

### 細菌基因分型技術在食媒疾病分子流行病學上的應用

邱乾順、劉儼毅、廖盈淑\*

#### 摘要

細菌基因分型是現今公衛實驗室進行疾病監測與疾病爆發事件調查經常使用之方法。脈衝電泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)與多點可變異重覆序列分析法(multilocus variable number tandem repeat analysis, MLVA)因對大多數細菌種類具有高分型解析力，是最常使用的細菌基因分型技術。細菌基因分型結果與疾病爆發事件的解讀有三種主要模式：H1，一個疾病群聚感染事件是由同一基因型菌株所引發；H2，一個疾病群聚感染事件是由多種基因型菌株或多個不同病原菌種所引發；H3，多個疾病群聚感染事件是由同一基因型菌株所引發。隨著次世代定序技術的進展，全基因體定序(whole genome sequencing, WGS)將成為公衛實驗室常規分析菌株的方法。菌株全基因體序列提供豐富的訊息，可用於擷取菌株血清型、致病因子、抗藥基因與可展示菌株經歷長短時距演化之基因圖譜資料。全基因體定序將在數年內取代脈衝電泳與多點可變異重覆序列分析法，成為公衛實驗室進行細菌菌株基因分型的最終方法。疾病管制署需儘速建立實驗室全基因體定序之量能與序列資料分析能力，充分準備以面對次世代定序技術的來臨。

**關鍵字：**基因分型、分子流行病學、脈衝電泳法、次世代定序技術、全基因體定序

#### 前言

細菌分型(typing)可供建構菌株間之遺傳關聯性(genetic relatedness)，提供流行病學研究調查之用。細菌分型可分表現型分型(phenotyping)與基因分型(genotyping)，分型方法的選擇視目的而定，例如為了疫苗研發與疫苗接種政策所需，進行

衛生福利部疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

通訊作者：廖盈淑\*

E-mail: yingshu0439@cdc.gov.tw

投稿日期：2016 年 05 月 25 日

接受日期：2016 年 07 月 05 日

DOI: 10.6524/EB.20170124.33(2).001

*Streptococcus pneumoniae* 的多醣莢膜血清型流行趨勢調查；為了探討病原經歷長時間(timescale)的流行傳播，使用演化速率較慢的多點基因定序方法(multilocus sequence typing, MLST)分析菌株；為了疾病監測(disease surveillance)與疾病爆發事件調查(disease outbreak investigation)，使用高分型解析力(discriminatory power)的脈衝電泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)與多點可變異重覆序列分析(multilocus variable number tandem repeat analysis, MLVA)偵測菌株經歷短時距的變異。本文介紹現行食媒細菌病原主要的基因分型方法，舉例說明分型方法在細菌性食媒疾病監測與疾病爆發事件流病調查之應用，提出分型結果與疾病爆發事件的解讀模式與未來細菌分型技術的發展趨勢，供公衛實驗室與傳染病流行病學調查人員參考。

## 食媒細菌病原基因分型方法與應用

細菌基因分型方法眾多，其中 MLST、PFGE 與 MLVA 是目前公衛實驗室最常用的分型方法，預估數年內全基因體定序(whole genome sequencing, WGS)會成為細菌最終基因分型技術。

### 一、多點基因定序方法(MLST)

英國 Wellcome Trust Center 的 Maiden 等人[1]於 1998 年提出分析 6 個 *Neisseria meningitidis* 的持家基因(house-keeping genes)(後來增為 7 個基因)，約 470 bp 片段序列，以鹼基序列差異建立菌株之親緣關係。由於研究者可透過網路進入 MLST 資料庫取得菌株基因序列，容易與各地之菌株比對親緣關係，因此 MLST 曾廣為學界使用，也成功分析數個菌種的族群結構(population structure)[2]。由於 DNA 鹼基的變異速度較慢[3]，MLST 適合用於探討菌株數年至數十年或更長時間的演化關係，監控特定病原菌 strains 或 clones 在國際間的傳播流行與消長。MLST 也曾被應用於人類學的研究；Moodley 等人曾分析各地原住民族胃部分離之幽門桿菌(*Helicobacter pylori*)基因序列，依據菌株 MLST 序列資料描繪兩波史前人類在太平洋遷移的歷程：第一波在 3 萬多年前遷移到達新幾內亞與澳洲，第二波遷移在 5,000 年前以臺灣為起點，向大太平洋的美拉尼西亞(Melanesia)和波利尼西亞(Polynesia)區域遷徙[4]。

### 二、脈衝電泳(PFGE)

PFGE 對許多菌種具高分型解析力，是目前細菌基因分型的黃金標準。PFGE 可用於評估菌株經歷短時距演化之親緣關係，適合做為疾病主動監測與疾病爆發事件進行流病調查時的菌株分型工具。美國疾病防治暨預防中心(US Centers for Disease Control and Prevention)使用以 PFGE 為標準的菌株基因分型工具，建立了一個全國性的食媒疾病主動監測網—PulseNet [5]，該監測系統後來被擴展為有 80 多個國家參與的全球性食媒疾病分子分型監測網—PulsNet International [6]。臺灣為 PulseNet Asia Pacific 區域監測網成員，疾病管制署(以下簡稱疾管署)亦於 2006 年成立 PulseNet Taiwan，採用 PulseNet

標準化的 PFGE 技術，並建立多種細菌病原的 DNA 指紋圖譜資料庫。PFGE 對許多細菌具有高分型解析力，但對一些單形性(monomorphic)菌種如 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*)、*S. sonnei*、*E. coli* O157:H7 等菌種之分型解析力時有侷限[7]，加上 PFGE 相當費時費力且每次只能分析少數菌株，操作上需訓練有素的技術員，只能在參考實驗室實施，這些缺點驅動研究人員發展其它分型技術，例如 MLVA 以取代 PFGE。

### 三、多點可變異重覆序列分析(MLVA)

細菌基因體存在數百到上千個由短 DNA 序列單元頭尾相接的重覆序列(tandem repeat, TR)位點，其中有非常少數 TR 之重覆單元(repeat unit)的數目會發生變化，稱為可變異重覆序列(variable number tandem repeat, VNTR)，分析多個 VNTR 的重覆單元數目，可得到菌株多個 VNTR 之重覆單元數目的排列組合，即為 MLVA 基因型別。VNTR 位點之重覆單元數目變化速率不同，少數幾個變異速率快的 VNTR 組合，其分型解析力即可高於 PFGE [8]。MLVA 適合用於檢測菌株經歷短時距的變化，而使用變異速度低的 VNTR，則可建立菌株經歷較長時距的演化關係[7]。疾管署曾和數個國家合作，利用自行研發的 MLVA 方法分析 50 個國家來源的 *S. sonnei* 菌株，分析結果指出自 1943 至 2000 年間，全世界流行之 *S. sonnei* 有 3 個主要的 clonal groups [9]；該結論一年後再次被 Holt 等人確認[10]，該研究分析 132 株世界各地 *S. sonnei* 分離株之全基體序列，結果指出 *S. sonnei* 是 500 年內才出現的新生病原菌，目前全世界有 3 個主要的係譜(lineages)。這 3 個 lineages 與使用 VNTR 建立之 3 個 clonal groups 可相互對應[11]。

MLVA 曾被認為具有取代 PFGE 做為 PulseNet 監測網標準分型工具的潛力，然而 MLVA 菌種專一性太高[12]，無法成為取代 PFGE 的選擇，而隨著次世代定序技術(next generation sequencing, NGS)的發展，WGS 將取代 PFGE 成為細菌之標準分型工具。

