

類諾瓦克病毒在呼吸照護病房引起的群突發感染

柯政欽¹ 吳芳姿² 陳豪勇² 呂玫嬌¹ 林世華¹ 廖皓宏¹ 陳建源¹ 張上淳³

1 衛生署臺北醫院感染管制委員會

2 衛生署疾病管制局研究檢驗組

3 臺大醫院內科部感染科

民國 93 年 2 月底，某家區域醫院的呼吸照護病房發生類諾瓦克病毒(Norwalk-like virus、Norovirus)所引起的腸胃炎集體感染，35 位人員發生腹瀉或發燒，其中 26 位為住院患者、8 位為工作人員、1 位為工作人員家屬。針對呼吸照護病房所有人員，採集糞便檢體，利用反轉錄西每—聚合酵素連鎖反應，檢查是否有類諾瓦克病毒。在全部 38 位住院患者中 有 35 位感染類諾瓦克病毒，感染率高達 92.1%，腹瀉、發燒症狀持續時間為 2 天，沒有留下後遺症。而 41 位工作人員當中，有 8 位感染類諾瓦克病毒，嘔吐及腹瀉出現時間為 1 到 2 天，感染率 19.5%，另外有 1 位工作人員的家屬也感染類諾瓦克病毒。在 35 位感染類諾瓦克病毒的住院患者當中，有 12 位沒有出現症狀，佔了 34.3%，而 8 位感染的工作人員當中，有 2 位沒有症狀，佔了 25.0%。在群突發感染的處理過程當中，沒症狀的人員不等於沒有感染類諾瓦克病毒，感染管制措施必須針對病房所有人員，才能有效控制疫情。(感控雜誌 2004;14:269-78)

關鍵詞：類諾瓦克病毒、呼吸照護病房

前 言

西元 1968 年 10 月底，在美國俄亥俄州諾瓦克(Norwalk)的 1 所小學發生了集體出現腸胃炎的現象，總共 116 師生同時間有噁心、嘔吐、發燒、腹痛等症狀，2 天後完全恢復健康，沒有人住院，沒有留下後遺症。令人印象深刻的是，出現了次級傳染現象，那些有腸胃炎的師生出現症狀約 2 天後，其家屬總共有 120 位也出現類似腸胃不適的症狀。經由糞便檢查發現並非細菌感染所造成，造成這波集體感染的致病源並沒有找到[1]。直到西元 1972 年，經由電子顯微鏡的檢查，才發現諾瓦克的集體腸胃道感染是由病毒所造成，因此該病毒就被命名為 諾瓦克病毒[2]。

經由電子顯微鏡的幫助，陸續發現有許多腸胃炎是由類似諾瓦克病毒所造成，因此這些病毒被稱為圓小結構病毒(small round structured viruses)或類諾瓦克病毒(Norwalk-like viruses)。到了西元 1990 年，諾瓦克病毒的基因被定序出來，證實為單股的 RNA 病毒[3]。接著類諾瓦克病毒的基因也被定序出來，同樣也是單股的 RNA 病毒[4]。西元 1992 年發展出反轉錄西每-聚合酵素連鎖反應 (reverse-transcription polymerase chain reaction; RT-PCR)的技術，用來診斷出許多類諾瓦克病毒所引起的疾病[5]。來自美國、歐洲、日本的報告，都有發現類諾瓦克病毒所引起的腸胃炎群突發，而在非細菌的腸胃炎群突發當中，類諾瓦克病毒是最常見的致病源[6-8]。類諾瓦克病毒會經由污染的飲用水、食物，在安養院、醫院、餐廳、學校、日間留院中心、旅館、遊艇造成腸胃炎群突發[6]。

到了西元 2003 年，國際病毒分類委員會建議將 Norwalk-like virus 改稱為 Norovirus，Norovirus 與 Sapovirus 這兩個屬(genus)一同列入 Caliciviridae 這一科(family)[9]。以下我們報告一起類諾瓦克病毒在某家區域醫院呼吸照護病房引起的腸胃炎群突發。

