

霍亂弧菌之分類及鑑定

一、霍亂之散佈感染

霍亂是經口感染霍亂弧菌所引起之疾病，通常食用了被污染的水或其他食物時，在胃內無法被胃酸殺死之霍亂弧菌，到達小腸下部後即開始繁殖，並釋出霍亂腸毒素(cholera enterotoxin)，然後發生以腹瀉為主要症狀之疾病。生食從受霍亂弧菌污染海域捕獲的海鮮，曾導致數次爆發流行。在許多例子中，受到感染的個體，僅約1—5%會致病。潛伏期自數小時到五天，通常為二至三天。帶菌之期間很少超過三到四週，真正之慢性帶菌者甚少。偶而慢性膽囊感染者，帶原可持續數年之久，並間斷性的排出霍亂菌。四環黴素可縮短傳染期。一般弧菌屬細菌可在水中存活達三星期。

世界衛生組織 1993 年的統計資料指出：非洲霍亂病例致死率(fatality ratio)為 3.1%，美洲為 1.2%，亞洲是 2.0%，而全球則是 1.8%。1994 年霍亂全球病例致死率為 2.8%，較 1993 年的 1.8%為高，主要原因為非洲爆發流行，死亡率高達 50%。亞洲地區除寮國死亡率高達 6.3%以外，其他大部份國家則在 1%以下。

霍亂是一種猝然發作的急性腸病，症狀為無痛性大量腹瀉，偶而伴有嘔吐，快速地造成脫水、酸中毒和循環衰竭。無症狀感染及輕微腹瀉患者最常見(尤以小孩)。嚴重未治療的患者可在幾小時內死亡，致死率可超過 50%，但如加以適當治療，則可降至 1%以下。

二、霍亂弧菌之分類

霍亂弧菌有四個生物型，其中霍亂生物型或稱傳統生物型(biotype cholerae or classical)及艾托生物型(EI Tor)(在台灣發現當時稱為副霍亂)能受體抗原O型第 1 群(O1 群)之抗血清凝集，而變異生物型(bio-type proteus)及艾班生物型(biotype albansis)則否，故後兩型稱為不凝集性弧菌⁽¹⁾。

幾乎所有致病性菌株皆屬於體抗原O 型第 1 群(O 1 群)，而體抗原O 型第 1 群含有A·B 及C 三種抗原因子，因此可將O 型第 1 群(包括傳統生物型

及艾托生物型)分爲 3 個血清型，含 A、C 者稱稻葉型(Inaba)，含 A、B 者稱小川型(Ogawa)，含 A、B、C 成分者，稱爲彥島型(Hikoji - ma)。三種血清型中以小川型較常見。國內近兩年境外移入之案例，全部屬於小川型。O1 群霍亂弧菌之生物型、血清型以及抗原之關係如圖一所示。傳統生物型之三種血清型對綿羊紅血球細胞無溶血性，但艾托生物型則可對綿羊紅血球細胞產生溶血現象。因分泌的腸毒素類似，故臨床症狀也相似。大流行時多以其中一種型爲主，現在除了孟加拉外，流行多以艾托生物型爲主。在 1960 至 1970 年間流行的霍亂，從東南亞開始，散佈至歐、亞、非等三大洲，即是由 O1 群艾托生物型霍亂弧菌所引起的。

艾托生物型係 1905 年在埃及西奈半島艾托檢疫站分離；雖然對羊血球之溶血性與傳統生物型弧菌不同，但兩者之致病力相同，故仍屬於同一菌種，二者區分如表一⁽²⁾。

表一 血清型 O1 霍亂弧菌之生化區分特性

試 驗	生 物 型	
	傳統生物型	艾托生物型
VP*試驗 (22°C)	—	+
對綿羊紅血球細胞之溶血試驗	—	+
對雞紅血球細胞之凝集試驗	—	+
對 Ploymyxin B (50 IU) 敏感性	+	—
對弧菌噬菌體第 IV 群敏感性	+	—

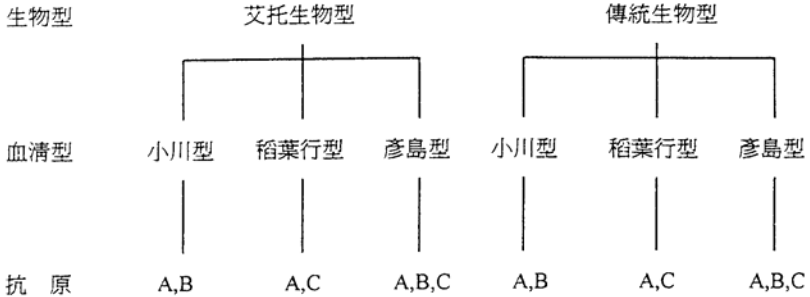
* VP : Voges—Proskauer

(資料來源：王貴譽、張瑞烽編著 大學微生物學第 434 頁)

