

出國報告(出國類別：研究)

生物氣膠(病毒型)與職業暴露之個人 採樣分析方法評估與工程控制研究

服務機關：勞動部職業安全衛生署 北區職業安全衛生中心

姓名職稱：陳昱如 檢查員

派服國家/地區：美國佛羅里達(邁阿密)、新墨西哥州(阿爾伯克基)

出國期間：113 年 9 月 2 日至 114 年 2 月 11 日

報告日期：114 年 3 月 31 日

摘要

自 2019 年嚴重急性呼吸系統綜合症冠狀病毒 2 型(又稱 COVID-19)爆發至今已進入第 5 年，由於該病毒的高傳染力，不僅造成了人類的生活模式的改變，部分行業也因無法因應轉型而歇業，造成許多勞工因而失業等等，此外，受感染之人也會因為病毒的侵襲而造成器官的半永久傷害，因此如何有效控制該病毒的傳播是本次研究的主要目的，由於病毒主要是以生物氣懸膠方式傳播，因此本研究希望能夠建立一套可有效監測空氣中生物氣懸膠的濃度，並且結合工程控制，裝設過濾裝置，提升換氣量，藉此達到降低環境中活性病毒的數量，使得人們即使在室內中長時間工作也不會被感染，達到人們與病毒共存。

目錄

摘要.....	I
目錄.....	III
圖目錄.....	III
表目錄.....	V
一、 目的.....	1
二、 過程.....	3
(一)、課程學習.....	3
(二)、學術研究.....	4
(三)、實驗研究.....	14
三、 心得及建議.....	23
參考文獻.....	28

圖目錄

圖 1 吸入性、胸部性及可呼吸性採樣標準	4
圖 2 VIVAS 設備(左)及內部原理(右)	5
圖 3 模擬病毒於人類肺部的沉積樣態	6
圖 4 SKC 生物採樣器(BioSampler)	6
圖 5 一定採樣時間內(5 分鐘、10 分鐘、15 分鐘)產生傳染性病毒數與 BioSampler 及 VIVAS 收集病毒數之關係圖	7
圖 6 通風、再循環、過濾以及滅菌對感染率的影響 16(ACH:每小時換氣次數)10	
圖 7 空氣採樣器放置位置示意圖及 BC-251.....	11
圖 8 取樣日期與可偵測到病毒結果圖	11
圖 9 各診所、採樣區域及各診所採樣區域的病毒陽性率	12
圖 10 不同工作類型個人採樣結果圖	13
圖 11 BC-251 採樣器各階段收集到病毒濃度以及病毒種類.....	13
圖 12 (a)生物平面級聯衝擊器(BioCascade)(b)部分分解剖面圖	14
圖 13 BC-VIVAS 中每 $\Delta \log$ (空氣動力學直徑)空氣的 OC43(GE/cm ³)以及空氣動力學粒徑測量儀的氣溶膠粒徑分佈(GE/cm ³)	15
圖 14 BC-VIVAS 第三階段暴露於 OC43 的 Vero E6 細胞病變效應影像圖：(a)培養 3 天、(b)培養 4 天、(c)培養 5 天、(d)培養 7 天、(e)Vero E6 細胞暴露在無顆粒的空氣中及(f)未暴露的 Vero E6 細胞(對照組)	16
圖 15 BioCascade.....	16
圖 16 (a)實驗流程圖(b)現場實驗架設圖	17
圖 17 樣品稀釋實驗	18
圖 18 將樣品滴入培養皿	19
圖 19 將樣品放入恆溫箱置放至少 16 小時	19
圖 20 PFU 顆粒計算前(左)、計算後(右)	20

圖 21 不同濕度下採樣 30 分鐘，各階段所收集到的病毒數	21
圖 22 在固定濕度下，不同採樣時間各階段收集液的體積差	22
圖 23 在固定濕度下，不同的採樣時間各階段所得到的活性病毒數	22
圖 24 (a)DAVID-2 系統圖(b) DAVID-2 系統噴嘴(Chico-3 jet ; Groucho-7 jet ; Harpo-Pie)	23
圖 25 利用 DAVID-2 評估不同沉積圖案對細胞的反應海報	24
圖 26 多功能微量盤檢測儀	24
圖 27 有關電動汽車在燃燒時所散發的氣懸膠對消防員的風險海報	26
圖 28 凝聚粒子計數器	27

表目錄

表 1 2016 年 3 月 11 日載有病毒之氣懸膠採樣結果表	8
表 2 2016 年 3 月 28 日載有病毒之氣懸膠採樣結果表	8

一、目的

我國勞動部職業安全衛生署一直以來對於勞工職業環境的安全及健康相當重視，並訂定職業安全衛生法及相關法令適用於各行各業，當中，對於勞工在工作場所暴露的危害物質而可能造成工作場所災害及健康狀況，雇主應實施風險評估及相關管制措施，以減少勞工暴露的濃度。在美國，除了職業安全與健康管理局(OSHA)發布一系列的標準以外，另有隸屬於美國疾病管制與預防中心(CDC)的國家職業安全與健康研究所(NIOSH)，與該局共同研究如何建立工作場所的危害知識及減輕危害來向雇主提供有效的建議，希望能夠有助於減輕勞工於工作場所遭受疾病及傷害的機率。

氣懸膠(Aerosol)是一種懸浮於空氣中的微小液體或固體，常見的氣懸膠包含粉塵、霧霾、煙煙等等，另有含有機生命體，例如細菌、真菌、病毒等，簡稱為生物性氣懸膠，這些生物性氣懸膠(Bioaerosol)可透過生命體釋放至空氣中，像是花粉、真菌孢子等等¹²，這些氣懸膠可能會藉由工作中的環境所產生，並經由人體接觸或吸入造成健康危害。然我國勞動部職業安全衛生署對於勞工暴露於有害環境可能造成勞工的身體健康危害，特訂定勞工作業場所容許暴露標準，要求雇主應確保勞工暴露在安全濃度標準下作業，當中除著重於化學物質外，另有就粉塵部分針對含有游離二氧化矽(第一、二種粉塵)、石棉纖維(第三種粉塵)及厭惡性粉塵(第四種粉塵)，對其生物性氣懸膠卻未有相關容許暴露建議值，惟目前人體因吸入生物性氣懸膠造成呼吸道感染已是全球住院的主要原因，雖然已發現許多呼吸道病毒，但對於病毒的傳播方式卻尚未清楚，主要是由於空氣中的病毒顆粒小，以現有的採樣技術難以有效收集，且收集到的病毒的品質不好，難以有效評估實際暴露情況。然而對於台灣溫暖的溫度及潮濕的氣候，相當適合病毒、細菌等微生物的生存，尤其對於從事醫療服務業、廢水處理業、農業等，勞工具具有顯著高生物性危害暴露，因此生物性氣懸膠對人體的健康危害不容忽視。

常見的呼吸性感染疾病包含流感、SARS、COVID-19 以及今年(2025)初爆發的麻疹病毒，感染途徑包含 1.上呼吸道黏膜直接接觸感染分泌物；2.含有病毒的大顆粒接觸到上呼吸道表面；3.自空氣中吸入氣懸膠或液滴核並進入到下呼吸道系統，以及 4.空氣中病毒接觸到眼睛表面感染等²²。病毒主要以生物性氣懸膠傳播，當受感染者說話、咳嗽或是打噴涕時，會發散出大量不同大小並載有病毒的顆粒，世界衛生組織(WHO)將這些顆粒依照尺寸分成兩部分，分別定義為液滴(>5 微米)及氣懸膠(≤5 微米)，在環境條件下，較大的顆粒會因為重力沉降於固體表面上，而較小的顆粒則會以氣懸膠的方式長時間懸浮於空氣中，並經由被人體接觸或於空氣中吸入，進入呼吸系統，造成健康危害。多年以來流感一直是一種具高度傳染性的疾病，每年幾乎都會造成局部疫情，有時甚至嚴重到會併發流行病，常見

的 A 型流感病毒為 H1N1 及 H3N2，還有 B 型流感病毒，在 1918 年因新型 H1N1 病毒而爆發的西班牙流感，造成全球約 2 千萬到 5 千萬人死亡，以及 2009 年 H1N1 新型流感疫情(又稱豬流感)，在當年更是造成 4 千萬到 9 千多萬人感染，約 1.8 萬人死亡⁴。截至今日，該病毒仍不斷變異，使得各地仍不斷出現案例，感染人數及死亡人數仍在不斷上升。另自 2019 年底爆發的 COVID-19，截至 2025 年 3 月 16 日止，根據世界衛生組織(WHO)統計，全球確診 COVID-19 案例累計約有 7.7 億人，並約有 7 百多萬人死亡²⁷，COVID-19 是屬於感染嚴重急性呼吸系統綜合症冠狀病毒 2 型(SARS-CoV-2)，此病毒可以以氣懸膠的型態存活在空氣中高達數小時²⁴，並可以傳播至少 2 公尺以上距離²⁶，在爆發初期，因快速的傳染力，造成大量人口感染，在某些情況下，感染 COVID-19 的人可能會因為自身健康狀況出現其他嚴重的併發症甚至死亡，即使可以治療康復，但對於肺部卻已造成永久性傷害(肺部纖維化等等)，許多國家為了控制病毒的傳播，不得以對外實施鎖國等相關政策以避免與其他國家接觸，對內則要求減少人與人接觸機會，嚴重者甚至有封城管理，感染者需要被完全隔離長達數週，此外政府要求事業單位需改變其經營模式，例如作業場所需架設隔板、人與人間應保持社交距離、配戴口罩、分區辦公等等，使得大多數事業單位將部分現場作業改成線上遠端作業；學校亦然，為避免學生長時間近距離接觸，也將現場授課改為線上授課，至此學生不再需要前往學校，只需在家於電腦前面上課即可，這些政策大大的改變了人們的生活型態，造成不小的影響，在此期間美國疾病控制及預防中心(CDC)為維持正常生活型態，陸續公布一系列的臨時指引，例如：管理感染或接觸 SARS-CoV-2 之醫護人員臨時指引⁵以及企業和雇主計劃和應對 2019 年冠狀病毒(COVID-19)臨時指南⁶；另外職業安全與健康管理局(OSHA)也發布 COVID-19 工作場所通風指南以及工作場所減輕和預防 COVID-19 傳播指南等等，要求企業應於工作場所實施相關工程控制及管理(如通風換氣、保持社交距離、勤洗手及消毒、以及增加過濾裝置等等)²¹，希望藉由上述的規範，減少病毒的傳播，然而這個疫情影響長達 3 年，不僅造成人與人之間交流減少，各國觀光及外交貿易經濟減少，導致部分事業單位因無法順應改變而結束營業，由此可知此次疫情對全球不僅在經濟上以及生活上都造成了許多影響。

再者由 Liberty Mutual 提供美國每年工作場所安全指數，當中列出了每年雇主因勞工於工作場所生病或受傷所造成的損失以及前 10 個主要因素，於 2023 年的統計結果發現，美國當年預估損失約有 580 億美元，由於該年將“疑似於工作場所中感染 COVID-19 或其他病毒而造成無法工作者”列入統計，因此相較於前一年前 10 大排名危害因素中，該年度新增“員工暴露在其他有害物質濃度”災害因素，且位居在第 6¹⁷，雖隔年(2024)因疫情趨緩，以至於統計結果未包含“員工暴露在其他有害物質濃度”¹⁸，但由於社會環境中病毒不斷的變異以及有新的病毒產生，因此仍需注意工作場所勞

工可能因暴露病毒而造成健康危害。

雖然目前 COVID-19 已逐漸趨緩，人們也逐漸回歸正常生活，然而仍是有不斷零星個案產生，且病毒仍不斷的變異，以及新病度的產生(如 RSV 病毒、麻疹病毒、日本流感等)及流行，導致人們只能透過每年不斷施打不同疫苗以及注意個人衛生來避免被感染。本研究考量人們一天當中有大多數時間在工作場所中，因此為避免人們在工作環境中因遭病毒感染而影響生活及工作，希望能規劃建立出一套能夠有效監測出勞工作業暴露病毒之濃度，並利用有效的工程控制及配合個人防護，降低勞工作業環境病毒的濃度，使勞工即使在疫情爆發期間，在工作中可減少因各類病毒感染而導致身體健康的危害。