### 四、全基因體定序(WGS)

隨著次世代定序技術的進步，WGS 的成本已降低至可供例行性分析細菌株的實用階段。WGS 比其它分型方法提供更豐富訊息，可依基因演化速度選擇特定基因組合，用於探討不同演化時距的菌株親緣關係。理論上，在建立菌株經長時間演化後之親緣關係時，選用演化速率較慢的基因組合，當要呈現菌株經歷短時間演化後之親緣關係時，會選用演化速率較快的基因組合；因此探討菌株經長時距的變化時，會選用較少數量的核心基因(core genes)組合，當要探討菌株經歷較短時距的微演化(microevolution)時，需增加比對附屬基因(accessory genes)上的變異。現階段應用 WGS 技術最大的困難已不在定序的成本，而是在 DNA 序列的分析方法；一株菌株 WGS 分析會產生百萬條短序列，如何從這些巨量序列資料中擷取所要的基因資訊，是 WGS 方法在實際應用上最核心的關鍵。

## 基因分型資料的解讀

每種基因分型結果與疾病爆發事件流病關聯性的解讀標準，應依實證經驗而定。1995 年 Tenover 等人[13]曾提出解讀 PFGE 分型結果的準則，該準則用於解釋 PFGE 圖譜與流病的關係，認為 PFGE 圖譜差異等於或小於 3 條 DNA 片段之菌株，才可能源於同一疾病爆發事件，然而實證經驗指出該準則並非全然符合[14,15]。另外，在 MLVA 圖譜的應用上，學者根據研究調查的經驗，認為可接受同一爆發流行事件之菌株有一個 VNTR 的差異[16]，這個準則也非一體適用，至於 WGS 基因圖譜資料仍未有一個公認的解讀標準。

基因分型結果決定的是菌株間的親緣關係，在流行病學的應用是利用菌株的親緣關係來推想病例間的流病關聯性，因此解讀基因分型資料需考慮感染源之污染模式。基因分型結果與疾病爆發事件的關係有三種可能模式：

### 一、H1: $G_1 \rightarrow O_1$

一件疾病爆發事件是由同一基因型病原菌種所引起；即共同感染源為單一基因型病原菌株(strain)所污染。

H1 是食媒疾病主動監測（例如 PulseNet）與疾病爆發事件流病調查的假設基礎。PulseNet 食媒疾病分子分型監測網即設定在某個時間（例如 1 個月）內出現 2 株或以上具相同基因型菌株，即認定為一起群聚感染(cluster)，因而啟動流行病學調查追查病例是否有共同感染來源。在疾病爆發事件或院內群聚感染事件的調查上，也是假定具相同基因型分離株來自同一感染源。實務上此類模式之疾病爆發事件占多數，但也很有可能因為前提的設定而排除了有共同感染來源但不同基因型菌株感染之病例。

### 二、H2: $G_m \rightarrow O_1$

一件疾病爆發事件是由同一菌種的多種基因型菌株（或由多種病原菌種）所引起；即共同感染源為同一菌種的多重基因型菌株或多重菌種所污染。

H2 是具共同感染來源的疾病爆發事件，由多種基因型別菌株或多種病原菌種所引發。這種情況在傳染病爆發事件中並不罕見，但許多人包括從事細菌分型研究的學者其觀念仍停留在 H1 模式。國內曾發生的 3 起傷寒感染事件[14]可說明 H2 模式，此 3 個案例指出傷寒長期帶菌者在同一時間可排出不同基因型別的菌株，這 3 個實例改變解讀基因分型結果的傳統觀念(H1 模式)。

#### (一) 案例一：2005 年桃園傷寒群聚

在 2005 年，當時的桃園縣在一個月期間內出現 14 例傷寒病例，臺灣傷寒病例相當少，一個縣一個月內出現多達 14 例病例，屬相當不尋常，推測應該有共同感染來源。然而來自病例的 14 株菌株有 5 種不同 PFGE 圖譜，最大差距高達 8 條 DNA 片段，MLVA8 則有 4 種圖譜，在測試的 8 個 VNTR 中有 2 個 VNTR 點的差距，因此這個共同感染來源的推論受到同儕學者的質疑。



## (二) 案例二：2007 年新竹傷寒群聚

新竹地區從 2007 年開始，即有零星傷寒病例，菌株擁有相同 PFGE 圖譜（圖譜編號：SIX.022），但 MLVA8 圖譜則不盡相同，也找不到病例的共同流病關聯。2010 年新竹某高科技電子廠有 4 名員工出現傷寒群聚感染，菌株擁有相同的 PFGE 圖譜(SIX.022)與 MLVA8 圖譜（圖譜編號：TY8.040），此 PFGE 基因型和 2007 年以來出現在新竹地區幾個傷寒菌株相同，但仍未能找到感染來源。2011 年，該高科技電子廠又出現 4 例傷寒病例，菌株具 SIX.022 圖譜。疾管署經詳細疫調查出這些病例皆在下午茶時外叫印尼風味餐，該麵攤在數公里外由一原印尼籍歸化的 60 歲婦人經營；該婦人連續 2 日的糞便檢體分離出傷寒桿菌，2 件檢體各分離 1 株菌株，和電子廠員工病例的分離株之 PFGE 圖譜相同，但第一天檢體的菌株 MLVA8 圖譜(TY8.281)則有 3 個 VNTR 點的差異，第二天檢體的分離菌株 MLVA8 圖譜(TY8.040)和電子廠病例菌株又相同，據此一結果可推論病原在長期帶原者體內演化變異，帶原者可同時排出不同基因型別的菌株。可惜原糞便檢體已銷毀，無法再分離更多菌株以確認此一推論。

## (三) 案例三：2012 年新北市傷寒群聚

2012 年 4 月新北市出現 1 名 92 歲傷寒病例，其印尼籍看護為傷寒帶原者，而最初帶原者的 1 株分離株與病例分離株 PFGE 與 MLVA8 基因型不同，因此再由帶原者同一糞便檢體分離 100 個菌株，帶原者的 101 株分離株共有 5 種不同 PFGE 圖譜與 23 種 MLVA8 圖譜，其中只有 3 株分離株與病例分離株有相同 PFGE 與 MLVA8 圖譜(TY8.300)。PFGE 圖譜間最多有 8 條 DNA 差異，MLVA8 圖譜最多相差 4 個 VNTR 點。PFGE 結果打破了 Tenover 準則[13]，該準則認為 PFGE 圖譜差異等於或大於 7 條 DNA 片段之菌株，應非源於同一疾病爆發事件。另外，在菌株 MLVA 圖譜資料的解讀上，實證經驗指出同一爆發流行事件之菌株可有一個 VNTR 的差異[16]，但此長期帶原者卻可同時排出有具有 4 個 VNTR 點差異的菌株。長期帶原者可同時排出基因型差異大之菌株，這種情形也可能發生在桿菌性痢疾長期帶原者[15,17]。

在美國也常發生由不同基因型別病原菌株所引發的食媒疾病爆發流行事件，例如 2011 年在美國發生一起導致 33 人死亡的哈密瓜李斯特菌爆發流行事件，污染的哈密瓜、環境與病人檢體即檢出 2 種血清型、5 種 PFGE 基因型的李斯特菌[18]。國內食品中毒事件的調查經驗，也發生同一疾病爆發事件牽涉多種病原菌種的案例；例如 2010 年臺中市發生的一起三明治食品中毒事件[19]，就從病人與其食用污染的三明治分離出 2 種不同血清型的沙門氏菌，三明治亦同時分離出沙門氏菌之外的其它 4 種病原細菌。

