

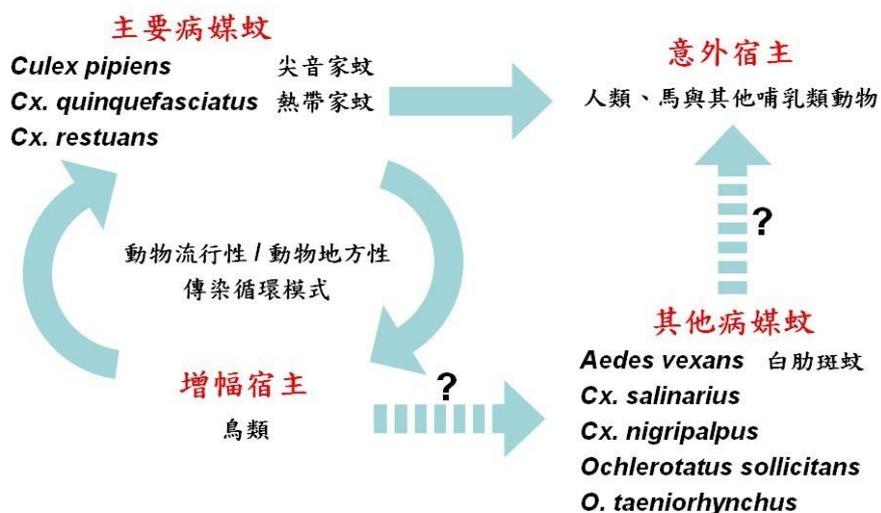
創刊日期：1984 年 12 月 15 日
 出版機關：行政院衛生署疾病管制局
 發行人：張峰義
 總編輯：賴明和
 執行編輯：吳麗琴、劉繡蘭
 電話：(02) 2395-9825
 地址：臺北市中正區林森南路 6 號
 網址：http://teb.cdc.gov.tw/
 文獻引用：
 [Author].[Article title].Taiwan Epidemiol Bull 2010;26:[Inclusive page numbers].

於黃病毒科(family Flaviviridae)，黃病毒屬(genus Flavivirus)，為日本腦炎病毒血清群(Japanese encephalitis virus serogroup)之一員，此一血清群包括在亞洲流行的日本腦炎病毒、美洲的聖路易腦炎(St. Louis encephalitis)病毒、澳洲的墨瑞谷腦炎(Murray Valley encephalitis)病毒與Kunjin病毒等[2]。

傳染途徑

蚊子為西尼羅病毒主要之傳染媒介。自1999年以來，美國已有64種蚊種被檢驗出帶有西尼羅病毒，其中尖音家蚊(*Culex pipiens* L.)、熱帶家蚊(*Cx. quinquefasciatus* Say)與*Cx. restuans* Theobald為最主要之病媒蚊，此外*Cx.*

tarsalis Coquillett、*Cx. nigripalpus* Theobald、*Cx. salinarius* Coquillett、白線斑蚊(*Aedes albopictus* Skuse)、*Ae. triseriatus* Say、白肋斑蚊(*Ae. vexans* Meigen)等亦有能力感染西尼羅病毒[3]。鳥類為病毒主要的保毒宿主(reservoir host)和增幅宿主(amplifying host)，病媒蚊藉吸取高病毒血症期鳥類的血液而感染，病毒可在病媒蚊體內經約10日增殖後，存在病媒蚊唾腺內，藉蚊→鳥類→蚊形成動物流行性(epizootic)或動物地方性(enzootic)傳染循環模式，維持病毒存活於自然界中(圖)[4]。感染病毒的病媒蚊亦可叮咬人、馬與其他哺乳類動物等意外宿主(incidental host)或最終宿主(dead-end host)而使其感染發病。人被此病毒感染後有80%病患無症狀，約20%病患會產生自限性發燒症狀，稱為西尼羅熱(West Nile fever)。此外，病毒也可能進入腦內，引發西尼羅腦炎(West Nile encephalitis)。因西尼羅病毒無法在哺乳類動物體內大量增殖發展成高病毒血症，故病媒蚊無法藉叮咬已感染病毒之病人而傳播病毒，且人、哺乳類動物與鳥類之間不會因直接接觸而感染病毒。此外，少部分病例可藉由輸血、器官移植、哺乳與親子垂直感染而感染[3]。



圖、西尼羅病毒之傳播途徑 [4]

流行病學

此病毒最早於1937年自烏干達西尼羅區一位發燒婦人的血液中分離出，故命名為西尼羅病毒。此病毒廣泛分布於非洲、歐洲、北美洲、中東、中西亞與澳洲等地區。1996年，在羅馬尼亞發生大規模流行，造成逾500個病例與約10%的致死率，為近年來歐洲發生最大的蟲媒病毒性疾病[5]。1999年，美國紐約市則首度發生西尼羅病毒腦炎的群聚事件，共59個病例，其中37人具腦炎症狀，7人死亡，為該病毒首次出現於西半球[6]。經分子流行病學證明該年美國流行病毒株與1998年以色列所分離之病毒株具高相似度，故推測美國流行之西尼羅病毒可能源自於中東地區[7]，但進入美國之模式仍未明。2001年，美國已有10州通報66例人類感染西尼羅病毒的病例；2005年，美國22州共通報187個病例；在2008年，美國境內感染西尼羅病毒的病例已增至1,356個，其中44個病例死亡，且除了阿拉斯加、緬因州、新罕普什爾州與佛蒙特州等4州外，其他46州皆有疫情發生[8]，顯見西尼羅病毒感染症在美國已日益嚴重且形成地方性傳染病。

台灣發生西尼羅熱之風險評估

以下依病媒蚊、增幅宿主、病毒進入台灣之可能途徑與日本腦炎疫苗交叉保護力等四面向，評估台灣發生西尼羅熱之風險：

一、台灣現存病媒蚊：

依美國疾病控制和預防中心自1999年以來的資料，共64種蚊種可感染西尼羅病毒。台灣歷史紀錄共發現132種蚊種[9]，經比對後，其中5種符合美國疾病控制和預防中心所列之病媒蚊，分別為白線斑蚊、埃及斑蚊(*Ae. aegypti* L.)、白肋斑蚊、地下家蚊與熱帶家蚊。依不同病媒蚊吸血習性的差異，可能影響病毒感染人類的機會。白線斑蚊、埃及斑蚊與白肋斑蚊等嗜好吸取哺乳類動物血液而非鳥類，故不易將病毒在鳥類間散播，僅扮演傳

