片 CI，標示為 CPC (challenge pack at the cold point)。

填充物部份另取 5 袋玻璃安瓿瓶、6 袋針筒當成機體填充物，每鍋之廢棄物填充率約為 60~65 %。分別以 121G 與 135V 進行三次重複試驗，評估軟袋 (SB) 軟管 (ST) 之滅菌效能。包封設置情形類似 Figure 3-23 所示。

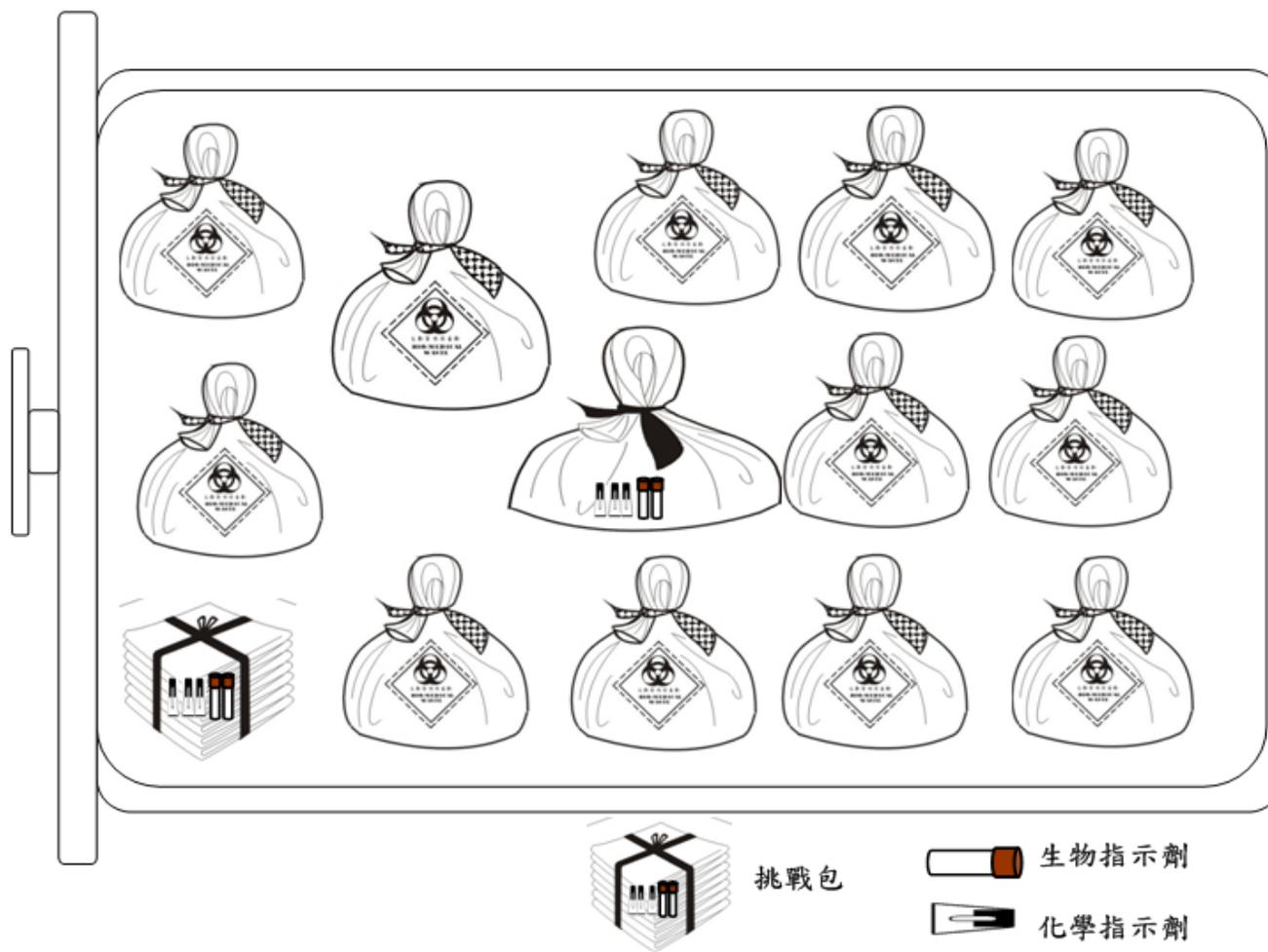


Figure 3-23 本研究資源性廢棄物效能檢測滅菌鍋內指示劑放置示意圖

滅菌完成後，每種包封情形皆取 1 支 RRBI 進行快速螢光判讀及顏色生長判讀，另 1 支 RRBI 進行 HPC 細菌培養以換算 log kill，每支 RRBI 之 HPC 試驗進行 4~5 個稀釋率，每 1 稀釋率進行 2 次重複試驗，總共有 8 片或 10 片的 dish。Table 3-6 為本研究之指示劑判讀方式與數量。

Table 3-6 本研究資源性廢棄物滅菌效能檢測之指示劑判讀方式與數量

| 代碼 | 放置地點 | RRBI 判讀方式 | | CI |
|------------------|------|-----------|-------------------|-----|
| | | 快速螢光 | 顏色生長 ¹ | |
| CPC ³ | 鍋內冷點 | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| SG ⁴ | 針筒袋內 | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| SB | 軟袋內 | 1 支 | 1 支 | 3 片 |
| ST | 軟管袋內 | 1 支 | 1 支 | 3 片 |

1. 使用快速判讀相同之 RRBI 進行顏色判讀
2. 使用放置於同一地點之另一支 RRBI，細菌培養每支 RRBI 進行 4~5 個稀釋率，每一稀釋率進行 2 次重複試驗。
3. 每次試驗皆有 CPC
4. SG 進行五次試驗，SB、ST 一同進行三次試驗。

3-4. 數據分析統計

本研究實驗數據使用 Excel 2007 建檔後，以 SPSS 12.0 進行統計分析。

1. 敘述性統計

- (1) 各種包封平均之滅菌效能以 5 次檢測結果平均。
- (2) 每一機組各種包封之滅菌效能的複現性以 CV 表示。

2. 分析性統計

- (1) 為比較該機組 CPC 與 CPM、IB、IBS 之差異性，以 Wilcoxon test 進行差異性分析。
- (2) 比較 CPC、CPM、IB、IBS 四種包封之滅菌效能與快速螢光判讀、

顏色生長判讀、化學指示劑判讀之差異性，以 McNemar's test 進行差異性分析。

- (3) 統計快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學指示劑判讀之 sensitivity，以 HPC 結果為依據，依照法規標準將 $\log \text{kill} \geq 5$ 視為陰性， $\log \text{kill} < 5$ 為陽性，進行 sensitivity 計算。



第四章 醫療廢棄物蒸氣滅菌處理實場效能測試

本章參考歐洲論文格式，將本研究實場滅菌效能試驗成果撰寫為一般期刊結構，以利後續投稿國際期刊。

4-1. 摘要

目的：本研究測試十座醫療廢棄物蒸氣滅菌鍋，以了解我國實場滅菌效能之現況，並探討利用指示劑以及挑戰包 (challenge pack) 評估滅菌效能之適切性。

方法：本研究使用快速判讀生物指示劑 (rapid readout biological indicator, RRBI) 及化學指示劑 (chemical integrator CI) 進行效能評估；並利用美國醫療設備促進協會 (Association for the Advancement of Medical Instrumentation, AAMI) 所建議 16 層包布之挑戰包進行試驗。本研究以該滅菌鍋日常之操作條件進行五次重複評估，取該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入該處理場滅菌後的醫療廢棄物作為填充物，填充率約 80%，再於袋內 (IB)、袋內針筒內 (IBS)、冷點挑戰包 (CPC)、鍋內中心點挑戰包 (CPM) 各放入 2 支 RRBI、3 片 CI，滅菌後 CI 以肉眼判讀，一支 RRBI 進行快速判讀及顏色判讀，另一支以培養計數法 (HPC) 檢測殘餘菌落數後換算成削減率 log kill。

結果：十機組中有七組滅菌效能符合規定 ($\log \text{kill} \geq 5$)，比較 CPC 與 CPM、IB、IBS 滅菌效能，僅有二機機組 IB 的滅菌效能與 CPC 有顯著性差異 ($p=0.03$ 、 0.04)，且 CPC 之滅菌效能較 IB 低，顯示 CPC 為較保守之滅菌效能檢測。以 HPC 測定結果為參考計算敏感度 (sensitivity)，快速螢光判讀為 97.8% ($n=200$)，顏色生長判讀為 90.7%，化學判讀為 95.6%。

結論：有 30% (n=10) 之機組未符合滅菌標準，證實含 RRBI 之冷點挑戰包測試為一較保守且良好的效能評估方法。

4-2. 前言

依據民國 96 年行政院環保署事業廢棄物管制中心統計資料顯示，全國醫療廢棄物申報量約為 9 萬公噸，生物醫療廢棄物佔 2.3 萬公噸 (25%)，平均全國每天產生約 63 公噸生物醫療廢棄物，目前我國生物醫療廢棄物約有 80%採焚化處理，韓國僅 53% (KMOE, 2003)。

因醫療廢棄物中含氯量高達 2.7% (Li *et al.*, 1993)，加上專用焚化爐操作不穩定及空汙設備簡易，使戴奧辛排放係數高達 3000 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ (UNEP, 2005)，為一般混燒焚化爐的 40~60 倍 (Wang *et al.*, 2003；江，2004)。為加強管制戴奧辛排放，美國環保署 (U.S. Environmental Protection Agency, USEPA) 於 1995 年修訂 Clean Air Act，廢除有害廢棄物現地焚化處理的通案審查，並嚴格審查專案申請。我國環保署亦在「中小型廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準」，規定焚化爐設計處理量未達 4 公噸/小時其戴奧辛排放限值者為 0.5 ng-TEQ/Nm³，設計處理量達 4 公噸/小時以上者為 0.1 ng-TEQ/Nm³，使得許多醫療廢棄物專用焚化爐無法符合排放標準而停工，加上清運過程必須以冷凍車運送，使得處理成本居高不下 (30~50 NT/kg)。

為推動感染性廢棄物除焚化外的處理方式，環保署於「有害事業廢棄物認定標準」(95.12.14)第五條中規定，有害事業廢棄物符合「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」(95.12.14)之中間處理方式處理（如滅菌處理），其有害性質消失者，得認定為一般事業廢棄物，可併入一

般事業廢棄物焚化爐或掩埋場處理，此外某些醫療廢棄物經滅菌解碼 (decoding) 後可進行回收利用，例如：針頭、針筒、導管、安瓿瓶等，但一般民眾對廢棄物仍存有感染性之疑慮，大部分掩埋場、大型焚化爐及回收利用廠商因此拒收滅菌解碼後之生物醫療廢棄物，而使得生物醫療廢棄物之滅菌處理管道無法落實。

依據環保署廢管處 96 年申報資料統計，全國僅約 2.5 % 的生物醫療廢棄物採取滅菌處理方式，若要有效推動醫療廢棄物解碼處理，必須了解目前國內廢棄物滅菌處理之現況，並研擬醫療廢棄物處理體系之滅菌操作規範 (specification) 以及效能評估方法 (performance test method)。國際上大多使用指示劑以及挑戰試驗 (challenge test) 來進行效能評估，過去對於使用指示劑作為效能評估之研究 (Albert *et al.*, 1998 ; Alfa *et al.*, 2002 ; Rutala *et al.*, 1993 ; Rutala *et al.*, 1996 ; Vesley *et al.*, 1992 ; Vesley *et al.*, 1995) 大多為國外之研究，本土未有類似研究之數據，因此各單界對於使用指示劑以及挑戰包之適切性有疑意。

本研究測試十座醫療廢棄物蒸氣滅菌鍋，評估我國實場滅菌效能之現況，並探討使用指示劑以及挑戰包 (challenge test pack) 來評估滅菌效能之適切性，希望能夠提供各界訂定滅菌效能檢測方法之參考。

4-3. 研究方法

4-3-1. 指示劑評估方法

一般國際上考量方便性，大多使用 BI 以及 CI 來評估滅菌效能 (AAMI, 1993; AORN, 1994; 張等, 2004)，本研究以 3M 公司的快速判讀生物指示劑 (RRBI) 為標準樣品，以嗜熱桿菌芽孢 (*Geobacillus*

stearothermophilus, ATCC7953) 為指標菌，總菌密度：型號 1292 為 3.5×10^6 colony forming unit (CFU)，1291 為 2.1×10^7 CFU。依照 3M 公司 Spore Strip Total Count 1292 (3M Health Care, 2004) 建議之方式，使用已消毒過之夾具取出 Vial 中的孢子條 (spore strip) 後，置於稀釋水後以均質機 (homogenizer) 於 10,000 rpm 震盪約 2 分鐘，將固定於孢子條上的嗜熱桿菌芽孢溶出至稀釋水中，使用美國 Standard Methods 9215 Heterotrophic Plate Count (HPC)(APHA, 1998) 之 pour plate (Method 9215B) 方法，進行培養及菌落計數，使用之培養基為 tryptic soy broth (TSA)，培養皿為 disposable plastic petri dish (57 cm²)，於 56 ± 2 °C 下培養 48 hrs 後，以 Quebec 計數菌落數，在依以下公式計算 log kill 值：

$$\log_{10} \text{kill} = \log_{10} C_1/C_0 \quad C_1 = \text{原始菌落數} \quad C_0 = \text{殘餘菌落數}$$