材料與方法

該院呼吸照護病房於民國 93 年 2 月 23 日發現有 8 位住院病患出現腹瀉現象，同時間有 2 位護理人員以及 1 位病服員出現腹瀉、嘔吐的現象。感控室接獲通知後，開始疫情之處理及調查。

呼吸照護病房當時有 2 人房 10 間，5 人房 4 間，共有 38 位住院患者。其中 男性 19 位，女性 19 位，年紀最輕為 37 歲，年紀最大為 98 歲，平均年齡 74 歲，中位數年齡 75 歲。全部有使用呼吸器及管灌飲食，患者本身的疾病除了呼吸衰竭之外，其中 21 位(55.3%)有腦血管病變中風病史，15 位(39.4%)有高血壓，11 位(28.9%)有糖尿病，7 位(18.4%)有慢性肺阻塞性疾病，5 位(13.7%)有冠狀動脈心臟疾病，3 位(7.9%)有頭部撞擊腦病變，2 位(5.2%)有水腦症，其它包括尿毒症、憂鬱症、甲狀腺機能亢進、巴金森氏症各有 1 位患者。呼吸照護病房位於一單獨樓層，呼吸照護病房除了病患共 38 人外，還有工作人員共 41 人，包括：護理人員 15 人、呼吸治療人員 2 人、書記 1 人、病服員 17 人、清潔人員 2 人、醫師 4 人。工作人員當中，護理人員、病服員、以及清潔人員只在呼吸照護病房工作，不會接觸呼吸照護病房以外的病患，而醫師、呼吸治療師會接觸呼吸照護病房以外的其他病房患者。

針對呼吸照護病房全部 38 位住院患者、41 位工作人員，以及 1 位有症狀的護理人員家屬，採集糞便檢體送檢，檢查項目包括：沙門氏細菌、志賀氏細菌、腸炎弧菌、產氣單胞菌、葡萄球菌、大腸桿菌、輪狀病毒、類諾瓦克病毒。細菌培養使用美國 Becton Dickinson 公司所生產製作的 blood agar、eosin-methylene blue agar、xylose-lysine-dextrose agar。輪狀病毒之檢查是利用 VIROTECH-ROTA 快速乳膠凝集試驗，來偵測糞便中的輪狀病毒。類諾瓦克病毒之檢查是將糞便檢體送到疾病管制局採用 RT-PCR 方式檢驗，住院患者之糞便送檢類諾瓦克病毒的時間是在腸胃炎症狀出現的 1 週內。分析類諾瓦克病毒之方法包括：1.