播西尼羅病毒之次要角色。尖音家蚊為東北、中北美洲與歐洲主要的西尼羅病毒病媒蚊，因習性主要叮咬鳥類，易將病毒在鳥類之間傳播，並可藉交通工具攜帶而將病毒散播世界各地[10]。台灣並無尖音家蚊，但存在與尖音家蚊親源相近的地下家蚊(*Cx. pipiens form molestus* L.)，嗜好叮咬哺乳類動物，尤以人類為最[11]。已有研究指出尖音家蚊和地下家蚊的雜交情況已在美國境內普遍發生，此雜交種具備叮咬人與鳥類的習性，故更易將病毒自鳥類傳染給人[10]。熱帶家蚊具叮咬鳥類和哺乳類動物的習性，有研究顯示自美國寇琪拉山谷(Coachella Valley)和橘郡(Orange County)收集的熱帶家蚊，對於西尼羅病毒感染率皆較貝克斯菲爾德市(Bakersfield)所收集的為差，推測病媒蚊於相異的地理分布可能對病毒具有不同敏感性和傳播率，表示即使是相同病媒蚊種，亦未必皆可有效地傳播病毒[12]。依衛生署疾病管制局2005年台灣病媒蚊帶西尼羅病毒監測研究結果顯示，針對收集的933隻蚊子中，包括65隻熱帶家蚊、1隻白肋斑蚊與249隻白線斑蚊，利用即時反轉錄聚合酶鏈反應(real-time reverse transcription polymerase chain reaction)進行西尼羅病毒檢測，結果均為陰性。以上結果或許可部份解釋台灣至今仍未有西尼羅熱本土病例的發生。此外，不存在於美國境內而遍佈台灣的三斑家蚊(*Cx. tritaeniorhynchus* Giles)，不但為日本腦炎病毒之主要病媒蚊，且具有叮咬鳥類和哺乳類動物的習性[13]，依印度研究顯示，三斑家蚊可感染西尼羅病毒並使其成功增殖[14]，表示三斑家蚊可能為自然界中西尼羅病毒之潛在病媒蚊。

二、台灣現有鳥類增幅宿主：

經美國疾病控制和預防中心統計，自1999年以來已有326種鳥類可自死鳥屍體中檢驗出西尼羅病毒[15]。查詢農業委員會特有生物研究保育中心-台灣野生動物資料庫[16]與台灣大學動物博物館-鳥類資料庫[17]顯

示，超過 600 種鳥類曾於台灣現蹤，經學名比對後，共 46 種鳥類符合美國疾病控制

和預防中心所列可感染西尼羅病毒之鳥類，如表所示。其中 4 種冬候鳥，包括尖

表、與美國疾病控制和預防中心比對後台灣可能感染西尼羅病毒之鳥類

中文名	英文俗名	學名	定居性	族群狀況
蒼鷹	Northern goshawk	<i>Accipiter gentilis</i>	迷鳥	—
美洲鴛鴦	Wood duck	<i>Aix sponsa</i>	—	—
尖尾鴨	Northern pintail	<i>Anas acuta</i>	冬候鳥	普遍種
赤頸鴨	Eurasian wigeon	<i>Anas penelope</i>	冬候鳥	普遍種
綠頭鴨	Mallard	<i>Anas platyrhynchos</i>	冬候鳥	普遍種
白額雁	Greater white-fronted goose	<i>Anser albifrons</i>	迷鳥	—
翻石鵲	Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	冬候鳥	普遍種
短耳鴞	Short-eared owl	<i>Asio flammeus</i>	冬候鳥	稀有種
長耳鴞	Long-eared owl	<i>Asio otus</i>	冬候鳥	稀有種
斑背潛鴨	Greater scaup	<i>Aythya marila</i>	冬候鳥	稀有種
帆背潛鴨	Canvasback	<i>Aythya valisineria</i>	迷鳥	—
小加拿大雁	Canada goose	<i>Branta canadensis</i>	—	—
黃頭鷺	Cattle egret	<i>Bubulcus ibis</i>	留鳥	普遍種
鵲鴨	Common goldeneye	<i>Bucephala clangula</i>	迷鳥	—
毛足鷹	Rough-legged hawk	<i>Buteo lagopus</i>	迷鳥	—
番鴨	Muscovy duck	<i>Cairina moschata</i>	—	外來種
家鴿	Rock pigeon	<i>Columba livia</i>	留鳥	普遍種
鵠	Tundra swan	<i>Cygnus columbianus</i>	迷鳥	—
瘤鵠	Mute swan	<i>Cygnus olor</i>	迷鳥	—
紅色吸蜜鸚鵡	Red lory	<i>Eos bornea</i>	—	外來種
隼	Peregrine falcon	<i>Falco peregrinus</i>	過境鳥	稀有種
矛隼	Gyr falcon	<i>Falco rusticolus</i>	—	—
紅冠水雞	Common moorhen	<i>Gallinula chloropus</i>	留鳥	普遍種
松鴉	Eurasian jay	<i>Garrulus glandarius</i>	留鳥	普遍種
家燕	Barn swallow	<i>Hirundo rustica</i>	留鳥/夏候鳥	普遍種
裏海燕鷗	Caspian tern	<i>Hydroprogne caspia</i>	冬候鳥	—
黑脊鷗	Herring gull	<i>Larus argentatus</i>	冬候鳥	稀有種
灰翅鷗	Glaucous-winged gull	<i>Larus glaucescens</i>	—	—
斑文鳥	Nutmeg mannikin	<i>Lonchura punctulata</i>	留鳥	普遍種
紅交嘴鳥	Red crossbill	<i>Loxia curvirostra</i>	—	—
虎皮鸚鵡	Budgerigar	<i>Melopsittacus undulatus</i>	—	外來種
白秋沙	Smew	<i>Mergellus albellus</i>	迷鳥	—
川秋沙	Common merganser	<i>Mergus merganser</i>	迷鳥	—
夜鷺	Black-crowned night heron	<i>Nycticorax nycticorax</i>	留鳥	普遍種
玄鳳鸚鵡	Cockatiel	<i>Nymphicus hollandicus</i>	—	外來種
魚鷹	Osprey	<i>Pandion haliaetus</i>	留鳥	普遍種
印度藍孔雀	Common peafowl	<i>Pavo cristatus</i>	—	—
海鸕鷀	Pelagic cormorant	<i>Phalacrocorax pelagicus</i>	迷鳥	—
環頸雉	Ring-necked pheasant	<i>Phasianus colchicus</i>	留鳥	普遍種
深紅玫瑰鸚鵡	Crimson rosella	<i>Platycercus elegans</i>	—	外來種
灰沙燕	Bank swallow	<i>Riparia riparia</i>	過境鳥	稀有種
金絲雀	Common canary	<i>Serinus canaria</i>	—	外來種
灰林鴞	Tawny owl	<i>Strix aluco</i>	留鳥	稀有種
歐洲椋鳥	European starling	<i>Sturnus vulgaris</i>	迷鳥	—
彩虹吸蜜鸚鵡	Rainbow lorikeet	<i>Trichoglossus haematodus</i>	—	外來種
鶉鶉	Winter wren	<i>Troglodytes troglodytes</i>	留鳥	普遍種

