

臺灣腹瀉群聚之非例行性病原感染概況

邱淑君、許家愷、謝宗廷、胡絲絮、吳靜怡、林智暉*

摘要

腹瀉疾病是全球 5 歲以下幼童的第二大死因。依據世界衛生組織統計每年約有 1.7 億幼童遭到感染，其中有超過 52 萬名 5 歲以下孩童因此死亡。腹瀉通常是腸胃道感染的症狀之一，可由細菌、病毒等病原體所引起。常經由遭污染的食物或飲用水傳染，或透過人與人之間直接或間接接觸而傳播。現行我國腹瀉群聚例行性檢驗項目包含 2 種病毒性病原以及 7 種細菌性病原。當大型腹瀉群聚案件於例行性檢驗未檢出病原時，常造成防疫困擾。本研究針對 2018 年 113 件在例行檢驗中未檢出致病原的群聚，隨機挑選 29 件群聚共 161 件檢體進行進一步檢測。結果在 124 件非例行性檢測陽性的檢體中，有 93 件(75%)檢出細菌性病原，其中又以致病性大腸桿菌群為最多。地區分布以南部縣市為最多，此外腹瀉病毒感染者的平均年齡較低，相較於陰性個案在統計學上有顯著性差異。透過非例行性檢測，可協助釐清突發或大型群聚的致病原，提供地方政府衛生局及疾病管制署檢疫單位擬定防疫作為參考，提升民眾對食安的信心。

關鍵字：腹瀉群聚、非例行性檢測、致病性大腸桿菌群

前言

腹瀉疾病(Diarrheal diseases)是全球 5 歲以下幼童的第二大死因。依據世界衛生組織統計資料顯示，每年約有 1.7 億名幼童遭到感染，其中超過 52 萬名 5 歲以下孩童因此死亡[1]。腹瀉通常是腸胃道感染的症狀之一，可由細菌、病毒或寄生蟲等病原體所引起，常經由遭污染的食物或飲用水傳染，或透過人與人之間直接或間接接觸而傳播 [2]。其中包括霍亂、傷寒／副傷寒、桿菌性痢疾、阿米巴痢疾及

衛生福利部疾病管制署檢驗及疫苗研製中心
通訊作者：林智暉*
E-mail：jeffy320@cdc.gov.tw

投稿日期：2019 年 04 月 19 日
接受日期：2019 年 07 月 24 日
DOI：10.6524/EB.202009_36(18).0001

腸道出血性大腸桿菌感染症等腹瀉傳染病，已依據我國傳染病防治法第 3 條規定公告為第二類傳染病 [3]。然而仍有許多其他造成腹瀉的病原體，例如諾羅病毒、輪狀病毒、沙門氏菌及腸炎弧菌等，雖非屬法定傳染病，但仍可引起大規模腹瀉群聚事件，影響國人健康。疾病管制署（以下簡稱疾管署）依據傳染病防治法第 26 條及傳染病流行疫情監視及預警系統實施辦法第 13 條規定，建立症狀監視系統，地方政府衛生局（所）及疾管署檢疫單位若發現轄區發生疑似群聚事件，可依「症狀監視及預警系統作業說明」規定進行通報[4]。

腹瀉群聚通報定義為出現腸道症狀，並具人、時、地關聯性者，判定為疑似群聚感染。其中腸道症狀之定義為一天內有腹瀉三次以上，且伴有嘔吐或發燒或黏液狀或血絲或水瀉[5]。此外若於食品藥物管理署（以下簡稱食藥署）之產品通路管理資訊系統(Product Management Distribution System, PMDS)通報食品中毒事件且取得速報單編號，但仍有人體檢體送驗需求者，亦可於症狀通報系統通報腹瀉群聚事件。我國腹瀉群聚例行性檢驗項目包含 2 種病毒性病原（包括諾羅病毒、輪狀病毒）以及 7 種細菌性病原（包括霍亂弧菌、沙門氏桿菌、桿菌性痢疾、腸炎弧菌、出血性大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、仙人掌桿菌等）。疑似患者由醫療院所或地方政府衛生局採集「新鮮糞便」及「細菌拭子（糞便）」後，送至疾管署檢驗及疫苗研製中心進行檢驗[5]。