二、過程

(一)、課程學習

修讀氣懸膠科學及技術(Aerosol Science & Technologies)，從課程當中首先了解到氣懸膠的種類，例如大自然中的雲、霧、霾，汽車、工廠所排放的廢氣，以及製程當中因燃燒或高溫散發出的金屬、化學品煙煙等等，這些都是我們生活中常見的氣懸膠，這些氣懸膠顆粒會經由人體吸收進入呼吸系統中沉積，較大的顆粒會因慣性力沉積在鼻咽區(Nasopharyngeal region)中，較小的顆粒會進入到氣管與支氣管區(Tracheobronchial region)中，然而當顆粒小於 4 微米時，則可能會透過擴散作用進入到人體的肺泡區(Pulmonary region)，這些顆粒皆會對人體造成不同程度的健康影響。歐洲標準化委員會(European Committee for Standardization)於 1993 年根據空氣中顆粒尺寸大小，定義出三種採樣模式，分別為 1.可吸入性(Inhalable)：可吸入至鼻子或嘴巴的空氣顆粒；2.胸腔性(Thoracic)：可穿透至喉部的空氣顆粒；3.可呼吸性(Respirable)：可穿透無纖毛氣道的空氣顆粒(如圖 1)¹⁰，而現今國際標準組織(Standards Organization)及美國政府工業衛生學家會議(The American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)在後續相關規範上也同樣採用這項定義。

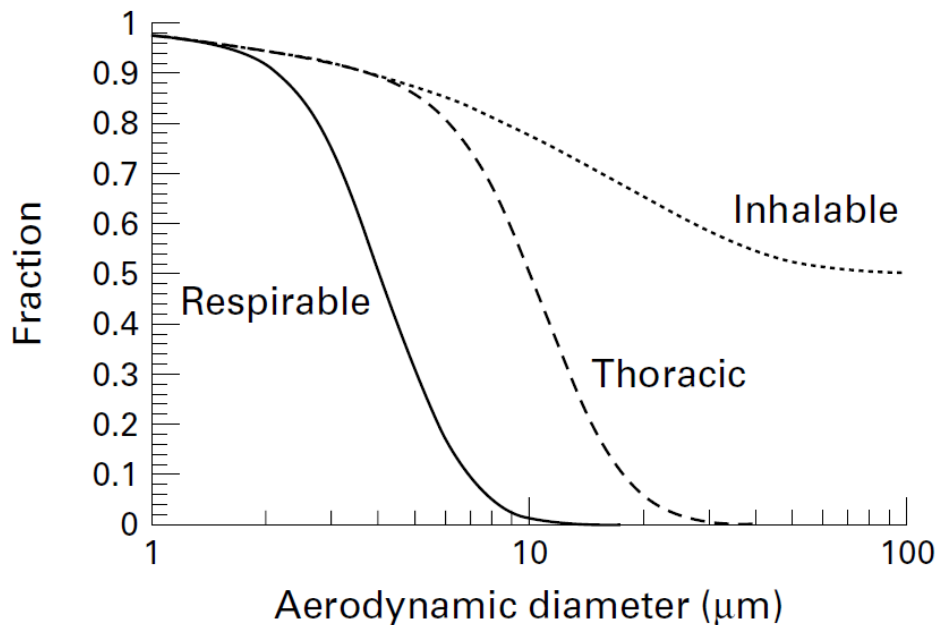


圖 1 吸入性、胸部性及可呼吸性採樣標準¹⁰

在職場工作環境中包含許多危害，如化學品危害、生物性危害、物理性危害、人因性因子危害及心理性危害等，當中化學品危害(化學反應、爆炸及空氣中成分的變化)、生物性危害(生物氣懸膠、職業性氣喘及石棉塵肺症)以及一些物理性作用皆會產生氣懸膠，這些氣懸膠會沉澱在物體表面上或是懸浮在空氣中，透由勞工吸入或接觸後造成感染引發健康危害，為避免這類情況發生，各國皆有訂定相關的容許暴露濃度，並要求各工作場所應適當的配置通風設備，並定期實施個人採樣，已了解勞工實際暴露情況。

(二)、學術研究

本次研究選定邁阿密大學工程所化學、環境與材料工程系吳章鈺教授實驗室進行研究，該教授長時間致力於空氣污染控制、生物氣懸膠、健康工程及環境與職業健康等等研究，對於生物氣懸膠的控制方面，研究出多項可用於空氣傳播病原體捕捉及滅活的專利技術，當中他與其他學者共同證明引起 COVID-19 的病毒(SARS-CoV-2)可能透由氣懸膠傳播，並且該病毒是可以被培養的，此發現更是對美國疾病管制中心(CDC)以及事業衛生組織(WHO)就保護公眾健康方面發揮了關鍵性的作用。因此為能掌握實際環境病毒的濃度以及減少病毒在室內空間的傳播，該教授研究團隊研發出相關的分析技術，首先利用氣懸膠採樣設備(如 NIOSH 生物氣懸膠旋流器

TE-BC251³、SKC 生物採樣器、Andersen 級聯衝擊器 ACI¹ 等等)採集空氣中的病毒氣懸膠，再藉由人工培養以及聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR) 檢測，可以得知環境中的病毒種類及濃度，這些技術皆可用在各種流行性感冒病毒、禽流感病毒、COVID-19 以及今年初爆發的麻疹病毒等等。然而，這些採樣設備常常因為採樣時間長，或是因為物理碰撞性質等等，造成採集到的病毒失去活性無法進行後續的定量分析。為了解決上述現象，本團隊進一步研究，發現採用 Aerosol Devices 研發的活性病毒生物氣懸膠採集器(viable virus aerosol sampler, VIVAS)，利用水冷凝生長系統(圖 2)¹³，粒子在進入設備時，首先第一階段低溫區讓氣懸膠形成凝結核，接著進入第二階段溫暖且潮濕區，利用兩壁的水蒸氣來加熱系統，當中水蒸氣會因質量擴散作用凝結到凝結核上進行成長，產生過飽和狀態後進入第三階段調節區，在此階段會讓氣懸膠持續穩定成長並移除多餘水分以避免在收集至含液體的培養皿中時被過多的水淹沒。此技術不僅可模擬人類肺部的沉積狀態(圖 3)，更有效地保存病毒的活性以進行後續分析。

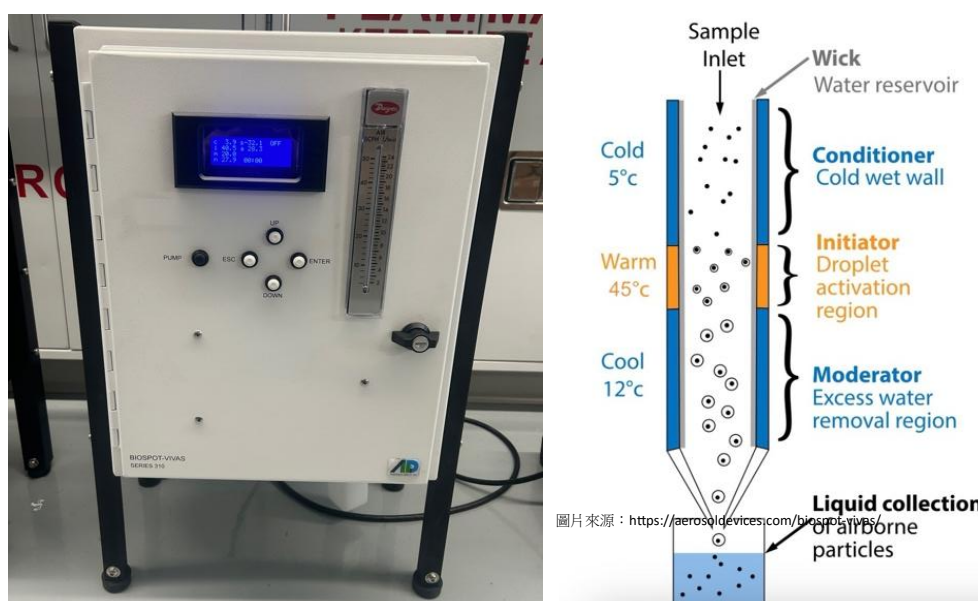


圖 2 VIVAS 設備(左)及內部原理(右)

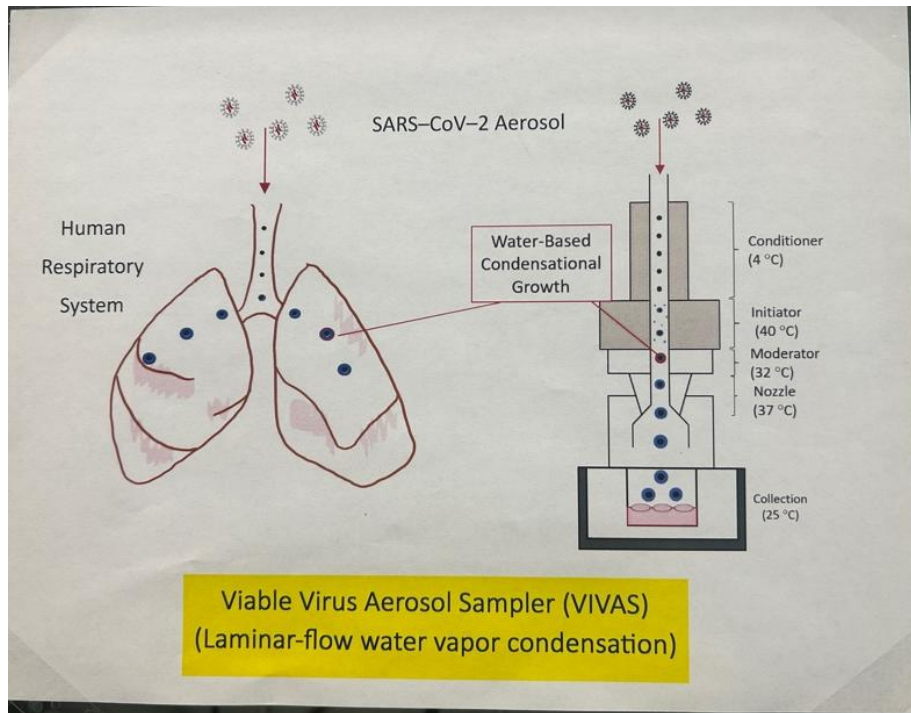


圖 3 模擬病毒於人類肺部的沉積樣態

本團隊於 2016 年在生物實驗室利用 BANG 霧化器產生含 H1N1 病毒氣懸膠，並進行 VIVAS 和 SKC 生物採樣器(BioSampler) (如圖 4)捕捉效率比較，實驗結果如圖 5 所示，並使用公式(1)計算收集效率發現比起 BioSampler 收集效率僅 5.6%，VIVAS 收集效率高達 74%，且與霧化產生器在一定採樣時間產生的病毒數趨勢相近。

15



圖片來源：<https://www.skinc.com/products/biosampler-20-ml-3->

圖 4 SKC 生物採樣器(BioSampler)

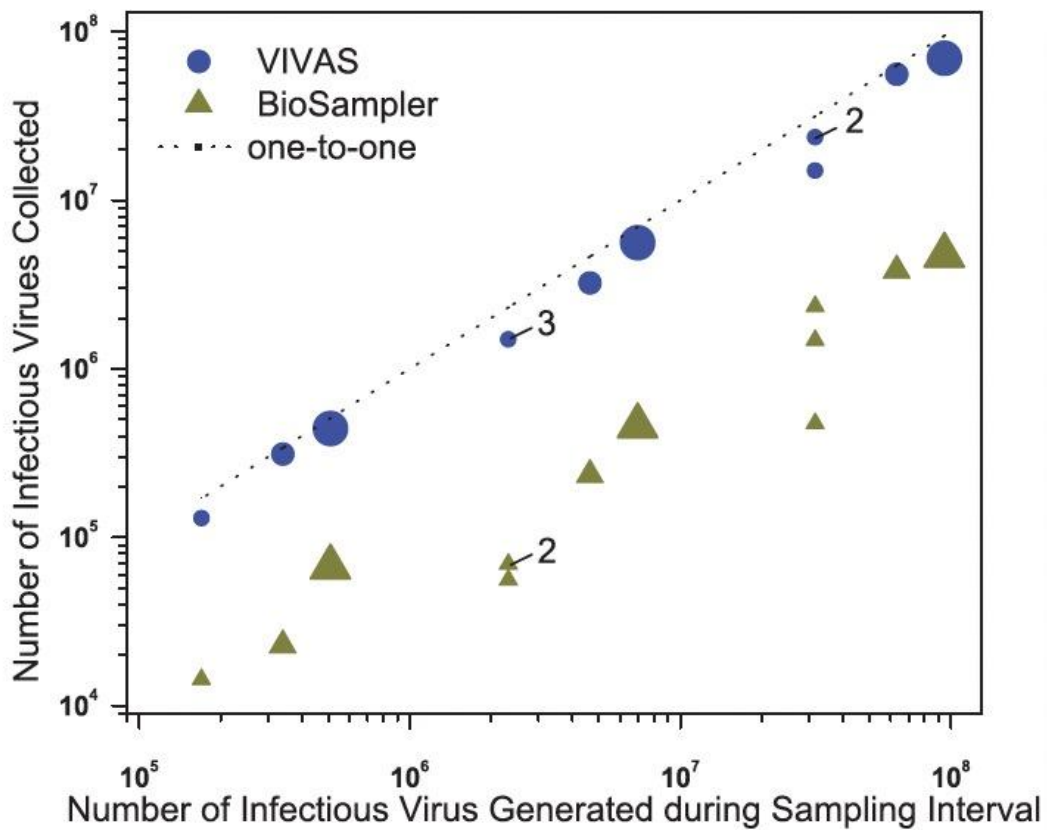


圖 5 一定採樣時間內(5 分鐘、10 分鐘、15 分鐘)產生傳染性病毒數與 BioSampler 及 VIVAS 收集病毒數之關係圖¹⁵

$$\eta = \frac{TCID_{50c}/mL \times V}{TCID_{50c}/mL \times 0.1 \frac{mL}{min} \times t} \quad (1)^{15}$$