備註：1.迷鳥：受颱風等因素影響而迷失方向，偏離遷移路線飛到本地的鳥類。

2.—：無記錄。

3.冬候鳥：秋天時由北方南下前來本地過冬，翌年的春天才北返的候鳥。

4.留鳥：終年可在同一地區觀察的鳥種，不隨季節變化而遷移。

5.過境鳥：遷移過程中，在本地短暫停留的候鳥。

6.夏候鳥：春天時由南方北上前來本地繁殖，秋天時才返回南方的候鳥。

尾鴨(northern pintail)、赤頸鴨(eurasian wigeon)、綠頭鴨(mallard)與翻石鸕(ruddy turnstone)等及 10 種留鳥,包括黃頭鷺(cattle egret)、家鴿(rock pigeon)、紅冠水雞(common moorhen)、松鴉(eurasian jay)、家燕(barn swallow)、斑文鳥(nutmeg mannikin)、夜鷺(black-crowned night heron)、魚鷹(osprey)、環頸雉(ring-necked pheasant)與鷓鴣(winter wren)等均為台灣常見普遍種,此外也可發現 7 種外來種鳥類,包括番鴨(muscovy duck)、紅色吸蜜鸚鵡(red lory)、虎皮鸚鵡(budgerigar)、玄鳳鸚鵡(cockatiel)、深紅玫瑰鸚鵡(crimson rosella)、金絲雀(common canary)、彩虹吸蜜鸚鵡(rainbow lorikeet)等,皆為潛在感染西尼羅病毒之鳥類,顯示台灣有引發西尼羅病毒感染風險之虞。2006 年農業委員會家畜衛生試驗所即利用即時聚合酶鏈反應監測台灣野鳥之西尼羅帶毒情形,針對台灣 4,626 件野鳥檢體進行檢測,結果均為陰性,表示台灣截至 2006 年為止,西尼羅病毒尚未入侵台灣[18]。

三、病毒進入台灣之可能途徑

台灣位於東亞候鳥遷移路線上重要的驛站,冬候鳥於每年入秋時由西伯利亞經中國、韓國、日本再到台灣,而夏候鳥則於每年暖春時由印度經中國飛抵台灣。因西伯利亞與印度過去皆有西尼羅熱的疫情,故病毒可能經候鳥攜帶而進入台灣,再藉由適合的病媒蚊叮咬而傳播病毒。病毒亦可能經疫區進口觀賞鳥而進入台灣,若帶病毒之觀賞鳥未經機場或港口之檢疫程序而藉走私進入台灣,如鸚鵡或金絲雀等,可能再經適合之病媒蚊叮咬而傳播病毒。此外,已感染病毒之病媒蚊也可能隨飛機或船等運輸工具而將病毒移入台灣,故針對境外輸入鳥類之檢疫與機場港口之滅蚊工作仍不可掉以輕心。

四、日本腦炎疫苗交叉保護力

目前已有許多國家普遍使用減毒或去活化之日本腦炎疫苗,因西尼羅病毒為日本

腦炎病毒血清群之一員,故有文獻探討日本腦炎病毒與西尼羅病毒之交叉反應,其中已在倉鼠(hamster)上獲得證實。施打減毒日本腦炎疫苗之倉鼠,感染西尼羅病毒後病毒血症之效價不但較控制組為低,更可有效抵抗腦炎與降低死亡率[19]。此外,亦有文獻指出人類接種日本腦炎疫苗後雖無法產生對西尼羅病毒交叉反應之中和抗體,顯示無法避免西尼羅病毒感染,但對減少該病之嚴重性可能提供助益[20]。台灣自 1968 年開始全面實施日本腦炎疫苗接種,依衛生署疾病管制局 2004 年研究結果顯示,全台灣 15-90 歲人口平均日本腦炎抗體陽性率為 71% [21],另外根據衛生署疾病管制局 2008 年的資料統計指出,台灣現行日本腦炎疫苗預防接種為每一小孩共須接種四劑,其中第二劑、第三劑與第四劑的接種率分別高達 94.9、91.8 與 99.1% [22],顯示在台灣日本腦炎族群免疫力下,可能減少感染西尼羅熱之風險。或許可部份解釋西尼羅病毒為何較難出現於普遍接種日本腦炎疫苗之亞洲國家。

討論

病媒蚊在西尼羅病毒傳播上扮演十分重要的角色,因病毒需藉病媒蚊叮咬其他宿主而傳染。美國於每年 6 月到 11 月,因氣候溫暖潮濕,有利病媒蚊活動與繁殖,故為好發西尼羅熱之時節。依美國 2001-2004 年研究顯示,所有帶病毒病媒蚊中,逾 80% 為家蚊,值得注意的是美國南部的熱帶家蚊從 2001 年佔所有帶病毒病媒蚊的 2.1% 快速增加到 2004 年的 51.1% [1]。雖然目前台灣病媒蚊對西尼羅病毒之感受性仍未明,但因熱帶家蚊和地下家蚊等兩種家蚊遍佈台灣,若台灣的家蚊對西尼羅病毒感染率增強,或尖音家蚊境外移入台灣與本土地下家蚊雜交,則皆可能增加發生西尼羅熱的潛在危機。