對於腸道腹瀉傳染病而言，及早診斷為最即時且有效的防疫作為，快速鑑定出致病原可阻斷疫情擴散。現行監測方法利用螢光定量聚合酶連鎖反應(real-time polymerase chain reaction)偵測病毒性致病原，以培養及生化鑑定等方法偵測細菌性致病原，並配合食藥署通報之食品中毒事件之廚工及餐飲作業人員進行金黃色葡萄球菌以及仙人掌桿菌等相關檢測。當大型腹瀉群聚案件於例行性檢驗未檢出病原時，常造成民眾恐慌，並失去對政府捍衛食安的信心。本研究針對 2018 年例行檢驗中未檢出致病原的群聚，隨機挑選進行進一步檢測。了解在例行性檢驗項目以外，探討分析臺灣其他導致腹瀉群聚的致病原，以提供地方政府衛生局及疾管署檢疫單位擬定防疫作為參考。

材料與方法

一、檢體來源

研究檢體為 2018 年依症狀通報腹瀉群聚送驗之新鮮糞便及沾有糞便之細菌拭子。檢體送達實驗室後依照疾管署傳染病標準檢驗方法手冊（第三版，ISBN:978-986-04-1280-2）規定處理[6]，糞便部分取約 0.2 g 的糞便檢體置於至 5 mL 離心管中，並加入約 5–6 顆直徑 1 mm 的玻璃研磨珠與 1.8 mL 的 Phosphate Buffered Saline (PBS)。經震盪混合後以 3,000 rpm 離心 10 分鐘後，收取上清液以進行後續檢測。細菌拭子則分別直接接種於篩選培養基包括 Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS)、Mannitol Yolk Polymyxin Agar (MYP)、Hektoen Enteric Agar (HE)、CHROMagar™ Staphylococcus Chromogenic

Media (Chrome staph)以及 CHROMagar™ STEC Chromogenic Media (Chrome STEC)、CHROMagar™ E. coli Chromogenic Media (Chrome ECC)、Campy Blood-Free Selective Medium (CCDA) 以及 AnaeroGRO™ Cycloserine-Cefoxitin Fructose Agar (CCFA)等, 24–48 小時後觀察培養結果並挑選可疑菌落進行後續鑑定。

二、細菌病原體培養及鑑定

將各培養基上的可疑菌落經 Tryptone Soy Agar (TSA)培養基增幅培養後, 分別以 API20E (bioMérieux, Inc.) 進行生化鑑定。同時, 利用質譜儀 (MALDI-TOF, Bruker Daltonik GmbH), 依照疾管署標準檢驗方法進行鑑定[6]。疑似腸炎弧菌、霍亂弧菌及沙門氏菌、出血性大腸桿菌等菌株分別以抗血清 (Seiken, Tokyo, Japan)進行血清型別鑑定。金黃色葡萄球菌以及仙人掌桿菌則分別以凝集試劑 (Seiken, Tokyo, Japan)進行毒素型別檢測。曲狀桿菌、困難梭菌以及致病性大腸桿菌群 (包括 Enteraggregative *Escherichia coli* (EAEC)、Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC)、Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC)、Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)以及 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* STEC) 則分別以聚合酶鏈鎖反應(PCR)進行毒素基因偵測[7]。

三、FilmArray 腸胃道病原檢測

將糞便檢體與 CB 傳送培養基(Cary Blair transport media)混合後, 取 200 uL 混合液加入 BioFire FilmArray-Gastrointestinal Panel 試劑組 (BioFire Diagnostics, Salt Lake City, UT)。上機 (FilmArray 2.0 Instrument)進行檢測, 約 1 小時後進行結果判讀。