η ：效率

$TCID_{50c}$ ：霧化器組織培養感染劑量中位數(50%)

$TCID_{50s}$ ：採樣器組織培養感染劑量中位數(50%)

V ：採樣起的收集體積(mL)

0.1mL/min：霧化器使用流率

T ：採樣時間

在完成實驗室兩種採樣設備效率的比較後，為確認 BioSampler 及 VIVAS 兩個採樣設備在實際環境中是否也能夠採集到活性病毒以及比較兩個的採樣效率，本團隊於 2016 年 3、4 月間前往佛羅里達大學學生健康照顧中心進行現場採樣²²，採樣分析結果如表 1 及

表 2 所示，結果得知 BioSampler 及 VIVAS 採樣設備皆可在實際環境中收集病毒，當中主要有 A 型流感病毒(H1N1、N3N2)、B 型流感病毒及人類呼吸道合胞病毒(RSV)，且比起 BioSampler，VIVAS 更能夠有效收集並分離出多種病毒，且收集到的病毒在做後續分別進行 MDCK 細胞(哺乳動物細胞系)、A549(人類肺癌細胞系)、LLC-MK2(恆河猴腎細胞系)及 Vero 細胞(非洲綠猴腎細胞系)培養時，發現在培養 6 天後分別發現細胞病變效應，可得知這些病毒在被採集後仍保持著活性，此實驗結果可發現未來可將 VIVAS 用於實際環境中進行採樣以便了解環境中的病毒種類。

表 1 2016 年 3 月 11 日載有病毒之氣懸膠採樣結果表²²

Sampling interval	HEPA filter	Air sampler	Virus isolated			
			Influenza A H1N1	Influenza A H3N2	Influenza B Victoria	RSV-A
1	No No	BioSampler VIVAS	+	+	+	+
2	Yes Yes	BioSampler VIVAS				
3	No No	BioSampler VIVAS	+	+	+	+
4	Yes Yes	BioSampler VIVAS				
5	No No	BioSampler VIVAS	+	+	+	+
6	Yes Yes	BioSampler VIVAS				

表 2 2016 年 3 月 28 日載有病毒之氣懸膠採樣結果表²²

Sampling interval	HEPA filter	Air sampler	Virus isolated ^a									
			AdV	CoV 229E	CoV NL63	IFV A H1N1	IFV A H3N2	IFV B	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4a	RSV-A
1	No No	BioSampler VIVAS	+		+	+	+	+	+	+	+	+
2	Yes Yes	BioSampler VIVAS										
3	No No	BioSampler VIVAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Yes Yes	BioSampler VIVAS										
5	No No	BioSampler VIVAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Yes Yes	BioSampler VIVAS										

^aAdV, adenovirus; CoV, coronavirus; IFV, influenza virus; HPIV, human parainfluenza virus; RSV, respiratory syncytial virus.

自 COVID-19 爆發以來，專家學者發現其冠狀病毒(SARS-CoV-2)是以氣懸膠作為主要傳染途徑，為了解病毒的傳播情形，本實驗室研究團隊於 2020 年前往有確診患者所在的隔離病房內使用 VIVAS 進行現場採樣，並藉由後續的 PCR 檢測確認所採集到的病

毒為陽性，同樣透由將採集的樣本分別放入 LLC-MK2 及 Vero 細胞中，也可觀察出確實有細胞病變效應發生¹⁴，本項實驗結果可得到 SARS-CoV-2 病毒可由 VIVAS 採樣設備收集並保有其活性。

對於 COVID-19 的傳播現象，除了普遍認為醫院是高風險場所外，對於有大量人員群聚現象的場所亦是病毒傳染的高風險區，當中以運動場所因現場環境及型態的限制，例如人員從事強烈運動時難以佩戴口罩，很難在每次替換器材時都清洗手部，以及因為空間限制人口數高難以維持適當的距離，被普遍認為是高傳染率的場所，尤其是可能有無症狀感染者會於該場所活動，因此美國疾病管制中心(CDC)於 2020 年發布“健身房和健身中心的 COVID-19 雇主訊息”⁷及“健身房和健身中心員工需要了解哪些有關 COVID-19 的信息”⁸(最後更新日期為 2020 年 11 月 12 日)，建議雇主如需重新營業，應依照相關規範建議進行改良，包含 1.在空調箱以及上層設置高效率的過濾網以及增加紫外線殺菌照射系統；2.使用抗菌液擦拭器材；3.強制要求重量訓練應保持 2 公尺以上距離；4.籃球場地僅限個人使用；5.控制人流；6.無接觸式的進場管制；7.在場館入口及主要運動區域標示佩戴口罩、使用酒精及保持物理間距等標語。然而在 2020 年 6、7 月時，曾發生在夏威夷的三間運動場館因未有良好的通風設備，2 位帶原者在症狀發生前爆發了群聚感染現象，總共造成了 21 位陽性案例¹¹。反觀於同年 9 月，位於維珍尼亞(Virginia)的體育場館，有依照 CDC 發布的指引使用通風，當中有一位教練經檢測確診為陽性，在發病前預估接觸近 50 位學員，然而在經過兩週的追蹤後，未有一位學員被檢測出陽性。從上述兩者例子可發現室內的通風換氣設備對於病毒的傳染起到的關鍵性的作用。本團隊為了了解運動場所實際的病毒存在情況，以及在遵照 CDC 的規範下所造成的差異，於 2020 年 8 月至 11 月前往佛羅里達當地的健身中心進行 5 次現場採樣分析¹⁶，採樣方式主要分為利用 VIVAS 進行空氣採樣，以及 BC-251 進行個人採樣，採樣結果發現所收集到的病毒在經過 rRT-PCR 檢測後皆為陰性，未有傳染力。另藉由分析結果發現該健身中心在實施 CDC 規範下，病毒感染率僅有 1.77%，且若顧客使用口罩，感染率更是下降至 0.89%，針對於不同的換氣方式結果如圖 6 所示，藉此結果可得知，室內若結合了換氣裝置、空氣過濾以及紫外光殺菌循環下，比起未有良好通風

的運動場館，其病毒感染率可下降約 94%，且當中大量引進外面的空氣是降低病毒傳染的最關鍵因素。

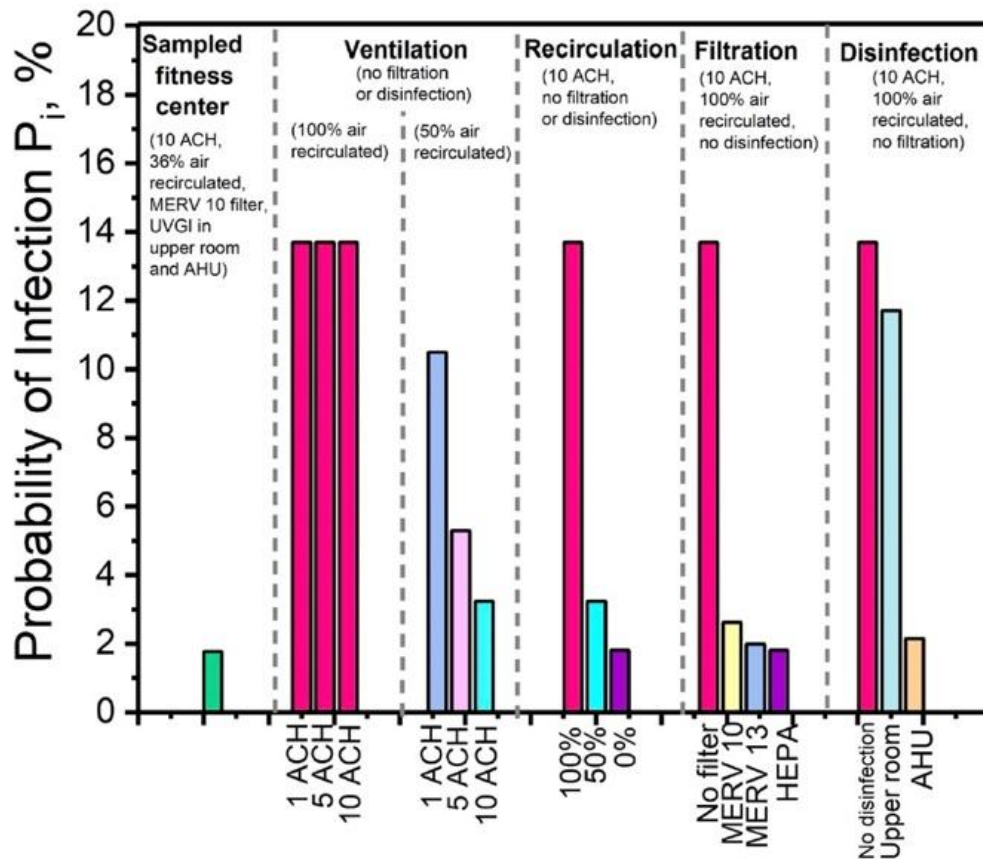


圖 6 通風、再循環、過濾以及滅菌對感染率的影響 ¹⁶(ACH:每小時換氣次數)

然而在職場環境中，工作者容易因接觸到空氣中的呼吸道病毒而造成感染進而危害健康，所以為了了解工作者暴露情形，本團隊於 2024 年前往位於佛羅里達大學學生健康照顧中心的兩間診所(藍色-一般保健診所、紅色-專門診斷及治療呼吸道系統疾病診所)進行空氣採樣 ²⁵。為評估空氣中呼吸道病毒的存在，於工作場所中分別放置固定空氣採樣器(VIVAS 及 NIOSH BC-251)以及工作人員佩戴個人空氣採樣器(NIOSH BC-251)，主要劃分為四大類型如圖 7 所示，分別為等待室、接待室、檢查室以及員工穿戴。該研究同時配合每日的臨床數據以及官方提供數據相對應，其採樣結果如圖 8 所

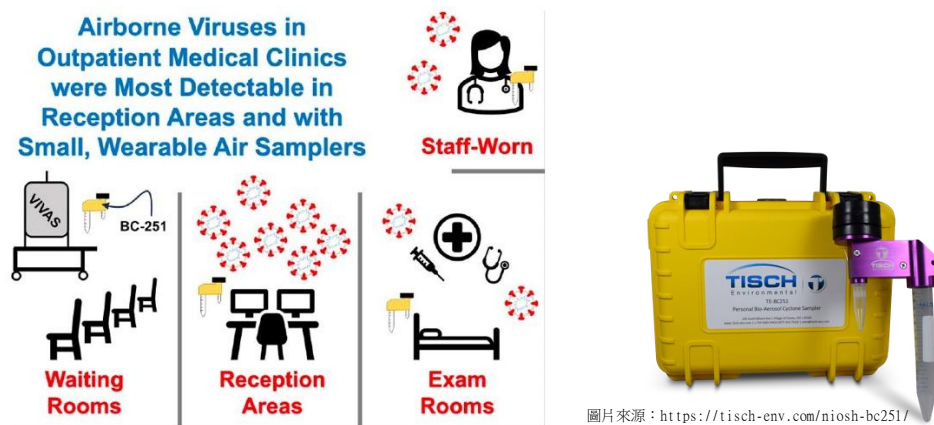


圖 7 空氣採樣器放置位置示意圖及 BC-251²⁵

示，可發現空氣採樣器採集到的病毒數量趨勢與診所內當日提供的診斷數相同，同時從圖 9 病毒陽性率比較結果發現在接待室是病毒量最高的地方，推測其原因為病患需於接待室與接待人員進行掛號及繳費等行為，相對於等待室和檢查室而言，其暴露的時間較長，且說話頻率較高，較容易有病毒散播，由此可知接待室的工作者會有較高的暴露危害。