SR/RT-PCR：病毒 RNA 萃取液 5 μ L 為模板，分別作 G1(引子 SR33、SR48、SR50、SR52)及 G2(引子 SR33、SR46)反應，各引子最終反應濃度為 0.3 μ M，於 95 $^{\circ}$ C 作用 3 分鐘後，馬上將反應管置於冰上；再加入單管 RT-PCR 混合液，內含 0.625 mM dNTP、5U M-MuLV 反轉錄酵素(Reverse Transcriptase)、2.5U Taq DNA Polymerase、40U RNase 抑制劑及反應緩衝液含 50 mM Tris-HCl、75 mM KCl、3 mM MgCl₂、10 mM dithiothreitol，反應總體積為 50 μ L。於 42 $^{\circ}$ C 60 分鐘作反轉錄作用，之後 94 $^{\circ}$ C 作用 3 分鐘，直接進行 PCR 40 循環：94 $^{\circ}$ C 1 分鐘，52 $^{\circ}$ C 1 分 30 秒，60 $^{\circ}$ C 2 分鐘，隨後 72 $^{\circ}$ C 加長作用 7 分鐘。2.Mon/RT-PCR：病毒 RNA 萃取液 5 μ L 為模板，分別加入引子 Mon431、Mon432、Mon433 及 Mon434 做反應，各引子最終反應濃度為 0.6 μ M，再加入 RT-PCR 混合液，內含 0.625 mM dNTP、5U M-MuLV 反轉錄酵素(Reverse Transcriptase)、2.5U Taq DNA Polymerase、40U RNase 抑制劑及反應緩衝液含 50 mM Tris-HCl、75 mM KCl、3 mM MgCl₂、10 mM dithiothreitol，反應總體積為 50 μ L。於 42 $^{\circ}$ C 15 分鐘作反轉錄作用，隨後 94 $^{\circ}$ C 作用 3 分鐘，直接進行 PCR 40 循環：94 $^{\circ}$ C 30 秒，52 $^{\circ}$ C 1 分 30 秒，60 $^{\circ}$ C 30 秒，之後 72 $^{\circ}$ C 加長作用 7 分鐘。類諾瓦克病毒 RT-PCR 反應產物取 10 μ L 於以 1 \times Tris-acetate-EDTA (TAE)配置之 2% SeaKem LE Agarose (BioWhittaker Molecular Application; BMA)，以 100 伏特電泳跑膠，進行產物大小分析。

結 果

糞便檢體經離心處理後，萃取 RNA 後進行 RT-PCR 及基因序列分析。感染 人類的諾瓦克病毒有兩種基因型，分別為 G1 及 G2，本實驗引用之 SR33、SR46、SR48、SR50 及 SR52 引子，可以檢測諾瓦克病毒並且同時區分其基因型別，RT-PCR 產物大小皆為 123 bp，檢體反應結果如圖一，Lane N 為陰性對照組，Lane M 為 100bp DNA Ladder Marker(Violet, Taiwan)，Lane 1-5 為此次臨床檢體中部分 RT-PCR 產物電泳結果，Lane P 以合成之 03Q401CDC1 標準株為模板得到之陽性對照組；RT-PCR 結果顯示為 Norovirus G1 陽性。為確定 RT-PCR 產物確實 為諾瓦克病毒，將反應產物進行核酸序列定序分析，定序後之鹼基結果與 NCBI 基因 資料庫比對，確實為類諾瓦克病毒，基因位於 RNA dep polymerase 區域相 同且基因序列相似度達 98%。此外，本實驗另外引用美國 CDC 提供之引子對 Mon431、Mon432、Mon433 及 Mon434，作為 RT-PCR 平行試驗，引子設計是選擇以 RNA dependent RNA polymerase 和核蛋白 N 端基因序列交界區間設計，此 區為類諾瓦克病毒基因序列中高穩度區間；本次檢體反應結果如圖二，RT-PCR 反應產物為 213bp，Lane M 為 100bp DNA Ladder Marker (Violet, Taiwan)，Lane 1-6 為此次臨床檢體中部分 RT-PCR 產物電泳結果。 在所有 38 位呼吸照護病房患者當中，糞便檢驗出類諾瓦克病毒有 35 人(92.1%)。41 位 工作人員當中，共有 8 位(19.5%)於糞便中檢驗出類諾瓦克病毒，分 別是 3 位護理人員、1 位呼吸治療師、3 位病服員、以及 1 位清潔人員。此外，有 1 位護理人員的家屬因出現腹瀉、發燒症狀，糞便檢查亦為類諾瓦克病毒陽 性。感染類諾瓦克病毒的呼吸照護病房患者以及工作人員的症狀及症狀持續時間參見表一。26 位有症狀的呼吸照護病房患者，自 2 月 20 日開始爆發疫情，於 2 月 23 日 為感染的高峰，至 3 月 1 日疫情結束，病房患者沒有新增之腸胃炎或發燒個案(圖三)。3 位糞便沒有類諾瓦克病毒的呼吸照護病房患者當中，1 位有嘔 吐、腹瀉以及發燒、2 位沒有症狀。所有呼吸照護病房患者之糞便細菌檢驗為陰 性，但輪狀病毒陽性者有 3 位，此 3 位病房患者同時也有感染類諾瓦克病毒。 工作人員所出現症狀的時間持續 1 到 2 天，而出現症狀的護理人員家屬為 3 歲 兒童，則有持續 4 天的腹瀉、發燒。工作人員之疫情與病房患者於 2 月 20 日 同時出現，但比病房患者較早於 2 月 27 日就結束(圖三)。工作人員當中有 2 位 護理人員有症狀但糞便檢查沒有類諾瓦克病毒也沒有輪狀病毒，其中 1 位有腹 瀉，另 1 位護理人員除了腹瀉還有發燒。後者的家屬有感染類諾瓦克病毒，有腹瀉 及發燒，該護理人員的症狀比其家屬早 3 日出現。工作人員當中輪狀病毒檢驗 陽性者有 2 位，此 2 位工作 人員同時也感染類諾瓦克病毒。