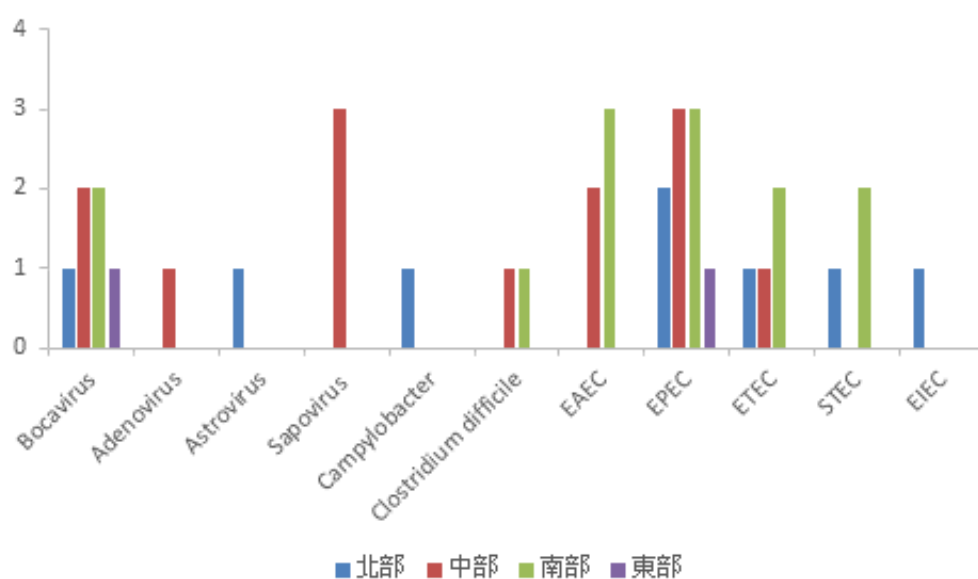
結果

2018 年疾管署收到 421 起通報腹瀉群聚案件, 共 2,447 件疑似腹瀉群聚個案送驗。其中有 308 (73.2%)起群聚在例行性病原檢測中檢測出致病原, 而有 113 (26.8%)起群聚檢驗結果並無測得疑似致病原。為再次確認這些未檢出例行性檢驗病原是否為真正陰性, 本研究自未檢出的群聚中隨機挑選 29 起群聚共 161 件糞便檢體進行非例行性檢驗項目檢測。檢體先以 FilmArray 進行疑似病原偵測, 再進一步以培養或單一病毒檢測的方式進行病原體的確認。結果在 29 起群聚中有 25 起有檢出病原體, 4 起仍維持陰性結果。而檢測之 161 件檢體中則有 124 件 (77%) 檢測出病原體。檢測陽性的檢體中有 80 件檢體檢出單一病原, 包括 25 件 EPEC 陽性、9 件 STEC 陽性, 7 件 *Clostridium difficile* 陽性, 7 件 ETEC 陽性, 6 件 *Campylobacter* 陽性, 1 件 EIEC 陽性以及 25 件病毒性病原體 (包括 Astrovirus, Bocavirus 以及 Sapovirus)。另有 44 件檢體檢出超過一種病原體, 包括 37 件細菌性多重致病原以及 6 件病毒性病原雙重致病原。另有 1 件檢體同時檢出細菌及病毒病原, 有 37 件(23%)檢體仍為陰性 (表一)。

表一、2018 年臺灣腹瀉群聚 161 件非例行性病原檢驗結果

病原體	陽性數
細菌性病原	55
EPEC	25
STEC	9
ETEC	7
<i>Clostridium difficile</i>	7
Campylobacter	6
EIEC	1
多重病原(co-infection)	44
EAEC+EPEC+ETEC	12
EAEC+EPEC	7
<i>Clostridium difficile</i> +ETEC	7
EAEC+ETEC	6
EAEC+ETEC+STEC	5
Virus(Adenovirus+Sapovirus)	6
Virus(Sapovirus)+Bacteria(EAEC+EPEC)	1
病毒性病原(Astrovirus, Bocavirus, Sapovirus)	25
陰性	37
總計	161