### 三、H3: G<sub>1</sub> → O<sub>m</sub>

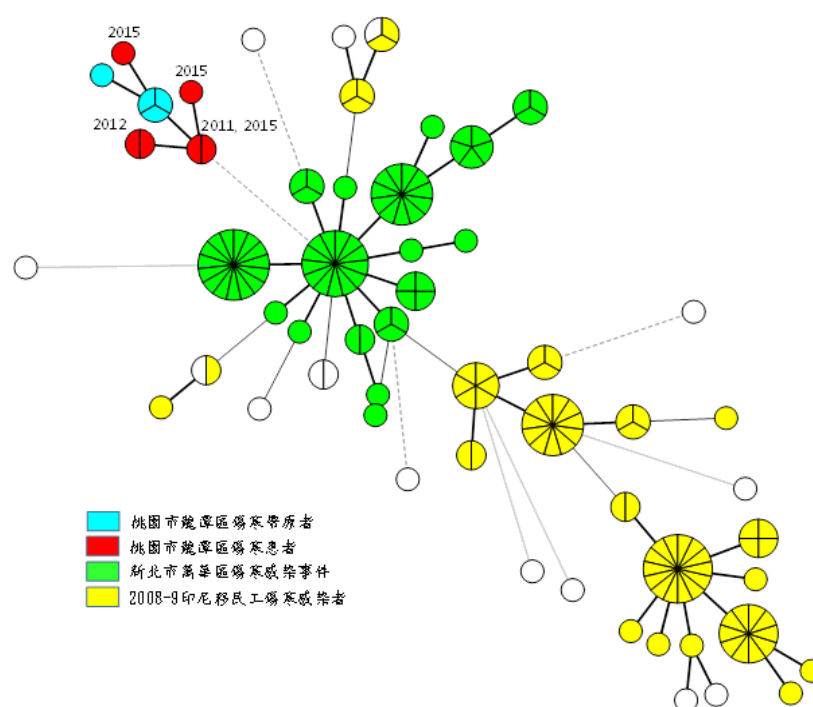
多起疾病爆發事件是由同一基因型病原菌株所引起；即單一個 strain 擴散出去引發流行，群聚感染會有許多不同感染源，但其菌株皆為同一基因型。

H3 可能是同一種基因型病原廣泛散播，引發多起不同感染來源的疾病爆發流行。對這類流行事件，菌株分型結果對追查感染來源的流病調查，難有實質貢獻。另外使用分型解析力不足的分型方法分析遺傳單形性的菌種也會出現 H3 的模式，其中 *S. Enteritidis* 即是一個明顯例子。*S. Enteritidis* 於 1980 年代初期在歐洲開始出現大規模流行；2015 年該血清型在臺灣引發近 40% 的 *Salmonella* 感染症病例。*S. Enteritidis* 菌株為遺傳單形性菌種，大多數菌株有相當接近的遺傳性狀，各地區的分離株呈現相當有限的 PFGE 與 MLVA 基因型別，因此許多具相同 PFGE 或 MLVA 基因型菌株其實來自不同感染來源，解決這個問題需使用更高分型解析力的 WGS 分型方法[20]。

### 細菌分型技術的發展趨勢

在公衛領域進行疾病的主動監測與疾病爆發事件的調查，需使用高分型解析力的分型方法，才能有效地偵測菌株經歷短時距的細微變化。例如 2015 年發生在桃園市龍潭區的傷寒群聚感染事件，病例、帶原者與之前 2011 與 2012 年的感染者分離株之 PFGE 圖譜皆是 SIX.001 型，在疾管署的資料庫中共有 161 株於 1998–2015 年分離之菌株是 SIX.001 基因型，其中 69 株來源為 2008–2009 年入境的印尼移民工，67 株來源為 2012 年新北市傷寒感染事件的患者與帶原者，這個事實降低 PFGE 分型結果對傷寒流病調查之參考價值。然而使用分型解析力較高的 MLVA 方法，則可明顯區別 2015 年龍潭傷寒群聚感染事件菌株與其它來源的 SIX.001 菌株（圖一）。

WGS 會是細菌最終的分型方法，美國疾病管制暨預防中心於 2015 年開始運用 WGS 分型方法進行 *Listeria monocytogenes* 的監測，發現 WGS 比 PFGE 可更明確辨認出群聚感染菌株，可偵測到更多與規模更小的群聚感染案件，因此該機構規劃在 2–3 年內全面使用 WGS 為分型工具，分析所有種類的食媒病原菌株。臺灣過去使用 PulseNet 的 PFGE 標準方法從事細菌株基因分型，除了進行國內疾病監測與流病調查，亦能和美國及其它使用 PulseNet 標準 PFGE 方法的國家進行菌株圖譜的比對，能取得國外食媒病原流行菌株情報。預估數年內 WGS 將成為疾病監測分析細菌株的標準分型工具，疾管署已於今(2016)年採購硬體設備與訓練操作人員，建立 WGS 的分析量能；然而在實務運作上，具有 WGS 序列資料分析能力的生物資訊人才是關鍵，公衛實驗室需重視生物資訊人才的招募與培養，以面對次世代定序時代的來臨。



圖一、傷寒菌株 MLVA8 基因型關係樹，關係樹係使用 **minimum spanning tree** 演算法所建立。菌株同屬 SIX.001 PFGE 基因型，主要來自 2008–2009 年入境之印尼移民工，新北市萬華區傷寒事件之病例與帶原者，2015 年桃園市傷寒群聚感染事件之病例與帶原者。MLVA8 基因型相差 1 個 VNTR 點者以短粗黑線連接，相差 2 個 VNTR 點者以長細黑線連接，相差 3 個或以上 VNTR 點者以長細虛線相連。

## 參考文獻

1. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3140–5.
2. Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, et al. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol* 2004; 186: 1518–30.
3. Drake JW, Charlesworth B, Charlesworth D, et al. Rates of spontaneous mutation. *Genetics* 1998; 148: 1667–86.
4. Moodley Y, Linz B, Yamaoka Y, et al. The peopling of the Pacific from a bacterial perspective. *Science* 2009; 323: 527–30.
5. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, et al. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 382–9.

6. Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Ng LK, et al. Building PulseNet International: an interconnected system of laboratory networks to facilitate timely public health recognition and response to foodborne disease outbreaks and emerging foodborne diseases. *Foodborne Pathog Dis* 2006; 3: 36–50.
7. Chiou CS, Watanabe H, Wang YW, et al. Utility of multilocus variable-number tandem-repeat analysis as a molecular tool for phylogenetic analysis of *Shigella sonnei*. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1149–54.
8. Chiou CS, Hung CS, Torpdahl M, et al. Development and evaluation of multilocus variable number tandem repeat analysis for fine typing and phylogenetic analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Int J Food Microbiol* 2010; 142: 67–73.
9. Filliol-Toutain I, Chiou CS, Mammina C, et al. Global distribution of *Shigella sonnei* clones. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1910–2.
10. Holt KE, Baker S, Weill FX, et al. *Shigella sonnei* genome sequencing and phylogenetic analysis indicate recent global dissemination from Europe. *Nat Genet* 2012; 44: 1056–9.
11. Sangal V, Holt KE, Yuan J, et al. Global phylogeny of *Shigella sonnei* strains from limited single nucleotide polymorphisms (SNPs) and development of a rapid and cost-effective SNP-typing scheme for strain identification by high-resolution melting analysis. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 303–5.
12. Chiou CS. Multilocus variable-number tandem repeat analysis as a molecular tool for subtyping and phylogenetic analysis of bacterial pathogens. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 5–7.
13. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2233–9.
14. Chiou CS, Wei HL, Mu JJ, et al. *Salmonella enterica* serovar Typhi variants in long-term carriers. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 669–72.
15. 廖盈淑、王佑文、廖春杏等：苗栗縣 B 群 X 變異型桿菌性痢疾群突發事件。疫情報導 2009；25：717–25。
16. Liang SY, Watanabe H, Terajima J, et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis for molecular typing of *Shigella sonnei*. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3574–80.
17. 李佩璇、胡曉宇、許珮珊等：某精神專科醫院桿菌性痢疾群突發事件調查——外籍看護工之出入境省思。感染控制雜誌 2014；24：161–9。
18. McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, et al. Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N Engl J Med* 2013; 369: 944–53.