鳥類為西尼羅病毒在自然界中最重要之宿主。台灣共有四種普遍種之冬候鳥有感

染西尼羅病毒之風險，包括尖尾鴨、赤頸鴨、綠頭鴨與翻石鸕等，於入秋時來台過冬。雖秋冬季的病媒蚊數量較春夏季為低，但台灣位於亞熱帶和熱帶地區，在秋冬季仍可見病媒蚊活動，尤以南部地區為最。除了候鳥可能將病毒自境外帶入台灣外，台灣境內值得注意可能感染西尼羅病毒的普遍種留鳥有三種，分別為家鴿、家燕與樹麻雀(*tree sparrow, Passer montanus*)。近年來台灣大樓林立，家鴿常在大樓的冷氣孔或水塔上築巢繁殖，與人類比鄰而居。文獻指出於 2002-2003 年間，自美國亞特蘭大採樣的 499 隻家鴿中共可檢測出 128 隻(25.7%)具有抗西尼羅病毒抗體，同研究亦檢測流行時期採樣的 269 隻家鴿，有 11 隻(4.1%)處於病毒血症期，顯示西尼羅病毒確實可有效地感染家鴿[23]。家燕除了為台灣普遍之留鳥，亦為春天時來台之夏候鳥，由於家燕來台避暑時期正逢台灣病媒蚊蟲繁殖旺盛的時節，更增加傳播西尼羅病毒之潛在風險，尤其自古家燕到家築巢多認為是吉祥象徵，故住家多不驅趕，甚至會協助以木板或鐵網幫助支撐由泥土築成的燕巢。所幸依 2009 年法國的研究結果，檢測超過 1000 隻家燕之抗西尼羅病毒抗體皆為陰性[24]，顯示家燕感染西尼羅病毒能力有限。此外，家麻雀(*house sparrow, P. domesticus*)為美國疾病控制和預防中心公佈可感染西尼羅病毒的鳥類之一，台灣雖無家麻雀，但住屋附近之電纜線與樹上則四處可見樹麻雀的蹤跡。依波蘭過去研究指出，於 33 隻樹麻雀中，共 12.1%的比例可偵測出抗西尼羅病毒抗體[25]，顯示樹麻雀極可能為西尼羅病毒之宿主。以上三種鳥類除了在台灣普遍可見，其活動與習性亦多適應了人類都市化的生活，故相較於其他候鳥與過境鳥，具有較高傳染西尼羅病毒的潛在風險。

台灣目前尚未有西尼羅熱的病例發生，且鄰近亞洲各國，包括日本、南韓、中國等皆未曾有西尼羅熱的報導。日本於2004

年4月至2007年3月間進行全國之西尼羅病毒監測，利用反轉錄聚合酶鏈反應分析此3年間所收集共742隻死鳥與32,145隻病媒蚊，結果皆為陰性，顯示西尼羅病毒尚未入侵日本[26]。除了上述所列台灣具西尼羅病毒感染潛在風險的病媒蚊與鳥類外，未列在美國疾病控制和預防中心公佈名單的台灣蚊類或鳥類，亦不代表完全不會有被病毒感染之虞，依西尼羅病毒入侵美國的前車之鑑，仍需審慎以對。除了需定期清除病媒蚊孳生源外，針對鳥類抗西尼羅病毒血清的檢測與鳥類帶病毒監測系統的建立，實為防治西尼羅熱當務之急。

參考資料

1. Hayes EB, Komar N, Nasci RS, et al. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1167-73.
2. Solomon T. Flavivirus encephalitis. *N Engl J Med* 2004;351:370-8.
3. CDC. Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States: Guidelines for surveillance, prevention, and control. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/resources/wnvguidelines2003.pdf>
4. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, et al. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002;2:519-29.
5. Le Guenno B, Bougermouh A, Azzam T, et al. West Nile: a deadly virus? *Lancet* 1996;348:1315.
6. Nash D, Mostashari F, Fine A, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* 2001;344:1807-14.
7. Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, et al. Origin of the West Nile virus responsible

- for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 1999; 286:2333-7.
8. CDC. West Nile Virus Home. Statistics, surveillance, and control. Available at: http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount08_detailed.htm
 9. Jih-Ching Lien: Pictorial keys to mosquitoes of Taiwan. First edition. Yihsient publishing company, Taipei. 2004; 166-171.
 10. Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcolm CA, et al. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science* 2004;303:1535-8.
 11. Spielman A, Andreadis TG, Apperson CS, et al. Outbreak of West Nile virus in North America. *Science* 2004;306:1473-5.
 12. Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, et al. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2002;8:1385-91.
 13. Chang MC, Teng HJ, Chen CF, et al. The resting sites and blood-meal sources of *Anopheles minimus* in Taiwan. *Malar J* 2008;7:105.
 14. Ilkal MA, Mavale MS, Prasanna Y, et al. Experimental studies on the vector potential of certain *Culex* species to West Nile virus. *Indian J Med Res* 1997;106: 225-8.
 15. CDC. West Nile Virus Home. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/birdspecies.htm>
 16. Endemic Species Research Institute, Council of agriculture - Taiwan wildlife database. Available at: <http://61.57.41.11/twd/default.asp>
 17. Digital Museum of Zoology, National Taiwan University - Bird Database, Available at: http://archive.zo.ntu.edu.tw/bird_list.asp
 18. Yu-Bin Liu, Kuang-Cheng Chang, Ming-Chu Cheng, et al. The establishments of detection of West Nile virus from wild birds and surveillance in 2006 in Taiwan. *Animal Health Research Institute Research Report* 2007;42:51-60.
 19. Tesh RB, Travassos da Rosa AP, Guzman H, et al. Immunization with heterologous flaviviruses protective against fatal West Nile encephalitis. *Emerg Infect Dis* 2002 ; 8:245-51.
 20. Yamshchikov G, Borisevich V, Kwok CW, et al. The suitability of yellow fever and Japanese encephalitis vaccines for immunization against West Nile virus. *Vaccine* 2005 15;23:4785-92.
 21. The surveillance of Japanese encephalitis neutralizing antibody prevalence in the Taiwanese above 15 years old. Available at: <http://www.cdc.gov.tw/ct.asp?xItem=12597&ctNode=1679&mp=1>
 22. Taiwan CDC. The annual statistics and surveillance reports of infectious diseases in 2008.
 23. Allison AB, Mead DG, Gibbs SE, et al. West Nile virus viremia in wild rock pigeons. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:2252-5.
 24. Balanca G, Gaidet N, Savini G, et al. Low West Nile virus circulation in wild birds in an area of recurring outbreaks in Southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009;9 :737-41.
 25. Juricova Z, Pinowski J, Literak I, et al. Antibodies to alphavirus, flavivirus, and bunyavirus arboviruses in house sparrows