分析非例行性檢驗陽性群聚案件之檢出病原體種類及其發生之分布區域，結果東部縣市共有 2 起腹瀉群聚，檢出病毒性病原(Bocavirus)及細菌性病原(EPEC)各 1 起，比例為 1:1。北部縣市 8 起群聚中有 2 起(25%)群聚有檢出病毒性病原（包括 Bocavirus、Astrovirus），6 起(75%)有檢出細菌性病原（包括 ETEC、STEC、EIEC、EPEC、Campylobacter 等）。中部縣市共有 8 起陽性群聚，其中有 3 起(37.5%)有檢出病毒性病原（包括 Bocavirus、Sapovirus），2 起(25%)有檢出細菌性病原(EPEC、*C. difficile*)，此外有 3 起(37.5%)同時檢出病毒性以及細菌性之多重病原（包括 Sapovirus、Adenovirus，EPEC、ETEC、EAEC 以及 *C. difficile* 等）。南部縣市 7 起群聚中有 2 起(28.5%)檢出病毒性病原(Bocavirus)，1 起(14.3%)檢出細菌性病原(EPEC)，其他 4 起(57.2%) 群聚則同時檢出多重細菌性病原（包括 EAEC、EPEC、ETEC、STEC 以及 *C. difficile* 等）（圖一）。結果顯示在這些例行性檢驗中未檢出致病原的腹瀉群聚案，細菌性病原引起的腹瀉群聚案件比病毒多。尤其在南部縣市的細菌性腹瀉群聚案件中，單一群聚檢出多種致病性大腸桿菌群（包括 EAEC、EPEC、EIEC、ETEC 以及 STEC）的比例偏高，佔細菌性陽性群聚的 80%。



圖一、2018 年臺灣腹瀉群聚非例行性檢驗陽性群聚之檢出病原體種類及發生區域分布圖

進一步以無母數檢定法分析 124 位非例行性檢驗結果陽性患者的年齡分布，發現 Bocavirus 陽性的個案年齡中位數為 3.7 歲，比起陰性的個案年齡中位數 8.3 歲，在統計學上具有顯著性的差異 ($p < 0.005$)。同樣的在 Adenovirus (陽性年齡中位數 3.8 歲，陰性年齡中位數 22.9 歲)、Astrovirus (陽性年齡中位數 8.9 歲，陰性年齡中位數 23 歲) 也有類似的結果。而在細菌性病原的調查結果，STEC 陽性的個案年齡中位數為 11.6 歲，比起陰性的個案年齡中位數 25.2 歲，在統計學上亦具有顯著性的差異 ($p < 0.0001$)。研究結果顯示病毒性腹瀉病原感染嬰幼兒族群的機率較高，而 STEC 也較常發生於 12 歲以下的年齡族群，其他致病原的感染族群與患者年齡關係較無統計顯著相關 (表二)。

表二、2018 年臺灣腹瀉群聚非例行性病原檢驗結果與患者年齡分布分析表

病原體	中位數(最小值-最大值)		P-value*
	陽性	陰性	
病毒性病原			
Bocavirus	3.7(1.2-10.7)	8.3 (0.6-105.8)	0.0028
Adenovirus	3.8 (3.2-4.0)	22.9 (3.1-91.0)	0.0001
Astrovirus	8.9 (8.1-9.0)	23.0 (3.1-91.0)	0.0014
Sapovirus	21.1 (3.2-35.0)	23.0 (3.1-91.0)	0.0244
細菌性病原			
Campylobacter	26.8 (16.3-51.1)	21.5 (3.1-91.0)	0.4393
<i>Clostridium difficile</i>	32.2 (3.8-91.0)	21.5 (3.1-91.0)	0.7212
EAEC	12.8 (8.2-66.3)	24.5 (3.1-91.0)	0.0468
EPEC	25.9 (6.9-66.3)	17.0(3.1-91.0)	0.0367
ETEC	14.1 (3.1-66.3)	23.0 (3.2-91.0)	0.1054
STEC	11.6 (3.8-26.6)	25.2 (3.1-91.0)	<0.0001

