

# 疫情報導

- 375 新竹縣關西鎮桿菌性痢疾爆發流行事件分子流行病學研究  
385 美國佛羅里達州 1992 年 Andrew 龍捲風災害主動疾病監測  
391 國內、外疫情  
401 台灣地區各類法定傳染病個案報告表

## 新竹縣關西鎮桿菌性痢疾爆發流行事件分子流行病學研究

### 摘 要

1997 年 10 月 15 日新竹縣關西鎮某國小發生桿菌性痢疾爆發流行事件。本研究即利用質體輪廓分析及聚合酶鏈反應方法，研究在此爆發流行事件中所分離之 50 株宋內氏志賀桿菌(*Shigella sonnei*)，並和台灣中部地方及不同時期所分離出的宋內氏志賀桿菌作比較，以作為此次桿菌性痢疾爆發流行事件之分子流行病學分析。研究結果顯示，利用質體輪廓分析法，可區分出 3 種不同分子分型，而利用聚合酶鏈反應，則可辨別出 6 種分子分型。在此事件中，大多數的宋內氏志賀桿菌都屬於同一種分型(即質體分型第 I 型或聚合酶鏈反應第 E 型)，然而仍有少數分離出的菌株，屬於其它質體輪廓或聚合酶鏈反應分子分型。此次所分離出的宋內氏志賀桿菌菌株和其它地方及不同時間所分離出的菌株，具有不同的分子分型，顯示此次爆發流行事件只是地方性的流行事件。此外，對家庭成員所分離出的菌株作分析比對，發現均屬同一分子分型，顯示傳染途徑是經由家庭接觸。由學校及家庭接觸傳染的分析結果顯示，分子分型有利於調查桿菌性痢疾爆發流行事件之主要菌株。雖然

此次事件主要由一種菌株所引起，但也發現一些學童身上帶有其它分子亞型的菌株。如果能更進一步研究這些環境中潛在的痢疾桿菌與微生物抗藥性的關係，或將有助於控制痢疾爆發流行事件的發生。

## 前 言

民國 86 年 10 月 15 日於新竹縣關西鎮某國小爆發桿菌性痢疾流行事件，經採驗結果顯示，該校共有 123 名學生及 4 名教職員檢出宋內氏志賀桿菌屬(*Shigella sonnei*)陽性，此外，在環境檢體的地下水中，亦檢出宋內氏志賀桿菌屬(*S. sonnei*)陽性。此事件經全面的流行病學調查及採檢，結果共計有 40 名該校陽性個案之家屬，也檢出宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)陽性，包括 4 名就讀鄰近甲國小的學童，1 名就讀鄰近乙國小的學童，2 名就讀甲幼稚園的幼兒，6 名就讀乙幼稚園的幼兒，1 名就讀丙幼稚園的幼兒，9 名於托兒所之幼兒及 17 名在家的家屬<sup>(1)</sup>。

爲了釐清此次桿菌性痢疾爆發流行事件的致病原，並探討在此事件中，是否只有一種宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)被分離出，進而比較不同時間及地點所分離出之宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)，以得知此爲一地區性之偶發事件，或是全台有關的流行事件，因此本研究希望以分子流行病學來探討這些問題。

一般較常用的宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)分子分型方法包括：(一)質體輪廓分析；(二)脈場膠電泳分析；(三)核醣體之核糖核酸分類(ribotyping)及(四)聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction)，這些方法均曾經被廣泛使用過<sup>(2-9)</sup>。本署前預防醫學研究所細菌組林等，曾同時分別利用質體輪廓分析及脈場膠電泳分析二種方法對宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)進行分子分型，發現合併使用此二種方法，比單獨使用其中一種方法有更好的結果<sup>(10)</sup>。另外，台中榮民總醫院劉等，更曾比較這 4 種方法，發現聚合

酶鏈反應和脈場膠電泳分析具有相同且較好的分型效果<sup>(11)</sup>。因此本研究擬合併質體輪廓分析及聚合酶鏈反應等方法，來分析這些宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)菌株。

## 材料與方法

細菌分離株：本研究總共選取 50 株宋內氏志賀桿菌分離菌株，所有菌株均重新經生化反應鑑定為志賀桿菌(*Shigella spp.*)，再以血清學分析確認為 D 群志賀桿菌，即宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)。

