

苗栗縣 B 群 X 變異型桿菌性痢疾群 突發事件

廖盈淑¹、王佑文¹、廖春杏¹、許桂貌²
楊文志²、王唯堯³、楊世仰²、邱乾順¹

1. 衛生署疾病管制局研究檢驗中心
2. 衛生署疾病管制局第二分局
3. 大千綜合醫院感染科

摘要

2008 年 3 月間，苗栗縣某精神專科醫院發生急性腹瀉群突發事件，經實驗室確認為 B 群痢疾桿菌(*Shigella flexneri*)所引起之桿菌性痢疾。總計有 15 名案例，皆為院民，總侵襲率近 5%(15/307)；其中有症狀者 9 人(6 人檢體陽性)，另 6 名為無症狀感染者(接觸者採檢陽性)。本次疫情實驗室所分析的 10 株 *S. flexneri* 菌株中有 1 株為 2b 血清型，9 株為 X 變異型，是台灣境內首次發現由該變異型別引發之群聚感染事件。行政院衛生署疾病管制局(以下簡稱疾管局)針對分離菌株進行藥物敏感性試驗供臨床用藥參考，並利用脈衝式電泳分子分型法分析菌株的 DNA 指紋圖譜，與疾管局建置之 *Shigella* DNA 指紋圖譜資料庫進行比對，確認菌株具有新的 DNA 指紋圖譜，且 2b 與 X 變異型菌株具遺傳上同源關係。為釐清此一新菌型的感染來源，由疾管局第二分局進行相關流行病學調查，惜未能追蹤到最初感染來源，但因菌株

- 西元 2008 年 8 月 19 日受理
- 通訊作者：邱乾順
- e-mail : nipmcsc@cdc.gov.tw
- 西元 2008 年 8 月 29 日接受刊載
- 聯絡地址：台中市文心南三路 20 號 5 樓



為台灣罕見血清型，且菌株圖譜和資料庫之外來 2b 血清型菌株最為接近，推測菌株可能源於境外。

關鍵字：群突發、桿菌性痢疾、脈衝式電泳、DNA 指紋圖譜

前 言

桿菌性痢疾(shigellosis)是由痢疾桿菌(*Shigella* spp.)所引起之急性腹瀉傳染病，為開發中國家主要的腹瀉疾病之一[1]，常見症狀有發燒、程度不等的下痢、噁心、嘔吐、腹痛以及粘液性血便等，且常出現無症狀感染者。該菌屬依其生化及抗原特性可分為四群，分別為 *S. dysenteriae* (A 群)、*S. flexneri* (B 群)、*S. boydii* (C 群)及 *S. sonnei* (D 群)。除了 D 群為單一血清型別(subserovar)外，根據傳統分類將 A、B、C 群可各細分為 15 種、13 種及 20 種血清型。在 *S. flexneri* 13 種血清型分別為 1a、1b、2a、2b、3a、3b、4a、4b、5a、5b、6、X variant 及 Y variant。但仍有一些屬無法分型者(nontypable)，然而隨著科學的演進，有些無法分型菌株已陸續被鑑定為新的血清型別，近年來 *S. flexneri* 1c 在埃及[2]、孟加拉[3]、越南[4]等地流行，另外 *S. flexneri* 4c 亦被建議成為一新的血清型別[5]，*S. flexneri* 4c 曾被報導在中國引發群聚感染[6]，2008 年在印度加爾各答舉辦之第 5 屆 PulseNet Asia Pacific 年會，亦有中國學者報告 *S. flexneri* 4c 最近在中國所引發之流行疫情。

根據衛生署疾病管制局(以下簡稱疾管局)傳染病倉儲系統資料顯示，台灣 2007 年桿菌性痢疾總確定病例數為 246 例，其中 45 例確認為境外移入病例，本土病例則為 201 例。分離之菌種以 *S. flexneri* 及 *S. sonnei* 為主，過去研究顯示，前者主要發現於山地鄉原住民部落間之流行感染[7]，後者則經常在平地鄉鎮地區引起群聚感染事件[8]，常見於人口密集機構如學校、精神照護及安養中心、監獄、軍隊等；人與人之間的接觸傳染是最主要的傳播模式，經由污染的食物與飲水也

常引發較大規模的流行[9]。而近年來，食品保存技術發達，國際食品貿易興盛，經由污染的食品引發的國際性桿菌性痢疾爆發流行時有所聞，例如 2007 年泰國出口的玉米筍曾造成丹麥與澳大利亞的 *S. sonnei* 感染流行事件[10]，或因飛機上提供之食物污染造成國際性痢疾群突發事件，例如 2004 年發生在日本與美國的 *S. sonnei* 群突發事件[11]。境外移入病例來源國多為東南亞國家，根據 2002~2006 年境外移入病例數資料統計，前 6 名感染來源國依序為印尼、中國、越南、泰國、柬埔寨以及印度。