討 論

根據美國疾病管制局的統計，自西元 1997 年至西元 2000 這 3 年期間發生 的 284 起非細菌腸胃炎的群突發 當中，確定由類諾瓦克病毒所引起者高達 217 起，發 生群突發的地點以餐館等用餐場所最多，接著是安養 院及醫院，每次受感 染的人數平均高達 40 位。傳染途徑主要是被污染的食物，接著是人與人接觸以 及水 質被污染[6]。該院此次類諾瓦克病毒所引起的腸胃炎群突發總共有 44 位確 定感染，相當於美國的平均值， 而傳染途徑應包括了污染的食物以及人與人接 觸，因為有住院患者、工作人員以及工作人員的家屬同時受到感染。 對於這種類諾瓦克病毒所引起的腸胃炎群突發，雖然臺灣以前沒有報告傳 出，但全世界包括美 洲、歐洲、澳洲、亞洲的中國大陸、日本都有報告傳出[10]， 以我們鄰近的日本為例，387 起非細菌腸胃 炎群突發當中，找出致病源的有 272 起， 由類諾瓦克病毒所造成的有 265 起，由輪狀病毒所引發的有 5 起 [8]。在臺灣對非細菌腸胃炎通常只檢驗輪狀病毒，因為檢查輪狀病毒比較簡單，可以利用 乳膠凝集 (latex agglutination)或酵素免疫分析(enzyme immunoassay)，而診斷 類諾瓦克病毒則必須使用電子顯微鏡或反轉錄

西每-聚合酵素鏈鎖反應，因此對於非細菌性腸胃炎，如果輪狀病毒檢查結果是陰性，那很有可能是類諾瓦克病毒所造成。另外本研究發現35位感染類諾瓦克病毒的病房住院患者當中有3位同時也有輪狀病毒的感染，所以糞便中輪狀病毒檢查結果是陽性的腸胃炎患者，並不能排除類諾瓦克病毒合併感染。