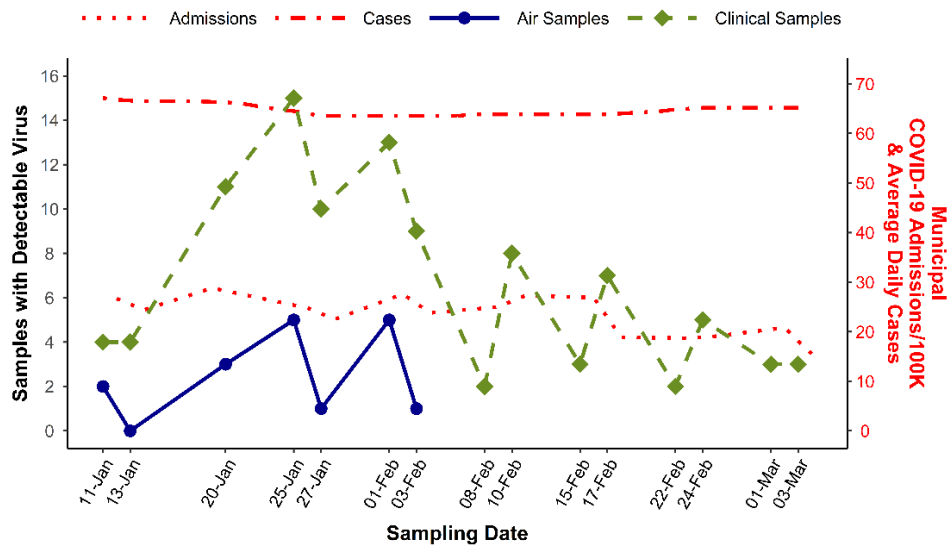


圖 8 取樣日期與可偵測到病毒結果圖²⁵

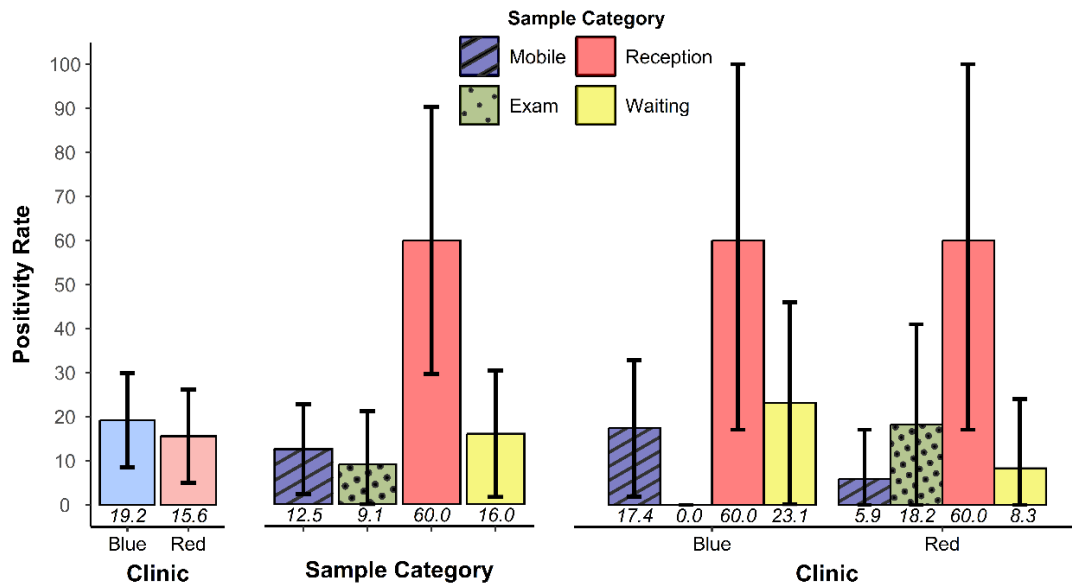


圖 9 各診所、採樣區域及各診所採樣區域的病毒陽性率²⁵

同時本研究亦針對護理師(Nurse)、醫生(Provider)以及接待區工作人員(Reception)等不同工作性質的類型進行個人採樣，結果如圖 10 所示，當中會發現在接待區工作人員所收集到的病毒數多且濃度高，該區域的採樣器是設置在坐著的工作人員的呼吸區域，代表這採樣器的位置是在站立病患的呼吸區域下方，因此此區域的採樣器可能收集到的病毒是來自病患說話或咳嗽時呼出氣中的大顆粒，而從圖 11 來自 BC-251 採樣器的粒徑分布結果也證實了這點。雖說病患皆會佩戴口罩似乎可以減輕大顆粒的傳播²⁰，然而若口罩配戴不當時，氣懸膠會從不貼合的表面釋出造成防護性急速降低²，更不說部分病患可能佩戴無法防止氣懸膠排放的纖維口罩¹⁹，因此在接待區的工作人員會面臨著較高的呼吸道病毒接觸風險。

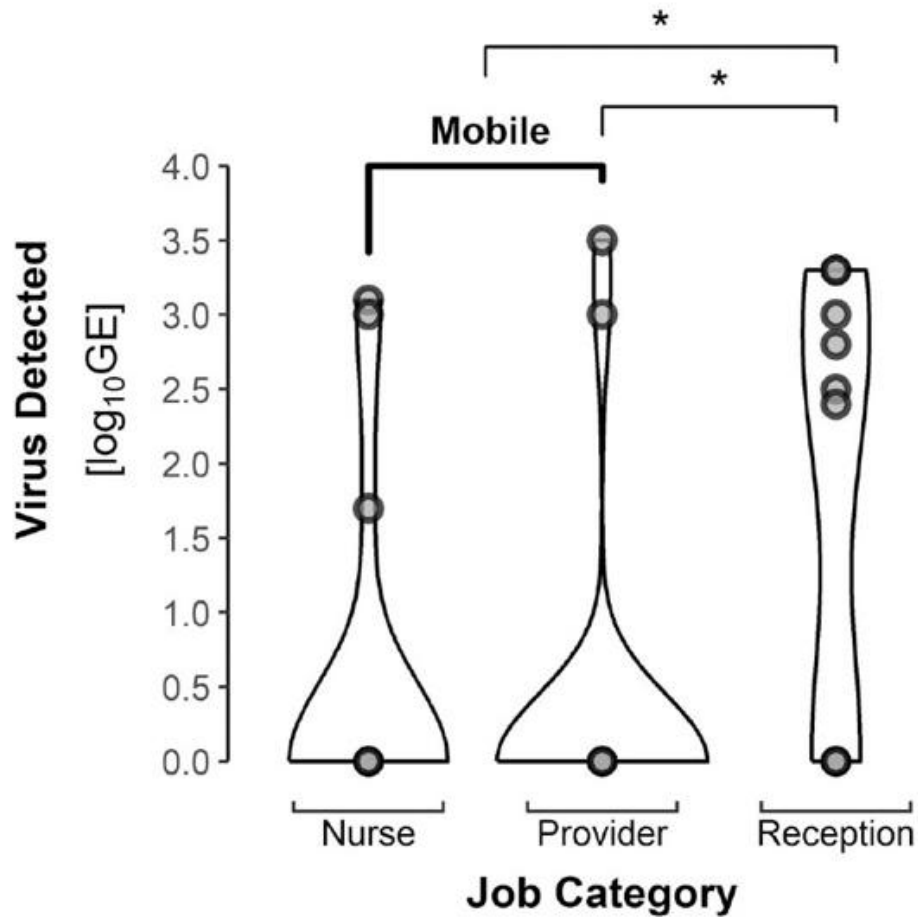


圖 10 不同工作類型個人採樣結果圖²⁵

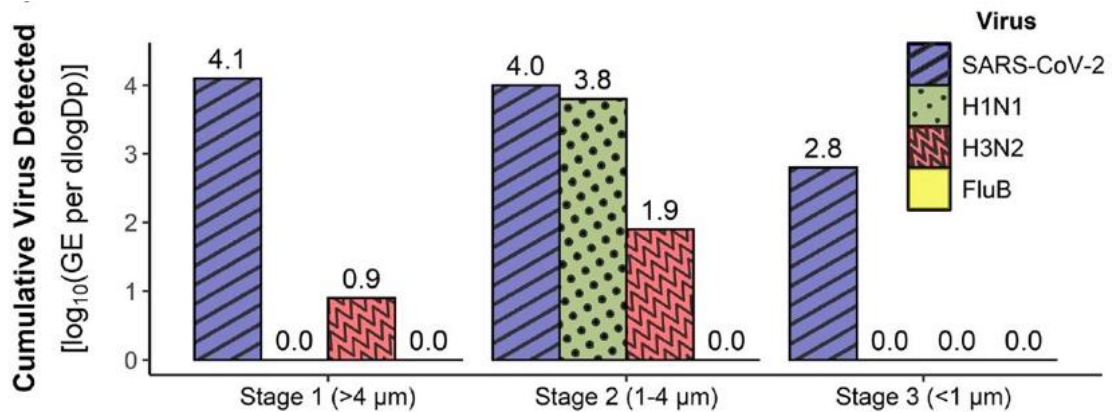


圖 11 BC-251 採樣器各階段收集到病毒濃度以及病毒種類²⁵

從上述結果可知，病毒最常存在於 1-4 微米的氣懸膠中，這意味著病毒可藉由空氣傳播進入人體的肺泡區域，造成健康危害，即使工作環境採取了許多物理控制措施，然而長時間與病患接觸的工作人員仍有很大機會接觸空氣中的病毒，因此為能更好的描述工作場所內的風險，該研究建議應將空氣採樣作為空氣傳播呼吸道病毒

職業暴露監測的一部分。

(三)、實驗研究

雖然截至目前為止，已有多種空氣採樣器可進行空氣中氣懸膠病毒的採樣，然而多數採樣設備因無法保存病毒活性進而造成效率不佳，活性病毒生物氣懸膠採集器(viable virus aerosol sampler, VIVAS)雖然大大的提升了收集效率，惟該設備無法提供病毒顆粒的粒徑分布，本團隊希望可以建立一套既可有效捕捉空氣中的病毒並保有其活性，同時在收集過程中就不同粒徑分別收集，因此本團隊選擇使用 Aerosol Dynamics 的生物平面級聯衝擊器(BioCascade)(圖 12)，該設備主要分成三個收集階段，分別為第一階段>9.74 微米、第二階段 3.94~9.74 微米，第三階段 1.38~3.94 微

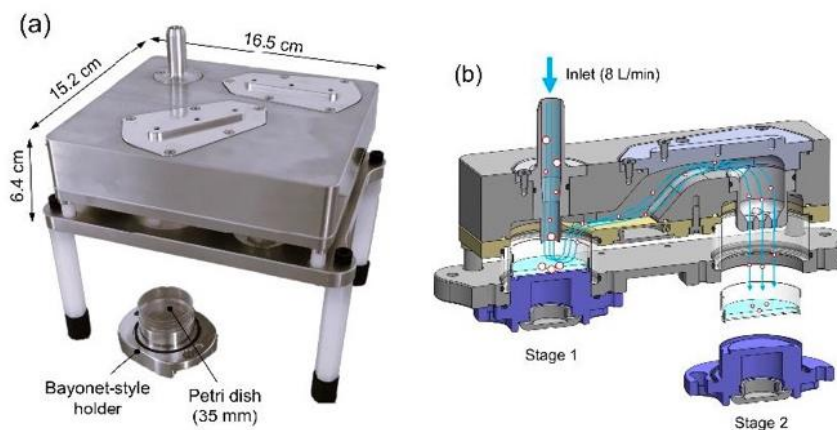


圖 12 (a)生物平面級聯衝擊器(BioCascade)(b)部分分解剖面圖⁹

米⁹。起初本團隊實驗室於 2023 年在生物實驗室建立一套模擬病毒捕捉系統，該系統主要是利用生物氣懸膠霧化產生器(BioAerosol Nebulizing Generator, BANG)霧化人類冠狀病毒((HCoV)-OC43,OC43)，後端由 BioCascade 與 VIVAS(以下稱 BC-VIVAS)相接進行收集，其所產生的氣懸膠病毒會直接輸送到含有 Vero E6 細胞的收集液中，接著再將收集到的病毒分別進行 RT-qPCR 及細胞培養觀察病變效應²³。經實驗結果發現，該病毒在霧化後產生的顆粒粒徑分布如圖 13 所示，發現最高的病毒濃度出現在 BioCascade 的第三階段收集器(1.41-3.81 微米)，且收集到的病毒在經由細胞培養後，經由顯微鏡觀察發現有細胞病變效應(如圖 14)，作為對照組，

本實驗另外使用一組僅 Vero E6 細胞暴露在無病毒顆粒的空氣中，從顯微鏡未發現細胞病變效應(圖 14e)，因此可知此系統可將病毒在收集期間仍保持活性，且能將傳染性空氣傳播病毒直接的傳送到宿主細胞中。然而在實驗過程中，有發現 BioCascade 下方收集皿在經過長時間的反應後，裡面的收集液會逐漸揮發而導致活病毒的收集效率變低，其原因可能是由於乾空氣流過系統時，造成培養皿中的收集液揮發。