質體輪廓分析：以快速鹼性溶解方法 (rapid alkaline lysis procedure)<sup>(12)</sup>，製備小量的細菌質體 DNA，以 0.7% 水平電泳膠分析質體 DNA，膠內加入 0.5 mg/mL ethidium bromide；電泳分析後，在紫外燈照射下觀察並拍照存証，以  $\lambda$  噬菌體之 DNA 經限制酵素 *Hind* III 切割後當作 DNA 大小之標幟。

聚合酶鏈反應：依據劉等<sup>(11)</sup>所使用之 ERIC (Enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence，腸內細菌內生性重複保存序列) 聚合酶鏈反應之方法及步驟進行。簡述如下：取 5 個培養隔夜之新鮮細菌，取 5 個菌落置入 0.1 C.C 無菌蒸餾水，煮沸 5 分鐘，再於 14,000  $\times$ g 下離心 5 分鐘，上層液取出當做 DNA 模版。PCR 反應包括 2 微升 DNA 模版，1 單位 *Taq* 聚合酵素，10 毫莫耳 Tris-HCl，1.5 毫莫耳 MgCl<sub>2</sub>，50 毫莫耳 KCl，0.1% Triton X-100，每一種去氧核糖核苷三磷酸各 250 毫莫耳，及 1 毫莫耳 ERIC-1 引子(5'-GTGAATCCCCAGGAGCTTACAT-3')；溫度為 94°C 1 分鐘，26°C 1 分鐘，72°C 2 分鐘共 4 個循環，接著 94°C 30 秒，40°C 30 秒，72°C 1 分鐘，共 40 個循環，最後 72°C 15 分鐘。使用的聚合酶鏈反應機器為 Perkin-Elmer (model 4800, Norwalk, Connecticut, U.S.A.)。聚合酶鏈反應產物，則以 1.6% 瓊膠進行電泳分析，並在紫外線照射下觀察及照相。

## 結 果

此 50 株宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)分離菌株，以質體輪廓分析得到三種不同的分子分型，圖 1 為這 50 株宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)分析之代表性結果圖。第 1 條為第 I 型，第 2 條為第 II 型，第 3 條為第 III 型，第 4 條為從地下水分離出之宋內氏志賀桿菌之分型，和第 I 型相同，第 5 條為民國 86 年從中部地區分離出之宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)，其分子型和此次爆發流行事件之細菌完全不同，第 6 條為不同血清型，即副痢疾志賀菌(*Shigella flexneri*)其質體輪廓分型，和宋內氏志賀菌屬完全不同。

圖 2 顯示有 6 種 ERIC-聚合酶鏈反應分型存在此次爆發流行事件分離出之宋內氏志賀菌(*S. sonnei*)。第 1 條為 A 型，第 2 條為 B 型，第 3 條為 C 型，第 4 條為 D 型，第 5 條為 E 型，第 6 型為從地下水分離出之宋內氏志賀菌，和 E 型相同，也是本次流行事件中最多被分離出的細菌分子分型，第 7 條為 F 型。

表 1 為綜合質體輪廓及聚合酶鏈反應之分型結果。大多數(47/50)的質體，包括從地下水分離出者，均屬相同分子分型，並且是屬於質體輪廓第 I 型，但也有 1 株屬於第 II 型，2 株屬於第 III 型；而大多數(40/50)的菌株，均屬於聚合酶鏈反應分子分型 E 型，但有 5 株為 A 型，2 株為 B 型，1 株為 C 型，1 株為 D 型，1 株為 F 型，而就讀鄰近小學幼稚園、托兒所之幼兒及其它在家之家屬均為 E 型。

進行家族研究結果發現，同一家庭的小孩成員或表兄弟姊妹，均有相同的分子分型，表 2 顯示 A 家族中 3 個兄弟所分離出之菌株，均屬質體輪廓第 I 型及聚合酶鏈反應 E 型，其發病日期分別為民國 86 年 10 月 10 日、10 月 17 日及 11 月 2 日；B 家族中 2 位表姊弟也同樣具有相同的分子分型，其發病日期分別為 86 年 10 月 25 日及 11 月 2 日；C 型家族中有 1 對姊妹及 1 位表姊妹也均有相同的分子分型，其發病日期分別為民國 86 年 10 月 16 日、11 月 2 日及 11 月 5 日。