- (*Passer domesticus*) and tree sparrows (*P. montanus*) in Poland. *Avian Dis* 1998; 42:182-5.
26. Shirafuji H, Kanehira K, Nishiguchi A, et al. Nationwide surveillance of West Nile virus targeting mosquitoes and dead birds from April 2004 through March 2007 in Japan. *Zoonoses Public Health*. 2010 Feb 16.

嘉義縣多重血清型退伍軍人菌院內感染事件之分子流行病學調查

鄭麗容、張瑞炘、譚家凱
陳英彥、慕蓉蓉、江春雪、吳和生

衛生署疾病管制局研究檢驗中心

摘要

院內感染退伍軍人症在歐美各國已普遍受到重視，醫院內退伍軍人菌之傳染窩主要為自來水供應系統，其傳播途徑為吸入遭此菌污染的水霧。院內感染退伍軍人症的死亡率是社區感染的兩倍，慢性病患者與器官移植病人較容易受到感染，台灣少有院內感染退伍軍人症的個案報告，實際感染情況可能被低估。醫院供水系統的水質監控是預防院內感染的第一道防線，從環境水體定期分離培養退伍軍人菌有助於預防院內感染的發生。疾病管制局於 2007 年 8 月接獲一件嘉義縣某醫院通報個案，檢驗結果證實為嗜肺退伍軍人菌血清型第一型陽性，並從此醫院之水龍頭檢體中分離到嗜肺退伍軍人菌血清型第一型及第六型環境菌株，經脈衝式電泳(PFGE)比對，此醫院環境菌株與個案臨床分離菌株有高度相似之 PFGE 圖譜。2008 年 1 月，本局接獲另一名通報個案，從個案之痰液檢體中分離到嗜肺退伍軍人菌血清

型第六型菌株，經調查得知此個案發病前曾在上述醫院接受治療達 22 天，脈衝式電泳實驗顯示此個案之臨床菌株與此醫院之血清型第六型環境菌株有高度相似之 PFGE 圖譜。分子分型結果顯示此兩名個案之感染可能與此醫院環境中的退伍軍人菌污染有密切關係，本篇研究為國內首度發表之多重血清型退伍軍人菌院內感染案例，研究結果顯示監控醫院供水系統退伍軍人菌污染的重要性，並且再度證實分子分型技術在重建感染來源時扮演的關鍵角色。

關鍵字：院內感染退伍軍人症，嗜肺退伍軍人菌，脈衝式電泳，分子分型，血清型第一型，血清型第六型

前言

退伍軍人菌屬包含至少 48 個菌種，共可分成 70 個血清型，是社區與院內感染肺炎的一個重要的病原體，其中以嗜肺退伍軍人菌血清型第一型最為重要[1]。美國 1980 年到 1998 年間退伍軍人症個案中，院內感染個案佔所有個案的 25%到 45%，院內感染個案的死亡率為 28%，大約是社區感染個案死亡率的兩倍[2]。退伍軍人菌的感染途徑為吸入或嗆入已遭污染的水滴，醫院環境的傳染窩包含自來水系統以及冷卻水塔[3]。在院內感染的個案中，冷卻水塔扮演傳播途徑的角色逐漸受到質疑，從 1985 年之後各國學者普遍認為自來水供應系統才是造成院內感染退伍軍人菌的主要途徑[4, 5]，例如 1982 年到 1990 年之間於英國英格蘭和威爾斯地區爆發的 20 次院內感染疫情，其中有 19 次是經由自來水供應系統為傳染媒介[6]。

院內感染退伍軍人症的風險因子包括醫院規模大小、有無進行器官移植及末端供水點之移生率(colonization rate of distal sites)等[7]。Best 等學者的研究論文指出，若末端供水點的移生率高於 30%，則發生院內感染

的機會大為增加[8]。相反地，醫院末端供水點若無退伍軍人菌移生(colonization)，則不會發生院內感染事件[9, 10]。因此，監測醫院環境的退伍軍人菌移生率是預防院內感染的重要措施，Stout 等學者於 2007 年的研究，證實醫院環境的移生率和院內感染退伍軍人症的發生率有顯著的相關性[11]。

台灣曾有少數院內感染退伍軍人症的偶發個案被發表[12, 13]，首度被報導的大規模院內感染疫情是 2000 年發生在南部某醫院的院內感染疫情，共有 81 個疑似病例被發現，經調查後證實感染源為該醫院已遭退伍軍人菌污染的自來水系統[14]。2008 年，台灣第一篇涵蓋 16 所醫院的大規模環境監測研究論文發表，文中敘述接受調查的 16 間醫院中，退伍軍人菌移生的陽性比率達 63% (10/16)，其中有 3 間醫院的末端供水點之退伍軍人菌移生率高於或等於 30%[15]。顯示台灣醫院環境被退伍軍人菌移生的比例確實偏高，因此院內感染退伍軍人症的情況很有可能被低估。

疾病管制局實驗室於 2007 年使用分子分型技術陸續發現兩次院內感染事件，皆由血清型第一型嗜肺退伍軍人菌所引起，傳染途徑都來自醫院的自來水供應系統。本文特別之處是兩名個案係由不同血清型菌株所感染，一為血清型第一型另一為血清型第六型，而來自醫院環境的分離菌株同樣也有血清型第一型和第六型兩種血清型，因此我們使用分子分型技術進行調查，以釐清此兩名個案的感染是否與醫院環境中嗜肺退伍軍人菌的污染有關。