*P-value calculated by Wilcoxon rank sum test

討論

近年來由於國人食安意識提高，大型腹瀉群聚事件往往受到民眾的關注。例如 2016 年 9 月中秋假期，苗栗頭份爆發民眾至市場採買遭沙門氏菌污染的烤鴨食用而引起高達 143 人之腹瀉群聚案件[8]。以及 2018 年 4 月嘉義某豆奶攤早餐店因食材遭到沙門氏菌污染，而引起 5 位民眾發生腹瀉高燒等症狀，並造成一位青年死亡[9]。面對大規模或受關注的群聚事件，快速診斷感染源有助於疫情控制。然而 2018 年臺灣共有 421 起通報腹瀉群聚，其中卻有 113 起在例行性檢驗中無法測得致病原。本研究將這些檢驗結果為陰性的群聚案件（僅占 26.8%）隨機進行挑選並進一步進行非例行性檢測，結果發現 161 件檢體中只有 37 件(23%)檢驗結果仍確認為陰性，其餘均有檢測出病毒性或細菌性病原，顯示目前疾管署所定義的腹瀉群聚例行性檢驗（2 種病毒加 7 種細菌）雖可檢出大約 7 成的腹瀉病原體，輔以透過非例行性的病原體偵測（FilmArray multiplex PCR 檢測、細菌毒素 PCR 檢測，以及特殊篩選培養基的培養及鑑定等）可有效的釐清其他致病原，將病原篩出率提升至九成，提升檢驗效能。惟非例行性檢測所需檢驗成本（包括 FilmArray 試劑及特殊篩選培養基等）較高，約為例行性檢驗（細菌培養及腹瀉病毒 real-time RT-PCR）的 6–7 倍，建議應適用於突發性或大型群聚案件。

在非例行性檢驗檢出病原的 124 件檢體中，有 93 件檢測出細菌病原體(75%)，其中有 73 件(78.4%)檢測出病原性大腸桿菌群（包括 EAEC、ETEC、EPEC、EIEC 以及 STEC）（表一）。大腸桿菌是人類和其他溫血動物腸道中的正常菌叢，一般民眾對於大腸桿菌有防禦的效果。但過去文獻研究顯示在老年人或嬰幼兒等腸胃抵抗力弱的高風險族群，病原性大腸桿菌就會造成腹瀉或腸胃炎等症狀，嚴重者可能會有死亡的風險[10]。本研究發現南部縣市的病原性大腸桿菌病原群聚案件較臺灣其他區域縣市高（圖一）。經查文獻資料顯示從 29°C 到 40°C 間隨著溫度增加，病原性大腸桿菌細菌繁殖速度也增加，且毒素基因表現愈強，菌株的致病力亦隨之增加[11–13]。根據中央氣象局均溫資料顯示，2018 年南部縣市的年均溫為 25.85 度，較其他區域縣市（北部 23.90 度、西部 24.15 度、東部 23.95 度）均溫高。月均溫超過 29 度的月份多達 4 個月，也大幅超過北部（1 個月）、西部及東部（均無月份均溫超過 29 度）[14]。推測由於南臺灣的氣候溫度偏高，有助於病原性大腸桿菌滋生，若食材保存不良，就有可能遭受污染。此外，依據臺灣自來水公司截至 2018 年 12 月底的供水普及率結果顯示，南部縣市供水普及率為 87.7%，中部縣市供水普及率 89.34% 以及東部縣市供水普及率 88.1%，皆低於北部縣市供水普及率 95.59%[15]。若食材的製配與清洗過程中使用非自來水，也有可能因食材在烹調過程中未完全煮熟也導致感染。針對此分析結果，透過加強食材保存以及烹調環境的改善將有助於降低細菌性腹瀉群聚的發生。

本研究設定研究對象時，由例行性檢驗結果陰性的群聚，包含校園群聚、團體旅遊、家庭旅遊等等組成中以隨機的方式選取其中 29 件群聚進行非例行性檢驗。此次研究也發現，腹瀉病毒包括 Bocavirus、Adenovirus 以及 Astrovirus 感染者的

平均年齡較低，相較於陰性個案在統計學上有顯著性差異($p < 0.005$) (表二)。此結果與過去相關研究在嬰幼兒感染急性腸胃炎中，病毒性腸胃炎多於細菌性腸胃炎的結果相符[16,17]。病毒性腸胃炎多由飛沫或糞口傳染，在預防上不像細菌性腸胃炎容易，尤其嬰幼兒在六個月大後，來自母親抗體的保護力減少。嬰兒本身的免疫功能還在逐漸成長中，尚未成熟，腸胃抵抗力弱，是較易遭受感染的高風險族群。其重症與住院的機率也較一般年齡層為高[16]。保持良好衛生習慣及注意環境清潔，經常並且正確的洗手是防止感染的不二法門。照顧者或其他家人及密切接觸者，從外面回來時，一定要先洗手才能接觸幼兒。幼兒也一定要勤洗手，才能避免病毒傳染。另外，可以使用 70%酒精或稀釋之漂白水消毒環境，特別是更換尿布區週圍的環境，雖無法完全杜絕感染，但仍可避免病毒散播。