19. Wei SH, Huang AS, Liao YS, et al. A large outbreak of salmonellosis associated with sandwiches contaminated with multiple bacterial pathogens purchased via an online shopping service. *Foodborne Pathog Dis* 2014; 11: 230–3.
20. Taylor AJ, Lappi V, Wolfgang WJ, et al. Characterization of foodborne outbreaks of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis with whole-genome sequencing single nucleotide polymorphism-based analysis for surveillance and outbreak detection. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 3334–40.

## 2015 年 4 月至 2016 年 4 月臺北區六縣市 腹瀉群聚流行病學分析報告

周倩玉\*、陳珮甄、吳修儀、蔡玉芳、董曉萍、顏哲傑

### 摘要

經分析 2015 年 4 月至 2016 年 4 月臺北區腹瀉群聚事件，主要致病原為諾羅病毒，其次為輪狀病毒及腸炎弧菌；群聚傳播模式大多為「人與人之間接觸傳染」(40%)，其次為「無法判定傳播模式」(32%)，由於許多案件無法判斷傳播模式，爰建議衛生單位接獲腹瀉群聚通報時，應確實調查發病前 3 天之接觸史及共食餐點，以釐清感染源及傳播模式。由於總患者數居冠場域為學校，疾病管制署、食品藥物管理署及地方政府衛生局應協同制訂及執行防疫措施，將學校列為重點防治對象。預防腹瀉群聚事件之最佳方法為落實手部衛生及遵守食品衛生習慣，並藉由監測及通報機制，衛生單位應及早介入調查並採取適當防治措施，以阻斷疫情蔓延。

**關鍵字：**腹瀉群聚、諾羅病毒、傳播模式、手部衛生

### 前言

腹瀉群聚事件通常經由人與人之間接觸傳染，或透過污染的食物及水源等方式傳播，致病原包含細菌、病毒、寄生蟲等。疾病管制署（以下簡稱疾管署）原規範「症狀通報系統」之腹瀉群聚通報條件係：「排除法定傳染病及食物中毒引起腹瀉之腸道症狀個案；有人、時、地關聯性，判定為疑似群聚感染且有擴散之虞」。然 2015 年 2 月臺中市某農場發生諾羅病毒引起之食物中毒事件，造成 200 餘人出現嘔吐、腹瀉等症狀，引起媒體及社會多方面之關注[1]。故疾管署藉此事件重新檢視並調整腹瀉群聚相關政策，同年 4 月初起，取消「排除食物中毒引起」之限制[2]。本研究藉由分析臺北區腹瀉群聚事件，探討常見致病原、群聚發生場域、傳播模式等，以作為日後處理類似疫情之參考。

### 研究方法

本篇分析範圍係 2015 年 4 月 1 日至 2016 年 4 月 30 日期間，臺北區六縣市（臺北市、新北市、基隆市、宜蘭縣、金門縣及連江縣）地方政府衛生局通報至「症狀通報系統」之所有腹瀉群聚事件。依據疾管署「症狀通報系統」、「重要或

衛生福利部疾病管制署臺北區管制中心

通訊作者：周倩玉\*

E-mail：jelly@cdc.gov.tw

投稿日期：2016 年 05 月 09 日

接受日期：2016 年 07 月 12 日

DOI：10.6524/EB.20170124.33(2).002

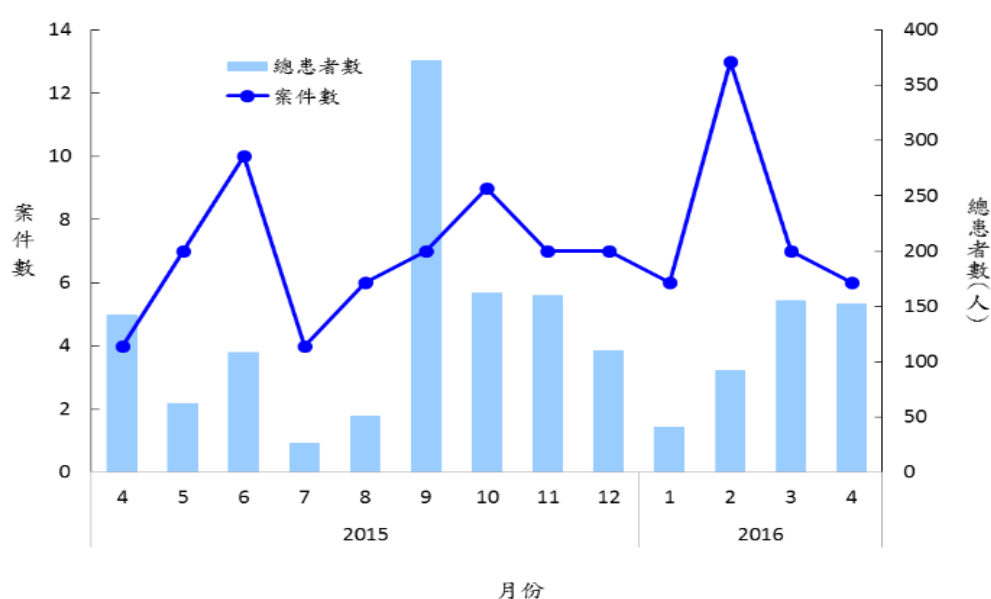
群聚事件疫調報告平台」，以及食品藥物管理署（以下簡稱食藥署）「產品通路管理資訊系統」之內容，逐一輸入 Excel 軟體，進行相關統計分析。「症狀通報系統」之資料來源為地方政府衛生局及疾管署檢驗中心，內容包含通報日、發病日、病患與廚工個資、人體檢驗結果等。「重要或群聚事件疫調報告平台」之資料來源為疾管署各區管制中心，內容為疫調報告初報及結報，包含發病總人數、侵襲率、流行曲線圖、防治措施、研判傳播模式等。「產品通路管理資訊系統」之資料來源為地方政府衛生局及食藥署，包含攝食場域、食餘與環境檢驗結果、案情簡述等。