材料與方法

一、個案描述

個案 A 為 55 歲女性，有心臟疾病同時也是洗腎患者，於嘉義縣甲醫院住院，期間為 2007 年 7 月 10 日到 8 月 6 日共 27 天，個案於 7 月 27 日發病，甲醫院於 8 月 3 日採

集個案臨床檢體，通報為退伍軍人病疑似病例。個案 B 為 73 歲男性，因心臟病住院治療，於甲醫院住院期間為 2008 年 12 月 5 日到 12 月 26 日共 22 天，個案於 12 月 26 日發病，於 12 月 26 日轉院，2008 年 1 月 10 日採集臨床檢體並通報為退伍軍人病疑似病例。以上個案分別於住院 18 及 22 日後發病，符合住院 10 日及以上發病之院內感染判定[17]。

二、臨床檢體

個案的臨床檢體包括痰液、尿液、發病初期與恢復期血清。此醫院環境檢體有三件，包括護理站飲水機用水(EN1)、個案 A 病房浴室水龍頭用水(EN2)、個案 A 病房浴室蓮蓬頭用水(EN3)，以上環境檢體採集送驗的時間為 2007 年 8 月 13 日。各種檢體以低溫保存的方式運送到疾病管制局細菌實驗室，收件後隨即進行各項檢驗。

三、尿液與血清檢體之檢驗

檢驗尿液中退伍軍人菌抗原所採用的檢驗試劑為 *Legionella* Urine Antigen ELISA kit (BINAX, Scarborough, ME, USA)，檢驗過程參照產品使用手冊。檢驗血清抗體力價則採用間接免疫螢光抗體檢驗法，使用的試劑為 *Legionella* Indirect Antibody Test System (Zeus Scientific, NJ, USA)，以磷酸鹽緩衝溶液二倍序列稀釋血清，吸取稀釋之個案血清各 15 μ L 進行螢光反應實驗，反應後之玻片以螢光顯微鏡檢驗。若發病初期與恢復期抗體力價有 4 倍以上差距，且最高力價等於或大於 128，則判定個案為陽性[16]。

四、痰液檢體之菌株分離鑑定[16]

痰液經過酸處理後，取 0.1 mL 接種到選擇性培養基，內含 BCYE 培養基(Buffered charcoal yeast extract agar, REMEL, Thermo Fisher Scientific, Lenexa, KS, USA)，生長要素添加物 L-cysteine (Mast Group Ltd., Merseyside, UK)，以及抗生素添加物 PNV (polymyxin B, natamycin and vancomycin, Mast Group Ltd.)，

置於二氧化碳培養箱中，溫度 35°C、CO₂ 濃度 2.5~5.0%，相對溼度 60~90% 條件下培養，每天觀察，若觀察到可疑菌落則挑出來再次培養，並進行革蘭氏染色、L-cysteine 生長需求測試、抗體乳膠凝集試驗，以及直接免疫螢光抗體試驗(DFA)。

五、環境水檢體之處理與培養

首先使用孔徑 0.2 μ m 的濾膜過濾水檢體 500 mL，加入 3 mL 滅菌水並加以震盪，使濾膜上的殘留物再度懸浮於水中，取出其中 1 mL 溶液進行酸處理與培養，酸處理的過程與上述痰液檢體處理過程相同，使用的選擇性培養基為 BCYE 培養基添加 L-cysteine 以及 MWY (Modified Wadowsky and Yee) 抗生素(Mast Group Ltd.)，接下來的培養、觀察與鑑定的方法同痰液檢體。因為環境檢體時常發現不止一種退伍軍人菌，加上檢驗環境檢體的目的在尋找可能的感染源，所以多盡可能挑選許多菌落做進一步的鑑定後，再以直接免疫螢光抗體試驗確認其菌種及血清型。

六、菌株血清型鑑定

採用直接免疫螢光抗體試驗法，試劑為 Direct Fluorescent Antibody Test (Zeus Scientific, NJ, USA)，和 m-TECH 抗體 (Monoclonal Technologies, Inc., Alpharetta, GA, USA)，檢驗過程參照產品使用手冊，將待測菌落挑出重新培養 48 小時之後，取部份菌量溶解於 1% 福馬林中，吸取少量菌液滴在玻片上，自然風乾之後過火固定，加入不同血清型之抗體共軛物，於室溫反應 20 分鐘。取出玻片以 PBS 及蒸餾水沖洗，自然風乾，封片後以螢光顯微鏡檢視。

七、脈衝式電泳分子分型

將待測菌株培養 48 小時，挑取適當菌量加入 2 mL 緩衝溶液(100 mM EDTA, 100 mM Tris, pH 8.0)，調整適當濁度，另外配製 1% agarose 溶解於 TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)，將菌液與 agarose 等體積

混合後注入模具。凝固的膠塊放入 proteinase K 溶液(20 mg/mL Proteinase K, 50 mM Tris, 50 mM EDTA, pH 8.0, 1% Sarcosine)，在 56°C 反應 2 小時，以滅菌水清洗 2 次，TE Buffer 清洗 4 次，每次皆在 56°C 水浴槽搖晃 15 分鐘。以 *Sfi* I 限制切割酵素(New England Biolabs, MA, USA)於 50°C 反應 4 小時，每管 200 μ L 溶液內含酵素 10 Unit，反應完成後將膠條黏貼上模具，以 1% agarose 鑄膠，接著使用 Bio-Rad CHEF MAPPER 電泳儀 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) 進行電泳。電泳條件為電場梯度 6 V/cm、電場角度 120°，變換間距 2 秒至 40 秒，電泳總時間 20 小時。電泳完成後以 ethidium bromide 染色並照相，使用 BioNumerics (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) 軟體進行分析。

結果

一、臨床檢體檢驗結果

個案 A 的血清抗體檢驗結果陽性，發病初期 IgG 和 IgM 抗體力價皆未達 32，恢復期 IgG 和 IgM 抗體力價皆等於 128，尿液檢體未送驗，痰液培養出血清型第一型之嗜肺退伍軍人菌，因此判定個案為陽性病例。個案 B 血清抗體檢驗結果為陰性，發病初期及恢復期的 IgG 和 IgM 抗體力價皆未達 128，尿液抗原檢驗陰性，痰液分離培養出血清型第六型之嗜肺退伍軍人菌，因此判定個案為陽性病例。