本研究以 HPC 作為滅菌效能的主要監測指標，也利用放置於同一測試點的重複 RRBI 樣品，進行快速螢光判讀以及顏色生長判讀，進行快速判讀時，使用 Attest 190 Auto Reader/Incubator 自動培養判讀機，其上具有 12 組培養槽。進行培養時，以未滅菌之生物指示劑 1 支，作為顏色對照與儀器校正。在完成滅菌程序後，將 RRBI 自滅菌鍋中取出，冷卻約 10 分鐘，利用判讀機上之 Crusher，將 Vial 中之 TSB ampule 壓破後，敲擊塑膠管底部直至培養液將 spore strip 潤濕，再將 RRBI 置於判讀機上之培養孔，於 60 ± 2 °C 下培養 1~3 小時，若指標菌未完全滅菌，孢子可分泌 α -D-葡萄糖苷酶 (alpha-D-glucosidase) 酵素，分解培養液中之 4-甲基繖行基- α -D-葡萄糖苷 (4-methylumbelliferyl-alpha-D-glucoside, 4-MUG)，而產生螢光反應，判讀機上指示燈號將由綠轉為紅色，並發出蜂鳴聲，此為陽性判讀；若將 RRBI 繼續培養 24~48 小時，指標菌會進一步生長繁

殖，產生酸性物質，會使得培養液顏色由紫色變為黃色，若滅菌完全則培養液則不會變色。除生物測試法之外，本研究亦參考美國醫療器材促進協會 (Association for the Advancement of Medical Instrumentation, AAMI) 之建議，搭配化學指示劑 (chemical integrator, CI) 檢測滅菌鍋操作情形，型號為 3M 1243，目的為監測滅菌操作之溫度及暴露時間等參數(3M Health Care, 2006)。依據 AAMI ST-60 的化學指示劑分級，3M 1243 CI 為第 5 級多種參數測定指示劑，屬於整合性 (integrator) 化學指示劑，可查核滅菌過程是否符合各種操作條件，如溫度、時間及飽和蒸氣等因子，可快速檢測滅菌過程是否異常。化學指示劑中含化學藥錠 (chemical tablet)，接觸高溫蒸氣熔融為黑色液態物，透過紙蕊條向前方滲透，當高溫蒸氣維持足夠的時間，黑色物質滲透至「Accept」區域，可直接目視為陰性反應。使用時將 CI 放置於 BI 相同之滅菌位置，滅菌後取出可立即判讀。

4-3-2. 滅菌效能評估

本研究選定八間醫院與二間處理場進行實機檢測，為正確模擬實際操作廢棄物之蒸氣穿透性，取該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入該處理場已滅菌後的實際醫療廢棄物作為填充物，此外並參考 AAMI (AAMI, 1993) 於進行挑戰包測試，挑戰包之製作方式詳見附錄一。取用該滅菌處理場所使用之滅菌袋，填入該處理場已滅菌後的實際醫療廢棄物作為填充物並參考過去文獻 (江等，2005；梁，2007)，於袋內 (IB)、袋內針筒內 (IBS)、冷點挑戰包 (CPC)、鍋內中心點挑戰包 (CPM) 各放入 2 支 RRBI、3 片 CI，以該機組之日常操作條件進行五次重複試驗，並將積體填充率控制於 60~70%。

滅菌後 CI 以肉眼判讀，每種包封皆取 1 支 RRBI 進行快速螢光判讀及顏色生長判讀，另 1 支 RRBI 進行 HPC 培養殘餘菌落換算 log kill，每支 RRBI 之 HPC 試驗進行 4~5 個稀釋率，每 1 稀釋率進行 2 次重複試驗，總共有 8 片或 10 片的 dish。

4-3-3. 統計方法

本研究將計算各機組每種包封之平均滅菌效能，效能複現性以 CV 表示；此外各機組以 CPC 為對照組使用 Wilcoxon test 分別與 CPM、IB、IBN 的 log kill 值 (n=5) 進行差異性分析；比較 CPC、CPM、IB、IBS 四種包封之 log kill 值與快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學指示劑判讀之差異性 (n=200)，以 McNemar's test 進行差異性分析，此外為方便統計快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學指示劑判讀之 sensitivity，以 HPC 結果為依據，依照法規標準將 log kill>5 視為陰性，log kill<5 為陽性，進行 sensitivity 計算。

在 log kill 換算方面本研究使用之生物指示劑總菌落數為：1292 為 3.5×10^6 CFU，1291 為 2.1×10^7 CFU，根據 HPC 之菌落計數方法若無菌落生長記為 <1 CFU，換算 log kill 後則為 5.9、6.6。

4-4. 結果

十組測試機組中有六組 (Hosp 1、Hosp 2、Hosp 5、Hosp 6、Fact 1、Fact 2) 之滅菌效能符合我國削減率 (reduction rate) 達 99.999% (環保署，2006) 之規，Hosp 4 經調整滅菌時間至 45 分鐘後亦可達法規標準，Hosp 3 之機組過於老舊預熱時無法達到設定溫度 121°C，因此並無有效滅菌時間，僅第一次試驗之 IB、IBS，第四、五次試驗之 IB logkill 符合法

規。檢測結果如 Table 4-1 所示，Hosp 2、Hosp 5、Hosp 6、Fact 1、Fact 2 滅菌效能複現性皆佳，CV 值皆為 0%(n=5)，Hosp 1 僅 CPM 之 CV 為 121%，滅菌效能不穩定亦與挑戰包因吸收大量水分有關係；Hosp 5 僅有 IB 之 CV 為 0%，log kill 也大於 5，CPC、CPM、IBN 之 CV 介於 67~168% 之間；Hosp 6 之 CV 介於 46~133% 之間，由 Hosp 5、Hosp 6 與他機組比較，可發現滅菌效能低之機組其滅菌穩定性亦不高，Hosp 2、Hosp 5、Hosp 6、Fact 1、Fact 2 滅菌效能複現性皆佳，CV 值皆為 0% (n=5)，Hosp 1 僅 CPM 之 CV 為 121%，Hosp 5 僅有 IB 之 CV 為 0%，log kill 也大於 5，CPC、CPM、IBN 之 CV 介於 67~168% 之間；Hosp 6 之 CV 介於 46~133% 之間，本研究參考美國 AAMI (AAMI, 1993) 之建議將指示劑放入挑戰包進行挑戰試驗，此外另將指示劑放入袋內及袋內針筒內進行平行測試，其結果僅 Hosp 7、Hosp 8 之 CPC 之滅菌效能較 IB 有顯著性低 ($p=0.03$ 、 0.04)，顯示 CPC 為較保守之測試。此外十座滅菌鍋之檢測結果，快速螢光判讀出現 8 次偽陽性，1 次偽陰性；顏色生長判讀偽陽性 4 次，偽陰性 4 次；化學判讀偽陽性 8 次，偽陰性 2 次。如 Table 4-2 所示；將 HPC 檢測結果以 McNemar's Test 分別與快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學判讀進行差異性分析，結果皆無顯著性差異($n=50$ ， $p>0.05$)，三種判讀結果與 HPC 判讀結果之一致性佳。但若將 CPC、CPM、IB、IBS 併為一組數據 ($n=200$)，亦以 HPC 為最終判讀依據，顏色生長判讀 ($p=1.00$) 和化學判讀 ($p=0.11$) 皆無顯著性差異，僅快速螢光判讀與 HPC 判讀有顯著性差異 ($p=0.04$)，但 p 值為 0.04 已很接近 0.05。

Table 4-1 本研究各機組之檢測條件、RRBI 放置位置與平均滅菌效能與複現性測試結果

| Unit tested | Operating parameters | | | | | Log ₁₀ kill ¹ Mean (CV %)(n=5) | | | |
|---------------------|----------------------|--------------------|------------|--------------------------------|-----------------|--|------------------|-----------------|------------------|
| | Type ² | cycle ² | Temp. (°C) | Pressure (kg/cm ²) | Exposures (min) | CPC ³ | CPM ³ | IB ³ | IBS ³ |
| Hosp 1 | V | 1 | 140 | 2.65 | 30 | 5.9 (0 %) | 1.9*(121%) | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) |
| Hosp 2 | V | 4 | 132 | 1.89 | 10 | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) |
| Hosp 3 ⁴ | G | 0 | incorrect | incorrect | incorrect | 4.4 | 1.9 | >5.9 | 5.7 |
| | G | 0 | incorrect | incorrect | incorrect | 0.1 | 0.3 | 0.1 | 0.2 |
| | G | 0 | incorrect | incorrect | incorrect | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 0.3 |
| | G | 0 | incorrect | incorrect | incorrect | 0.5 | 0.3 | >5.9 | 2.2 |
| | G | 0 | incorrect | incorrect | incorrect | 0.5 | 0.3 | 5.7 | <0.8 |
| Hosp 4 ⁵ | V | 1 | 132 | 1.89 | 10 | >5.9 | 3.8 | >5.9 | 0.1 |
| | V | 1 | 132 | 1.89 | 30 | >5.9 | >5.9 | >5.9 | 0.9 |
| | V | 1 | 132 | 1.89 | 45 | >5.9 | >5.9 | >5.9 | >5.9 |
| Hosp 5 | V | 1 | 132 | 1.89 | 30 | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9(0 %) | 5.9 (0 %) |
| Hosp 6 | V | 2 | 135 | 2.16 | 45 | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9(0 %) | 5.9 (0 %) |
| Hosp 7 | G | 0 | 121 | 1.06 | 60 | 1.5 (168 %) | 1.4 (180 %) | 5.9* (0 %) | 0.6 (67 %) |
| Hosp 8 | G | 0 | 121 | 1.06 | 30 | 1.7 (133 %) | 1.7 (136 %) | 5.1* (31 %) | 4.8 (46 %) |
| Fact 1 | G | 0 | 135 | 2.16 | 60 | 6.6 (0 %) | 6.6 (0 %) | 6.6 (0 %) | 6.6 (0 %) |
| Fact 2 | V | 2 | 135 | 2.16 | 45 | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) | 5.9 (0 %) |

1. log kill 為 2 片 plate 殘餘菌落數之平均值。*該測點之 log kill 與 CPC 以 Wilcoxon test 檢定有顯著性差異 p<0.05。
2. V 為 Vacuum，G 為 Gravity，cycle 為預抽真空次數
3. CPC 為 challenge pack at the cold point；CPM 為 challenge pack at the middle point；IB 為 in bag；IBS 為 inside the syringe in bag。
4. 該機組暴露時間設定為 60 min，但無法預熱至設定溫度 121°C，五次檢測皆未完成完整滅菌過程，五次檢測並非重複試驗因此不進行統計分析，該機組呈現之 log kill 各次試驗之結果 (n=1)。
5. 該機組進行五次試驗中暴露時間分別為 10 min 一次，30 min 二次，45 min 二次，因 n 值皆未大於 4 因此不進行統計分析。

Table 4-2 本研究 HPC 判讀與三種判讀方式之一致性檢定比

| Readout type | $p^1(n=50)$ | | | | $p^1(n=200)$ |
|-----------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------------|
| | CPC ² | CPM ² | IB ² | IBS ² | Total |
| Fluorescent | 1.00 | 0.38 | 1.00 | 0.25 | 0.04 [*] |
| No. of false positive | 1 | 4 | 0 | 3 | 8 |
| No. of false negative | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 (97.8%) ³ |
| Spore Growth | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| No. of false positive | 1 | 1 | 0 | 2 | 4 |
| No. of false negative | 0 | 2 | 1 | 1 | 4 (90.7%) ³ |
| Chemical | 0.25 | 1.00 | 0.50 | 1.00 | 0.11 |
| No. of false positive | 3 | 2 | 2 | 1 | 8 |
| No. of false negative | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 (95.6%) ³ |

1. 以 McNemar's Test 檢定，* $p < 0.05$
2. RRBI 放置地點：CPC 為 challenge pack at the cold point；CPM 為 challenge pack at the middle point；IB 為 in bag；IBS 為 inside the syringe in bag。
3. 為 sensitivity，以 log kill 為最終判讀依據，>5 則為陰性，<5 則為陽性。

為評估一種檢驗方法是否能正確評估陽性反應，美國 FDA (3M Health Care, 2005；CDRH, 2001) 之計算方式為：

$$\text{Sensitivity} = \frac{(\text{No. of positives after 168 hrs}) - (\text{No. of false negatives})}{\text{No. of positives after 168 hrs}} \times 100\%$$

本研究每一筆數據皆為同一測點 (CPC、CPM、IB、IBS) 平行檢測之結果，每一筆數據皆有四種判讀結果 (HPC、快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學判讀)。本研究參考過去文獻 (3M Health Care, 2005；CDRH, 2001) 之計算方式將原本以七天培養生長判讀為依據改為以 HPC 之結果為依據，公式如下：

$$\text{Sensitivity} = \frac{(\text{No. of log kill} \geq 5) - (\text{No. of false negatives})}{\text{No. of log kill} \geq 5} \times 100\%$$