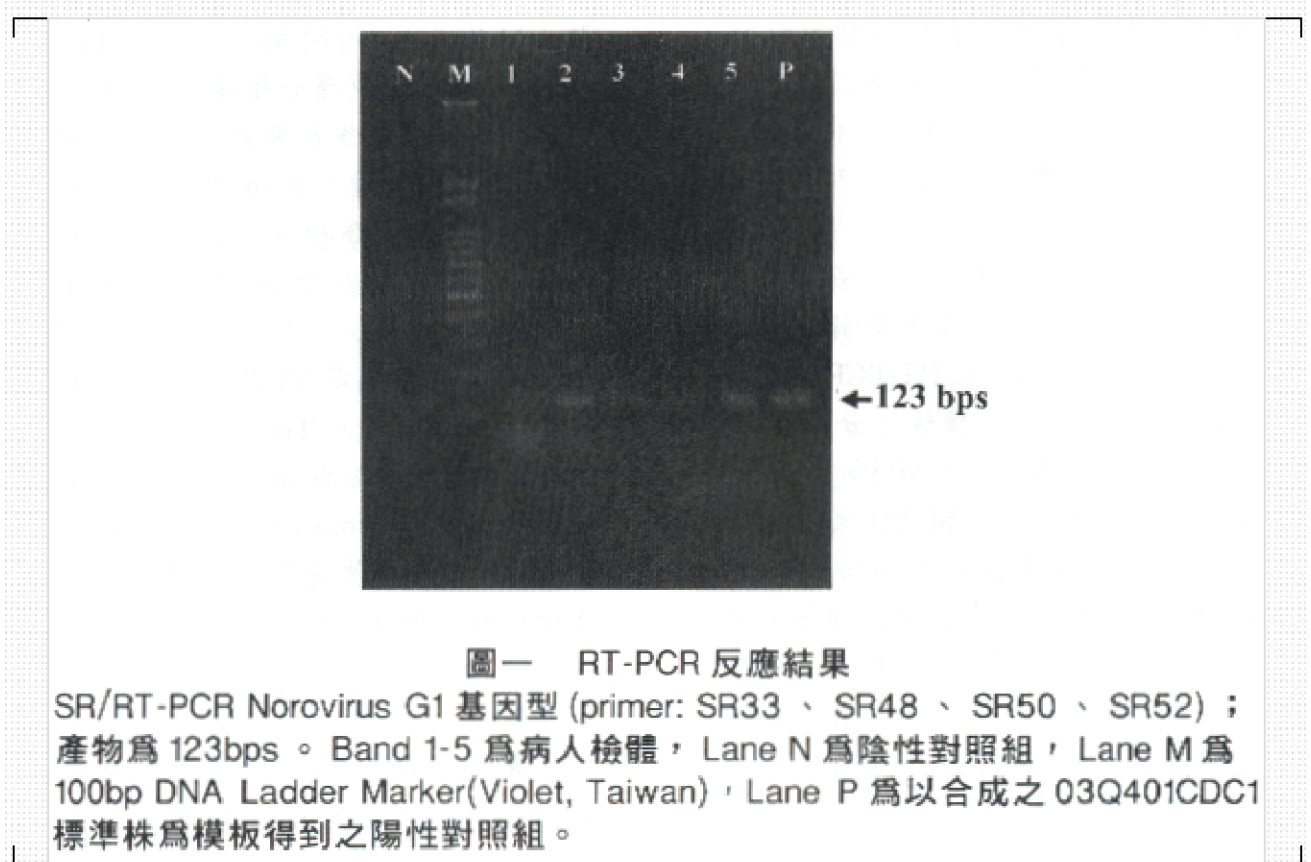
類諾瓦克病毒感染所產生的症狀有腹瀉、嘔吐、腹痛、噁心、發燒，潛伏期為24到48小時，有一半以上的個案會出現腹瀉、嘔吐的急性症狀，症狀持續時間為12至60小時。類諾瓦克病毒的感染率相當高，10個病毒顆粒即可造成感染，糞便的檢查找不到細菌致病源。而腹瀉是最明顯的症狀可持續4天，最長者甚至可達28天，病人的糞便會有黏液，但不會有血絲，年幼及年長者會出現脫水的後遺症[11-12]。在本研究中所有38位住院患者中有35位感染類諾瓦克病毒，感染率高達92.1%，腹瀉、發燒的症狀持續2天，糞便中也沒有出現血絲。而工作人員當中有19.5%得到感染，本院當時其他的病房單位以及工作人員只有1名男性住院病患有腹瀉，但他的糞便檢體並沒有發現類諾瓦克病毒。可見此次類諾瓦克病毒引起的腸胃炎群突發，初級傳染局限在呼吸照護病房，次級傳染只影響到1位護理人員的家屬，次級傳染的人數較少的原因，應與及早發現及處理腸胃炎群突發有關。