二、醫院環境檢體檢驗結果

醫院環境檢體經培養後，在個案 A 病房的水龍頭(EN2)與蓮蓬頭(EN3)檢體分離到退伍軍人菌，將這些菌落再次培養並鑑定菌株之血清型，鑑定結果如表所示，總共確認 13 株退伍軍人菌菌株，分別為血清型第一型嗜肺退伍軍人菌 8 株、血清型第六型嗜肺退伍軍人菌 4 株及 *L. erythra* 1 株。顯示此醫院之自來水供水系統已遭到至少 3 種退伍軍人菌污染，其中以血清型第一型嗜肺退伍軍人

菌之分布最為普遍，佔所有菌株的 61.5% (8/13)，非第一型的菌株佔了 38.5% (5/13)。

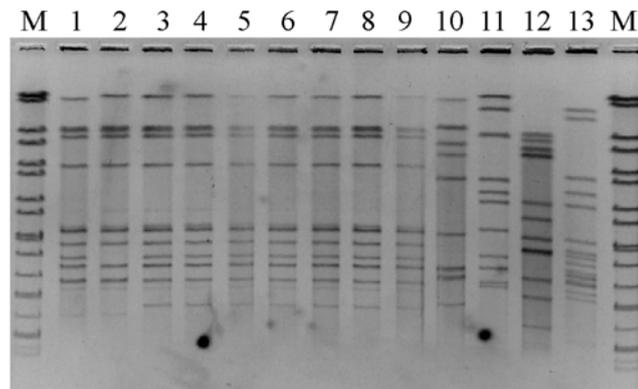
三、脈衝式電泳分型(PFGE patterns)

如圖一所示，嗜肺退伍軍人菌血清型第一型分離株可分成 3 個 PFGE 型別，個案 A

之臨床分離株（型別 A）與此醫院環境株 EN3-2(型別 B)之 PFGE 圖譜相差 1 條 band，相似度達 90.9%，與其他 7 株環境株（型別 C）之 PFGE 圖譜相差 2 條 bands，相似度達 86.3%。如圖二所示，嗜肺退伍軍人菌血清

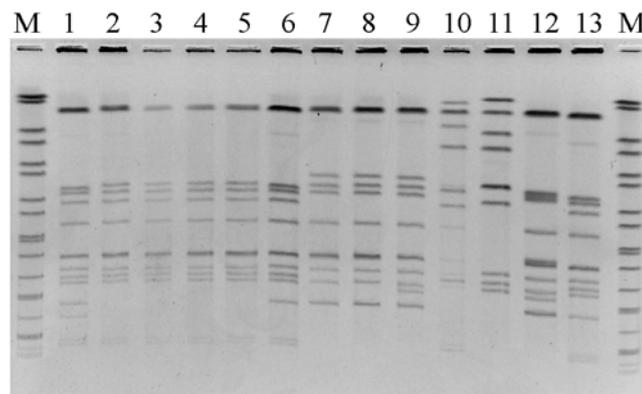
表、醫院環境檢體之菌株分離與血清型鑑定

檢體代碼	採檢地點 (檢體來源)	培養結果	血清型 (菌株數)
EN1	Nursing station: tap	-	None
EN2	Patient A's ward: tap	+	<i>L. pneumophila</i> serogroup 1 (1); <i>L. pneumophila</i> serogroup 6 (4); <i>L. erythra</i> (1)
EN3	Patient A's ward: shower	+	<i>L. pneumophila</i> serogroup 1 (7)



圖一、嗜肺退伍軍人菌血清型第一型臨床及環境菌株的 PFGE 圖譜

Lane M: size marker, Lane 1: 個案 A 之臨床菌株, Lanes 2-9: 此醫院之環境菌株, 依序為 EN3-2、EN2-10、EN3-3、EN3-5、EN3-6、EN3-7、EN3-8 及 EN3-9, Lanes 10、11: 不相關之臨床菌株, Lanes 12、13: 不相關之環境菌株。



圖二、嗜肺退伍軍人菌血清型第六型臨床及環境菌株的 PFGE 圖譜

Lane M: size marker, Lane 1: 個案 B 之臨床菌株, Lanes 2-5: 此醫院之環境菌株, 依序為 EN2-2、EN2-3、EN2-4 及 EN2-5, Lanes 6-9: 不相關之臨床菌株, Lanes 10-13: 不相關之環境菌株。

型第六型分離株可分成 2 個 PFGE 型別，個案 B 之臨床分離株（型別 D）與此醫院環境株（型別 E）之 PFGE 圖譜相差 2 條 bands，相似度達 90.0%。根據 Tenover 等人於 1995 年發表的文章，PFGE 圖譜中相差 3 條 bands 以內皆可視為高度相似(closely related)的菌株[18]，此脈衝式電泳結果顯示兩名個案的臨床分離株皆與此醫院的環境菌株有高度相似的親源關係，此兩名個案的感染可能與醫院環境中的退伍軍人菌污染有密切關係。

討論

本篇論文是國內首度發表的多重血清型嗜肺退伍軍人菌院內感染事件，文中個案 A 感染血清型第一型，個案 B 感染血清型第六型，而醫院環境的分離菌株有 61.5% 是血清型第一型，38.5% 非第一型。據文獻報導，造成院內感染退伍軍人症的血清型別以血清型第一型最為常見[3]，然而國外也曾經發表許多非血清型第一型的嗜肺退伍軍人菌株造成的疫情[19, 20, 21]，因此醫院內環境若只有分離到非第一型的菌株仍然不可輕忽。

對於退伍軍人菌感染，目前臨床上使用最為普遍的檢驗試劑是 BINAX 公司的尿液抗原檢驗試劑，但是其專一性只針對血清型第一型的嗜肺退伍軍人菌，例如文中所提到的個案 B，其尿液的退伍軍人菌抗原檢驗結果為陰性，即是因為個案所感染的第六型無法被偵測到，而分離培養的檢驗步驟較為繁瑣，敏感度也較低，因此現行的檢驗方法比較容易低估非血清型第一型的嗜肺退伍軍人菌感染情況。