脈衝式電泳技術(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)能有效應用於細菌病原株傳播途徑之追蹤，以及傳染病爆發流行事件之調查，亦為目前全球食因性疾病分子分型監測網—PulseNet 之標準分型技術。疾管局於 2002 年起建立標準化之 PFGE 操作流程，做為常規分析監測細菌菌株之用，所得到之 DNA 指紋圖譜經由專業電腦軟體—BioNumerics 分析後，再加入菌株之流病資訊，建置了包括 *Shigella* 等數種病原體的 DNA 指紋圖譜資料庫，可做為疾病監控與流病調查之技術平台，應用於疫情調查、追蹤感染來源。

材料與方法

疫情描述：

苗栗縣某精神專科醫院於 2008 年 3 月 26 日，有數名院民陸續出現發燒、腹瀉、嘔吐、血便等症狀，當天院方感控小組評估流行病學資料後，懷疑為急性腸胃道群聚感染，依規定通報衛生局，並進行採檢送驗程序，後續經實驗室確認致病原因為 *S. flexneri* 感染所引起之桿菌性痢疾。全案有 9 人出現症狀(發燒、腹瀉、血便、嘔吐)，其中 6 名檢體分離出病原體，另外接觸者採檢檢體中，有 6 名分離出病原體，是為無症狀感染者。該院於落實感控措施後，從 4 月 3 日起無新增病



例出現，所有個案依規定觀察兩週，於 4 月 17 日解除隔離。

機構相關背景：

該院為新成立之精神科專科醫院，主要收治急慢性精神病患、藥物濫用與酒癮病人。主建築為一棟 5 層樓建築，1 樓為日間留院病床、2 到 5 樓為急性病床；事件發生當時總計有 210 位住院者及 97 名工作人員。

人員及環境檢體調查採集：

- 一、環境調查：進行水源(含自來水與井水)和各樓層的飲水機和廁所水龍頭採檢，檢驗項目分為生菌數和致病性微生物培養；另在 4 月 2 日於各樓層廁所共 6 個區域施放紅色五號食用染料，從當天起至 4 月 5 日觀察紅色染料是否自水龍頭流出，藉此了解院內管線與蓄水槽是否有洩漏之情形。
- 二、人員檢體採檢：該院針對有症狀之個案及相關接觸者採集直腸拭子(rectal swab)檢體，由院內微生物實驗室初步篩檢，部份檢體直接送至疾管局研究檢驗中心中區實驗室(以下稱疾管局中區實驗室)檢驗，分離之菌株由疾管局中區實驗室進行確認與進行 PFGE 分子分型分析。苗栗縣衛生局負責追蹤該院合約便當供應商 14 名員工的健康狀況，並由院方進行檢體採檢與病原檢驗。

細菌分離培養與鑑定：

疾管局中區實驗室收到檢體(直腸拭子或分離菌株)後，首先培養於 Hekton Enteric (HE) 選擇性培養基(Creative Media Products, Ltd.、台灣)，置於 37°C 培養 18-20 小時後，挑選可疑之非發酵菌落(痢疾桿菌在 HE 培養基上呈現培養基之背景顏色，為墨綠色菌落)，次培養於 TSIA (Triple Sugar Iron Agar)、LIA (Lysine Iron Agar) 及 SIM (Sulfite-Indol-Motility) 三種鑑別培養基(Creative Media Products, Ltd.、台灣)進行生化試驗篩選。痢疾桿菌典型生化反應如下：TSIA 為紅/黃、H₂S 陰

性、不產氣；LIA之Lysine不發酵(陰性)和SIM運動性陰性，符合該項生化要件者再以*Shigella*抗血清(DENKA SEIKEN Co., Ltd、日本)進行血清凝集試驗鑑定與分型，並以API20E商業套組(bioMerieux、法國)進行生化代謝鑑定確認。