比較其 sensitivity，如 Table 4-3 所示，過去文獻 (3M Health Care, 2004a；3M Health Care, 2004b) 在快速螢光判讀方面之 sensitivity 為 100 % (n=1620~880)，但本研究為 97.8 % (n=200)；過去文獻 (3M Health Care, 2004a；3M Health Care, 2004b) 顏色生長判讀之 sensitivity 為 >97 % (n=1620~880)，本研究為 90.7 % (n=200)；而化學判讀之 sensitivity 並無過去研究數據，本研究為 95.3 % (n=200)，過去文獻之數據皆為該廠商自行試驗，本研究之成果雖與過去文獻有所差距，且 sensitivity 之計算方式較為保守，雖然樣本數僅 200 筆，但卻是目前我國第一筆普查數據，具有本土代表性。

Table 4-3 本研究三種判讀方式之 sensitivity 與過去文獻之比較

| 判讀方式 | 3M Health Care, 2004a；3M Health Care, 2004b (n=880~1620) | 本研究 (n=200) |
|--------|--|-------------|
| 快速螢光判讀 | 100 % | 97.8 % |
| 顏色生長判讀 | >97 % | 90.7 % |
| 化學判讀 | N/A | 95.3 % |

4-5. 討論與建議

十組測試機組中 Hosp 3 之機組過於老舊無法加熱至滅菌溫度，建議進行維修檢查；Hosp 7 在滅菌時將廢棄物裝入厚紙箱，多層包封增加蒸氣穿透的阻絕，使滅菌效能不佳，建議廢棄物裝袋後直接投入滅菌鍋進行滅菌。Hosp 8 所使用的滅菌操作參數為重力式 121 °C，滅菌時間 30 分鐘，不合法規所規定之 60 分鐘，滅菌效能亦不合法規之標準，建議將滅菌時間調整為 60 分鐘再進行測試是否可達標準。此外 Hosp 1 僅 CPM

之 log kill 值為 1.9 (CV 為 121%) 其餘皆為 5.9，原因可能為廢棄物直接置放於鍋底與鍋壁直接接觸，CPM 也是直接接觸鍋底，當蒸汽進氣初期時溫度較低，水分凝結積於鍋底，挑戰包因吸收大量水分而增加蒸汽阻絕性，導致該點之滅菌效能較冷點差，因此在進行效能查核時，應將挑戰包放置於不透水材質之容器內進行滅菌測試，以摒除該干擾因素。各檢測機組中滅菌時間最短者為 Hosp 2 僅 10 分鐘，但其滅菌效能皆符合法規標準，可能是因為該機組滅菌過程中進行了四次真空，每次循環 (cycle) 須進氣至一定溫度與壓力方進行下一次的真空 cycle，在四次真空時已達滅菌所須之條件，因此只須 10 分鐘即可滅菌完全，此外 Hosp 2 之機組是使用檯車入料，且檯車分為兩層可防止廢棄物過度堆疊使蒸氣分布均勻，亦可能為該機組較高效率之原因。

Hosp 4 之機組原本設定之滅菌暴露時間為 10 分鐘，僅 CPC 符合標準，將其時間延長為 30 分鐘後僅 IBS 不服合法規標準，延長為 45 分各測點皆可達法規標準，顯示出延長滅菌暴露時間可提昇滅菌效能。但是該機組在 10 分鐘、30 分鐘之測試之結果 IBS 之滅菌效能比 CPC 低，呈現不一致狀況，代表挑戰包在這三次試驗中不能代表 IBS 之滅菌效能，會這種情形可能是因為滅菌鍋中蒸氣分布不均勻，且蒸氣在段時間內尚未進入針筒內部，因此建議滅菌暴露時間不宜太短。

比較 Hosp 7、Hosp 8 與 Hosp 2、Hosp 4、Hosp 5、Hosp 6、Fact 2，之機組可發現 Hosp 7、Hosp 8 之滅菌效能較低且滅菌穩定性亦不高 (CV 介於 0~180%)，且操作模式皆為重力式 121 °C。一般而言重力式較真空式易產生冷區間，而 121 °C 之滅菌效能較 132 °C (或 135 °C) 佳，此外法規規定 121 °C 滅菌須 60 分鐘以上，132 °C 滅菌須要 45 分鐘以上，因此

可有四種排列組合分別為重力式 121°C (121G)、重力式 135°C (135G)、真空式 121°C (121V)、真空式 135°C (135V)。本研究參考過去文獻 (江等, 2007) 推估其滅菌效能排序為 135V > 135G (或 121V) > 121G, 由於 RRBI 之適用性限制, 本研究無 121V 之試驗數據, 但依據邏輯推斷應該小於 135V 但是大於 121 G, 不過與 135G 可能相同, 待後續研究釐清。

過去研究 (梁等, 2004; 江等 2007) 均證實, 廢棄物的包封會造成蒸氣阻絕 (塑膠袋與針筒), 阻絕的程度與包封材質有關, 本研究亦在 Hosp 7、Hosp 8 之機組 (皆 121G) 發現該情形, 但在其他機組 (135V、135G) 並無類似情形出現, 因此本研究認為包封的確會造成蒸氣阻絕而影響滅菌效能, 但滅菌影響滅菌效能之主要原因應為滅菌操作參數 (溫度、真空或重力模式、時間)。因此在若有滅菌效能無法達法規標準者, 可先調整操作參數。

在 Hosp 6 機組中, 快速螢光判讀出現 4 次偽陽性, 顏色生長判讀出現 2 次偽陽性, 化學判讀出現 4 次偽陽性, 該機組為各機組中出現最多偽陽性之機組, 亦為內容積最大之機組 (5070 L), 可能是因為該機組內容積較大蒸氣分布不均, 容易出現冷區間, 而產生不完全滅菌 (marginal sterilization)。過去研究 (Albert *et al.*, 1998; Alfa *et al.*, 2002; Rutala *et al.*, 1993; Rutala *et al.*, 1996; Vesley *et al.*, 1992; Vesley *et al.*, 1995; 梁, 2007) 顯示酵素在滅菌過程中保持活性時間較孢子長, 滅菌不完全時, 可能產生孢子死亡而部分酵素仍保持活性的情況, 傳統上是以顏色判讀為依據, 但本研究以 HPC 為確認依據, 當 HPC 之結果為陰性時, 快速螢光判讀、顏色生長判讀、化學判讀若為陽性則該檢測結果為偽陽性, 本研究使用 HPC 作為確認較以顏色判讀為依據為嚴格, 而

實務上較能接受偽陽性之情形。CI 之偽陽性亦為蒸氣分佈不均，造成 CI 飽和蒸汽暴露不足所致。偽陽性之情形可能是因為滅菌鍋內容積較大蒸氣分布不均，容易出現冷區間，而產生不完全滅菌 (marginal sterilization)，建議可將預抽真空次數增加為四次，或者延長滅菌時間以減少偽陽性產生。

本研究測試結果，有七座滅菌鍋之效能可達法規標準，其餘三座經過調整或維修後亦可達標準，但測試機組仍不夠多，不足以全面了解我國的現況。此外本研究認為 CPC 試驗可模擬較嚴苛的蒸氣阻絕，為較保守之滅菌效能檢測。一般而言，在進行效能檢測時不可將已包封好之廢棄物打開放入指示劑再滅菌，以檢測其滅菌效能，這樣有可能會使得現場操作人員產生感染之風險，且有違密封投料 (intake feeding) 之原則，因此建議在效能檢測時可直接使用挑戰包來進行檢測，以避免感染風險。BI 之快速螢光判讀、顏色生長判讀以及 CI 化學判讀之 sensitivity 介於 97.8~90.7% 雖比過去文獻低，但屬可接受範圍，且快速判讀為較嚴謹保守之檢測方式，因此在進行滅菌效能檢測時建議使用指示劑來進行評估。

4-6. 致謝

感謝行政院環保署提供經費以利研究進行，計畫編號：EPA-97-H102-02-241。感謝財團法人環境資源研究發展基金會協助研究進行。感謝各檢測單位協助採樣收樣。

4-7. 參考文獻

3M Health Care. 3M Attest 1291 Rapid Readout Biological Indicators:

Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 a;2p.

3M Health Care. 3M Attest 1292 Rapid Readout Biological Indicators:

Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 b;2p.

3M Health Care. Spore Strip Total Count 1292: General Outline 1292 Pop. St.

Paul, MN,2004 c;2p.

3M Health Care. 3M Attest Rapid Readout Biological Indicators: Product

Profile. St. Paul, MN,2005;32p.

3M Health Care. 3M 1243 Comply Steam Chemical Integrator: Technical

Information Sheet. St. Paul, MN,2006;12p.

Center for Devices and Radiological Health. Pre-Market Notifications [510(k)]

for Biological Indicators Intended to Monitor Sterilizers Used in Health
Care Facilities; Draft Guidance for Industry and FDA Reviewers.

Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Food
and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health,
2001.

Albert H, Woodson LP, Soper CJ. Biological indicators for steam sterilization:

characterization of a rapid biological indicator utilizing *Bacillus*
stearothermophilus spore-associated alpha-glucosidase enzyme. *J Appl*
Microbiol 1998;85:865-874.

Alfa MJ, Olson N, DeGagne P, et al. Evaluation of rapid readout biological indicators for 132°C gravity and 132°C vacuum-assisted steam sterilization cycles using a new automated fluorescent reader. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:388-392.

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater 20th*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 1998;9:34-40.

Association for the Advancement of Medical Instrumentation. *Good Hospital Practices: Steam Sterilization and Sterility Assurance*. Arlington, VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation, 1993.

Association of Operating Room Nurses. *Proposed Recommended Practices for Sterilization in The Practices Setting*. *AORN J* 1994;60:109-119.

Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. Evaluation of a rapid readout biological indicator for flash sterilization with three biological indicators and three chemical indicators. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1993;14:390-394.

Rutala WA, Jones SM, Weber DJ. Comparison of a rapid readout biological indicator for steam sterilization with four conventional biological indicators and five chemical indicators. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:423-428.

Vesley D, Langholz AC, Rohlfing SR, et al. Fluorimetric Detection of a *Bacillus stearothermophilus* spore-bound enzyme, α -D-Glucosidase, for rapid indication of flash sterilization failure. *Appl Environ Microbiol* 1992;58:717-719.

Vesley D, Nellis MA, Allmood PB. Evaluation of a rapid readout biological indicator for 121°C gravity and 132°C vacuum-assisted steam sterilization cycles. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:281-186.

Korea Ministry of Environment. National Statistics of Solid Waste Production, Korea Ministry of Environment, 2003.

Li CS, Jenq FT. Physical and chemical composition of hospital waste. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1993;14:145-150.

Wang LC, Lee WJ, Lee WS, et al. Effect of chlorine content in feeding wastes of incineration on the emission of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/dibenzofurans. *Sci Total Environ* 2003;302:185-198.

江舟峰：我國感染性廢棄物混燒清理體系之研究。台中：中國醫藥大學環境醫學研究所簡報資料，2004。

江舟峰、蔡清讚、梁永政、劉子仲、陳岱煒：感染性廢棄物高溫高壓滅菌處理效能實證研究。台中：第十屆海峽兩岸環境保護學術研討會，2005。

江舟峰、梁永政、劉厚吾、簡培凱：感染性事業廢棄物高溫高壓滅菌處理效能實證研究。台中：台灣公共衛生學會暨台灣流行病學學會，2007。

梁永政、劉子仲、陳岱煒：菌落培養誤差及高溫高壓滅菌處理效能研究。

台中：中國醫藥大學公共衛生學系專題研究論文，2004。

梁永政：醫療廢棄物高溫高壓滅菌處理效能評估之研究。台中：中國醫

藥大學環境醫學研究所碩士論文，2007。

張瑛瑛、張上淳、陳宜君、黃寶華：台灣滅菌監測措施指引。感染控制

雜誌，2004;15:27-44。



第五章 資源性醫療廢棄物滅菌效能評估

5-1. 摘要

目的：我國醫療廢棄物約有 3~5 成為可資源回收之塑膠及玻璃，本研究以中部地區醫療廢棄物滅菌處理場之滅菌鍋，進行三種資源性廢棄的滅菌成效評估，目前大部分醫院對於這些廢棄物主要焚化處理，若改為滅菌後回收利用，可降低醫療廢棄物戴奧辛總排放，並回收資源性塑膠。

方法：本研究使用快速判讀生物指示劑 (rapid readout biological indicator, RRBI) 及化學指示劑 (chemical integrator CI) 進行效能評估。分別以兩種操作條件：重力式於 121°C / 60 分鐘 (121G)、及真空式於 135 °C / 45 分鐘 (135V) 進行重複試驗，使用該處理場之滅菌袋 (40L)，填入該處理場已滅菌後的實際醫療廢棄物作為填充物，填充率約 62%，再將裝有針筒 (syringe, SG)、軟袋 (soft bag, SB)、軟管 (soft tube, ST) 的三種袋內、冷點挑戰包 (challenge pack at the cold point, CPC) 內，各放入 2 支 RRBI、3 片 CI；滅菌後 CI 以肉眼判讀，一支 RRBI 以快速判讀及顏色判讀，另一支以 HPC 計數殘餘菌落數後換算成 log kill，每組 HPC 進行 4 種稀釋率，每個稀釋率進行重複試驗。