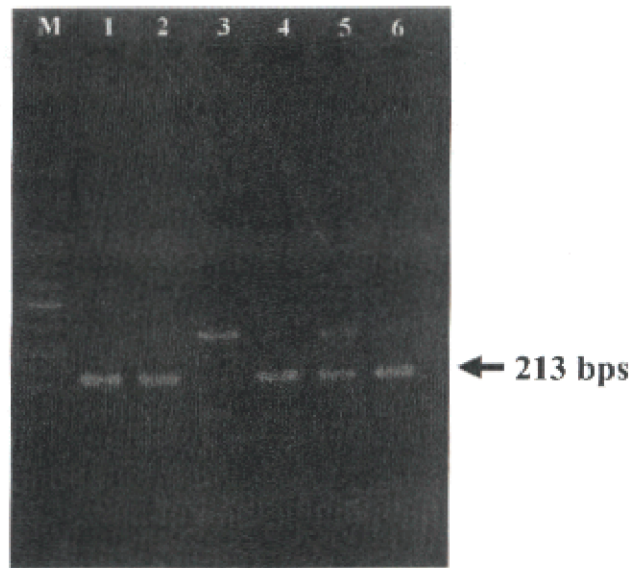
包括1名住院患者以及2位護理人員(其中1位護理人員造成她的家屬感染類諾瓦克病毒)，有明顯腸胃炎症狀，但糞便檢查沒有類諾瓦克病毒也沒有輪狀病毒的人員。依Rockx的研究指出，感染類諾瓦克病毒時，第1天只有78.0%的患者於糞便中可以檢驗出類諾瓦克病毒，有10.0%的患者於第1天類諾瓦克病毒檢驗為陰性，直到第8天到第22天才檢驗出類諾瓦克病毒，而有26.0%的患者在症狀出現後第22天時還能於糞便中檢驗出類諾瓦克病毒[12]。本研究之腸胃炎患者，送檢糞便之類諾瓦克病毒為症狀出現的1週內，此3位有嘔吐、腹瀉以及發燒的住院患者與護理人員，可能也有感染類諾瓦克病毒，但限於經費及檢驗不易，我們並未持續送驗以証實他們到底是不是類諾瓦克病毒的感染。

類諾瓦克病毒引起的腸胃炎除了會出現群突發外，在社區中腸胃炎的零星個案也可以是類諾瓦克病毒所引起，根據美國方面的報告發現，類諾瓦克病毒可使社區當中各年齡層的民眾得到感染，腸胃炎的患者當中有19.7%是由類諾瓦克病毒所造成，相對由輪狀病毒造成的只有7.3%，類諾瓦克病毒所引起的症狀比輪狀病毒來的輕[12]。日本的報告指出，2個月大到2歲發生腸胃炎的幼童當中，類諾瓦克病毒所引起的比例為20.0%，僅次於輪狀病毒的31.0%，兩者所造成的疾病嚴重程度也是以類諾瓦克病毒較輕[13]。在我們的社區當中，可能也有類諾瓦克病毒感染造成腸胃炎的個案，只是沒有被發現罷了，被類諾瓦克病毒感染的人，可以是訪客，可以是醫院工作人員，藉由進入呼吸照護病房，散播類諾瓦克病毒，造成呼吸照護病房住院患者及工作人員集體感染。