藥物敏感性試驗：

以紙錠擴散法(disk diffusion method)進行藥物敏感性試驗。測試之抗生素分別為amikacin (AN, 30 µg)、ampicillin (AM, 10 µg)、cefazolin (CZ, 30 µg)、cefixime (CFM, 5 µg)、cefotaxime (CTX, 30 µg)、cephalothin (CF, 30 µg)、chloramphenicol (C, 30 µg)、ciprofloxacin (CIP, 5 µg)、gentamicin (GM, 10 µg)、kanamycin (K, 30 µg)、nalidixic acid (NA, 30 µg)、norfloxacin (NOR, 10 µg)、ofloxacin (OFX, 5 µg)、streptomycin (S, 10 µg)、tetracycline (TE, 30 µg)、tobramycin (NN, 10 µg)以及trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT)等共計 16 種。使用*Escherichia coli* ATCC 25922 為標準菌株，培養 18-24 小時後依其藥物的抑制圈大小(mm)判讀，依據臨床及實驗室標準機構(CLSI、原NCCLS)所發表的的細菌抗藥測試準則判定，分為 R (resistance，抗藥性)、S (susceptible，感受性)、I (intermediate，中間型)結果表示。

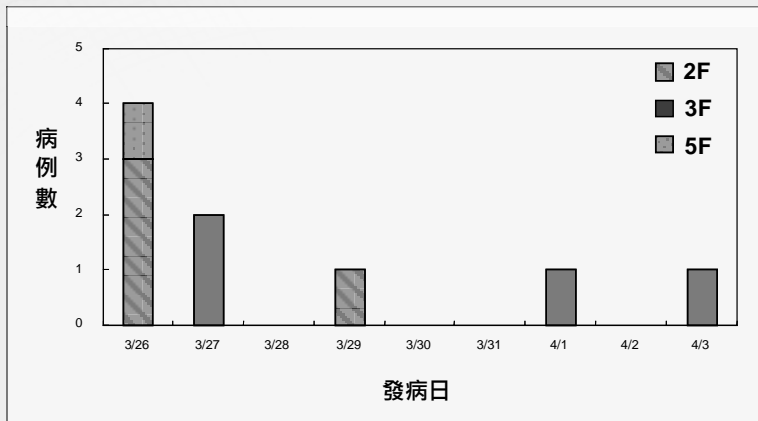
PFGE 圖譜分析與資料庫比對：

依照本局已建立之 PFGE 標準化操作流程，即美國疾病管制中心 PulseNet 實驗室使用之 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* 及 *Shigella* 之標準化 PFGE 操作方法[12]，進行菌株之包埋、菌體分解與膠體清洗工作。染色體 DNA 分別以 *NotI* 與 *XbaI* 酵素進行切割後進行膠體電泳分析，經 ethidium bromide 染色後拍照儲存為 TIFF 影像檔，以 BioNumerics (Applied Maths, Kortrijk, Belgium)圖譜分析軟體進行分析，將結果結合菌株流病資料輸入疾管局之 *Shigella* DNA 指紋資料庫，並與資料庫既存資料比對，建立菌株親緣關係樹狀圖。

結果與討論

實驗室於該波疫情中分析的 10 株 *S. flexneri* 菌株，其中 9 株血清凝集結果為 X 變異型、1 株為 2b。歸納此群突發感染事件，菌株包含 2b 與突變的 X 變異型。

觀察流行病學曲線圖(圖一)發現，病例人數突然出現後趨緩，疫情呈現偏左的單一波峰，個案並散發於各樓層與病房，傳播方式可能為有些病例先暴露於共同感染源後，再經由人與人接觸而感染其他病例。