## 分析結果

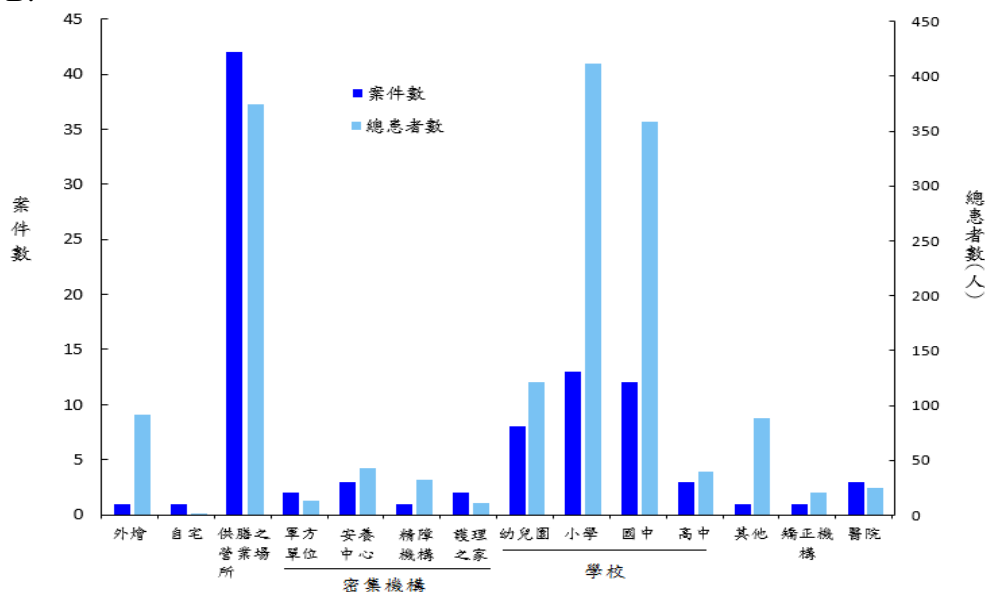
2015 年 4 月至 2016 年 4 月期間，臺北區地方政府衛生局通報腹瀉群聚事件共計 93 案，通報案件數最高之縣市為新北市（42 件），其次為宜蘭縣（30 件）、臺北市（11 件）、金門縣（9 件）及基隆市（1 件），連江縣無腹瀉群聚事件。通報日距首例發病日平均為 2.8 日，中位數為 2 日，日數區間為 0 至 11 日。首例發病日至最後一例發病日平均為 2.3 日，中位數為 2 日，日數區間為 1 至 18 日。侵襲率平均為 5.5%，中位數為 18.3%，侵襲率區間為 0.3% 至 100%。每案患者數平均為 18 人，中位數為 8 人，每案患者數區間為 2 至 265 人。案件數最多月份為 2 月（圖一 A），共計 13 案，總患者數最多月份為 9 月，共計 372 人，平均每案患者數為 53 人。

依據腹瀉群聚之攝食場所進行分類統計（圖一 B），以供膳之營業場所（係指提供病患共食餐點之營業場所，包括餐廳及旅館等）案件數為最高（42 件），其次為學校（37 件），分別占有所有案件之 45% 及 40%。總患者數最高者則為學校（1,020 人），其次為供膳之營業場所（374 人），分別占有所有患者數之 63% 及 23%，學校又以小學及國中總患者數為最多。

A.

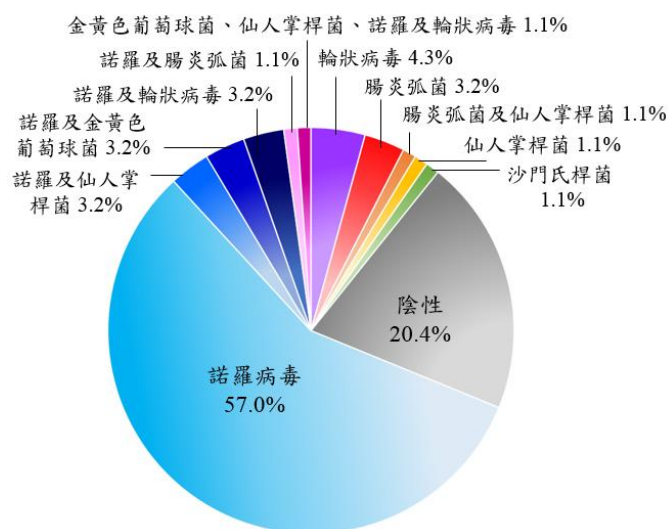


B.



圖一、2015 年 4 月至 2016 年 4 月之臺北區各月份(A)及各攝食場所(B)  
腹瀉群聚案件數(n = 93) 與總患者數

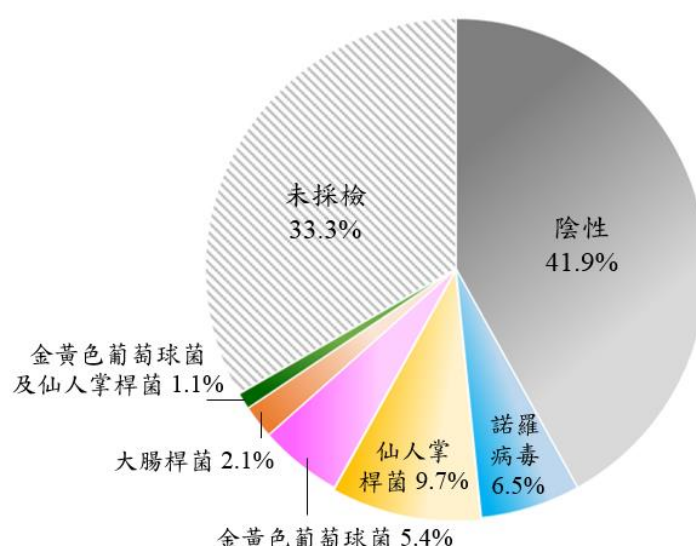
有關人體檢體檢驗部分，雖所有案件之廚工均無疑似症狀，然考量少數受感染者可能未出現症狀，但仍有傳染力[3]，爰無症狀廚工仍予以採檢。糞便檢體之檢驗項目為諾羅病毒及輪狀病毒細菌拭子（係指「以細菌拭子沾取糞便」，非直接沾取病患肛門部位）及手部傷口檢體之檢驗項目為仙人掌桿菌、沙門氏菌、金黃色葡萄球菌、腸炎弧菌、腸道出血性大腸桿菌、霍亂弧菌、志賀氏桿菌[4]。總結人體檢體之檢驗結果，主要致病原為諾羅病毒(57%)（圖二）。而患者及廚工之糞便檢體，檢出諾羅病毒之件數均為最高，分別為 45.5% 及 13.9%。而細菌拭子檢體部分，最常檢出之致病原分別為腸炎弧菌(5.5%)及仙人掌桿菌(1.9%)。



圖二、2015 年 4 月至 2016 年 4 月之臺北區腹瀉群聚案件  
人體檢體檢驗致病原案件分布 (n = 93)

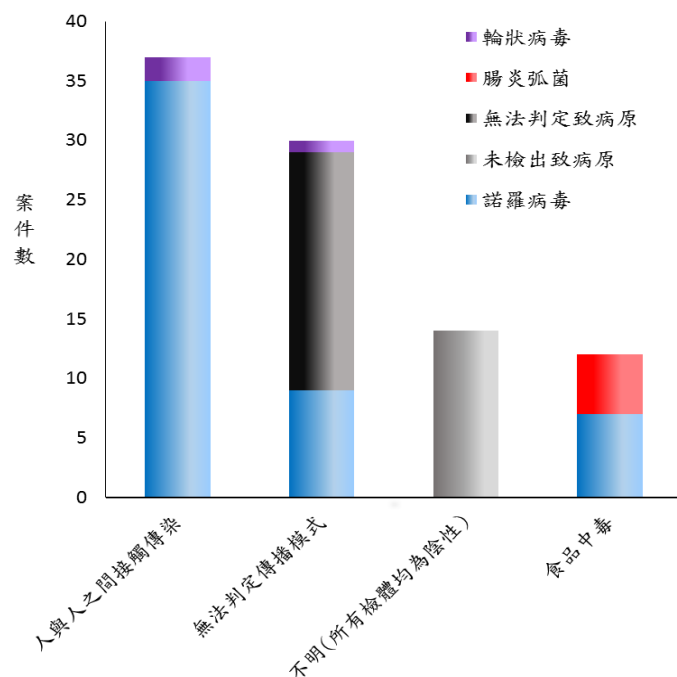


一般食餘／環境檢體（如熟食、刀具、砧板等）不易檢出病毒，僅檢驗細菌項目，包含仙人掌桿菌、沙門氏菌、金黃色葡萄球菌、腸炎弧菌、病原性大腸桿菌等；針對水、蔬果及生食等特殊檢體，則視情況加驗諾羅病毒。關於食餘／環境檢體之檢驗結果（圖三），有採檢食餘／環境檢體共計 62 案(66.7%)，未採檢 31 案(33.3%)，其中 4 案無共食情形，其餘 27 案因無食餘／環境檢體等因素未採集。食餘／環境檢體有檢出病原體之 23 案中，僅 6 案與患者檢驗結果相符，致病原均為諾羅病毒，其中 4 案感染源為海蚶、1 案為牡蠣、1 案為飲用水。另與患者檢驗結果不符之 17 案，涉嫌食品為豆漿、白斬雞及學校桶餐等餐點。進一步分析食餘／環境檢體，總計採檢 355 件，其中 343 件僅檢驗細菌項目，另 12 件除檢驗細菌外，同時加驗諾羅病毒。細菌項目檢驗結果為 94.6%陰性、5.4%陽性，諾羅病毒檢驗結果為 41.7%陰性、58.3%陽性。