以全球來看，一年四季當中都會出現類諾瓦克病毒引起的零星個案或群突發腸胃炎，類諾瓦克病毒如同輪狀病毒均好發於冬季[14]，而本院發生的日期為2月底3月初，也是冬天時期。感染類諾瓦克病毒的住院患者當中有12位沒有出現症狀，佔了住院患者總感染數的34.0%，根據美國疾病管制局的統計，無症狀的感染者為30.0%[11]。而工作人員有2位沒有症狀，但糞便當中驗出類諾瓦克病毒，佔了工作人員總感染數的25.0%，這些沒有出現症狀的感染人員是潛在的感染源，在群突發感染的處理過程當中，沒症狀的人員不等於沒有類諾瓦克病毒，感染管制措施必須針對病房所有人員，才能有效控制疫情。雖然類諾瓦克病毒引起病情不會很嚴重，可是處理這些群突發所必須付出的社會、經濟、醫療成本也是相當可觀。在慢

性療養機構，例如：安養院、護理之家、呼吸照護病房必須監 控有腹瀉的患者，加強接觸前後之洗手，管制腹瀉訪客及工作人員，有接觸食物 的工作人員如果有不舒服，需停止工作到恢復健康為止，環境可以用 0.05%(500ppm)的漂 白劑消毒[11]，以避免群突發的出現。



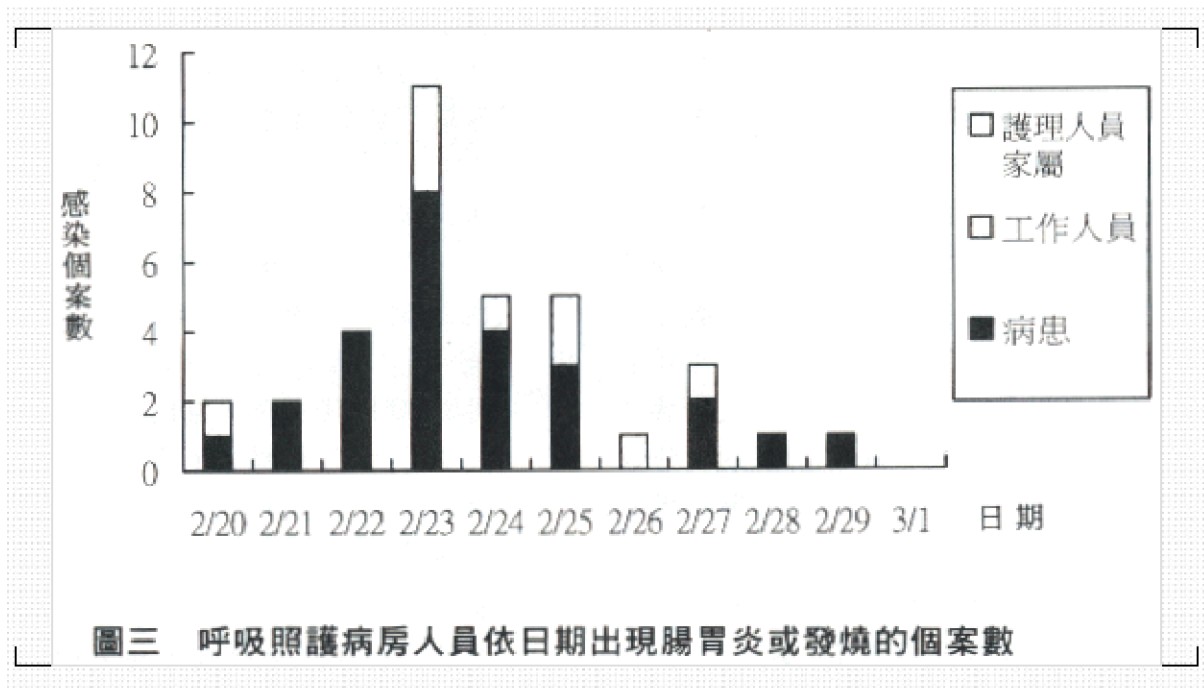


圖二 RT-PCR 反應結果
 Mon/RT-PCR Norovirus (primer: Mon431、Mon432、Mon433、Mon434)；
 產物為 213bps。Band 1-6 為病人檢體，Lane M 為 100bp DNA Ladder
 Marker(Violet, Taiwan)。