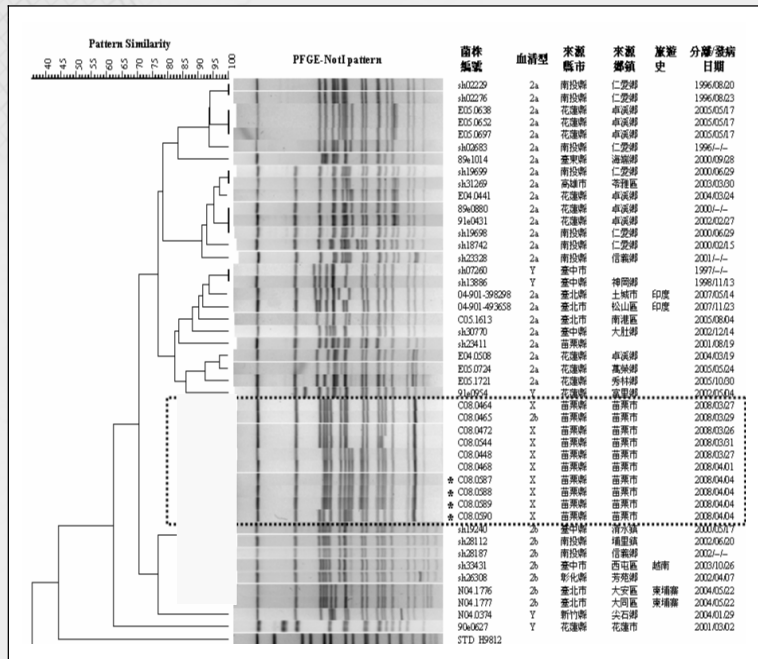
圖一、2008 年苗栗縣某精神專科醫院桿菌性痢疾病例分佈圖

註：本次事件的 15 名案例中，出現症狀人數為 9 名，時序分布如圖所示。

於調查感染來源方面，在院內水源生菌數和致病性微生物培養部分，除有一份檢體有大腸桿菌數超出正常值外，無分離出 *Shigella* spp.。化糞池投置紅色染料調查院內供水管線與蓄水池是否受到污染，亦未見有化糞池洩漏污染之情形，水源感染之可能性低。在人員交流部份，衛生局食品衛生課曾追蹤機構合約之便當供應商員工的健康狀況，皆無異常，院方也進行便當員工之直腸拭子檢體檢驗，結果

皆為陰性。在病患之間的交流情形方面則是定期會於 1 樓進行團體性的職能治療活動，此外，病患亦有進出院的情形，然而對精神疾患追查感染來源則有其限制。由於此次分離的菌株其血清型別屬於本土罕見之 2b 與 X 變異型，推測可能是境外來源，因此針對此一方向進行實地訪查疫調；院內所有員工及編制內的外籍看護皆無出現相關症狀，2 個月內無人有出入境紀錄。現有之外籍員工皆為創院時同期聘用，並依相關規範定期健檢，近期無新進員工。將調查方向調整為是否由外來訪客傳入，查訪個案相關之家屬及新住民家眷部份，雖沒有進行採檢但也無明確之資訊，供推測感染來源。可惜經由多方面的調查，仍無法追查到確切的感染來源。

目前 *Shigella* DNA 指紋圖譜資料庫共計有 2,130 株菌株資料，*S. dysenteriae*、*S. flexneri*、*S. boydii*、*S. sonnei* 分別為 5、856、3 與 1266 株；在 *S. flexneri* 部分，具有血清型分型之資料者計有 807 筆，依數量比例分別為 2a 有 585 筆(主要流行於山地鄉原住民部落間)、4a 有 136 筆(流行於東部)、1a 和 1b 分別有 29 筆與 17 筆(曾於南部造成流行)，其它曾經分離出的型別則為 3b、2b、3a、Y 變異株以及 6。由於此次分離菌株的型別包括 2b 與 X 變異型，為探討此兩種血清型菌株之親緣關係，與之前台灣 *Shigella* 分離株間之流行關係，菌株由疾管局中區實驗室進行 PFGE 分子分型分析，圖譜與疾管局之 *Shigella* DNA 指紋圖譜資料庫進行比對。圖二是群突發菌株和資料庫內圖譜相似度高之菌株的親緣關係樹狀圖，該圖顯示本起事件之分離株具有新的圖譜，其圖譜與資料庫內之菌株圖譜沒有相同者；本事件分離株共計有 4 種 PFGE 圖譜，圖譜間具高相似度且形成一個群落(cluster)，推測本起事件為同源菌株所引發之群聚感染。



圖二、Shigella flexneri 菌株親緣關係樹狀圖

註：圖表中的菌株包含本次群聚感染中的 10 株菌株與衛生署疾病管制局 Shigella DNA 指紋圖譜資料庫中圖譜相似度較高之菌株。STD H9812 為 Salmonella serotype Braenderup，為標準化 PFGE 操作使用之標準分子標誌。分離自無症狀感染者之 4 株群突發菌株以星號標示。

此外，由分析結果得知血清型 2b 之菌株與另兩株 X 變異型的菌株具有相同之 PFGE 圖譜，加上 2b 與 X 變異型的區別在於型血清 II 凝集陽性與否(2b 為型血清 II 陽性及群血清 7,8 陽性；X 變異型為型血清 II 陰性及群血清 7,8 陽性)，再連結先前學者提出的血清型轉換機制研究—從 2a 轉換為 Y 變異型[13]的理論基礎，能進一步推測 X 變異型由 2b 血清型菌株經由基因的變異演化而來的可能性，然這樣的推論仍需進行更多的分生學研究始能確認。綜合上述結果得知該菌株在短時間內即累積相當大的遺傳上的變異，基因體結構出現 4 種 PFGE 圖

譜，顯示該菌株遺傳上的不穩定；同一群突發事件分離株出現多種相近 PFGE 圖譜的情形，亦曾見於之前的苗栗縣南庄鄉與台中縣和平鄉桿菌性痢疾群突發事件之 *S. sonnei* 分離株中[14]，可見痢疾桿菌之高變異度與 PFGE 之高分型效力。此外，6 名無症狀帶原者中之 3 株分離株與 2 名病例之分離菌株呈現相同圖譜，佐證其有相同的感染來源。