## 討 論

傳統上，桿菌性痢疾爆發流行事件，病原菌的確認，一般採用標準的細菌培養方法，再用血清學方法進行分型，以確定是那一種志賀桿菌(*Shigella*)引起的。此外，質體輪廓分析亦常被用來幫助辨別臨床分離株，並當作是分子流行病學的工具來研究桿菌性痢疾爆發流行事件，尤其是只有一種血清型的宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)，藉由質體輪廓分析對宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)進行分子分型，有助於找出流行病學相關的菌株與不相關的菌株<sup>(13,14)</sup>。

Liu 等人<sup>(11)</sup>曾針對 4 種分子分型進行比較，發現 ERIC-PCR 指紋分析技術，對宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)是既快速又簡單之分子分型方法，其效果和脈場膠電泳分析法相當，但比質體輪廓分析來得好，因此本研究同時以質體輪廓分析和聚合酶鏈反應法來進行。

對此次流行事件所分離出之宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)進行分子流行病學之研究，雖然研究結果顯示，ERIC-PCR 指紋分析較質體輪廓分析有更好的辨別效果，不過二者皆能分辨出此次宋內氏桿菌爆發流行事件之致病原；但若以血清學方法，則只能分辨出一型，即宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)。

研究結果顯示，同一班級小朋友之宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)分離菌株，大致上均為相同的分子分型，且與由地下水分離出者為同一型，然而，仍發現有少數不同的分子分型存在同一個班級，顯示可能有少數沒有症狀的帶原者，在此次全校性篩檢中被篩檢出來，這些菌株的特性與微生物抗藥物感受性情形，值得進一步研究。

家族分析結果可以發現，同一家庭受感染者所分離出宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)，完全屬於同一分型，發病日期亦支持此傳染途徑，故家庭成員接觸傳染也在此次流行事件中獲得証實。因此，此次爆發流行事件，可

以說是共同感染源及接觸傳染兩種途徑均存在。

利用分子流行病學的方法，可以成功地幫助研究宋內氏志賀桿菌 (*S. sonnei*) 爆發流行事件的致病原，並可用於鑑定出流行菌株，然而，最重要的是，必須先建立每次流行事件流行菌株之基本資料，比對與其它不同時間與地點所分離出之菌株<sup>(15)</sup> 其間之異同及該等菌株對微生物抗藥物感受性試驗的情形，以建立防疫之本土基本資料，將有助於日後防疫工作之參考。

## 誌 謝

本研究蒙行政院衛生署疾病管制局研究計畫經費支助，在此特別誌謝。

撰稿者：盧冠霖<sup>1,2</sup>、江大雄<sup>1</sup>、王添貴<sup>3</sup>、陳國東<sup>1</sup>、潘子明<sup>4</sup>、  
涂醒哲<sup>5</sup>、陳建仁<sup>6</sup>

1. 行政院衛生署疾病管制局疫情組流行病學訓練班
2. 台北市立中醫醫院教育研究科
3. 行政院衛生署疾病管制局細菌組
4. 國立台灣大學農業化學系
5. 行政院衛生署疾病管制局
6. 國立台灣大學公共衛生學院

## 參考文獻

1. Lu KL, Jiang DD, Pan TM, et al. A Shigellosis outbreak at a primary school in Kuanhsi, Hsinchu County. *Epidemiology Bulletin* 1998; 14: 77-85.
2. Lin SR, Chang SF. Drug resistance and plasmid profile of shigellae in Taiwan. *Epidemiol Infect* 1992; 108: 87-97.