腹瀉群聚是我國傳染病防治的重點項目之一，大型腹瀉群聚案件於例行性檢驗未檢出病原時，常造成防疫困擾以及社會大眾擔憂。快速釐清感染源是最有效的防治方法，當例行性檢測無法檢出常見病原時，依據症狀及發病時程進行非例行性檢測有助於提拱有效的防治策略。惟非例行性檢測所需檢驗成本高，防疫上可應用於突發性或大型群聚或者是受民眾關注之腹瀉群聚案件，以提供地方政府衛生局及疾管署檢疫單位擬定防疫作為參考，防止疫情擴散，維護民眾健康。

參考文獻

1. WHO. Diarrhoeal disease. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
2. Hodges K, Gill R. Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes* 2010; 1: 4–21.
3. 衛生福利部疾病管制署：第二類法定傳染病。取自：https://www.cdc.gov.tw/Category/List/fKZiToejhl_4ylW32thvQA。
4. 衛生福利部疾病管制署：症狀監視及預警系統作業說明。取自：<https://www.cdc.gov.tw/File/Get/IokPMZctx00oUltW9MMo7Q>。
5. 衛生福利部疾病管制署：腹瀉群聚事件處理作業原則。取自：<https://www.cdc.gov.tw/uploads/files/1b310e62-b7d4-405c-80d2-319f7d35a844.pdf>。
6. 衛生福利部疾病管制署：傳染病標準檢驗方法手冊。取自：https://www.cdc.gov.tw/Category/Page/4pQgzB07prAqzxE_zUDOGw。
7. Guion CE, Ochoa TJ, Walker CM, et al. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1752–7.
8. 苗栗縣竹南衛生所。歷年重大新聞事件回顧：頭份傳百餘人疑似食物中毒，沙門氏菌造禍。取自：<https://mcp.mlshb.gov.tw/jun/index.php?catid=23&cid=11&id=27&action=view>。

9. 衛生福利部食品藥物管理署：「嘉義豆奶攤民雄店」流病調查報告確定為食品中毒案件。取自：<https://consumer.fda.gov.tw/News/NewsDetail.aspx?nodeID=10&id=f428085>。
10. Fleckenstein JM, Kuhlmann FM. Enterotoxigenic *escherichia coli* infections. *Curr Infect Dis Rep* 2019; 21: 9.
11. Philipsborn R, Ahmed SM, Brosi BJ, et al. Climatic drivers of diarrheagenic *Escherichia coli* incidence: a systemic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2016; 214: 6–15.
12. Hinthong W, Indrawattana N, Pitaksajjakul P, et al. Effect of temperature on fimbrial gene expression and adherence of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Int J Environ Res Public Health* 2015; 12: 8631–43.
13. Konkel ME, Tilly K. Temperature-regulated expression of bacterial virulence genes. *Microb Infect* 2000; 2: 157–66.
14. 中央氣象局。觀測資料查詢。取自：<http://e-service.cwb.gov.tw/HistoryDataQuery/index.jsp>。
15. 經濟部水利署。自來水供給普及率。取自：<http://wise.wra.gov.tw/dataset/saturationofwatersupply/resource/b6f45197-c8d5-47ff-9538-ba2e7d9bf9b7>。
16. Chung N, Wang SM, Shen CF, et al. Clinical and epidemiological characteristics in hospitalized young children with acute gastroenteritis in southern Taiwan: according to major pathogens. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 50: 915–22.
17. Tang MB, Chu CM, Chou YC, et al. Molecular detection of human bocavirus 1 and 2 in children with acute gastroenteritis in Taiwan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2015; 46: 1005–12.