圖二亦顯示本事件分離株與資料庫之一群血清型 2b 之菌株具有最近的親緣關係，這群菌株分離期間為 2000 年至 2004 年，菌株當中有來自越南與柬埔寨者。由於台灣少有桿菌性痢疾的流行，偶而山地鄉有 *S. flexneri* 的流行，但血清型以 2a 為主，血清型 2b 菌株在台灣相當罕見，這些罕見血清型菌株很有可能是源於境外。

在分離菌株抗藥性的測試結果方面，其中對 ampicillin、streptomycin、tetracycline、chloramphenicol、trimethoprim/sulfamethoxazole 呈現抗藥性；前述具演化上差異的 4 種 PFGE 圖譜菌株間其抗藥性試驗結果並無明顯差異。Trimethoprim/sulfamethoxazole 在過去曾被廣泛地用在腸道感染症，不過目前痢疾桿菌廣泛對此抗生藥性具有抗藥性。根據資料庫資料顯示，大多數國內分離之菌株對 nalidixic acid 具有抗藥性，而境外感染之分離株幾乎全對 nalidixic acid 具有敏感性，此次事件中，雖然未能追蹤到菌株之確切來源，因菌株血清型為台灣罕見之 2b/X 變異型，且菌株對 nalidixic acid 具有敏感性，推測本事件之菌株很可能屬於境外移入來源。

致 謝

感謝苗栗縣衛生局以及該醫院感染控制人員的辛勞；疾病管制局第二分局同仁、防疫醫師陳如欣、李品慧、趙雁南、林千惠、流病班江大雄博士等相關同仁協助資料收集與提供寶貴意見。



參考文獻

1. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, et al. Global burden of shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ* 1999; 77: 651-66.
2. El-Gendy A, El-Ghorab N, Lane EM, et al. Identification of *Shigella flexneri* subserotype 1c in rural Egypt. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 873-4.
3. Talukder KA, Islam Z, Islam MA, et al. Phenotypic and genotypic characterization of provisional serotype *Shigella flexneri* 1c and clonal relationships with 1a and 1b strains isolated in Bangladesh. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 110-7.
4. Stagg RM, Cam PD, Verma NK. Identification of newly recognized serotype 1c as the most prevalent *Shigella flexneri* serotype in northern rural Vietnam. *Epidemiol Infect* 2007; 1-7.
5. Pryamukhina NS, Khomenko NA. Suggestion to supplement *Shigella flexneri* classification scheme with the subserovar *Shigella flexneri* 4c: phenotypic characteristics of strains. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1147-9.
6. Zhang W, Pan JC, Meng DM, et al. PFGE of *Shigella flexneri* 4c isolates from food-poisoning outbreaks and sporadic diarrhea patients. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2007; 41: 50-3.
7. Chen JH, Chiou CS, Chen PC, et al. Molecular epidemiology of *Shigella* in a Taiwan township during 1996 to 2000. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3078-88.
8. Lin CS, Wang TK, Tsai CL, et al. Analysis of relationships between several *Shigella sonnei* outbreaks in the Taoyuan area of Taiwan. *Epidemiol Bull*, 2001; 17: 83-97.
9. Mohle-Boetani JC, Stapleton M, Finger R, et al. Communitywide shigellosis: control of an outbreak and risk factors in child day-care centers. *Am J Public Health* 1995; 85: 812-6.
10. Lewis HC, Kirk M, Ethelberg S, et al. Outbreaks of shigellosis in Denmark and Australia associated with imported baby corn, August 2007--final summary. *Euro Surveill* 2007; 12: 2.
11. Terajima J, Tosaka N, Ueno K, et al. *Shigella sonnei* outbreak among Japanese travelers returning from Hawaii. *Jpn J Infect Dis* 2006; 59: 282-3.
12. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella*

- for PulseNet. Foodborne Pathog Dis 2006; 3: 59-67.
13. Chen JH, Hsu WB, Chiou CS, et al. Conversion of *Shigella flexneri* serotype 2a to serotype Y in a shigellosis patient due to a single amino acid substitution in the protein product of the bacterial glucosyltransferase gtrII gene. FEMS Microbiol Lett 2003; 224: 277-83.
 14. Tsai SH, Chen AJ, Wang YW, et al. Confirmation of homologous strains as the cause of bacillary dysentery outbreaks in Nanjhuang Township of Miaoli County and Heping Township of Taichung County by molecular epidemiology. Taiwan Epidemiol Bull 2006; 22: 453-70.