3. Brito-Alayon NE, Blando AM, Monzon-Moreno C. Antibiotic resistance patterns and plasmid profiles for *Shigella* spp. isolated in Cordoba, Argentina. J Antimicrobial Chemotherapy 1994; 34: 253-259.
4. Bratoeva MP, John JF, Berg NL. Molecular epidemiology of trimethoprim resistant *Shigella boydii* serotype 2 strains from Bulgaria. J Clin Microbiol 1992; 30:1428-1431.
5. Haider K, Huq MI, Samadi, et al. Electropherotyping of plasmid DNA of different serotypes of *Shigella flexneri* isolated in Bangladesh. Epidemiol Infect 1989; 102; 421-428.
6. Litwin CM, Strom AL, Chipowsky S, et al. Molecular epidemiology of Shigella infections: plasmid profiles, serotype correlation, and restriction endonuclease analysis. J Clin Microbiol 1991; 29: 104-108.
7. Tacket CO, Shahid N, Huq MI, et al. Usefulness of plasmid profiles for differentiation of Shigella isolates in Bangladesh. J Clin Microbiol 1984; 20: 300-307.
8. Casalino M, Nicoletti M, Salvia M, et al. Characterization of endemic *Shigella flexneri* strains in Somalia: antimicrobial resistance, plasmid profiles, and serotype correlation. J Clin Microbiol 1994; 32:1179-1183.
9. Kariuki S, Muthotho N, Kimari J, et al. Molecular typing of multi-drug resistant *Shigella dysenteriae* type 1 by plasmid analysis and pulse-field gel electrophoresis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1996; 90: 712-714.
10. 林建生、王添貴、蔡金來等：脈場膠電泳和質體輪廓分析法分析臺灣地區 1995-1996 大規模細菌性痢疾感染事件。臺灣醫學 2:152-158, 1997.
11. Liu Peter YF, Lau YJ, Hu BS, et al. Analysis of clonal relationships among isolates of *Shigella sonnei* by different molecular typing methods. J Clin Microbiol 1995; 33: 1779-1783.
12. Kado CI, Liu ST. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J Bacteriol 1981; 145:1365-1373.
13. Haider K, Huq MI, Samadi AR, et al. Plasmid characterization of *Shigella* spp. isolated from children with shigellosis and asymptomatic excretors. J Antimicrob Chemother 1985; 16:691-198.
14. Prado D, Murray BE, Cleary TG, et al. Limitations of using the plasmid pattern

as an epidemiological tool for clinical isolates of *Shigella sonnei*. J Infect Dis 1987; 155:314-316.

15. Litwin, CM., Ryan KJ, S Chipowsky, et al. Molecular epidemiology of *Shigella sonnei* in Pima County, Arizona: Evidence for a Mexico-related plasmid. J Infect Dis 1990; 161: 797-800.

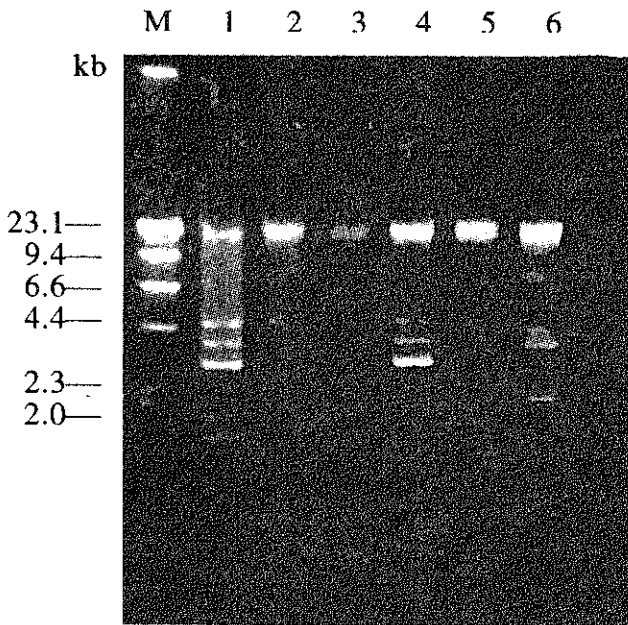


圖 1. 宋內氏志賀桿菌 (*Shigella sonnei*) 質體輪廓分型之代表性結果. M:  $\lambda$ /Hind III 當分子量大小之標幟; 第 1 條線:第 I 型;第 2 條線:第 II 型;第 3 條線:第 III 型;第 4 條線:由地下水分離出之菌株, 和第 I 型相同;第 5 條線:民國 86 年由中部地區分離出之宋內氏志賀桿菌 (*Shigella sonnei*);第 6 條線:副痢疾志賀桿菌(*Shigella flexneri*) 當比較用。