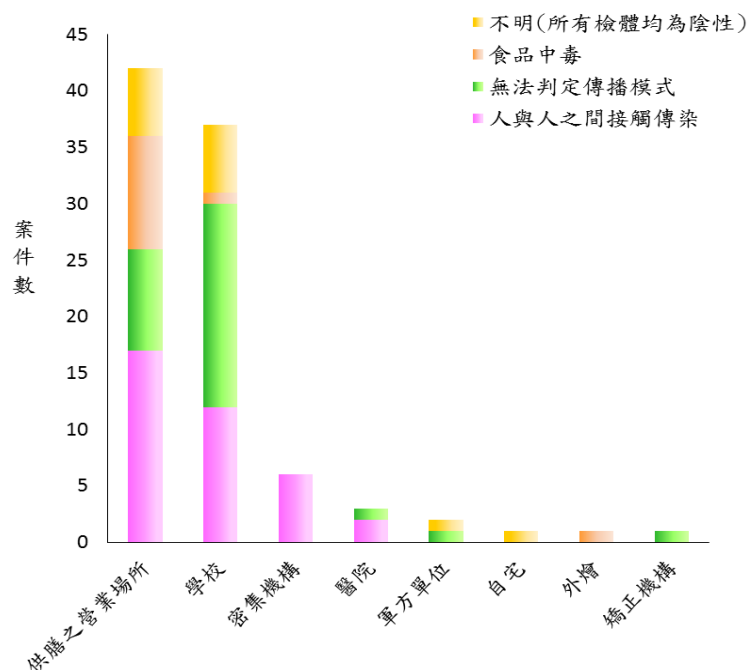
圖三、2015 年 4 月至 2016 年 4 月之臺北區腹瀉群聚案件食餘／環境檢體檢驗致病原案件分布 (n = 93)

每案腹瀉群聚事件均依據人體與食餘／環境檢體檢驗結果、流行曲線圖、潛伏期及共食情形等資訊，綜合研判傳播模式。40% 研判為「人與人之間接觸傳染」、32% 為「無法判定傳播模式」（例如患者檢出多項病原體、人體與食餘／環境檢體檢驗結果不符、未採食餘／環境檢體等情形）、15% 為「不明（人體及食餘／環境檢體均為陰性）」、13% 為「食品中毒」（本文採用之研判定義為食餘／環境檢體與人體檢驗結果必須相符，或是藉由疫調或問卷調查，綜合研判為食品中毒引起之腹瀉群聚事件，並非食品檢出病原體即研判為食品中毒，藉由較嚴謹之定義避免誤判感染源）。有關判定為「人與人之間接觸傳染」之案件，致病原大多為諾羅病毒，而判定為「食品中毒」之案件，諾羅病毒及腸炎弧菌均為重要致病原（圖四）。



圖四、2015年4月至2016年4月之臺北區腹瀉群聚案件  
傳播模式與致病原分析 (n = 93)

攝食場所為學校之案件中，49%不易判斷傳播模式（圖五）。供膳之營業場所的案件，41%研判為「人與人之間接觸傳染」，因前揭案件多為家族團聚或朋友聚餐等，患者除於餐廳有共食情形外，大多有生活上的其他接觸，且同餐廳其他客人並無不適，廚工及食餘檢體均為陰性，爰推測為社區感染。



圖五、2015年4月至2016年4月之臺北區腹瀉群聚案件  
攝食場所與傳播模式分析 (n = 93)

## 討論

- 一、腹瀉群聚案件數最多月份為 2 月，大多為旅遊團案件；總患者數最多月份為 9 月，其中 1 案為患者數超過 200 人的學校腹瀉群聚事件。依據 2015 年食藥署發行之 2014 年食品中毒發生與防治年報，2 月為春節旅遊、尾牙等最多的月份，餐飲業者工作量大增，稍有不慎即可能導致食物中毒；9 月為學校食品中毒發生較高的月份，倘餐食製備有疏失，加上氣候炎熱，易造成食品中毒引起之大規模腹瀉群聚[5]。
- 二、近半數攝食場所為學校的腹瀉群聚案件不易判斷傳播模式（共計 18 案），其中食餘／環境檢體檢出仙人掌桿菌計 8 案，然患者檢體檢出諾羅病毒、輪狀病毒或陰性，其餘 10 案檢驗為陰性，相關資訊不足以研判為何項傳播模式，可藉由問卷調查等方式輔以研判，然將耗用大量人力與時間，且發病人數較少之案件不適合統計分析。其次近三分之一的學校案件研判為「人與人之間接觸傳染」，爰加強學生與教職員之個人衛生習慣及手部衛生觀念為重要課題。
- 三、腹瀉群聚主要致病原為諾羅病毒，其潛伏期為 18 至 72 小時，一般為 24 至 48 小時[6]。致病原為諾羅病毒之腹瀉群聚事件中，近七成推測為人與人之間的糞口傳染，尤其是密集機構、醫院、幼兒園等場域，應落實正確的洗手習慣與方式。依據諾羅病毒潛伏期推算，發病前 3 天之共食餐點為可疑餐別，然實務上，地方衛生局食藥科（課）接獲通報後，有時僅至發病前一餐或前三餐之餐廳進行環境稽查，予以採集廚工、食餘及環境檢體，因此，部分案件難以判斷傳播模式及致病餐別。

## 結論與建議

腹瀉群聚傳播模式大多為「人與人之間接觸傳染」或「無法判定傳播模式」，總患者數最多場域為學校，許多學校案件難以研判為食品中毒或人傳人，因此食藥署及疾管署應協同執行防疫作為並加強衛教宣導，將學校列為重點防治對象。無論何種傳播模式，諾羅病毒均為重要致病原，許多調查及採檢作業未確實延伸至發病前 3 天內，爰部分案件難以判斷。建議前揭二署應加強雙方溝通，共同研擬腹瀉群聚案件之處理流程及規範（例如應調查發病前 3 天內之所有共食餐點及接觸史），以釐清諾羅病毒感染源。

## 致謝

感謝臺北區地方政府衛生局疾病管制科（課）及食藥科（課）同仁、疾管署檢驗中心之協助，使得調查工作順利完成，謹此致謝。

## 參考文獻

1. 張素徽、魏嵩璽、吳芳姿等：2015 年 2 月臺中市某農場諾羅病毒群聚感染事件。疫情報導 2015；31(22)：566-74。
2. 衛生福利部疾病管制署：症狀監視通報系統。取自：  
<http://www.cdc.gov.tw/professional/list.aspx?treeid=4c19a0252bbef869&nowtreeid=96258F1403CB127C>。
3. 衛生福利部疾病管制署：諾羅病毒(Norovirus)感染控制措施指引。取自：  
<http://www.cdc.gov.tw/professional/info.aspx?treeid=49C0FEB0160CE28F&nowtreeid=29e258298351d73e&tid=EF40CD42C0B77680>。
4. 衛生福利部疾病管制署：檢體採檢。取自：  
<http://www.cdc.gov.tw/professional/list.aspx?treeid=4c19a0252bbef869&nowtreeid=6C7C52E7A7D5621A>。
5. 衛生福利部食品藥物管理署：103 年食品中毒發生與防治年報。2015；7-27。
6. 衛生福利部疾病管制署：病毒性腸胃炎。取自：<http://www.cdc.gov.tw/professional/themanet.aspx?did=696&treeid=49C0FEB0160CE28F&nowtreeid=49C0FEB0160CE28F>。