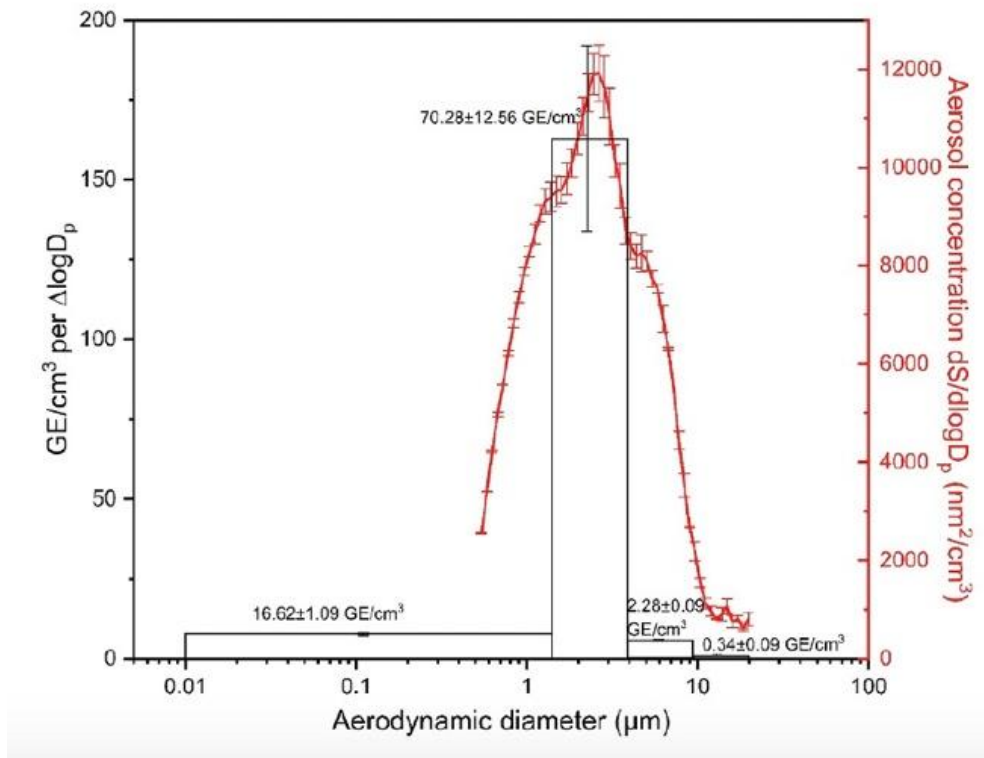


圖 13 BC-VIVAS 中每 $\Delta \log$ (空氣動力學直徑)空氣的 OC43(GE/cm^3)以及空氣動力學粒徑測量儀的氣溶膠粒徑分佈(GE/cm^3)²³

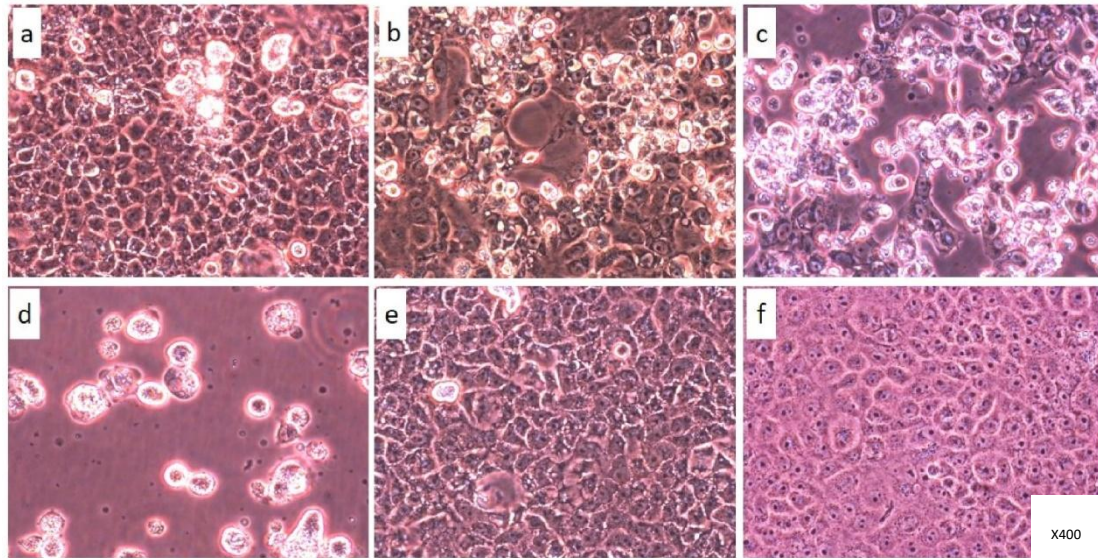


圖 14 BC-VIVAS 第三階段暴露於 OC43 的 Vero E6 細胞病變效應影像圖：(a)培養 3 天、(b)培養 4 天、(c)培養 5 天、(d)培養 7 天、(e)Vero E6 細胞暴露在無顆粒的空氣中及(f)未暴露的 Vero E6 細胞(對照組)²³

為改善液體揮發問題，Aerosol Dynamics 將 BioCascade 加裝溫度控制設備(如圖 15)，除利用加熱系統使本體溫度高於大氣溫度以避免水分因高濕度環境而造成凝結，同時本體兩側加裝冷卻風扇系統，維持收集槽及收集液的溫度，藉此避免因反應時間長而造成收集液的揮發，同時也可延長收集液中生物氣懸膠的活性及感染力，兩個溫度均利用溫度控制設備隨時監測。本團隊仿照前次實驗在 BioCascade 後端連接上 VIVAS，並接上霧化器、稀釋管、空氣動力學粒徑測量儀(APS)及 Spider 等設備(如圖 16)，利用霧化器先將病

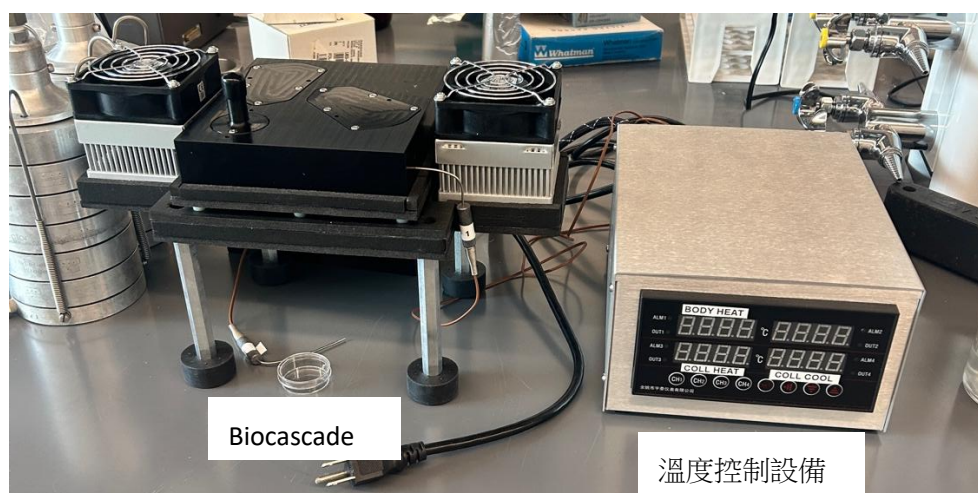


圖 15 BioCascade

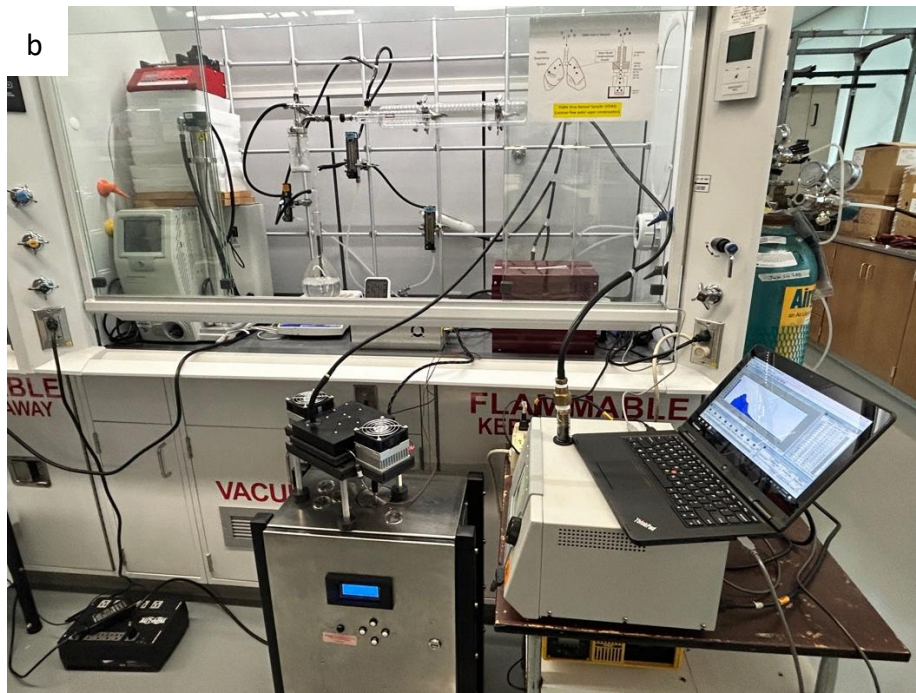
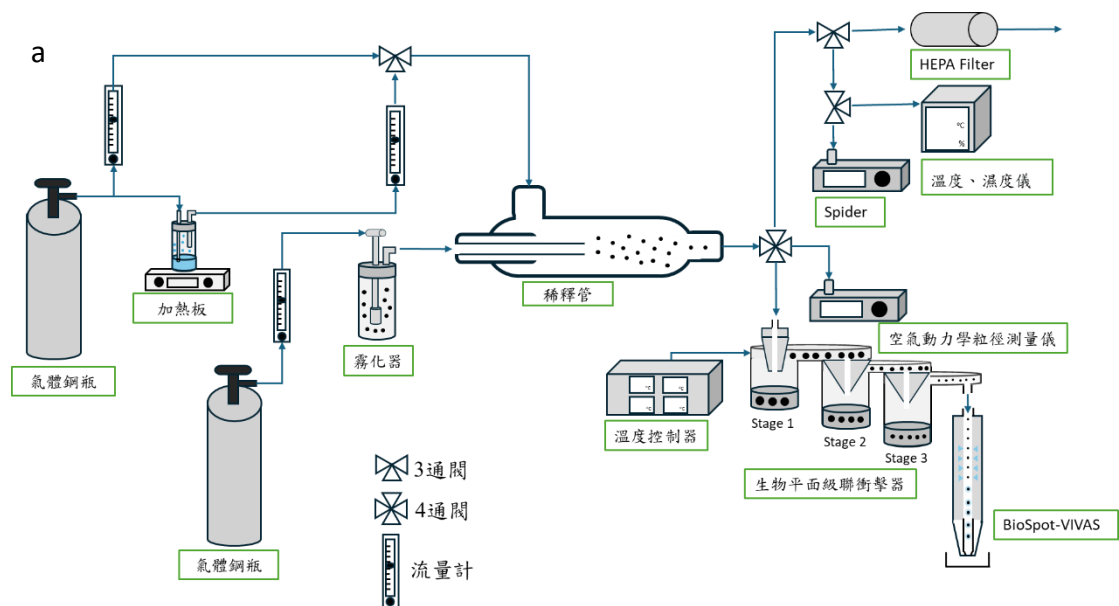


圖 16 (a)實驗流程圖(b)現場實驗架設圖

毒液體霧化成不同尺寸大小的氣霧膠並進入稀釋管，該稀釋管會藉由通入不同體積流速的乾空氣及濕空氣以達到實驗所需的濕度條件，同時高濃度的氣霧膠也可在此處稀釋後分別進入收集器及其他測量儀器，而 APS 及 Spider 用於量測氣霧膠的顆粒大小，尺寸範圍分別為 0.5-20 微米及小於 0.4 微米。本實驗使用可感染大腸桿菌 (E. Coli) 的噬菌體 MS2，並加入人工唾液放入霧化器中霧化，另 BC-VIVAS 的四個不同階段的液體收集槽分別放入一定容量的磷酸鹽

緩衝液(PBS)，PBS 是生物學研究中常用來做細胞培養的緩衝液。本實驗主要針對不同的霧化時間(30 分鐘、1 小時、2 小時及 3 小時)以及不同的濕度(50%、70%、90%)下，各階段所收集到的氣霧膠病毒濃度的差異，除了利用收集到的液體做 PCR 分析外，另外也利用細胞培養來獲得收集到的活性病毒的濃度。

本實驗的細胞培養流程，因考量收集液中病毒濃度過高，因此會先將收集液進行不同倍數的稀釋，並加入 E. Coli (如圖 17)與噬菌體 MS2 反應形成樣本，接著再將樣本滴入含有胰蛋白酶大豆培養基(TSB)及洋菜(Agar)作營養液的培養皿中進行培養(圖 18)，並將樣本置於恆溫箱(圖 19)反應至少 16 小時，此時 MS2 會和 E. Coli 反應形成噬菌斑，並在培養皿上吃出一顆顆的空洞，接著再由人工去計算空洞的數量，得到該樣本的空斑的病毒數(PFU)(圖 20)，最後再利用稀釋的比例回推該收集液中的病毒濃度。