結果：在 121 G 的試驗中 SG (n=5)、SB (n=3)、ST (n=3) 之平均 log kill 值分別為 4.3、3.4、3.7 皆未達法規標準；135V 之平均 log kill 則全部符合法規標準，此外 CPC 之滅菌效能皆與 ND、SB、ST 相等。本研究實証 135V 滅菌可作為資源性醫療廢棄物回收利用之前處理，實務上挑戰包可作為效能評估的驗證。

5-2. 前言

依據行政院環保署事業廢棄物管制中心民國 96 年統計資料顯示，全國醫療事業廢棄物申報量約為 9 萬公噸，其中屬於生物醫療廢棄物佔 2.3 萬公噸 (25%)，平均全國每天產生 63 公噸生物醫療廢棄物，目前我國生物醫療廢棄物大多採專用焚化爐處理，但因廢棄物中含氯量高達 2.7% (Li *et al.*, 1993) 為一般廢物之 10 倍 (江，2004) 且塑膠物比例為一般廢棄物之 2.5 倍 (50%) (Li *et al.*, 1993)，加上專用焚化爐操作不穩定，使戴奧辛排放係數高達 3000 $\mu\text{g I-TEQ/ton}$ (UNEP, 2005)，為一般混燒焚化爐的 40~60 倍 (Wang *et al.*, 2003；江，2004)。

環保署於「有害事業廢棄物認定標準」(95.12.14)第五條中規定，有害事業廢棄物符合「事業廢棄物貯存清除處理方法及設施標準」(95.12.14)之中間處理方式處理（如滅菌處理），其有害性質消失者（清除率需達 99.999% 即 $\log \text{kill} > 5$ ），得認定為一般事業廢棄物，可併入一般事業廢棄物焚化爐或掩埋場處理，此外醫療廢棄物經滅菌解碼 (decoding) 可進行回收利用，例如：針頭、針筒、軟管、安瓿瓶、軟袋等，但一般民眾對於解碼後之廢棄物仍存有感染性之疑慮，因此大部分掩埋場、一般焚化爐及回收利用廠商因此拒收滅菌後之生物醫療廢棄物，而使得生物醫療廢棄物之滅菌處理管道無法落實。

根據環保署 97 年「醫療廢棄物源頭減廢及小型產源輔導專案工作計畫」統計 22 家醫學中心醫療器材年使用量 (江等，2008)，各類注射軟袋約 2,400 千萬個 (含氯比例 32%)，此外血液透析迴流管、抽痰管、鼻胃管、中心靜脈導管、引留管等軟管類每年大約有 700 萬個 (含氯比例 16.75~32.07 %)，另外注射針頭組每年約有 2,600 萬個，以一個針頭組一

個針筒推估，針筒亦有 2,600 萬個，使用量僅次於手套 (7,400 萬個)。目前大部分醫院對於廢棄軟袋、軟管及針筒皆以焚化處理，若將其處理方式改為滅菌後回收利用，則可降低廢棄物戴奧辛排放總量以及處理費用。本研究將對軟袋、軟管及針筒等三種資源性廢棄物進行滅菌成效評估，探討經由滅菌可否去除其有害性，以利我國推動醫療廢物非焚化處理。

5-3. 材料與方法

5-3-1. 指示劑評估方法

一般國際上考量方便性，大多使用 BI 以及 CI 來評估滅菌效能 (AAMI, 1993; AORN, 1994; 張等, 2004)，本研究以 3M 公司的快速判讀生物指示劑 (RRBI) 為標準樣品，以嗜熱桿菌芽孢 (*Geobacillus Geostearothermophilus*, ATCC7953) 為指標菌，總菌密度：型號 1292 為 3.5×10^6 colony forming unit (CFU)。依照 3M 公司 Spore Strip Total Count 1292 (3M Health Care, 2004) 之建議，使用已消毒過之夾具取出 Vial 中的孢子條 (spore strip) 後，置於稀釋水後以均質機 (homogenizer) 於 10,000 rpm 震盪約 2 分鐘，將固定於孢子條上的嗜熱桿菌芽孢溶出至稀釋水中，使用美國 Standard Methods 9215 Heterotrophic Plate Count (HPC)(APHA, 1998) 之 pour plate (Method 9215B) 方法，進行培養及菌落計數，使用之培養基為 tryptic soy broth (TSA)，培養皿為 disposable plastic Petri dish (57 cm^2)，於 $56 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 下培養 48 hrs 後，以 Quebec 計數菌落數，再依以下公式計算 log kill 值：

$$\log \text{ kill} = \log_{10} (C_1/C_0) \quad C_0 = \text{原始菌落數} \quad C_1 = \text{殘餘菌落數}$$

本研究以 HPC 作為滅菌效能的最終確認指標 (confirmatory index)，也利用放置於同一測試點的重複 RRBI 樣品，進行快速螢光判讀以及顏色生長判讀，進行快速判讀時，使用 Attest 190 Auto Reader/Incubator 自動判讀機，其上具有 12 組培養槽。進行培養時，以未滅菌之生物指示劑 1 支，作為顏色對照與儀器校正。在完成滅菌程序後，將 RRBI 自滅菌鍋中取出，冷卻約 10 分鐘，利用判讀機上之 Crusher，將 Vial 中之 TSB ampule 壓破後，敲擊塑膠管底部直至培養液將 spore strip 潤濕，再將 RRBI 置於判讀機上之培養孔，於 $60 \pm 2^\circ\text{C}$ 下培養 1~3 小時，若指標菌未完全滅菌，孢子可分泌 α -D-葡萄糖苷酶 (alpha-D-glucosidase) 酵素，分解培養液中之 4-甲基繖行基- α -D-葡萄糖苷 (4-methylumbelliferyl-alpha-D-glucoside, 4-MUG)，而產生螢光反應，判讀機上指示燈號將由綠轉為紅色，並發出蜂鳴聲，此為陽性判讀；若將 RRBI 繼續培養 24~48 小時，指標菌會進一步生長繁殖，產生酸性物質，會使得培養液顏色由紫色變為黃色，若滅菌完全則培養液則不會變色。除生物測試法之外，本研究亦參考美國醫療器材促進協會 (Association for the Advancement of Medical Instrumentation, AAMI) 之建議，搭配化學指示劑 (chemical integrator, CI) 平行檢測滅菌鍋操作情形，型號為 3M 1243，目的為監測滅菌操作之溫度及暴露時間等參數 (3M Health Care, 2006)。依據 AAMI ST-60 的化學指示劑分級，3M 1243 CI 為第 5 級多種參數測定指示劑，屬於整合性 (integrator) 化學指示劑，可查核滅菌過程是否符合各種操作條件，如溫度、時間及飽和蒸氣等，可快速檢測滅菌過程是否異常。化學指示劑中含化學藥錠 (chemical tablet)，接觸高溫蒸氣熔融為黑色液態物，透過紙蕊條向前方滲透，當高溫蒸氣維持足夠的時間，黑

色物質滲透至「Accept」區域，可直接目視為陰性反應。使用時將 CI 放置於 BI 相同之滅菌位置，滅菌後取出可立即判讀。

5-3-2. 資源性廢棄物滅菌效能評估

以中部地區某醫療廢棄物滅菌處理場 (Fact 1) 進行實機測試，該滅菌鍋廠牌為本土製造商，其基本資料如 Table 5-1 所示，機組外觀如 Figure 5-1 所示；本研究以三種資源性廢棄物進行滅菌效能評估，分別於 121G/60 分鐘與 135V/45 分鐘分別進行重複試驗，試驗方法說明如下：

Table 5-1 滅菌鍋規格資料

| 項目 | 內容 |
|--------|------------------------|
| 廠牌型號 | YTM-DSA |
| 內容積 | 662 L |
| 最高使用壓力 | 2.8 kg/cm ² |
| 最高使用溫度 | 142 °C |
| 最高真空度 | 700 mm-Hg |
| 蒸氣來源 | 電熱自體產生 |
| 進料方式 | 雙層檯車 |
| 溫度監測 | 報表紙 |
| 操作設定參數 | 程控面板 |



Figure 5-1 本研究使用之滅菌鍋外觀

1. 針筒之滅菌效能試驗

首先將 2 支 BI 與 3 片 CI 分別置入裝有針筒的滅菌袋中並打包。另取 5 袋玻璃安瓿瓶、7 袋針筒當成機體填充物，廢棄物之填充率約為 60~65%，填充物組成如 Table 5-2 所示，分別以 121G 與 135V 進行五次重複試驗，評估針筒 (SG) 滅菌效能。

Table 5-2 針筒試驗每一鍋廢棄物填充物組成

| 填充物 | 每袋重量 | 密度 | 數量 |
|-------|--------|-----------|------------------|
| 玻璃安瓿瓶 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 5 袋 |
| 針筒 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 8 袋 ¹ |

1. 包括內有放置指示劑的滅菌袋

2. 軟袋及軟管滅菌效能試驗

將已用完之點滴軟袋割開，放入 2 支 BI 與 3 片 CI 後用膠帶將割口封好，並將該軟袋放入裝有軟袋的滅菌袋內，並封緊袋口；另取與一條 PVC 材質的管子，依適當長度裁剪，放入滅菌袋中模擬醫療軟管，然後將 2 支 BI 與 3 片 CI 放入袋中封緊袋口，填充物部份另取 5 袋玻璃安瓿瓶、6 袋針筒當成機體填充物，每鍋之廢棄物填充率約為 60~65%，填充物組成如 Table 5-3 所示。分別以 121G 與 135V 進行三次重複試驗，評估軟袋 (SB) 軟管 (ST) 滅菌效能。

Table 5-3 軟袋軟管試驗每一鍋廢棄物填充物組成

| 成分 | 每袋重量 | 密度 | 袋數 |
|-------|--------|-----------|----------------|
| 玻璃安瓿瓶 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 5 |
| 針筒 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 6 |
| 軟袋 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 1 ¹ |
| 軟管 | 4.8 Kg | 1.5 Kg/ L | 1 ¹ |

1. 包括內有放置指示劑的滅菌袋

兩次試驗皆放入挑戰包 (CPC) 進行平行檢測挑戰包製作方式詳見附錄一，滅菌後 CI 以肉眼判讀，每種包封皆取 1 支 RRBI 進行快速螢光判讀及顏色生長判讀，另 1 支 RRBI 進行 HPC 培養殘餘菌落換算 log kill，每支 RRBI 之 HPC 試驗進行 4~5 個稀釋率，每 1 稀釋率進行 2 次重複試驗，總共有 8 片或 10 片的 dish。

5-4. 結果

1. 針筒滅菌效能

針筒滅菌效能試驗結果如 Table 5-4、Table 5-5 所示，在 121G 模式，test 3 試驗其 log kill 值為 1.07 不合法規之標準，CI 判讀與快速螢光判讀與顏色生長判讀亦為陽性，此外 test 1 之 CPC、SG 與 test 3、test 4 之 CPC 其 log kill 值介於 4.0~4.5 亦不合法規，但是指示劑判讀結果卻為陰性。121G 五次試驗平均 CPC、SG 分別為 4.6、4.3，CV 值為 11.6% 和 42.9%，平均效能皆未達法規標準且效能複現性較差。在 135V 結果方面，僅 test 5 的 BI 之 log kill 值為 4.6，其餘皆為 5.9，會有這種情形是可能因為鍋內仍有蒸氣分布不均的情形產生，此外 BI 與 CI 之判讀結果也完全一致，五次試驗 CPC、SG 平均 log kill 分別為 5.9、5.6，SG 的 CV 值為 10.3%。CPC 與 SG 之滅菌效能比較起來，在 121G 下 CPC 略高，但 CV 值比較好；135V 下滅菌效能兩者相同，但 CPC 的 CV 值比較好，說明挑戰包試驗有良好的複現性。

Table 5-4 針筒滅菌效能試驗 HPC 結果

| Log ₁₀ kill ¹ | Gravity 121 60 °C min | | Vacuum 135 °C 45 min | |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|
| | CPC ² | SG ² | CPC ² | SG ² |
| test 1 | 4.1 | 4.5 | 5.9 | 5.9 |
| test 2 | 5.1 | 5.7 | 5.9 | 5.9 |
| test 3 | 4.0 | 1.1 | 5.9 | 5.9 |
| test 4 | 4.5 | 5.2 | 5.9 | 5.9 |
| test 5 | 5.1 | 5.2 | 5.9 | 4.6 |
| Mean (CV %) | 4.6 (11.6) | 4.3 (42.9) | 5.9 (0) | 5.6 (10.3) |