表一 呼吸照護病房感染類諾瓦克病毒人員之臨床症狀表現

症狀	35 位病患			8 位工作人員		
	病患數	比例 (%)	持續時間 (天)/ 中位數	人員數	比例 (%)	持續時間 (天)/ 中位數
腹瀉	19	54.2	1-8/2	3	37.5	1-2/1
發燒	21	60.0	1-7/2	0	0	--
嘔吐	11	31.4	1-2/1	6	75.0	1-2/1
有症狀 *	23	65.7		6	75.0	
無症狀	12	34.3	--	2	25.0	--

* 指有腹瀉或發燒或嘔吐



致 謝

感謝疾病管制局以及臺北縣衛生局協助調查處理疫情。

參考文獻

1. Adler JL, Zickl R: Winter vomiting disease. *J Infect Dis* 1969;119:668-73.
2. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, et al: Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10:1075-81.
3. Jiang X, Graham DY, Wang KN, et al: Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science* 1990;250:1580-3.
4. Lambden PR, Caul EO, Ashley CR, et al: Sequence and genome organization of a human small round-structured (Norwalk-like) virus. *Science* 1993;259:516-9.
5. Jiang X, Wang J, Graham DY, et al: Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:2529-34.
6. Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, et al: Epidemiologic and molecular trends of Norwalklike viruses associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* 2002;186:1-7.
7. Lopman BA, Reacher MH, Duijnhoven Y, et al: Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:90-6.
8. Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, et al: Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: pediatric cases and outbreak incidents. *J Infect Dis* 2000;181(Suppl):S270-4.
9. Cornelia Buchen-Osmond, international committee on taxonomy of viruses. Available <http://www.ictvdb.iacr.ac.uk/Ictv>.

10. Noel JS, Frankhauser RL, Ando T, et al: Identification of a distinct common strain of Norwalk-like viruses having a global distribution. *J Infect Dis* 1999;179:1334-44.
11. CDC, Norovirus activity-United States, 2002. *MMWR* 2003;52:41-5.
12. Rockx B, Wit M, Vennema H, et al: Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2002;35: 246-53.
13. Pang XL, Honma S, Nakata S, et al: Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community. *J Infect Dis* 2000; 181(Suppl):S288-94.
14. Mounts AW, Ando T, Koopmans, et al: Cold weather seasonality of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses. *J Infect Dis* 2000;181(Suppl):S284-7.

Norovirus Outbreak at a Respiratory Care Ward

Cheng-Chin Ker¹, Fang-Tzy Wu², Hour-Young Chen², Mei-Chiao Lu¹, Shih-Hua Lin¹, Hao-Hung Liao¹, Jiann-Yuan Chen¹, Shan-Chwen Chang³

¹Infection Control Committee, Taipei hospital, Department of health, Taiwan ²Division of Laboratory Research and Development, Center of Disease Control, Department of health, Taiwan ³ Division of Infectious Disease, Department of Medicine, National Taiwan University Hospital, Taiwan

In February 2004, an outbreak of gastroenteritis occurred at a respiratory care ward in a regional hospital. Diarrhea or fever developed in 35 persons. Among them, 26 were patients and 8 were staff members and 1 was a family of a staff member. Norovirus was detected in 35(92.1%)stool specimens from all 38 patients and in 8(19.5%) specimens from all 41 staff members and 1 specimen from a family of a staff member. Diarrhea and/or fever persisted for 2 days and no sequel was found in all patients. Vomiting and/or diarrhea persisted for 1 to 2 days in all staff members. Asymptomatic infection occurred in 12(34.3%)of patients and 2(25.0%) of staff members, respectively. Asymptomatic subjects were not equal to no infection. Therefore, all the personnel should be enrolled in infection control programs in respiratory care ward with Norovirus outbreak.(*Infect Control J* 2004;14:269-78)

Key words: Norwalk-like virus, Norovirus, Respiratory care ward