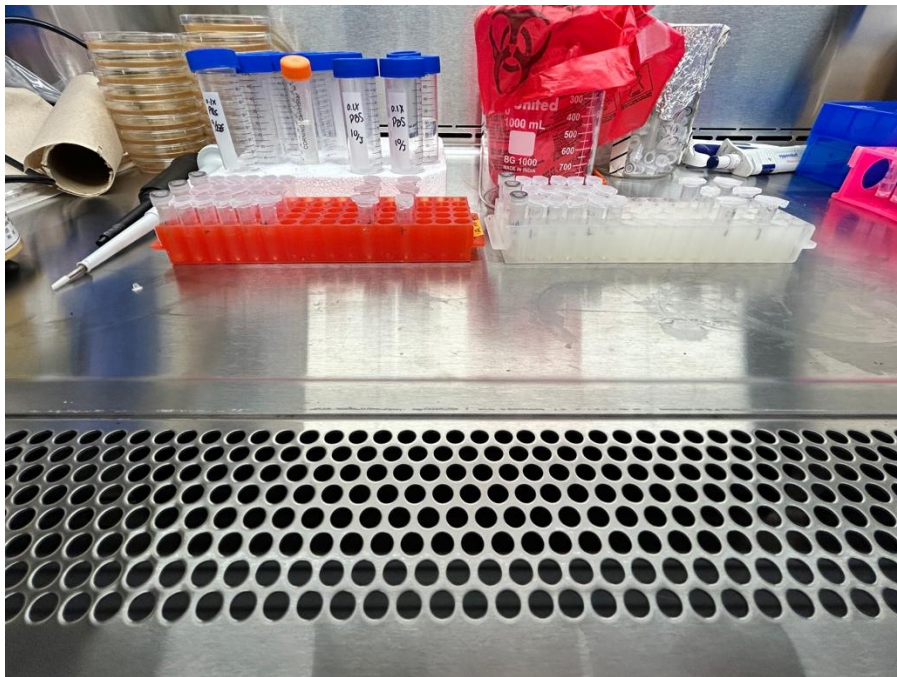


圖 17 樣品稀釋實驗

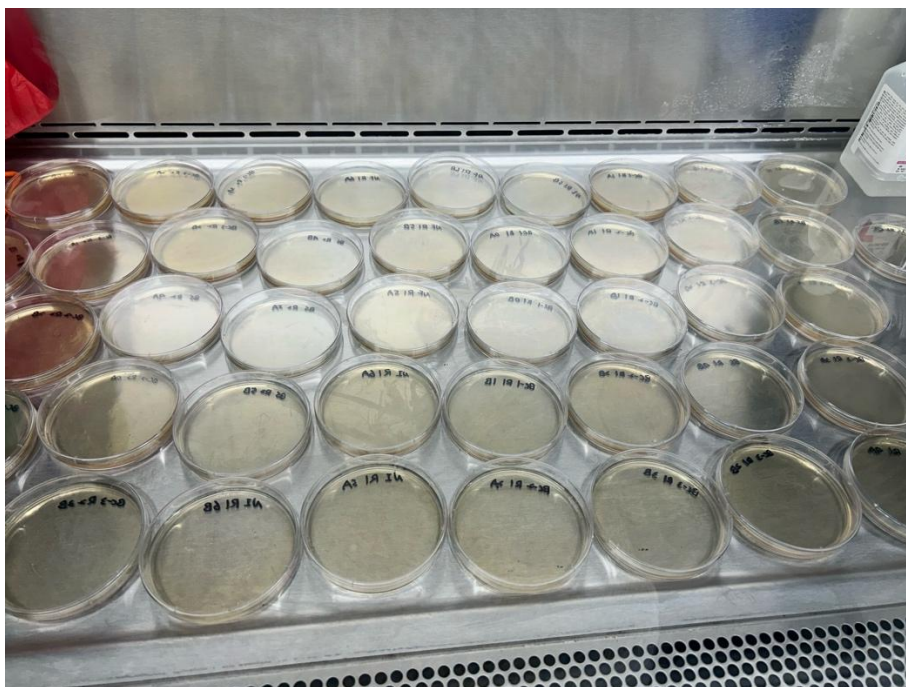


圖 18 將樣品滴入培養皿



圖 19 將樣品放入恆溫箱置放至少 16 小時

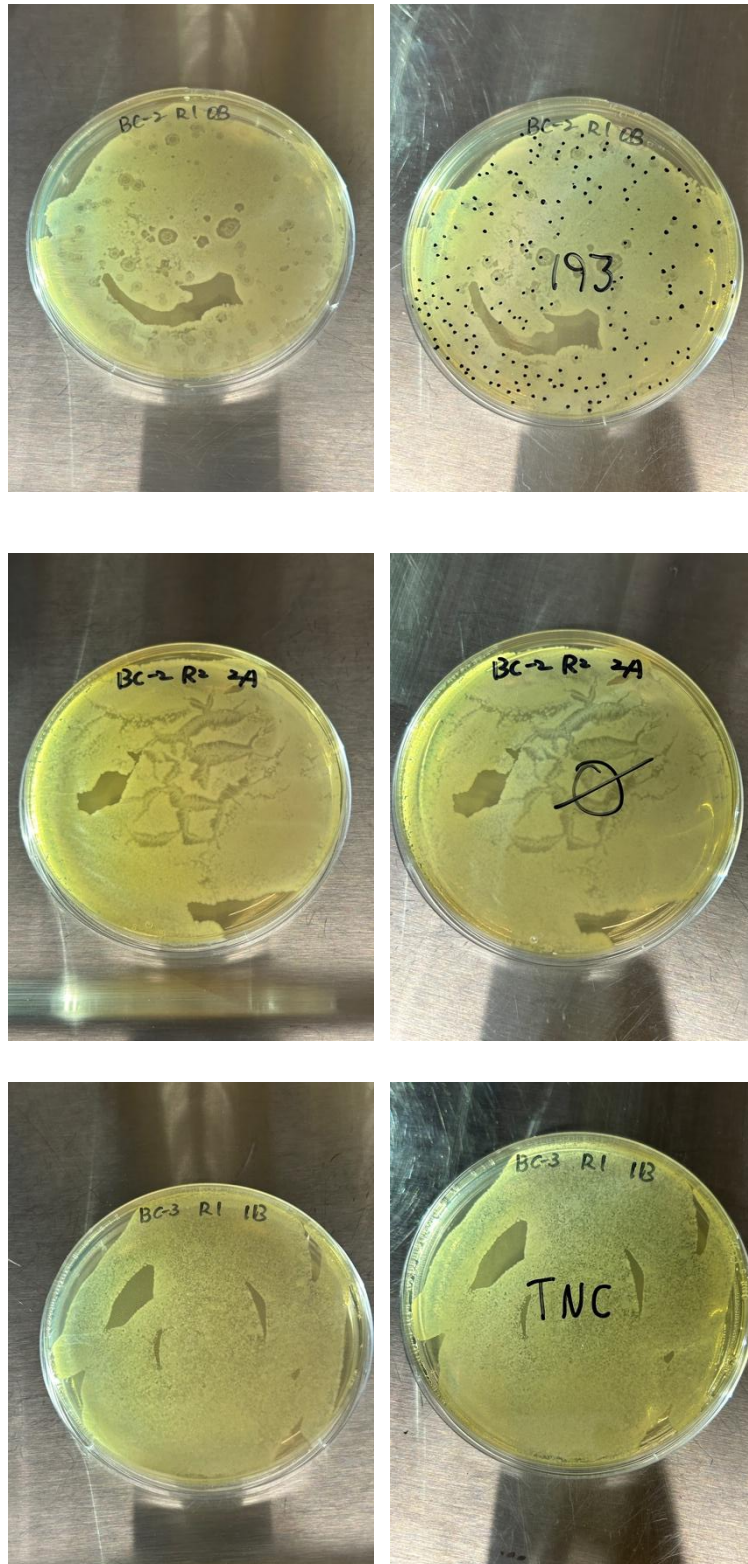


圖 20 PFU 顆粒計算前(左)、計算後(右)

本次研究主要是希望建立出一套可以有效收集不同尺寸的病毒，並保持其活性，以了解實際環境中病毒的濃度，圖 21 實驗結

果可以得到，BC-VIVAS 設備可有效地將所有的病毒依照其粒徑不同分別收集，且在針對不同濕度下(50%、70%、90%)採樣 30 分鐘，所得到各階段的活性病毒數結果如圖 21 所示，可以發現在高濕度環境下，活性病毒較多，因此會推知為何每年冬季時都會有大規模的流行性感冒案例增加，主要原因有因為環境濕度高有利於病毒的存活，以及因為氣溫低，大多數人於室內會傾向關閉窗戶減少外部通風及換氣，導致大量的病毒會累積在室內不易排出，造成病毒傳染率上升。

不同濕度下，採集30分鐘所得到的病毒數

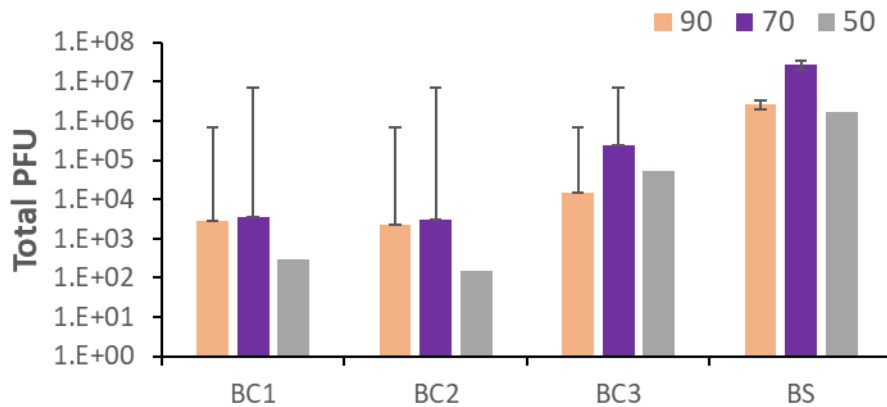


圖 21 不同濕度下採樣 30 分鐘，各階段所收集到的病毒數

另因未來考量將設備應用於實際採樣，為了維持整套實驗設備的穩定性，實驗首先針對在固定濕度條件下(90%)，不同的採樣時間下各階段收集液的體積差，其結果如圖 22 所示，會發現 BioCascade 各階段在採樣完後，收集液的體積會隨著採樣時間越長累積越多，然而後面接的 VIVAS 卻有發現當採樣時間來到 120 分鐘(2 小時)，收集液的體積卻減少，有此可知系統有發生液體揮發現象，這樣可能導致收集到的病毒因為揮發而失去其活性，且同時若收集液的體積增加過多，也會造成系統的噴嘴與收集液距離過短，進而造成收集效果不佳，因此本團隊未來將繼續嘗試不同的收集條件，希望可將收集液體積差控制在 0-1mL 為最佳理想值。另圖 23 主要針對於在不同採樣時間下各階段所收集到整體的病毒數，從圖中會發現隨著採樣時間的增加，所收集到的病毒數會越多，然而當

採樣時間到達 180 分鐘(3 小時)時，會發現部分階段的病毒數量小幅度降低，其推測可能原因是病毒因採樣時間過長失去其活性，從此兩張結果圖可初步推測未來若要進行實地採樣，其的採樣時間不應超過 2 小時為佳。