1. log kill 為 2 片 plate 殘餘菌落數之平均值。

2. RRBI 放置地點：CPC 為 challenge pack at the cold point；SG 為 sryinge

Table 5-5 針筒滅菌效能試驗指示劑判讀結果

| 3hrs / 48hrs / CI ¹ | Gravity 121 60 °C min | | Vacuum 135 °C 45 min | |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|
| | CPC ² | SG ² | CPC ² | SG ² |
| test 1 | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- |
| test 2 | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- |
| test 3 | -/-/--- | + / + / + + + | -/-/--- | -/-/--- |
| test 4 | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- |
| test 5 | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- | -/-/--- |

1. 3hrs 為快速螢光判讀，48hrs 為顏色生長判讀，CI 為化學判讀

2. RRBI 放置地點：CPC 為 challenge pack at the cold point；SG 為 sryinge

2. 軟袋軟管滅菌效能

軟袋軟管滅菌效能試驗結果如 Table 5-6、Table 5-7 所示，121 G 試驗中 CPC 之 log kill 平均為 0.1，CV 值為 100%，複現性不佳；SB 之平均 log kill 值為 3.4，CV 值為 72.8%，test 1 之 BI 快速及顏色判讀皆為陽性判讀，但 CI 卻為陰性，僅 test 3 之 log kill 值符合法規；在 ST 方面，

平均 log kill 值為 3.7，CV 值為 79.5%，test 1 之 log kill 值為 4.9 接近 5，只是 BI 判讀皆為陽性，CI 判讀僅一片為陰性，test 2 之 log kill 值為 0.4 不合法規標準，三種判讀皆為陽性，僅 test 3 之 log kill 值符合符合法規標準，但 BI 快速判讀卻為陽性。在 121 G 試驗中 CPC、SB、ST 之滅菌效能不盡理想，且複現性不佳。135V 試驗中之 CPC、SB、ST 的 BI 快速判讀與 CI 判讀皆為陰性，而 log kill 值皆為 5.9，其滅菌效能良好，複現性亦佳，三種判讀結果一致。

Table 5-6 軟袋軟管滅菌效能試驗 HPC 結果

| log ₁₀ kill ¹ | Gravity 121 °C 60min | | | Vacuum 135 °C 45 min | | |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------|-----------|----------------------|-----------------|----------|
| | CPC ² | SB ² | ST | CPC ² | SB ² | ST |
| test 1 | 0.1 | 3.5 | 4.9 | 5.9 | 5.9 | 5.9 |
| test 2 | 0.2 | 0.9 | 0.4 | 5.9 | 5.9 | 5.9 |
| test 3 | 0.0 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.9 |
| Mean (CV %) | 0.1(100) | 3.4(72.8) | 3.7(78.5) | 5.9(0.0) | 5.9(0.0) | 5.9(0.0) |

1. log kill 為 2 片 plate 殘餘菌落數之平均值。
2. RRBI 放置地點：CPC 為 challenge pack at the cold point；ISB 為 in soft bag；IST 為 in soft tube。

Table 5-7 軟袋軟管滅菌效能試驗指示劑判讀結果

| 3hrs / 48hrs / CI ¹ | Gravity 121 °C 60min | | | Vacuum 135 °C 45 min | | |
|--------------------------------|----------------------|-----------------|---------------|----------------------|-----------------|---------------|
| | CPC ² | SB ² | ST | CPC ² | SB ² | ST |
| test 1 | + / + / + + + | + / + / - - - | + / + / + + - | - / - / - - - | - / - / - - - | - / - / - - - |
| test 2 | + / + / + + + | + / + / + + + | + / + / + + + | - / - / - - - | - / - / - - - | - / - / - - - |
| test 3 | + / + / + + + | - / - / - - - | + / - / - - - | - / - / - - - | - / - / - - - | - / - / - - - |

1. 3hrs 為快速螢光判讀，48hrs 為顏色生長判讀，CI 為化學判讀
2. RRBI 放置地點：CPC 為 challenge pack at the cold point；ISB 為 in soft bag；IST 為 in soft tube。

5-5. 討論與建議

再針筒試驗中出現 5 次指示劑皆為陰性判讀，以法規 $\log \text{kill} \geq 5$ 為判讀確認的話四次指示劑判讀之結果皆為偽陰性，表示 BI 再陰性判讀時並非 $\log \text{kill} \geq 5$ ，過去研究 (梁, 2006) 發現陰性判讀時並非完全無菌，亦認為 Auto-Reader 有偵測期限，但實際上微生物是不可能完全被消滅的，對於滅菌效能的規定也僅僅是指對於微生物減少的對數值而已，假設 C_0 為 10^4 CFU，經滅菌後經由 HPC 培養計數後無菌落生長，計為 <1 CFU，因為對數計算規定真數恆正數，而 CFU 恆整數，所以以 1 計算 $\log \text{kill}$ 為 4，亦不符合我國規定，但若該次滅菌亦放入另一支 BI，而 C_0 為 10^5 CFU，經 HPC 培養計數後無菌落生長，計為 <1 CFU，換算 $\log \text{kill}$ 值為 5，符合法規規定，相同之滅菌批次因為 C_0 的不同而造成完全相反的檢測結果，因此建議主管機關在規定 $\log \text{kill}$ 時應同時規定 C_0 之菌落數。

在試驗軟袋、軟管與針筒試驗結果中，CI 出現 2 次偽陰性判讀 (test 1 之 SB 3 片，ST 1 片)，而 BI 快速判讀出現 1 次偽陽性 (test 3 之 ST)，而針筒試驗出現 5 次三種指示劑皆為陰性判讀，錯誤判讀比例甚高 (42%)，但錯誤判讀幾乎都發生在 121G (7 次)，此外亦可發現 135V 之平均 $\log \text{kill}$ 值 皆大於 5 (5.6~5.9)，CV 值亦穩定 (0~10.3%)，而 121 G 之平均 $\log \text{kill}$ 值皆小於 5 (0.1~4.6)，CV 值極不穩定 (11.6~100%)，本研究實証 135V 滅菌可作為資源性醫療廢棄物回收利用之前處理，此外兩種試驗 CPC 之滅菌效能與 SG、ST、SB 相近；此外 CPC 之滅菌效能與 NB、SB、ST 接近，因此在實務上可利用挑戰包來進行效能評估，以避免為放入 CI 或 BI 時須將廢棄物打開，有違違密封投料 (intake feeding) 之原則。

根據環保署 97 年「醫療廢棄物源頭減廢及小型產原輔導專案工作計畫」調查 22 家醫學中心醫療器材年使用量，每年約產生 970 噸的廢棄軟袋、軟管、針筒，若將這些廢棄物以非焚化處理，利用聯合國環境規畫署 (United Nations Environment Programmer, UNEP) 之「Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Releases, 2005」(UNEP, 2005)來估算戴奧辛排放，以裝有初級空氣汙染防治設備的醫療廢棄物焚化爐的戴奧辛排放系數建議值 (3000 $\mu\text{g I-TEQ}/\text{公噸}$) 估算，每年可減少大約 $5.1 \times 10^5 \mu\text{g}$ 戴奧辛的排放，此外每年可再省下 2910 萬元 (30NT/Kg) 之清運費。推動醫療廢棄物非焚化處理為國際之趨勢，目前全世界最普遍之替代方法為高溫高壓蒸氣滅菌法，因此我國對於滅菌鍋之查核應儘快訂定相關規定，以順應國際趨勢。

5-6. 致謝

感謝行政院環保署提供經費以利研究進行，計畫編號：EPA-96-H102-02-243。感謝財團法人環境資源研究發展基金會協助研究進行。感謝檢測單位協助採樣收樣。

5-7. 參考文獻

3M Health Care. 3M Attest 1291 Rapid Readout Biological Indicators:

Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 a;2p.

3M Health Care. 3M Attest 1292 Rapid Readout Biological Indicators:

Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 b;2p.

3M Health Care. Spore Strip Total Count 1292: General Outline 1292 Pop. St.

Paul, MN,2004 c;2p.

3M Health Care. 3M Attest Rapid Readout Biological Indicators: Product Profile. St. Paul, MN,2005;32p.

3M Health Care. 3M 1243 Comply Steam Chemical Integrator: Technical Information Sheet. St. Paul, MN,2006;12p.

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater 20th. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 1998;9:34-40.

Association for the Advancement of Medical Instrumentation. Good Hospital Practices: Steam Sterilization and Sterility Assurance. Arlington, VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation, 1993.

Association of Operating Room Nurses. Proposed Recommended Practices for Sterilization in The Practices Setting. AORN J 1994;60:109-119.

Li CS, Jenq FT. Physical and chemical composition of hospital waste. Infect Control Hosp Epidemiol 1993;14:145-150.

United Nations Environment Programmer. Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Releases. United Nations Environment Programmer, 2005.

Wang LC, Lee WJ, Lee WS, et al. Effect of chlorine content in feeding wastes of incineration on the emission of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxinsydibenzofurans. Sci Total Environ 2003;302:185-198.

江舟峰：我國感染性廢棄物混燒清理體系之研究。台中：中國醫藥大學
環境醫學研究所簡報資料，2004。

江舟峰、楊文龍：醫療廢棄物源頭減廢及小型產源輔導專案工作計畫。
台北：行政院環保署委託研究計畫，2008。

梁永政：醫療廢棄物高溫高壓滅菌處理效能評估之研究。台中：中國醫
藥大學環境醫學研究所碩士論文，2007。

張瑛瑛、張上淳、陳宜君、黃寶華：台灣滅菌監測措施指引。感染控制
雜誌，2004;15:27-44。



第六章 總結與建議

本研究參考相關文獻以及本研究群前期研究成果 (梁等, 2004; 江等, 2005; 江等 2006; 江等, 2007; 梁, 2007; 劉等, 2007), 研擬滅菌效能評估程序, 並以實場測試進行驗證, 評估我國醫療廢棄物滅菌處理之現況, 並探討 BI、CI 及挑戰包使用之適用性; 此外另針對資源性廢棄物進行滅菌效能評估, 探討資源性醫療廢棄物回收利用之可行性, 以利我國推動醫療廢棄物非焚化處理。本研究之總結與建議分述如下:

6-1. 滅菌效能實場測試

1. 十機組中有七組滅菌效能符合規定 ($\log \text{kill} \geq 5$), 其中有一機組為調整暴露時間後方能符合法規標準。此外本研究認為包封的確會造成蒸氣阻絕而影響滅菌效能, 但滅菌影響滅菌效能之主要原因應為滅菌操作參數 (溫度、真空或重力模式、時間), 因此滅菌效能無法達法規標準者, 建議可先調整操作參數。
2. 比較 CPC 與 CPM、IB、IBS 滅菌效能, 僅有二機機組 IB 的滅菌效能與 CPC 有顯著性差異 ($p=0.03$ 、 0.04), 且 CPC 之滅菌效能較 IB 低, 顯示 CPC 為較保守之滅菌效能檢測。因此建議在效能檢測時可直接使用挑戰包來進行檢測。
3. 以 HPC 測定結果為參考計算敏感度 (sensitivity), 快速螢光判讀為 97.8% ($n=200$), 顏色生長判讀為 90.7%, 化學判讀為 95.6%, 證實 RRBI 與 CI 為一較保守且良好的效能評估工具。

6-2. 資源性廢棄物滅菌效能評估

1. 本研究實証 135V 滅菌可作為資源性醫療廢棄物 (軟袋、軟管、針

- 筒) 回收利用之前處理，實務上挑戰包可作為效能評估的驗證。
2. log kill 值會因為 BI 之原始菌落數大小會造成滅菌後 log kill 值是否符合法規之重要參數，因此建議主管機關在規定 log kill 時應同時規定原始菌落數之菌落數。
 3. 環保署 97 年調查 22 家醫學中心醫療器材年使用量，每年約產生 970 噸的廢棄軟袋、軟管、針筒，若將這些廢棄物以非焚化處理，每年可減少大約 $2.9 \times 10^6 \mu\text{g}$ (戴奧辛排放系數建議值 $3000 \mu\text{g I-TEQ/公噸}$) 戴奧辛的排放，此外每年可再省下 2910 萬元 (30NT/Kg) 之清運費。

6-3. 其他建議

1. 本研究參考文獻 (Doornmalen *et al.*, 2004 ; Doornmalen *et al.*, 2008) 對於滅菌監測規定以及查核方法相當注重機械式量測，特別是多點的溫度與壓力，並與理論飽和蒸汽壓比對，作為滅菌效能評估的參考，其優點是有正確的學理依據，可線上即時監測，雖然初設費較高，但長期監測成本卻較經濟，建議可與 BI 搭配使用以確保滅菌無虞。此外建議主管單位應建立滅菌鍋出廠前之認證制度，出廠後應定期進行稽核，對於不合格之機組命其限期改善或撤銷處理執照，以確保滅菌品質及二次汙染。
2. 本研究團隊參考過去文獻 (AAMI, 1993 ; 張等, 2004 ; 衛生署, 2001 ; 環保署 ; 2006) 之各種滅菌相關規定以及本論文研究結果，研擬「滅菌效能測試時機與頻率」，如 Table 6-1，提供任何單位在進行醫療廢棄物滅菌效能檢測時之參考。說明如下：將測試時間分為初始設置、日常操作、修復後及年度認證，皆以挑戰包進行滅菌

效能測試。初始設置及修復後須以零填充率連續進行三次 CI 和 BI 的挑戰包測試；日常測試須於填充率 60~70%時進行；CI 測試頻率為每批次一次，而 BI 僅每天第一鍋；年度認證為以 HPC 查核削減率，以確保滅菌品質。

Table 6-1 滅菌效能測試時機與頻率

| 測試時間 | 填充率 | 挑戰包 ¹ 化學指示劑 (每次 1 支) | 挑戰包 ¹ 生物指示劑 (每次 1 支) | 放置地點 |
|------|--------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| 初始設置 | 0% | 連續三次 | 連續三次 | 冷點 ² |
| 日常操作 | 60~70% | 每批次一次 | 每天第一鍋 | 冷點 ² |
| 修復後 | 0% | 連續三次 | 連續三次 | 冷點 ² |
| 年度查驗 | 60~70% | 每年一次 | 每年一次 ³ | 冷點 ² 、 中心點 |

1.化學指示劑可並同生物指示劑置於同一挑戰包。

2.冷點一般為排水口或排氣口處。

3.委由第三公正機關進行削減率培養測試。

本研究認為，因我國地狹人稠，醫療廢棄物難以以現地解碼處理後衛生掩埋來最作為最終處置，但專爐焚化卻有戴奧辛排放汙染之問題，若可將含氯塑膠廢棄物滅菌後進行回收利用處理可減少戴奧辛排放亦無衛生掩埋之問題，此外對於滅菌品質之控管應建立完善之操作規範、系統性的稽查制度以及訂定適合我國之處理標準，消弭民眾對於滅菌後廢

棄物之疑慮，以利我國推動醫療廢棄物非焚化處理，對於滅菌時可能造成的二次污染仍待後續研究釐清。



參考文獻

● 外文部分

3M Health Care. 3M Attest 290 Auto-Readers: Operator's Manual. St. Paul, MN,2003;12p.

