

E. coli O157:H7 的分離與鑑定-臺灣首例大腸桿菌 O157:H7 感染引起溶血性尿毒症候群

E. coli O157:H7 的分離與鑑定-臺灣首例大腸桿菌 O157:H7

感染引起溶血性尿毒症候群

編輯部

2001 年夏天，一個移民美國的六歲臺灣男童，在回臺省親六週後，出現了急性感染症狀。他到醫院求診的主訴為腹瀉 5 天，合併尿量減少。糞便的型態一開始是大量的稀糊便，後來腹瀉次數變得頻繁，糞便帶有黏液、血絲，腹部開始絞痛，食慾變差，活力降低。之後有發燒的情形(主要發生在夜間)。他先到北市某家醫學中心的急診求診。當時的血液相為：白血球 14,800/ μ L、顆粒球：77%、淋巴球：13%、血紅素：12.5g/dL、血小板：132,000/ μ L、反應性蛋白：1.59 mg/dL、糞便的潛血反應：(+)、膿細胞(3-5)類。隔天病童的膚色變黃，出現茶色尿，而且一直解血便，持續發燒、腹痛。故病童在排除傷寒合併黃疸的臆斷下，入院接受進一步的檢查及治療。當時的心跳每分鐘 90-100 下、呼吸每分鐘 30-40 次、血壓 106/69 毫米汞柱。病人的意識清楚、有急性病容、鞏膜呈現黃疸、肚子摸起來是柔軟的，在肚臍周圍有輕微壓痛，腸音加快。肝臟在右肋緣下 2 公分可摸到，在左肋緣下也可摸到脾臟的邊緣。進一步的抽血檢查發現血紅素掉到 9.7 g/dL，血小板減少到 33,000/ μ L。生化檢查發現 BUN/Cr：59/2.9、bilirubin：3.2/0.5。抗生素一開始是使用 ampicillin +ceftriaxone。雖然給予了輸液治療及利尿劑使用，病人腎衰竭的情況仍持續惡化中，BUN/Cr 數值增加到 71/3.7、合併寡尿(14 小時 15cc)。病人因為急須做血液透析，所以轉到本院，當天就開始進行腹膜透析。血液抹片呈現許多破裂的紅血球細胞及盔甲狀紅血球。總結來說，病人的主要症狀包括出血性腹瀉以及急性腎衰竭，糞便檢體送到疾管局的報告呈現大腸桿菌 O157:H7 抗原陽性。

腸道出血性大腸桿菌 O157:H7 並不少見。在澳洲、加拿大、日本、美國、歐洲及非洲南部的許多國家都曾經爆發過感染。這個特殊的血清型是在 1982 年才被確認為一可感染人類的病原菌，會造成出血性腸炎和溶血性尿毒症候群(hemolytic uremic syndrome; HUS)。1992 年在美國西北部曾爆發腸道出血性大腸桿菌 O157:H7 的感染，經追查的結果發現和食用速食店內被污染的漢堡肉有關，目前威信感染源自食用遭到污染的食物，例如絞碎的牛肉、牛奶、苜蓿芽、蘋果西打、萵苣、野味、乳製品以及水。自從發現此菌以來，大腸桿菌 O157:H7 於 1995 年在美國造成約 20,000 個病例及 250 人死亡。日本則是在 1996 年爆發三次感染，造成超過 17,000 個病例及 13 人死亡。在臺灣，腸道出血性大腸桿菌 O157:H7 感染是屬於法定傳染病，但一直沒有人類感染的報告病例。在懷疑是大腸桿菌 O157:H7 的情況下，必須搜集病人及和病人有密切接觸的家屬的糞便檢體、可能受污染的食物檢體、環境中的檢體(水及土壤)等，藉由分子生物學的方法來分離、培養及鑑定可能的病菌及傳染源。因為大腸桿菌 O157:H7 無法發酵 sorbitol-Mac Conkey 培養基中的山梨醇(sorbitol)，而形成白色菌落，而且這類細菌會產生類志賀氏毒素，可以用聚合西每鏈反應(polymerase chain reaction; PCR)做毒素基因的偵測。總共採集了 48 株菌株，其中 35 株來自病人及和他有接觸的人，5 株來自懷疑被污染的食物，8 株分別採自一家餐廳及病人臺北住家的土壤及水。根據行政院衛生署疾病管制局(疾管局)所公布的標準程序檢驗這些檢體。再藉聚合西每鏈反應鑑定這些菌株的血清型別及類志賀氏毒素基因。分子基因指紋分型則是利用 pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)作基因片段組合的比對。

這些檢體中，只有病人的檢體在 sorbitol-MacConkey 培養基及 CHR-OM agar 呈現灰到白色的菌落。將菌落和 API-20E(生化檢定試劑)反應，可知此為大腸桿菌。由乳膠凝集試驗(latex agglutination)，可知此菌具第 157 及第 7 血清型。聚合西每鏈反應也證實其帶有類志賀氏毒素基因，分別為類志賀氏毒素 I (475 bp)及 II(862 bp)。另外用由 Pan et al 所設計的引子(primer)所完成的聚合西每鏈反應的結果亦證實血清型確為 O157:H7。根據上述結果，我們可以確認這個感染的病原菌是大腸桿菌 O157:H7。