在溼度90%環境下，不同採樣時間收集
液的體積差

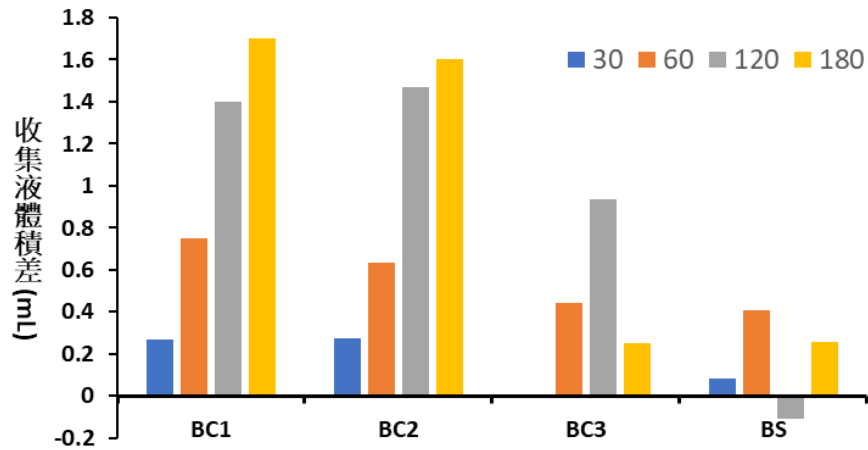


圖 22 在固定濕度下，不同採樣時間各階段收集液的體積差

在溼度90%的環境下，不同採樣時間所得到的活性病
毒數

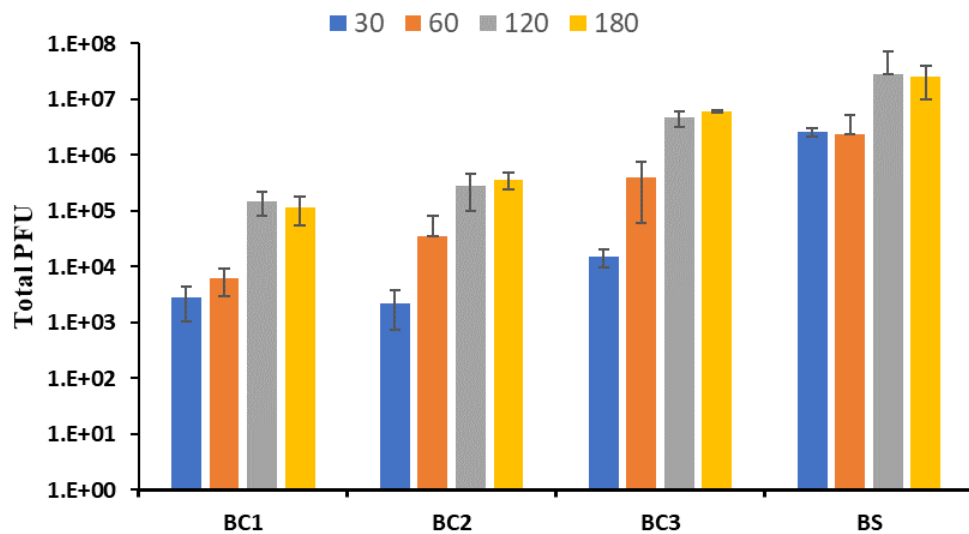


圖 23 在固定濕度下，不同的採樣時間各階段所得到的活性病毒數

三、心得及建議

本次研究自 113 年 9 月 2 日到 114 年 2 月 11 日止共約五個半月，這段期間我跟隨吳章鈺教授的研究團隊，學習了許多關於病毒型氣懸膠的相關技術，一直以來全球面臨著大大小小不斷變種的病毒侵襲，在生物醫學上一直不斷地研發新型疫苗來進行抵抗，然而也有部分研究團隊致力在研究出如何讓人與病毒可共存而不影響人類生活環境。這段時間我不僅在實驗室學習到如何捕捉環境中的氣懸膠，還學習如何培養病毒、製作人體肺部細胞，另外本研究團隊亦有針對於當人體暴露於特定的環境(例如當人體吸食電子煙或人們使用空氣清新劑等等環境下)，這些物質所產生的氣懸膠在經由人體吸入到肺部後對於人體肺部的影響，由於物質在經由人體吸入後，並不會以單一型態沉積在肺部中，因此本團隊利用新研發的設備(DAVID-2，圖 24a)，設計三組不同噴嘴(圖 24b)，藉此模擬人體的肺部器官在吸入氣懸膠後不同的沉積圖案(如圖 25)，收集完後再利用圖 26 多功能微量盤檢測儀檢測其物質的毒性濃度。

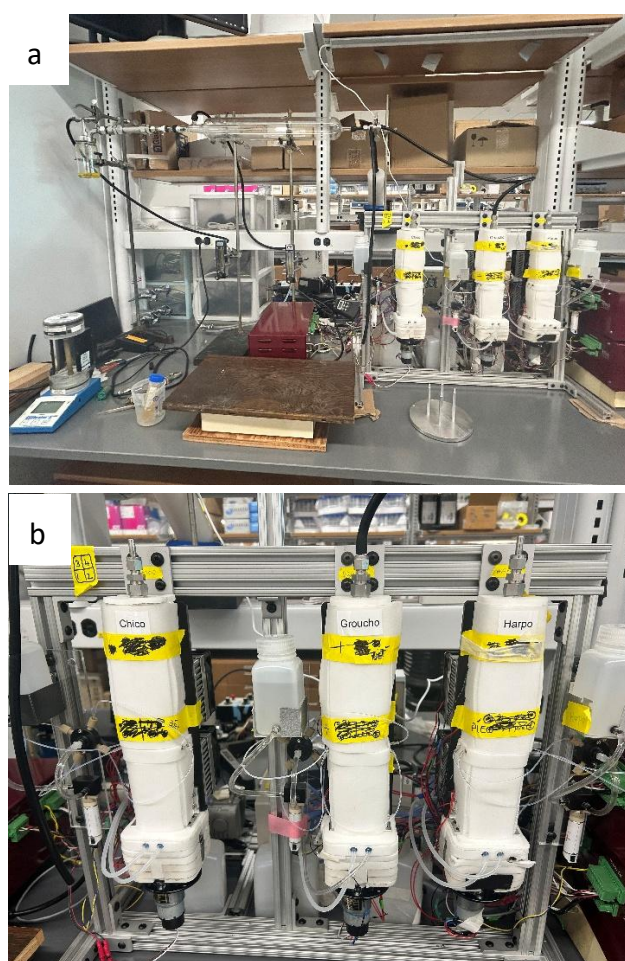


圖 24 (a)DAVID-2 系統圖(b) DAVID-2 系統噴嘴(Chico-3 jet；Groucho-7 jet；Harpo-Pie)

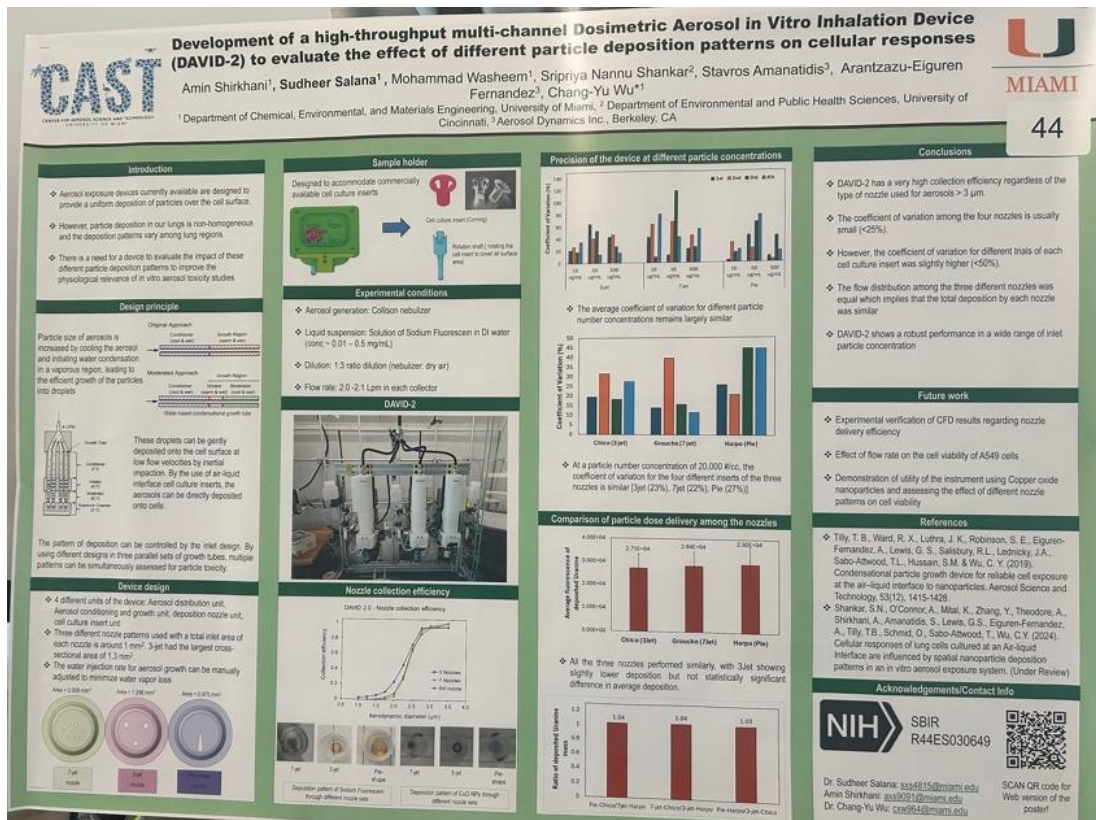
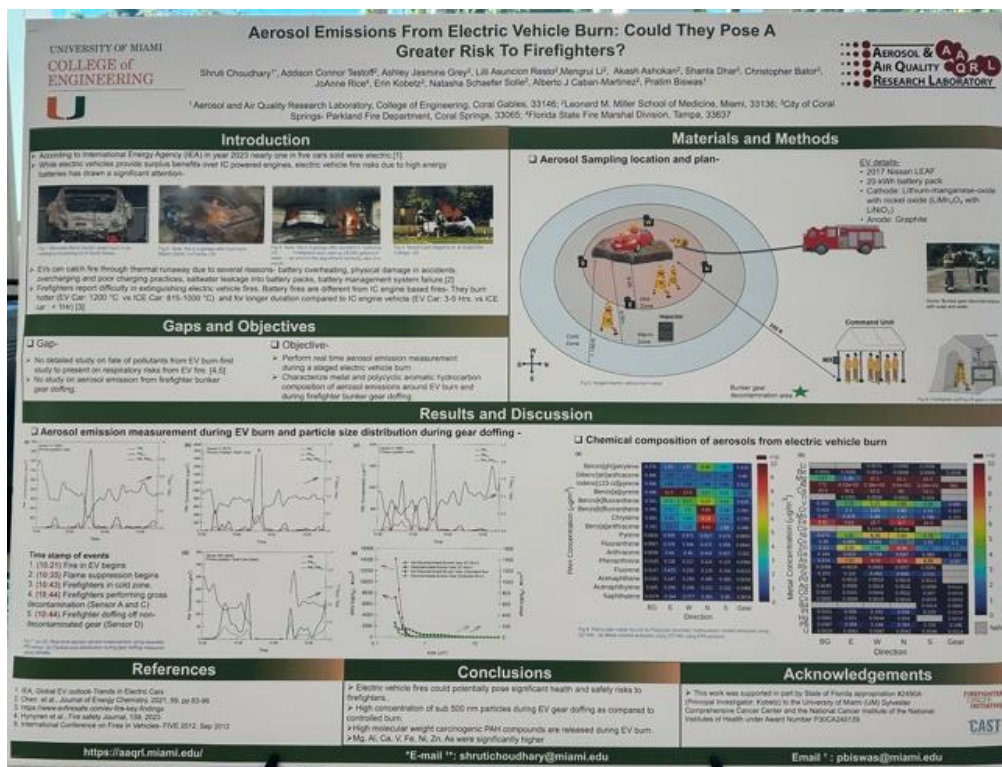


圖 25 利用 DAVID-2 評估不同沉積圖案對細胞的反應海報



圖 26 多功能微量盤檢測儀

這段期間除了在學校進行研究外，我在 113 年 10 月 21 到 25 日曾前往新墨西哥州阿爾伯克基參加一年一度的美洲氣膠研討會(AAAR, American Association for Aerosol Research)，在研討會上我看到了全球所有研究氣懸膠的研究團隊，當中讓我印象深刻的有針對消防員的暴露檢測，該實驗主要是針對於當消防員在從事電動車滅火時，所暴露的環境氣懸膠的濃度(如圖 28)，值得一提的是雖然我們無法控制消防員所面臨的火災環境，且消防員在滅火時會配戴面罩因此暴露危害風險較低，但環境的化學氣懸膠除了懸浮於空氣中，也會附著在消防員的衣服上，當消防員在換下裝備時，這些化學氣懸膠會再度以二次氣懸膠懸浮在空氣中，此時消防員並沒有佩戴防護面罩，因此在此環境下是可能會造成吸入性的危害，另外當消防服裝置放在消防車內時，亦會散發出化學氣懸膠，在密閉的空間裡，消防員同樣會有二次吸入的危害。因此邁阿密大學的某實驗團隊嘗試前往當地消防隊，並在他們進行電動車火災滅火時，使他們佩戴採樣設備進行採樣，隨後進行成分的分析，初步研究結果發現消防員的裝備上是有一定成分的化學物存在，因此對消防員也有一定的健康危害風險。雖然我國目前因消防員屬於公務人員，不在職業安全衛生法的保障範圍內，但從此研究結果可知，對於消防員在救災後以及平常的訓練裡，可能吸入附著於服裝上的危害性化學品而造成健康危害部分，仍是未來需要關注的部分。