3M Health Care. 3M Attest 1291 Rapid Readout Biological Indicators: Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 a;2p.

3M Health Care. 3M Attest 1292 Rapid Readout Biological Indicators: Product Description and Directions for Use. St. Paul, MN,2004 b;2p.

3M Health Care. Spore Strip Total Count 1292: General Outline 1292 Pop. St. Paul, MN,2004 c;2p.

3M Health Care. 3M Attest Rapid Readout Biological Indicators: Product Profile. St. Paul, MN,2005;32p.

3M Health Care. 3M 1243 Comply Steam Chemical Integrator: Technical Information Sheet. St. Paul, MN,2006;12p.

Albert H, Woodson LP, Soper CJ. Biological indicators for steam sterilization: characterization of a rapid biological indicator utilizing *Bacillus stearothermophilus* spore-associated alpha-glucosidase enzyme. *J Appl Microbiol* 1998;85:865-874.

Alfa MJ, Olson N, DeGagne P, et al. Evaluation of rapid readout biological indicators for 132°C gravity and 132°C vacuum-assisted steam sterilization cycles using a new automated fluorescent reader. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:388-392.

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 1998;9:34-40.

Association for the Advancement of Medical Instrumentation. Good Hospital Practices: Steam Sterilization and Sterility Assurance. Arlington, VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation, 1993.

Association of Operating Room Nurses. Proposed recommended practices for sterilization in the practices setting. AORN J 1994; 60:109-119.

Center for Devices and Radiological Health. Pre-Market Notifications [510(k)] for Biological Indicators Intended to Monitor Sterilizers Used in Health Care Facilities; Draft Guidance for Industry and FDA Reviewers. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health, 2001.

Diaz LF, Savage GM, Eggerth LL. Alternatives for the treatment and disposal of healthcare wastes in developing countries. Waste Manage 2005;25:626-637.

Doornmalen JPCM, Dankert J. A validation study of 197 hospital steam sterilizers in the Netherlands in 2001 and 2002. J Hosp Infect 2005;59:126-130.

Doornmalen JV, Kopinga K. Review of surface steam sterilization for validation purposes. Am J Infect Control 2008;36:86-92.

European Committee for Standardization, Sterilization-Steam Sterilizers-Large Steam Sterilizers. European Committee for Standardization;2006 [EN285].

European Committee for Standardization, Sterilization of Medical Devices. Validation and Routine Control of Sterilization by Moist Heat. European Committee for Standardization;1994 [EN554].

Health Care Without Harm. Non-Incineration Medical Waste Treatment Technologies. Health Care Without Harm, 2001.

Korea Ministry of Environment. National Statistics of Solid Waste Production, Korea Ministry of Environment, 2003.

Li CS, Jenq FT. Physical and chemical composition of hospital waste. Infect Control Hosp Epidemiol 1993;14:145-150.

Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. Evaluation of a rapid readout biological indicator for flash sterilization with three biological indicators and three chemical indicators. Infect Control Hosp Epidemiol 1993;14:390-394.

Rutala WA, Jones SM, Weber DJ. Comparison of a rapid readout biological indicator for steam sterilization with four conventional biological indicators and five chemical indicators. Infect Control Hosp Epidemiol 1996;17:423-428.

Schneider PM, Reich RR, Kirckof SS, et al. Performance of various steam sterilization indicators under optimum and sub-optimum exposure conditions. Am J Infect Control 2005;33:55-67.

The Hong Kong Special Administrative Region Government Environmental Protection Department Waste Policy and Services Group. Review of Alternative Technologies for The Treatment of Clinical Waste. The Hong Kong Special Administrative Region Government Environmental Protection Department Waste Policy and Services Group, 2000.

United State Environmental Protection Agency. Report for H.R. 3515 Medical Waste Tracking Act of 1988. Washington, DC: United State Environmental Protection Agency, 1988.

United State Environmental Protection Agency. Guidance for evaluation medical waste treatment technologies. Washington, DC: United State Environmental Protection Agency, 1993.

United Nations Environment Programmer. Standardized Toolkit for Identification and Quantification of Dioxin and Furan Releases. United Nations Environment Programmer, 2005.

Vesley D, Langholz AC, Rohlfing SR, et al. Fluorimetric Detection of a *Bacillus stearothermophilus* spore-bound enzyme, α -D-Glucosidase, for rapid indication of flash sterilization failure. *Appl Environ Microbiol* 1992;58:717-719.

Vesley D, Nellis MA, Allmood PB. Evaluation of a rapid readout biological indicator for 121°C gravity and 132°C vacuum-assisted steam sterilization cycles. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:281-186.

Wang LC, Lee WJ, Lee WS, et al. Effect of chlorine content in feeding wastes of incineration on the emission of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxinsydbenzofurans. *Sci Total Environ* 2003;302:185-198.

● 中文部分

王昱昇、尤封陵、汪蕙蘭、李英中、施玟玲、許世元、郭加恩：基礎微生物學。高立圖書有限公司，2006。

王三郎：應用微生物。高立圖書有限公司，2008。

行政院衛生署疾病管制局：侵入性醫療感染管制作業基準。台北：行政院衛生署疾病管制局，2007。

行政院環保署：醫療事業廢棄物清理技術調查及成效評估專案工作計畫期末報告。台北：行政院環保署，2004。

行政院衛生署：部分感染性醫療廢棄物滅菌處理標準及相關規定。台北：衛署醫字第0九000二五七九九，2001。

江舟峰：我國感染性廢棄物混燒清理體系之研究。台中：中國醫藥大學環境醫學研究所簡報資料，2004。

江舟峰、蔡清讚、梁永政、劉子仲、陳岱煒：感染性廢棄物高溫高壓滅菌處理效能實證研究。台中：第十屆海峽兩岸環境保護學術研討會，2005。

江舟峰、梁永政、蔡清讚：快速生物指示劑之操作溫度比較性評估。台中：中華民國環境工程學會第二十一屆廢棄物處理技術研討會，2006。

江舟峰、梁永政：改善中國醫藥大學附設醫院高溫高壓滅菌效能之評估與建議。台中：中國醫藥大學附設醫院輔導技術報告，2007。

江舟峰、梁永政、劉厚吾、簡培凱：感染性事業廢棄物高溫高壓滅菌處理效能實證研究。台中：台灣公共衛生學會暨台灣流行病學學會，2007。

邱弘毅：台灣西南沿海烏腳病盛行地區及蘭陽盆地居民無機砷代謝能力與健康危害之流行病學研究。台灣大學公共衛生研究所博士論文，1996。

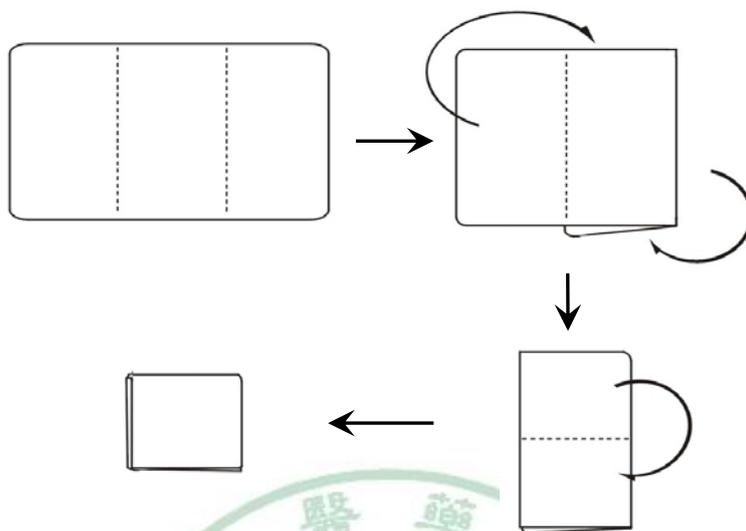
梁永政、劉子仲、陳岱煒：菌落培養誤差及高溫高壓滅菌處理效能研究。台中：中國醫藥大學公共衛生學系專題研究論文，2004。

梁永政：醫療廢棄物高溫高壓滅菌處理效能評估之研究。台中：中國醫藥大學環境醫學研究所碩士論文，2007。

張瑛瑛、張上淳、陳宜君、黃寶華：台灣滅菌監測措施指引。感染控制雜誌，2004；15：27-44。

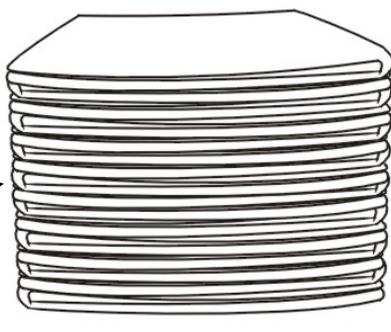
劉厚吾、簡培凱：高溫高壓滅菌效能查核方法建立及滅菌效能實證研究。台中：中國醫藥大學公共衛生學系專題研究論文，2007。

附錄一、挑戰包製作方法

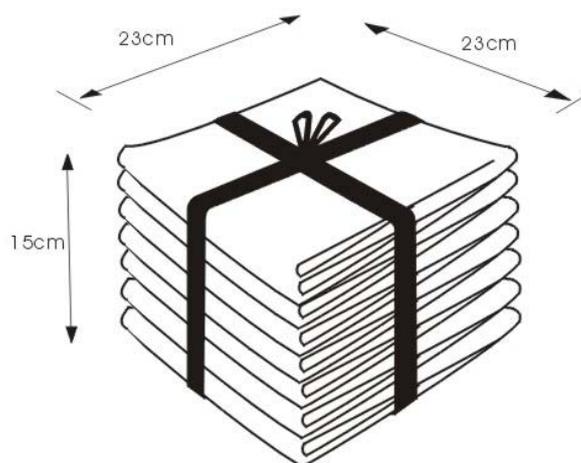


挑戰包布巾折法

指示劑放置位置(第七、八層中間)



16層布巾堆疊方式



捆好之挑戰包外觀布巾堆疊方式

附錄二、3M Attest 1291 RRBI 產品說明書

3M™ Attest™

1291 Rapid Readout Biological Indicator

(English)

Product Description:

The 3M™ Attest™ 1291 Rapid Readout Biological Indicator, RRBI, (blue cap) is a dual readout biological indicator system specifically designed for rapid and reliable monitoring of the 270°F (132°C), gravity steam sterilization process when used in conjunction with the 3M™ Attest™ 190/290 Auto-readers. The sterilizer must have a 1.5 minute come-up time to kill the Attest 1291 RRBI in 3 minutes. If the come-up time is < 1.5 minutes, extend the cycle time to 4 minutes to achieve consistent kill.

The Attest 1291 RRBI detects the presence of *Geobacillus stearothermophilus*, (formerly known as *Bacillus stearothermophilus*), by detecting the activity of alpha-glucosidase, an enzyme present within the organism. The presence of the enzyme is detected by reading fluorescence produced by the enzymatic breakdown of a non-fluorescent substrate. This creates a fluorescence change, which is detected by the Attest 190/290 Auto-reader. A fluorescence change indicates a steam sterilization process failure.

The Attest 1291 RRBI also detects the presence of *G. stearothermophilus* organisms by a visual color change reaction. Biochemical activity of the *G. stearothermophilus* organism produces acid by-products that cause the media to change color from purple to yellow. A visual pH color change also indicates a steam sterilization process failure. Due to the high sensitivity of the 1-hour fluorescent results, however, there is no advantage to incubate the Attest 1291 RRBI beyond 1 hour.