日期：2017 年第 1-2 週(2017/1/1-1/14)

DOI：10.6524/EB.20170124.33(2).003

## 疫情概要：

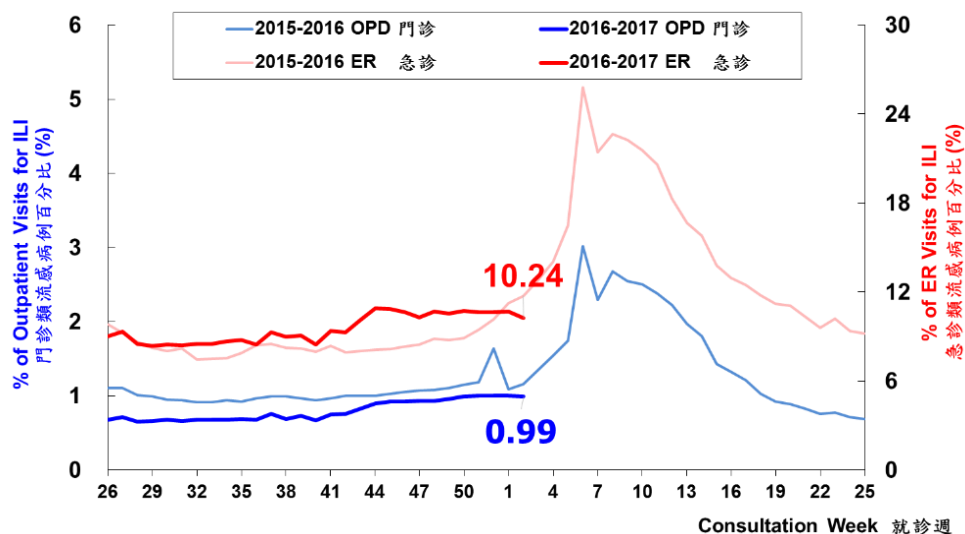
國內流感重症近期通報趨勢呈現下降，門急診類流感就診病例百分比亦微幅下降，社區流感病毒以 H3N2 型為主，97% H3N2 病毒與本流感季疫苗株吻合，未檢出抗藥性病毒株；氣象預報未來一週有冷氣團，不排除疫情可能緩升。國內腸病毒輕症疫情逐漸趨緩，門急診就診人次即將低於流行閾值，社區檢出病毒以克沙奇 A 型為主，腸病毒 71 型仍有散發個案。

全球累計 69 國家／屬地出現茲卡病毒本土病例；美國佛羅里達州及德克薩斯州卡梅倫郡仍有本土病例出現，中、南美及加勒比海地區疫情持續，越南、菲律賓等東南亞國家持續新增病例，我國茲卡境外移入及本土病例發生風險存在。中國大陸 H7N9 流感進入流行季節，病例數為歷年同期最高，部分地區疫情上升速度高於往年同期，將密切監測。巴西出現黃熱病疫情，提升旅遊疫情建議至注意。

## 一、流感

## (一)國內疫情

1. 流感輕症：門急診類流感就診病例百分比近期微幅下降。
2. 流感併發重症：第 2 週通報數較前一週上升，惟近期整體通報趨勢呈現下降。本流感季累計 271 例（86% H3N2 型、2% H1N1 型、6% A 未分型、5% B 型、1% 同時感染 H3N2 及 B 型），其中 34 例經審查與流感相關死亡病例（25 例 H3N2 型、1 例 H1N1 型、4 例 A 未分型、3 例 B 型、1 例同時感染 H3N2 及 B 型）。
3. 社區流感病毒主要流行型別以 H3N2 為多，抗原性監測資料顯示 97% H3N2 病毒與本流感季疫苗株吻合。無檢出抗藥性病毒株。



圖一、近 2 個流感季類流感門急診監測

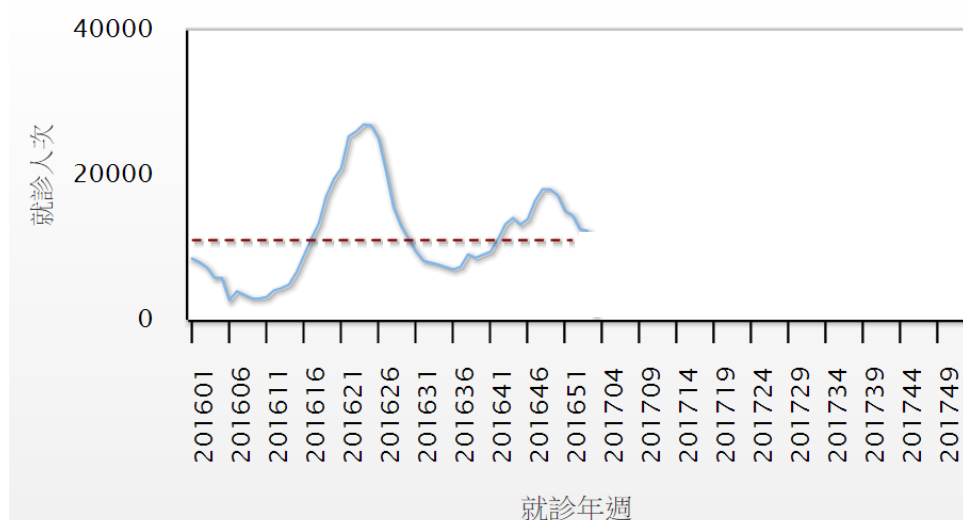
## (二)國際疫情

趨勢 國家	2016-2017年流感季				
	活動度	週別	監測值	主要流行 型別	疫苗吻合度
加拿大	上升 (流行期)	第1週	陽性率：24%	H3N2型	各型別均相似
美國	上升 (流行期)	第1週	陽性率：13.9%	H3N2型	H3N2型及B/Vic分別為95%、90%，餘均相似
歐洲	處高點 (流行期)	第1週	定點陽性率：50%	H3N2型	H3N2及B型與本季疫苗株相似，H1N1型則均與南半球下季疫苗株相似
中國大陸	處高點 (流行期)	第1週	陽性率：全國23.3% (南方20.2%，北方26.5%)	H3N2型	H3N2型及B/Yam分別為98%、92%，餘均相似
日本	上升 (流行期)	第1週	定醫平均報告數： 10.58	H3N2型	H3N2型、H1N1型、B/Vic及B/Yam分別為80%、99%、99%、100%相似
韓國	下降 (流行期)	第1週	門診就診千分比：39.4	H3N2型	均為H3N2型且均相似
香港	下降	第1週	陽性率：6.14%	H3N2型	-

## 二、腸病毒

### (一)國內疫情

1. 腸病毒輕症：逐漸趨緩。第2週全國門、急診就診人次(12,322)，較上週(12,513)下降1.5%。
2. 腸病毒併發重症：2017年尚無確定病例；2016年累計33例，其中感染腸病毒71型23例、克沙奇A4型、A6及B3型各2例，感染克沙奇A2、A5、B4及伊科18型各1例。
3. 腸病毒71型監測：2017年檢出4例，均為輕症；2016年累計145例輕症、23例重症。
4. 第52週社區腸病毒主要流行型別為克沙奇A型，以克沙奇A2病毒為主。