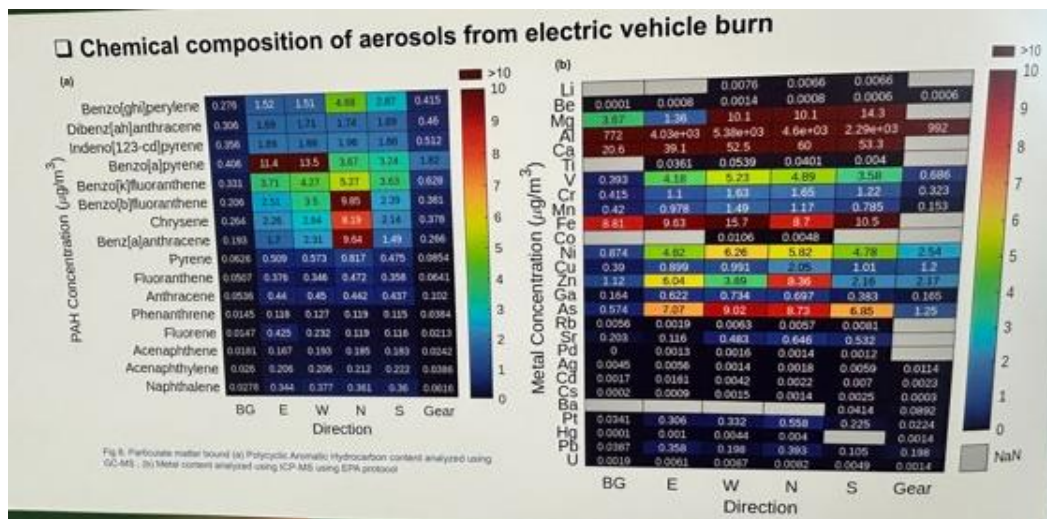


圖 27 有關電動汽車在燃燒時所散發的氣懸膠對消防員的風險海報

最後，有鑒於本次研究的結果，雖然目前對於有效的掌握空氣中病毒氣懸膠的技術尚未成熟，但已知通風換氣在病毒的傳播上扮演著非常重要的角色，因此在和吳章鈺教授討論後，建議我國經過評估衝擊影響及可行性後，在適當時機可修訂職業安全衛生設施規則第 297 條之 1，對於工作場所所有生物病原體危害之虞之事業單位，應增列評估現場通風設備。事業單位可於作業現場使用凝聚粒子計數器(CPC)(如圖 28)捕捉環境中所有粒子的濃度，同時利用現有的病毒氣懸膠採樣技術進行病毒氣懸膠採樣得知活性病毒的濃度，藉此得出環境中的病毒比例，進而了解到各工作場所的暴露風險，再依照所評估出來的結果，搭配適當的室內整體換氣設備，以降低工作者可能因病毒感染而造成健康危害。

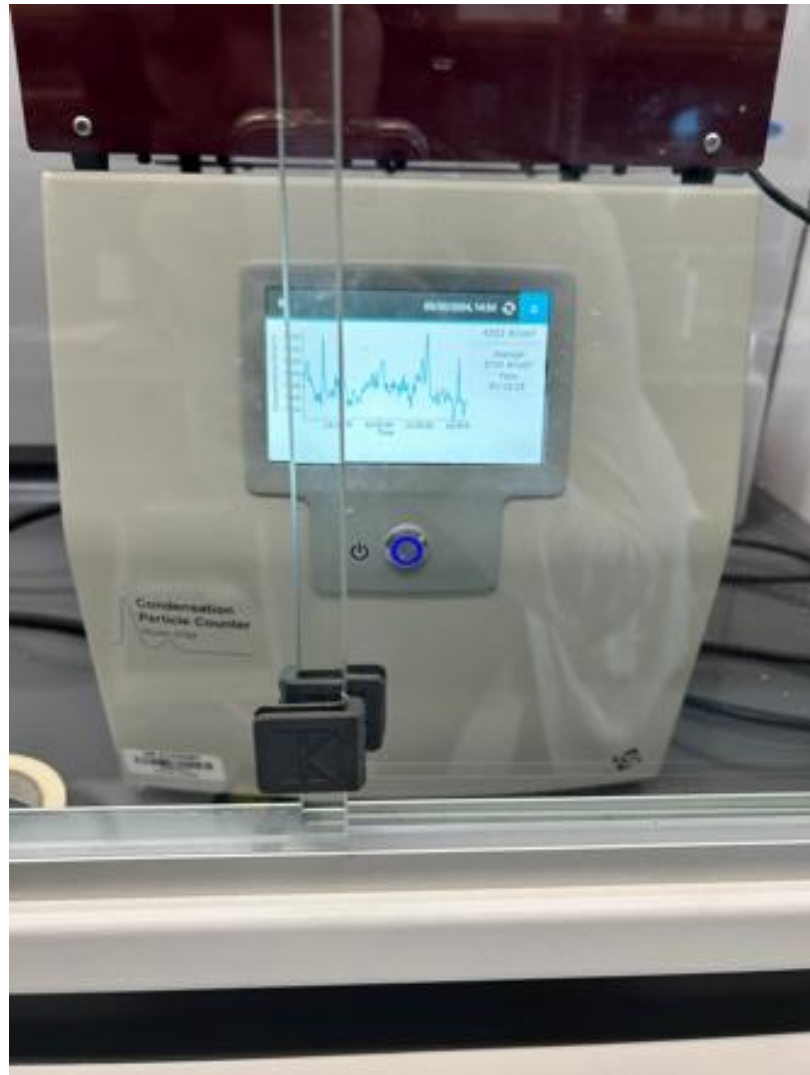


圖 28 凝聚粒子計數器

參考文獻

1. Appert, J., P. C. Raynor, M. Abin, Y. Chander, H. Guarino, S. M. Goyal, Z. Zuo, S. Ge, and T.H. Kuehn. 2012. Influence of suspending liquid, impactor type, and substrate on size-selective sampling of MS2 and adenovirus aerosols. *Aerosol Sci. Technol.*, 46(3), 249–257. doi: 10.1080/02786826.2011.619224
2. Brooks, J. T., D. H. Beezhold, J. D. Noti, J. P. Coyle, R. C. Derk, F. M. Blachere, and W. G. Lindsley. 2021. Maximizing fit for cloth and medical procedure masks to improve performance and reduce SARS-CoV-2 transmission and exposure, 2021. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 70 (7):254–7. doi: 10.15585/mmwr.mm7007e1
3. Cao, G., J.D. Noti, F. M. Blachere, W. G. Lindsley, and D. H. Beezhold. 2011. Development of an improved methodology to detect infectious airborne influenza virus using the NIOSH bioaerosol sampler. *J. Environ. Monit.* 13(12), 3321–3328. doi:10.1039/C1EM10607D
4. Centers for Disease Control and Prevention, 2011, The 2009 H1N1 Pandemic: Summary Highlights, April 2009-April 2010. https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/h1n1flu/cdcresponse.htm
5. Centers for Disease Control and Prevention, Interim Guidance for Managing Healthcare Personnel with SARS-CoV-2 Infection or Exposure to SARS-CoV-2. <https://www.cdc.gov/covid/hcp/infection-control/guidance-risk-assessment-hcp.html>
6. Centers for Disease Control and Prevention, Interim guidance for businesses and employers to plan and respond to 2019 coronavirus disease 2019(COVID-19), February 2020. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/85488>
7. Centers for Disease Control and Prevention, COVID-19 Employer Information for Gyms and Fitness Centers. (Update Nov. 12,2020). <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97119>
8. Centers for Disease Control and Prevention, What Gym and Fitness Center employees need to know about COVID-19. (Update Nov. 12,2020). <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97120>
9. Chen, Y., J. Chena, S. N. Shankara, S. Amanatidis, A. Eiguren-Fernandez, N. Kreisberg, S. Spielman, J. A. Lednicky, and C. -Y. Wu. 2024. The BioCascade

- Impactor: A novel device for direct collection of size-fractionated bioaerosols into liquid medium. *Aerosol Sci. Technol.*, 58(3):264-275.
doi:10.1080/02786826.2024.2301941.
10. Cherrie J.W., and R. J. Aitken. 1999. Measurement of human exposure to biologically relevant fractions of inhaled aerosols. *Occup. Environ. Med.*; 56: 747-752. doi:10.1136/oem.56.11.747
 11. Groves, L.M., Usagawa, L., Elm, J., Low, E., Manuzak, A., Quint, J., Center, K.E., Buff, A.M., Kemble, S.K. 2021. Community transmission of SARS-CoV-2 at three fitness facilities- Hawaii, June-July 2020. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep*; 70:316-320. doi:10.15585/mmwr.mm7009e1
 12. Hinds, W.C., and Y. Zhu. 2022. *Aerosol technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles*. 3rd Ed. J. Wiley.
 13. Hering, S.V., and M.R. Stolzenburg. 2005. A method for particle size amplification by water condensation in a laminar, thermally diffusive flow. *Aerosol Sci. Technol.* 39; 428-436. doi:10/1080/027868290953416
 14. Lednicky, J.A.,M. Lauzardo, C. H. Fan, A. Jutla, T. B. Tilly, M. Gangwar. M. Usmani, S. N. Shankar, K. Mohamed, A. Eiguren-Fernandez, C. J. Stephenson, Md. M. Alam, M. A. Elbadry, J. C. Loeb, K. Subramaniam, T. B. Waltzek, K. Cherabuddi, J. G. Morris Jr., and C.-Y. Wu. 2020. Viable SARA-CoV-2 in the air of a hospital room with COVID-19 patients. *Int.J. Infect. Dis.* 100:476-482. doi:10.1016/j.ijid.2020.09.025
 15. Lednicky, J., M. Pan, J. Loeb, H. Hsieh, A. Eiguren-Fernandez, S. Hering, Z.H. Fan, and C.-Y Wu. 2016. Highly efficient collection of infectious pandemic influenza H1N1 virus (2009) through laminar-flow water based condensation. *Aerosol Sci. Technol.* 50(7); i-iv. doi: 10.1080/02786826.2016.1179254
 16. Li, H., S.N. Shanker, C.T. Witanachchi, J.A. Lednicky, J.C. Loeb, Md.M Alam, Z.H. Fan, K. Mohamed, A. Eiguren-Fernandez, and C.-Y. Wu. 2021. Environmental surveillance and transmission risk assessments for SARS-CoV-2 in a fitness center. *Aerosol Air Qual Res.* 21(11). doi:10.4209/aaqr.210106
 17. Liberty Mutual (2023). 2023 Workplace Safety Index.
<https://business.libertymutual.com/insights/2023-workplace-safety-index/>.
 18. Liberty Mutual (2024). 2024 Workplace Safety Index.
<https://business.libertymutual.com/insights/2024-workplace-safety-index/>

19. Lindsley, W. G., F. M. Blachere, D. H. Beezhold, B. F. Law, R. C. Derk, J. M. Hettick, K. Woodfork, W. T. Goldsmith, J. R. Harris, M. G. Duling, et al. 2021. A comparison of performance metrics for cloth masks as source control devices for simulated cough and exhalation aerosols. *Aerosol Sci. Technol.* 55 (10):1125–42. doi: 10.1080/02786826.2021.1933377
20. Milton, D. K., M. P. Fabian, B. J. Cowling, M. L. Grantham, and J. J. McDevitt. 2013. Influenza virus aerosols in human exhaled breath: Particle size, culturability, and effect of surgical masks. *PLoS Pathog.* 9 (3):e1003205. doi: 10.1371/journal.ppat.1003205
21. Occupational Safety and Health Administration, COVID-19 Guidance on Ventilation in the Workplace.
<https://www.osha.gov/sites/default/files/publications/OSHA4103.pdf>
22. Pan M., T.S. Bonny, J. Loeb, X. Jiang, J.A. Lednicky, A. Eiguren-Fernandez, S. Hering, Z.H. Fan, and C.-Y Wu. 2017. Collection of viable aerosolized influenza virus and other respiratory viruses in a student health care center through water-based condensation growth. *mSphere*; 2(5): e00251-17. doi:10.1128/mSphere.00251-17
23. Shanker, S. N., W. B. Vass, J. A. Lednicky, T. Logan, R. L. Messcher, A. Eiguren-Fernandez, S. Amanatidis, T. Sabo-Attwood, and C. -Y. Wu. 2024. The BioCascade-VIVAS system for collection and delivery of virus-laden size-fractionated airborne particles. *J Aerosol Sci.* 175. doi:10.1016/j.jaerosci.2023.106263
24. van Doremalen, N., Bushmarker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G., Gamble, A., Williamson, B.N., Tamin, A., Harcourt J.L., Thornburg, N.J., Gerber, S.I., Lloyd-Smith, J.O., De Wit, E., Munster, V.J. 2020. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.*;382: 1564-1567. doi:10.1186/NEJMc2004973
25. Vass W.B., A. Shirkhani, M. Washeem, S. N. Shankar, Y. Zhang, T. L. Moquin, R. L. Messcher, M. D. Jansen, J. R. Clugston, M. P. Walser, Y. Yang, J. A. Lednicky, Z. H. Fan, and C. -Y Wu. 2024. Occupational exposure monitoring of airborne respiratory viruses in outpatient medical clinics. *Aerosol Sci. Technol.* doi:10.1080/02786826.2024.2403580
26. Wang, J. and G. Du. 2020. COVID-19 may transmit through aerosol. *Ir. J. Med.*

Sci.;189(4):1143-1144. doi:10.1007/s11845-020-02218-2

27. World Health Organization

<https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?m49=001&n=c>