本篇論文所報導的兩名個案皆在醫院治療超過 20 天才被通報為疑似退伍軍人症，肺炎症狀持續未能改善，可能是在此醫院治療過程中未即時正確投藥所導致，退伍軍人症的病患不容易從臨床症狀判別[22]，發病初期使用非適合的抗生素也可能降低

治療的效果[23]，延誤治療退伍軍人菌會增加患者的死亡率[24]，Erythromycin 常被用來治療退伍軍人症，然而 Quinolones 類的藥物對退伍軍人菌有更好的抑制效果[25]。

預防院內感染退伍軍人症，可從醫院環境的消毒與監控兩方面著手，近年來有許多有效的消毒方法被發表[26, 27]，適當消毒可減低退伍軍人菌在醫院環境的移生率，進而降低院內感染的發生。水質監控的作法是採集環境中的用水，從中分離培養退伍軍人菌，許多歐美國家都已經將例行性監控退伍軍人菌列為指導方針，這麼做有以下幾個好處：第一，可以顯示醫院內的污染情形，促使醫院加強消毒，第二，院內環境若有退伍軍人菌的移生，可增加醫師的警覺性，退伍軍人症的病例較有可能被察覺，第三，分離的菌株可作為研究資源，未來若有感染事件發生亦可以提供分子分型的環境菌株資料庫，協助疫情的調查。

本研究中所作的環境調查雖然不是例行主動監控，但是在個案發生後做環境菌株培養分離與分型有助於疫情調查，由 PFGE 的結果可知這些環境菌株與臨床菌株在親源關係的高度相似性，指出了本次院內感染的可能感染途徑，顯示分子流行病學在防疫工作上扮演的重要角色。

參考文獻

1. Fields BS, Benson RF, and Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:506-26.
2. Benin AL, Benson RF, Besser RE. Trends in legionnaires disease, 1980-1998: declining mortality and new patterns of diagnosis. *Clin Infect Dis* 2002;35:1039-46.
3. Yu VL. Nosocomial legionellosis. *Curr Opin Infect Dis* 2000;13:385-8.

4. Stout J, Yu VL, Vickers RM, et al. Ubiquitousness of *Legionella pneumophila* in the water supply of a hospital with endemic Legionnaires' disease. *N Engl J Med* 1982;306:466-8.
5. Sabria M, Yu VL. Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. *Lancet Infect Dis* 2002;2:368-373.
6. Joseph CA, Watson JM, Harrison TG, et al. Nosocomial Legionnaires' disease in England and Wales, 1980-92. *Epidemiol Infect* 1994;112:329-45.
7. Kool JL, Bergmire-Sweat D, Butler JC, et al. Hospital characteristics associated with colonization of water systems by *Legionella* and risk of nosocomial Legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:798-805.
8. Best M, Yu VL, Stout JE, et al. *Legionellaceae* in the hospital water supply-epidemiological link with disease and evaluation of a method of control of nosocomial legionnaires disease and Pittsburgh pneumonia. *Lancet* 1983;2:307-10.
9. Squier CL, Stout JE, Krystofiak S, et al. A proactive approach to prevention of healthcare-acquired legionnaires disease: the Allegheny County (Pittsburgh) experience. *Am J Infect Control* 2005;33:360-7.
10. Yu VL. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;19:893-7.
11. Stout JE, Muder RR, Mietzner S, et al. Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: a national surveillance study with clinical correlations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:818-24.
12. Liu YC, Cheng DL, Shi FW, et al. Legionnaires' disease: a case report. *J Formos Med Assoc* 1980;84:1180-5.
13. Wang RS, Liu CY, Liu YC, et al. Legionnaires' disease following cardiac transplantation. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1989;44:336-40.
14. Chen YS, Liu YC, Lee SSJ, et al. Abbreviated duration of superheat-and-flush and disinfection of taps for *Legionella* disinfection: Lessons learned from failure. *Am J Infect Control* 2005;33:606-10.
15. Yu PY, Lin YE, Lin WR, et al. The high prevalence of *Legionella pneumophila* contamination in hospital potable water systems in Taiwan: implications for hospital infection control in Asia. *Int J Infect Dis* 2008;12:416-20.
16. Su HP, Tseng LR, Chou CY. Detection methods for *Legionella*. *Taiwan Epidemiol Bull* 2005;21:930-40.
17. CDC. Guidelines for Prevention of Nosocomial Pneumonia. *MMWR* 1997;46:1-79.
18. 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.
19. Knirsch CA, Jakob K, Schoonmaker D, et al. An outbreak of *Legionella micdadei* pneumonia in transplant patients: evaluation, molecular epidemiology, and control. *Amer J Med* 2000;108:290-5.

20. Visca P, Goldoni P, Luck PC, et al. Multiple types of *L. pneumophila* serogroup 6 in a hospital heated-water system associated with sporadic infections. *J Clin Microbiol* 1999;34: 2189-96.
 21. Loeb M, Simor AE, Mandell L, et al. Two nursing home outbreaks of respiratory infections with *Legionella sainthelensi*. *J Am Geriatric Soc* 1990; 47:547-52.
 22. Mulazimoglu L, Yu VL. Can Legionnaires' disease be diagnosed by clinical criteria? A critical review. *Chest* 2001;120:1049-53.
 23. Von Baum H, Ewig S, Marre R, et al. Community-acquired *Legionella pneumonia*: New insights from the German Competence Network for Community Acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis* 2008;46:1326-64.
 24. Heath CH, Grove DI, Looke DFM. Delay in appropriate therapy of *Legionella pneumonia* associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:286-90.
 25. Edelstein PH. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires' Disease: A review. *Clin Infect Dis* 1995;21 (Suppl 3) :S265-76.
 26. Oliveira MS, Maximino FR, Lobo RD, et al. Disconnecting central hot water and using electric showers to avoid colonization of the water system by *Legionella pneumophila*: an 11-year study. *J Hosp Infect* 2007;66:327-31.
 27. Chen YS, Lin YE, Liu YC, et al. Efficacy of point-of-entry copper-silver ionisation system in eradicating *Legionella pneumophila* in a tropical tertiary care hospital: implications for hospitals contaminated with Legionella in both hot and cold water. *J Hosp Infect* 2008;68: 152-8.
-