圖二、2016年腸病毒健保門急診就診人次趨勢

**(二)國際疫情**

國家 累計數	疫情趨勢	2016年		備註
		截止點	報告數(死亡數)	
香港	疫情下降	1/7	急診就診千分比:0.9	與去年同期相當
澳門	疫情下降	12/24	3,721	高於2015年同期
日本	疫情下降	12/31	69,121	高於2015年同期
中國大陸	疫情下降	12/31	2,468,174(201)	去年同期的1.2倍
越南	疫情下降	12/11	47,457(0)	低於2015年同期
泰國	相對低點	1/11	317(0)	低於去年同期
新加坡	相對低點	1/7	501	去年同期的1.2倍
韓國	相對低點	1/7	門診就診千分比:0.6	與近4年同期相當

**三、茲卡病毒感染症****(一)國際疫情****1.美國本土疫情**

- (1)佛羅里達州：第2週新增1例本土病例，與邁阿密郡有關；自2016年7月底出現本土病例後迄今累計257例，另累計19例感染地不明。
- (2)德克薩斯州卡梅倫郡(Cameron)：無新增本土病例，自2016年11/28迄今累計6例。
- (3)佛州邁阿密郡(Miami-Dade)及德州卡梅倫郡(Cameron)共2郡旅遊疫情建議列為警示(Alert)。

**2.中、南美及加勒比海地區：疫情持續，近三個月於中美洲巴拿馬、南美洲秘魯病例呈增加趨勢，其餘國家多呈下降趨勢。****3.其他東南亞國家本土疫情**

- (1)越南：近2週新增約50例；2016年截至2017/1/15迄今累計212例，以中南部胡志明市186例占最多，餘分布於慶和省、富安省、平陽省、隆安省、茶榮省、多樂省、巴地頭頓省、嘉萊省、同奈省及檳榔省；包含12名孕婦，報告1名小頭症個案。
- (2)菲律賓：上週公布新增1例；2016年累計53例，包含4名孕婦，以中部伊洛伊洛市14例最多；另韓國1/17公布1例自該國長灘島移入病例。
- (3)泰國、新加坡、馬來西亞：上週無新增病例，分別累計728例、456例、8例。

**4.世界衛生組織(WHO)1/5公布2015年至2017年1/4累計69國家／屬地出現本土流行疫情**

- (1)65個國家／屬地持續具流行疫情或可能有本土傳播：包括泰國、菲律賓、越南、印尼、新加坡、馬來西亞、馬爾地夫7國。
- (2)4個國家曾有疫情，惟2016年尚未報告病例：寮國、巴布亞紐幾內亞、索羅門群島、萬那杜。

(3)13 國出現性傳播本土病例：美、加、義、法、葡、紐、德、阿根廷、智利、秘魯、西班牙、荷蘭及英國。

(4)具茲卡相關之小頭症／先天性畸形個案或 GBS 病例／發生率增加國家：分別為 29 國、21 國。

(二)國內疫情：我國 2017 年第 1-2 週無新增病例；2016 年累計 13 例，均為境外移入，感染國家分別為泰國 4 例、越南及馬來西亞各 2 例，印尼、新加坡、聖露西亞、聖文森及格瑞那丁及美國（佛州邁阿密）各 1 例。

#### 四、人類新型 A 型流感—H7N9 流感

(一)香港：1/11 公布新增 1 例，10 歲，2016/12/31-2017/1/3 至廣東省佛山市拜訪親友，該親友家中飼養活禽，1/8 發病，病況穩定。

(二)澳門：1/12 公布新增 1 例，72 歲，具慢性病史，居住於廣東省中山市且家中飼養雞隻，亦常至當地活禽街市買菜，1/8 發病，1/10 澳門再度就醫，病況穩定。

(三)中國大陸：近期病例數驟增，1/9-1/16（含 12 月月報）共公布 98 例，以江蘇省及浙江省最多，個案多具禽類、活禽市場暴露史；其中 2 起疑似人傳人事件，為江蘇省 1 對父女、安徽省 2 名同病房患者。自入秋(2016/10/1)迄今累計 146 例，以江蘇省 59 例、浙江省 23 例、廣東省 16 例、安徽省 14 例為多。往年 11 月至次年 5 月為流行季，本季部分地區疫情上升速度高於往年同期；目前病例數為歷年同期最高。

(四)全球：自 2013 年迄今累計 944 例，WHO 2016/12/19 更新統計，累計 322 例死亡。

#### 五、黃熱病

(一)巴西：WHO 1/13 公布東南部米納斯吉拉斯州（Minas Gerais，該國人口第二大州別），今年年初疑似發生黃熱病疫情，截至 1/12 累計 110 例疑似病例，30 例死亡；其中 19 例檢出陽性者，10 例死亡，致死率 53%。

(二)WHO 評估目前疫情發生地區因疫苗涵蓋率較低，且鄰近州別之生態環境有利於病毒傳播等因素，可能使疫情快速擴散，旅客至該國疫情發生地區或有斑蚊地區旅遊具感染風險。

(三)本署提升巴西黃熱病疫情旅遊疫情建議至注意(Watch)。

#### 六、國際間旅遊疫情建議等級

疫情	國家／地區		等級	旅行建議	發布日期
人類禽流感	中國大陸	浙江省、廣東省、安徽省、湖南省、上海市、江西省、江蘇省、四川省、福建省、山東省、湖北省、河北省、北京市、天津市、遼寧省、河南省、雲南省、廣西、貴州省	第二級 警示(Alert)	對當地採取 加強防護	2017/1/3
		其他省市，不含港澳	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2015/8/18

字粗體：疫情更新



(續上頁表格) 國際間旅遊疫情建議等級表

疫情	國家／地區	等級	旅行建議	發布日期
登革熱	東南亞地區 9 個國家： 印尼、泰國、新加坡、 馬來西亞、菲律賓、寮國、 越南、柬埔寨、緬甸 南亞地區 1 國家：斯里蘭卡	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2016/8/16
麻疹	中國大陸、哈薩克、剛果民主 共和國、獅子山、奈及利亞、 印度、羅馬尼亞			2016/11/1
中東呼吸症候 群冠狀病毒感 染症 (MERS)	沙烏地阿拉伯	第二級 警示(Alert)	對當地採取 加強防護	2015/6/9
	中東地區通報病例國家： 阿拉伯聯合大公國、約旦、 卡達、伊朗、阿曼、科威特	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2015/9/30
小兒麻痺症	巴基斯坦、阿富汗、奈及利亞	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2015/12/1
茲卡病毒 感染	北美洲 1 國、中南美洲 47 國 ／屬地、大洋洲 8 國／屬地、 亞洲 7 國、非洲 2 國	第二級 警示(Alert)	對當地採取 加強防護	2016/12/6
	亞洲 1 國、大洋洲 3 國／屬地	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2016/10/28
拉薩熱	奈及利亞、多哥	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2016/6/14
黃熱病	巴西	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一 般預防措施	2017/1/17

字粗體：疫情更新

創刊日期：1984 年 12 月 15 日

出版機關：衛生福利部疾病管制署

地 址：臺北市中正區林森南路 6 號

電 話：(02) 2395-9825

文獻引用：[Author].[Article title].Taiwan Epidemiol Bull 2017;33:[inclusive page numbers].[DOI]

發行人：周志浩

總編輯：林詠青

執行編輯：陳學儒、李欣倫、劉繡蘭

網 址：<http://www.cdc.gov.tw/>