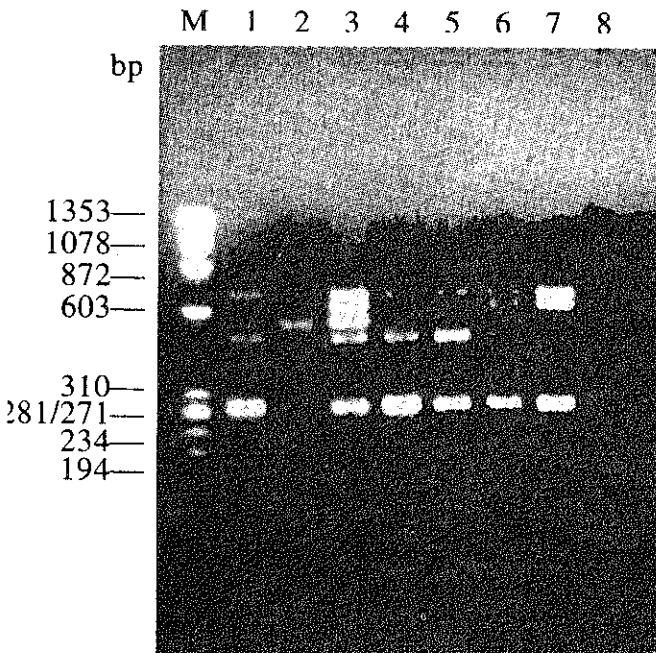


圖 2. 宋內氏志賀桿菌 (*Shigella sonnei*) 聚合酶鏈反應指紋分型之代表性結果. M:  $\lambda$ /Hind III 當分子量大小之標幟 第 1 條線: A 型;第 2 條線: B 型;第 3 條線: C 型;第 4 條線: D 型;第 5 條線: E 型;第 6 條線: E 型 (由地下水分離出之菌株);第 7 條線: F 型;第 8 條線:以水當 DNA 模板之陰性對照。



表一 50 株宋內氏志賀桿菌(*Shigella sonnei*)分離株之分子分型結果

班 級	聚合酶鏈反應分型(菌株數)						質體輪廓分型(菌株數)		
	A	B	C	D	E	F	I	II	III
1 甲					1		1		
1 乙						1	1		
1 丙	1						1		
2 甲				1	4		5		
2 乙	3 <sup>#</sup>	2			2		5		2
3 甲	1				4		5		
3 乙					4		3	1	
4 甲			1*		1		2		
4 乙					4		4		
5 甲					2		2		
5 乙					3		3		
6 甲					2		2		
6 乙					2		2		
地下水					1		1		
其他小學					1		1		
幼稚園甲					1		1		
幼稚園乙					1		1		
托兒所					2		2		
在家受照顧者					5		5		
總數	5	2	1	1	40	1	47	1	2

<sup>#</sup> 其中 2 位和質體輪廓分型第 III 型者為相同個案

\*無症狀者

表二 宋內氏志賀桿菌(*Shigella sonnei*)感染的家族研究\*

家族	個案 (學校、班級)	性別	年齡 (歲)	聚合酶鏈 反應分型	質體輪廓分型	發病時間
A	2 甲	男	7	E	I	86 年 10 月 10 日
	1 甲	男	6	E	I	86 年 10 月 17 日
	托兒所	男	3	E	I	86 年 11 月 02 日
B	1 甲	女	6	E	I	86 年 10 月 25 日
	幼稚園甲	男	4	E	I	86 年 11 月 13 日
C:	4 甲	女	9	E	I	86 年 10 月 16 日
	幼稚園乙	女	5	E	I	86 年 11 月 02 日
	在家受照顧者	女	2	E	I	86 年 11 月 05 日

\*家族 A：3 兄弟，其中 2 位分別就讀同一小學 2 甲和 1 甲，另 1 位在托兒所。

家族 B：2 位分別為表兄弟，表姐就讀 1 甲，表弟就讀幼稚園甲。

家族 C：3 位親戚，2 位為親姐妹，姐姐就讀 4 甲，妹妹在家受照顧；表妹就讀幼稚園乙。所有宋內氏志賀桿菌(*S. sonnei*)分離株均為質體輪廓分型 I 型及聚合酶鏈反應分型 E 型(與地下水分離株相同)。