Indications:

Use the Attest 1291 RRBI to monitor 270°F (132°C) gravity steam sterilization cycles.

Contraindications:

None

WARNING:

There is a glass ampule inside the plastic vial of the RRBI. To avoid the risk of serious injury or death from flying debris due to a ruptured RRBI:

- Allow the RRBI to cool for the recommended time period before crushing.
- Crushing or excessive handling of the RRBI before cooling may cause the glass ampule to burst.
- Wear safety glasses and gloves when removing the RRBI from the sterilizer.
- Wear safety glasses when crushing the RRBI.
- Handle the RRBI by the cap when crushing and tapping.
- Do not use your fingers to crush the glass ampule.
- Do not roll the RRBI between fingers to wet the spore strip.

Precautions:

Do not use the Attest 1291 RRBI to monitor:

1. 270°F (132°C) or 250°F (121°C) vacuum assisted steam sterilization cycles.
2. 250°F (121°C) gravity steam sterilization cycles.
3. Dry heat, chemical vapor, ethylene oxide or other low temperature sterilization processes.

Monitoring Frequency:

Monitor every load that contains critical medical devices and implants with an Attest 1291 RRBI placed in the appropriate test tray or package, now referred to as process control device in AAMI documents, to improve the outcome of the sterilization process and patient safety.

Directions for Use:

1. Identify the Attest 1291 RRBI by writing the sterilizer and load number processing date on the indicator label. Do not place another label or indicator tape on the vial or on the cap.
2. Place the Attest 1291 RRBI in an appropriate process control device according to recommended practices. Do not place the Attest 1291 RRBI in direct contact with a chemical indicator. Fluorescent residue could transfer to the RRBI and affect the result.

Appropriate process control devices, for specific loads containing:

A. Unwrapped metal instruments or hard goods run at 270°F (132°C) for ≥3 minutes in a gravity displacement cycle:

- Place an Attest 1291 RRBI in an unwrapped instrument tray with a representative number and type of instruments normally processed. AAMI suggests placing a biological indicator in an empty tray.

B. Unwrapped metal instruments or hard goods with porous items run at 270°F (132°C) for ≥10 minutes in a gravity displacement cycle:

- Place an Attest 1291 RRBI in an unwrapped instrument tray with a representative number and type of instruments normally processed. AAMI suggests placing a biological indicator in an empty tray but include porous items if applicable.

C. Wrapped metal instruments or hard goods run at 270°F (132°C) for ≥10 minutes in a gravity displacement cycle:

- Place an Attest 1291 RRBI in a wrapped instrument tray with a representative number and type of instruments normally processed. AAMI suggests placing a biological indicator in an empty tray, include porous items if applicable.

D. Container systems run at 270°F (132°C) in a gravity displacement cycle:

- Place an Attest 1291 RRBI in the area determined by product testing to provide the greatest challenge to the sterilization process.

E. Patient Care trays run at 270°F (132°C) for ≥ 3 minutes a gravity displacement cycle:

- Place an Attest 1291 RRBI in a tray or container of medical devices that is going directly to patient use to ensure that the medical devices are properly sterilized. Follow aseptic techniques when retrieving the Attest RRBI from the tray or container for incubation.

3. Place the process control device in the most challenging area for the sterilant. This is typically on the bottom shelf, near the door and over the drain.
4. Process the load according to recommended practices.
5. After completion of the cycle, fully open the sterilizer door for a minimum of 5 minutes prior to removing the Attest 1291 RRBI.
6. When the RRBI is **not contained** in a test pack or other heat absorbing packaging material, remove the RRBI from the sterilizer and allow to cool for an additional 10 minutes prior to crushing.
7. When the RRBI is **contained** in a test pack or other heat absorbing packaging material, the test pack or any other heat absorbing packaging material should be removed from the sterilizer and opened up for 5 minutes to dissipate heat prior to removing the RRBI. Then allow the RRBI to cool outside the test pack for an additional 10 minutes prior to crushing.
8. Check the throughput chemical indicator (CI) on the label of the RRBI. A color change from rose to brown confirms that the RRBI has been exposed to the steam sterilization process. This CI color change does not indicate that the sterilization process was sufficient to achieve sterility. If the chemical indicator is unchanged, check the sterilization process monitoring controls and investigate placement of the RRBI in the sterilizer.
9. Press the cap down. Crush the glass ampule of the RRBI in the crusher well of the Attest 190/290 Auto-reader. Hold the RRBI by the cap and tap on a hard surface, but not on the Auto-reader, until the media wets the strip at bottom of the vial. Then incubate the RRBI. See the Attest 190/290 Auto-reader instructions for further information related to operation.
10. Each day that a processed RRBI is incubated, crush, tap and incubate at least one non-processed Attest 1291 RRBI to use as a **positive control**. Write a "C" (for "control") and the date on the label. The positive control should be from the same manufacturing date and lot number as the processed RRBI in the incubator.

It is a good practice to use a positive control for a visual color change each day a sterilized RRBI is processed. This helps ensure:

- correct incubation temperatures are met,
- viability of spores have not been altered due to improper storage temperature, humidity or proximity to chemicals,
- capability of media to promote rapid growth, and
- proper functioning of Attest 190/290 Auto-reader.

11. Incubation and Reading:

Incubate the positive control and sterilized Attest 1291 RRBI for 1 hour at 60 ± 2°C (140 ± 3°F) in an Attest auto-reader. See the Attest 190/290 Auto-reader operating instructions for the proper use of this equipment. Positive results are available within 1 hour. In the Attest 290 Auto-reader periodic readings are automatically taken and positive results are provided as soon as they are obtained. In the Attest 190 Auto-reader, early detection of positive results may be obtained by reading both the positive control and sterilized RRBI at convenient time intervals earlier than 1 hour such as 15, 30 and 45 minutes. The final negative RRBI reading is made at 1 hour in both Attest 190/290 Auto-readers. After the final reading is obtained the processed RRBI may be discarded.

The processed RRBI and the positive control may also be further incubated at 60°C for a visual pH color change. Examine the RRBI for early detection of positive results (media turns yellow) at convenient time intervals such as 6, 12 and 18 hours. The final negative reading (media remains purple) for a visual pH color change is made at 24 hours. The positive control should show a yellow color change of the growth media within 24 hours.

Each facility must establish the final readout time in its policy and procedures. The policy should be based on manufacturers instructions for use, scientific knowledge, current recommended practices, applicable compliance requirements, medical supply inventory levels and the risk to the patient if the medical device is not sterile.

Interpretation of Results:

The positive (unprocessed) control RRBI must provide a positive fluorescent result (red light or +). Processed RRBI results are not valid until the positive control reads fluorescent positive (red light or +). With the processed RRBI, a positive (red light or +) result means a sterilization process failure may have occurred.

Readout Reliability Data:

The 1 hour and 24 hour incubation times have been correlated with a 7-day incubation period. Sterilized indicators were examined daily for detection of a visual pH color change. The 1 hour fluorescence change reading and the 24 hour visual pH color change readings were compared to the 7-day visual pH color change readings to determine the readout reliability of the indicator. Readout reliability of the Attest 1291 rapid readout biological indicator was determined using the sensitivity calculation described below:

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{Number of Growth Positives after 168 hours} - (\text{Number of False Negatives})}{\text{Number of Growth Positives After 168 hours}} \times 100$$

**Attest 1291 Rapid Readout Biological Indicators
132°C/270°F Gravity Displacement Steam Sterilization Process
Readout Reliability Summary**

| Sterilization Process | Incubation Temperature | # Tested | Growth | | | Fluorescence | | | Sensitivity at | | |
|----------------------------------|------------------------|----------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------|------------|------------|
| | | | # Growth Positives 168 hrs | # False Negatives at 24 hours | Sensitivity at 24 hours | # False Negatives at 15 minutes | # False Negatives at 30 minutes | # False Negatives at 60 minutes | 15 minutes | 30 minutes | 60 minutes |
| 132°C/270°F Gravity Displacement | 60°C/140°F | 880 | 533 | 13 | 97.6% | 72 | 1 | 0 | 86.5% | 99.8% | 100% |

These data demonstrate that ≥ 97% of the 7-day (i.e. 168 hours) growth visual positives were detected by fluorescence within 1 hour of incubation and by the visual pH color within 24 hours of incubation. The 3M™ Attest™ 1291 Rapid Readout Biological Indicator, therefore meets readout reliability of ≥ 97% for the 1 hour fluorescence results and the 24 hour visual color change results.

The final negative processed RRBI reading for a fluorescence change (green light or -) after 1 hour of incubation indicates an acceptable sterilization process. The positive control should read positive (red light or +) at one hour. If the positive control reads negative (green light or -) at one hour, check the Attest 190/290 Auto-reader Operator's Manual Troubleshooting Guide. Retest the Attest 190/290 Auto-reader with a new positive control. The processed RRBI results are not valid until the positive control reads fluorescent positive (red light or +).

If the processed RRBI is further incubated for a visual pH color change, when special studies are desired, then the media color change from purple to yellow will also indicate a sterilization failure. A final color change result is made at 24 hours.

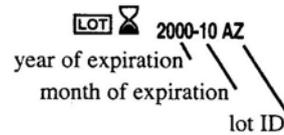
Act immediately on any positive RRBI results. Determine the cause of the positive RRBI following current facility policies and procedures. Always retest the sterilizer and do not use sterilizer for processing loads until three consecutive RRBI results are negative.

Disposal:

Dispose of the used Attest 1291 RRBI according to your health care facility policy. You may wish to sterilize any positive biological indicators prior to disposal.

Storage and Shelf Life:

- Store the Attest 1291 RRBI under normal room conditions: 59-86°F (15-30°C), 35-60% relative humidity (RH).
- Do not store the Attest 1291 RRBI near sterilants or other chemicals.
- The Attest 1291 RRBI has a 2-year shelf life from date of manufacturer.
- The lot and expiration date on each package is described as:



附錄三、3M Attest 1292 RRBI 產品說明書

3M™ Attest™

1292 Rapid Readout Biological Indicator

(English)

Product Description:

The 3M™ Attest™ 1292 Rapid Readout Biological Indicator, RRBI, (brown cap) is a dual readout biological indicator system specifically designed for rapid and reliable monitoring of steam sterilization process when used in conjunction with the 3M™ Attest™ 190/290 Auto-readers.

The Attest 1292 RRBI detects the presence of *Geobacillus stearothermophilus*, (formerly known as *Bacillus stearothermophilus*), by detecting the activity of alpha-glucosidase, an enzyme present within the organism. The presence of the enzyme is detected by reading fluorescence produced by the enzymatic breakdown of a non-fluorescent substrate. This creates a fluorescence change, which is detected by the Attest 190/290 Auto-reader. A fluorescence change indicates a steam sterilization process failure.

The Attest 1292 RRBI also detects the presence of *G. stearothermophilus* organisms by a visual color change reaction. Biochemical activity of the *G. stearothermophilus* organism produces acid by-products that cause the media to change color from purple to yellow. A visual pH color change also indicates a steam sterilization process failure. Due to the high sensitivity of the 3-hour fluorescent results, however, there is no advantage to incubate the Attest 1292 RRBI beyond 3 hours.

Indications:

Use the Attest 1292 RRBI to monitor:

1. 250°F (121°C) gravity steam sterilization cycles.
2. 270°F (132°C) vacuum assisted steam sterilization cycles.

Contraindications:

None

WARNING:

There is a glass ampule inside the plastic vial of the RRBI. To avoid the risk of serious injury or death from flying debris due to a ruptured RRBI:

- Allow the RRBI to cool for the recommended time period before crushing.
- Crushing or excessive handling of the RRBI before cooling may cause the glass ampule to burst.
- Wear safety glasses and gloves when removing the RRBI from the sterilizer.
- Wear safety glasses when crushing the RRBI.
- Handle the RRBI by the cap when crushing and tapping.
- Do not use your fingers to crush the glass ampule.
- Do not roll the RRBI between fingers to wet the spore strip.

Precautions:

Do not use the Attest 1292 RRBI to monitor:

1. 250°F (121°C) vacuum assisted steam sterilization cycles,
2. 270°F (132°C) gravity steam sterilization cycles.
3. Dry heat, chemical vapor, ethylene oxide or other low temperature sterilization processes.

Monitoring Frequency:

Monitor every load that contains critical medical devices and implants with an Attest 1292 RRBI placed in the appropriate test tray or package, now referred to as process control device in AAMI documents, to improve the outcome of the sterilization process and patient safety.

Directions for Use:

1. Identify the Attest 1292 RRBI by writing the sterilizer and load ID number and processing date on the indicator label. Do not place another label or indicator tape on the vial or on the cap.
2. Place the Attest 1292 RRBI in an appropriate process control device according to recommended practices. Do not place the Attest 1292 RRBI in direct contact with a chemical indicator. Fluorescent residue could transfer to the RRBI and affect the result.

Appropriate process control devices for loads containing:

- A. Fabric packs run at 250°F (121°C) for ≥40 minutes in a gravity displacement cycle or at 270°F (132°C) for ≥4 minutes in a vacuum assisted cycle:**

- Place an Attest 1292 rapid readout biological indicator in an AAMI 16 towel pack.