確定是大腸桿菌 O157:H7 後，再來就是尋找來源。大腸桿菌 O157:H7 的傳染窩(reservoir)主要為牛隻。臺灣之前曾對畜牧業作流行病學調查，牛隻大腸桿菌 O157:H7 感染的盛行率在南北臺灣分別為 0.6%和 0.13%。可知大腸桿菌 O157:H7 確實存在臺灣的環境中。

疾管局選用九株細菌作 PFGE，依 PFGE 的基因片斷組合來作基因分型比對。其中 5 株是來自美國的細菌庫(American Type Culture Collection): ATCC35150, ATCC43890, AYCC-43894 及 ATCC43895; 2 株是 1996 年日本爆發感染的菌株(JP01, JP02)。而臺灣的菌株 1 株分離自乳牛群(TWE01)，另一株即為本篇臨床案例(TWC01)。將這 9 株細菌的 DNA 分別用 2 種限制，XbaI, AvrII 來處理，然後跑電泳，到 9 組基因片段組合。結果顯示本案例的細菌基因分型和其他的菌株不同：用 XbaI 限制西每去切，所得到的基因片斷和美國的菌株有 5-6 段的差異，而用 AvrII 限制西每則有 6-7 段的差異。另外和臺灣的環境菌株(TWC01)相比則分別有 8 段及 11 段的差異。依 XbaI 限制西每處理所得到的樹狀圖，可發現本臨床案例株和美國的對照株(ATCC43894,43895)相比有 67%的相似性，而用 AvrII 限制西每則有 73%的相似性。但和其他的對照株相比相似度只有 33%到 58%，和臺灣的環境株相比則是完全不同的基因片段型式。所以只有美國 ATCC 的對照菌株和本病例株較相近。若再將本病例株和美國疾病管制局的基因資料庫比對，發現和造成美國本土感染爆發的大腸桿菌 O157:H7 菌種，在基因上有高度相似性。而病人在症狀發生的四十天前自美國返臺，有可能因食用了某些在美國已被污染的食物而被感染。PFGE 是用來分析菌種基因差異的標準方法，在流行病學調查的研究也常用 PFGE 來分析不同時間、地點的感染爆發時菌種間的相關性。

1996 年在美國西部爆發一次因食品引起的大腸桿菌 O157:H7 大規模傳染後，美國疾病管制局即設立了所謂的 PulseNet：利用分子基因分型來針對食物污染引起的感染性疾病，作全國性的監測。疾管局人員根據 PFGE 比較分析臨床菌株和來自食品的分離菌株的異同，並且應用在調查感染的源頭。大約有 22 個國家/地區加入 PulseNet，以期能在預防與控制食物源傳染性疾病上互相合作交流。臺灣目前並沒有加入這個監測網，所以在追查上游的傳染源時，常遇到困難。尤其當傳染源是在國外。所以對臺灣而言，建立或加入一個全球性的監測網是非常必要的。

在抗藥性方面，我們比較了本臨床菌株(TWC01)和採自環境的分離株對 13 種抗生素作藥物敏感性試驗。結果顯示臨床菌株(TWC01)對 amoxicillin-clavulanic acid, chloramphenicol, ampicillin 均有抗藥性，對 ampicillin-sulbactam 及 gentamicin 則屬於半抗藥性。環境株(TWE01)的抗藥性和這個臨床菌株是相似的。

[譯者評]在臺灣並沒有大腸桿菌 O157:H7 爆發感染的報告，這個病例是第一個經由完整的實驗室檢查而確定的大腸桿菌 O157:H7 感染。根據疾管局所制定的鑑定流程來進行實驗室診斷，再加上用 Pan et al 所設計的六對引子來進行聚合西每鏈反應，在診斷的效率及正確性上都比傳統的生化檢驗法好。雖然這個病例最後並沒有爆發大規模的感染，而且追溯來源可能是來自美國。但是此菌是存在環境中的細菌，而且國人飲食逐漸西化，再加上國際間的交流頻繁，無論是境外移入或本土感染的機會都不低。

利用分子生物學的方法來診斷大腸桿菌 O157:H7 的感染，和傳統的生化反應相比，不但快速準確，而且可以追查感染的源頭，在疫情未蔓延前阻止病菌的散播。就感染控制的角度來說，是非常實際且必要的。經流行病學的調查顯示，大腸桿菌 O157:H7 確實存在臺灣的環境中，如果食物遭受污染，是有可能爆發感染的。但是目前並沒有預防及管理大腸桿菌 O157:H7 感染的防疫措施及法規。臺灣應積極加入類似 PulseNet 的全球性的監測網，以期在食物源傳染症上與國際接軌，做好預防傳染、控制疫情的工作。

[林嘉玲/黃玉成摘評]

參考文獻

1. Wu FT, Tsai TY, Hsu CF: Isolation and identification of Escherichia coli O157:H7 in a Taiwanese patient with bloody diarrhea and acute renal failure. J Formos Med Assoc 2005; 104:206-9.