- B. Wrapped hard goods run at 250°F (121°C) for ≥20 minutes in a gravity displacement cycle:**

- Place an Attest 1292 RRBI in a wrapped hard good item (e.g., instrument set) from the load.

- C. Wrapped hard goods run at 270°F (132°C) for ≥4 minutes in a vacuum assisted sterilizer:**

- Place an Attest 1292 RRBI in a wrapped hard good item (e.g., instrument set) from the load.

- Place an Attest 1292 RRBI in an AAMI 16 towel pack.

- D. Single wrapped hard goods run at 270°F (132°C) for ≥4 minutes in an express vacuum assisted cycle:**

- Place an Attest 1292 RRBI in a single wrapped hard goods item (e.g., instrument tray) from the load. Check recommendations of the manufacturer before processing items with lumens or porous materials.

- E. Unwrapped hard goods with no porous items run at 250°F (121°C) in a gravity displacement cycle for ≥15 minutes or 270°F (132°C) for ≥3 minutes in a vacuum assisted sterilizer:**

- Place an Attest 1292 RRBI in unwrapped instrument hard good item (e.g., instrument set) from the load. AAMI suggest placing a biological indicator in an empty tray.

- F. Unwrapped metal hard goods with porous items run at 270°F (132°C) in a vacuum assisted sterilizer:**

- Place an Attest 1292 RRBI in an unwrapped instrument hard goods item (e.g., instrument tray) from the load, including porous items. AAMI suggests placing a biological indicator in an empty tray but include porous items if applicable.

- G. Container systems run at 250°F (121°C) for ≥40 minutes in a gravity cycle or 270°F (132°C) for ≥4 minutes in a vacuum assisted cycle:**

- Place the Attest 1292 RRBI in the areas determined by product testing to provide the greatest challenge to the sterilization process.

3. Place the test tray or package in the most challenging area for the sterilant. This is typically on the bottom shelf, near the door and over the drain.
4. Process the load according to recommended practices.
5. After completion of the cycle, fully open the sterilizer door for a minimum of 5 minutes prior to removing the Attest 1292 RRBI.
6. When the RRBI is **not contained** in a test pack or other heat absorbing packaging material, remove the RRBI from the sterilizer and allow to cool for an additional 10 minutes prior to crushing.
7. When the RRBI is **contained** in a test pack or other heat absorbing packaging material, the test pack or any other heat absorbing packaging material should be removed from the sterilizer and opened up for 5 minutes to dissipate heat prior to removing the RRBI. Then allow the RRBI to cool outside the test pack for an additional 10 minutes prior to crushing.
8. Check the throughput chemical indicator (CI) on the label of the RRBI. A color change from rose to brown confirms that the RRBI has been exposed to the steam sterilization process. This CI color change does not indicate that the sterilization process was sufficient to achieve sterility. If the chemical indicator is unchanged, check the sterilization process monitoring controls and investigate placement of the RRBI in the sterilizer.
9. Press the cap down. Crush the glass ampule of the RRBI in the crusher well of the Attest 190/290 Auto-reader. Hold the RRBI by the cap and tap on a hard surface, but not on the Auto-reader, until the media wets the strip at bottom of the vial. Then incubate the RRBI. See the Attest 190/290 Auto-reader instructions for further information related to operation.
10. Each day that a processed RRBI is incubated, crush, tap and incubate at least one non-processed Attest 1292 RRBI to **use as a positive control**. Write a "C" (for "control") and the date on the label. The positive control should be from the same manufacturing date and lot number as the processed RRBI in the incubator.

It is a good practice to use a positive control for a visual color change each day a sterilized RRBI is processed. This helps ensure:

- correct incubation temperatures are met,
- viability of spores have not been altered due to improper storage temperature, humidity or proximity to chemicals,
- capability of media to promote rapid growth, and
- proper functioning of Attest 190/290 Auto-reader.

11. Incubation and Reading:

Incubate the positive control and sterilized Attest 1292 RRBI for 3 hours at 60 ± 2°C (140 ± 3°F) in an Attest auto-reader. See the Attest 190/290 Auto-reader operating instructions for the proper use of this equipment. Positive results are available within 3 hours. In the Attest 290 Auto-reader periodic readings are automatically taken and positive results are provided as soon as they are obtained. In the Attest 190 Auto-reader, early detection of positive results may be obtained by reading both the positive control and sterilized RRBI at convenient time intervals earlier than 3 hours such as 1 and 2 hours. The final negative RRBI reading is made at 3 hours in both Attest 190/290 Auto-readers. After the final reading is obtained the processed RRBI may be discarded.

The processed RRBI and the positive control may also be further incubated at 60°C for a visual pH color change. Examine the RRBI for early detection of positive results (media turns yellow) at convenient time intervals such as 12, 18 and 24 hours. The final negative reading (media remains purple) for a visual pH color change is made at 48 hours. The positive control should show a yellow color change of the growth media within 48 hours.

Each facility must establish the final readout time in its policy and procedures. The policy should be based on manufacturers instructions for use, scientific knowledge, current recommended practices, applicable compliance requirements, medical supply inventory levels and the risk to the patient if the medical device is not sterile.

Interpretation of Results:

The positive (unprocessed) control RRBI must provide a positive fluorescent result (red light or +). Processed RRBI results are not valid until the positive control reads fluorescent positive (red light or +). With the processed RRBI, a positive (red light or +) result means a sterilization process failure may have occurred.

The final negative processed RRBI reading for a fluorescence change (green light or -) after 3 hours of incubation indicates an acceptable

sterilization process. The positive control should read positive (red light or +) at three hours. If the positive control reads negative (green light or -) at three hours, check the Attest 190/290 Auto-reader Operator's Manual Troubleshooting Guide. Retest the Attest 190/290 Auto-reader with a new positive control. The processed RRBI results are not valid until the positive control reads fluorescent positive (red light or +).

If the processed RRBI is further incubated for a visual pH color change, when special studies are desired, then the media color change from purple to yellow will also indicate a sterilization failure. A final color change result is made at 48 hours.

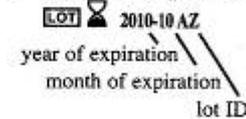
Act immediately on any positive RRBI results. Determine the cause of the positive RRBI following current facility policies and procedures. Always retest the sterilizer and do not use sterilizer for processing loads until three consecutive RRBI results are negative.

Disposal:

Dispose of the used Attest 1292 RRBI according to your health care facility policy. You may wish to sterilize any positive biological indicators prior to disposal.

Storage and Shelf Life:

- Store the Attest 1292 RRBI under normal room conditions: 59-86°F (15-30°C), 35-60% relative humidity (RH).
- Do not store the Attest 1292 RRBI near sterilants or other chemicals.
- The Attest 1292 RRBI has a 2-year shelf life from date of manufacturer.
- The lot and expiration date on each package is described as:



Readout Reliability Data:

The 3 hour and 48 hour incubation times have been correlated with a 7-day incubation period. Sterilized indicators were examined daily for detection of a visual pH color change. The 3 hour fluorescence change reading and the 48 hour visual pH color change reading were compared to the 7-day visual pH color change readings to determine the readout reliability of the indicator. Readout reliability of the Attest 1292 rapid readout biological indicator was determined using the sensitivity calculation described below:

$$\text{Sensitivity} = \frac{(\text{Number of Growth Positives after 168 hours}) - (\text{Number of False Negatives})}{\text{Number of Growth Positives After 168 hours}} \times 100$$

**Attest 1292 Rapid Readout Biological Indicators
121°C/250°F Gravity Displacement and 132°C/270°F Vacuum Assisted
Steam Sterilization Process
Readout Reliability Summary**

| Sterilization Process | Incubation Temperature | # Tested | Growth | | | Fluorescence | | | |
|----------------------------------|------------------------|----------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|
| | | | # Growth Positives 168 hrs | # False Negatives at 48 hours | Sensitivity at 48 hours | # False Negatives at 2 hours | # False Negatives at 3 hours | Sensitivity at 2 hours | Sensitivity at 3 hours |
| 121°C/250°F Gravity Displacement | 60°C/140°F | 1620 | 800 | 5 | 99.4 | 56 | 0 | 93 | 100 |
| 132°C/270°F Vacuum Assisted | 60°C/140°F | 1270 | 654 | 2 | 99.7 | 101 | 0 | 85 | 100 |

These data demonstrate that ≥ 97% of the 7-day (i.e. 168 hours) growth visual positives were detected by fluorescence within 3 hours of incubation and by the visual pH color within 48 hours of incubation. The 3M™ Attest™ 1292 Rapid Readout Biological Indicator, therefore meets readout reliability of ≥ 97% for the 3 hour fluorescence results and the 48 hour visual color change results.

附錄四、實場滅菌效能評估三種判讀結果原始數據

Hosp 1 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 二 | -/-/---/ >5.9 | + / + / + + - / 1.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | + / + / + + + / 1.0 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | + / + / + + + / 0.5 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | + / + / + + + / 0.3 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 平均 | >5.9 | 1.9 | >5.9 | >5.9 |

Hosp 2 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 二 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 平均 | >5.9 | >5.9 | >5.9 | >5.9 |

Hosp 3 試驗結果 (錯誤操作)

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | + / + / + + + / 4.4 | - / - / + + + / 1.9 | - / - / --- / >5.9 | + / + / + + + / 5.7 |
| 二 | + / + / + + + / 0.1 | + / + / + + + / 0.3 | + / + / + + + / 0.1 | + / + / + + + / 0.2 |
| 三 | + / + / + + + / 0.4 | + / + / + + + / 0.4 | + / + / + + + / 0.5 | + / + / + + + / 0.3 |
| 四 | + / + / + + + / 0.5 | + / + / + + + / 0.3 | - / - / --- / >5.9 | + / - / --- / 2.2 |
| 五 | + / + / + + + / 0.5 | + / + / + + + / 0.3 | - / - / --- / 5.7 | + / + / + + + / <0.8 |

Hosp 4 試驗結果 (滅菌時間, 鍋次一 10 min、鍋次二、三 30 min、鍋次四、五 45 min)

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/+/+/ >5.9 | +/-/---/ 3.8 | -/-/---/ >5.9 | +/+/-+/ 0.1 |
| 二 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | +/+/+/+/ 0.5 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | +/+/+--/ 1.3 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |

Hosp 5 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 二 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 平均 | >5.9 | >5.9 | >5.9 | >5.9 |

Hosp 6 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 二 | +/+/+/+/ >5.9 | +/+/+/+/ >5.9 | -/-/+/+/ >5.9 | +/+/---/ >5.9 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | +/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | +/-/+/+/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 平均 | >5.9 | >5.89 | >5.9 | >5.9 |

Hosp 7 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|----------------|----------------|----------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | +/+/+++ / 0.3 | +/+/+++ / 0.4 | -/-/+++ / >5.9 | +/+/+++ / 0.4 |
| 二 | +/+/+++ / <0.8 | +/+/+++ / 0.4 | -/-/--- / >5.9 | +/+/+++ / <0.8 |
| 三 | +/+/+++ / 0.2 | +/-/--- / >5.9 | -/-/--- / >5.9 | +/+/+++ / 0.3 |
| 四 | -/-/+++ / >5.9 | +/+/+++ / 0.3 | -/-/--- / >5.9 | +/+/+++ / 0.2 |
| 五 | +/+/+++ / 0.2 | +/+/+++ / 0.0 | -/-/--- / >5.9 | +/+/+++ / 1.1 |
| 平均 | 1.5 | 1.4 | >5.9 | 0.6 |

Hosp 8 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|----------------|----------------|----------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | +/+/+++ / 0.7 | +/+/+++ / 0.4 | -/-/--- / >5.9 | -/-/--- / >5.9 |
| 二 | -/-/--- / >5.9 | -/-/--- / >5.9 | -/-/--- / >5.9 | -/-/--- / 5.5 |
| 三 | +/+/+++ / 1.3 | +/+/+++ / 1.4 | -/-/--- / >5.9 | -/-/--- / >5.9 |
| 四 | +/+/+++ / 0.2 | +/+/+++ / 0.3 | +/-/+++ / 2.3 | +/+/+++ / 0.9 |
| 五 | +/+/+++ / 0.7 | +/+/+++ / 0.7 | -/-/--- / >5.9 | +/-/--- / >5.9 |
| 平均 | 1.7 | 1.7 | 5.1 | 4.8 |

Fact 1 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|----------------|----------------|----------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 |
| 二 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 |
| 三 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 |
| 四 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 |
| 五 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 | -/-/--- / >6.6 |
| 平均 | >6.6 | >6.6 | >6.6 | >6.6 |

Fact 2 試驗結果

| 鍋次 | 判讀方式 (快速/顏色/化學/削減率) | | | |
|----|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| | 冷點挑戰包 | 中心點挑戰包 | 袋內 | 袋內針筒內 |
| 一 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 二 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 三 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 四 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 五 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 | -/-/---/ >5.9 |
| 平均 | >5.9 | >5.9 | >5.9 | >5.9 |