霍亂弧菌，依其體抗原之不同，分類爲約 150 種血清型，原來其中能夠引發霍亂症狀者，被定義爲屬 O1 血清型之產毒性霍亂弧菌乙種，其餘全部被稱爲非 O1 群，被認爲不是霍亂之病原菌，日本則僅列爲食品中毒之病原菌

之一。

圖一 O1 群霍亂弧菌之生物型血清型以及抗原之關係



(資料來源 Baron S, Jennings P M. Medical Microbiology, 13th Ed. 1991, P. 354.)

三、新型之霍亂弧菌

1992 年 10 月在印度南部之 Madras 市，發生屬於非 O1 霍亂弧菌所引起之類似霍亂症狀之大流行，其第一例病患是於 10 月 19 日發病，該病患檢體，在實驗室所分離出之病原菌，是具有典型之霍亂弧菌性狀，但與 O1 血清不發生凝集，故判定為非 O1 霍亂弧菌，經日本國立預防衛生研究所之島田俊雄博士，進行分離菌之型別檢查，確認該霍亂弧菌，與 O1 血清型菌同樣會產生毒素。故斷定該菌株是新型血清型之霍亂弧菌，而提議將菌株命名為霍亂弧菌 O139 孟加拉型，其日本名稱為孟加拉型霍亂弧菌⁽²⁾。

根據世界衛生組織(WHO)1993 年 5 月 14 日出刊之流行病學週刊(WER)報導：世界衛生組織要求，凡經確認分離出 O 139 型之霍亂病例，應比照 O1 型霍亂之處理規定辦理，並請各國之衛生當局於分離出 O139 型菌時，應通報世界衛生組織。

據美國疾病管制中心(CDC)之報告指出，美國亦有一名住於加州之女性旅客，至印度旅行後，染患 O139 型菌之霍亂，另瑞士及德國，亦相繼有到過印度、巴基斯坦之旅客境外移入之病例報告。日本亦在赴印度旅行之埼玉縣縣民及由尼泊爾到長野縣訪問的旅客身上，分離出 O139 型菌。O 139 型霍亂自 1992 年在印度首度發現之後，全球病例數有減少趨勢，目前只限於南亞流行，尚未造成全球威脅。國內雖未分離出 O139 型菌之霍亂，由於世界各地均有其蹤跡，故預防醫學研究所細菌組亦嚴陣以待，已建立此菌之檢驗方法，做好最

完善之準備工作。

四、霍亂之流行

霍亂世界大流行發生於十九及二十世紀。典型霍亂(classical biotype)盛行於 1960 年代早期，而艾托型(E1 Tor)霍亂則發現於 1905 年，盛行於 1960 年代後期，曾造成亞洲、中東和非洲的大流行。目前世界上以艾托型為主要之流行型。自十九世紀以來，霍亂曾造成多次世界大流行，其流行範圍之廣和造成的感染死亡人數之多，實使人大為恐慌。霍亂最早流行於印度及東南亞，以這些地區為中心，隨著船運航線、商業路線、朝聖遷移路線而散佈。霍亂在北美洲自 1800 年代以後就很少了，但在路易西安納和德克薩斯州的墨西哥灣沿岸仍有地區性流行。

根據世界衛生組織 1995 年 7 月 18 日出刊之流行病學週刊(WER)最新疫情指出，去年全球共有三十八萬四千多名霍亂病例通報，較 1993 年增加了 2%，而亞洲二十六個國家共有十萬多名霍亂病例，較 1993 年增加了 17%。

1994 年共有 94 個國家地區向世界衛生組織通報霍亂病例，是歷年來通報數最多的一年，去年共接獲 384,403 三名霍亂病例通報，全年中發生多次大流行的地點分別在薩伊的盧安達難民營、阿富汗、巴西、幾內亞、幾內亞比索及索馬利亞。

非洲仍是病例數最多的地區。美洲則自 1991 年以來，病例數持續減少。歐洲則主要是境外移入病例，但本土病例亦有增加。至於亞洲地區，去年有二十六個國家通報了 106,100 個霍亂病例，其中最多的是阿富汗 38,735 人，其次為中國大陸的 34,521 人及印度的 4,937 人。

亞洲地區共有十個國家有這型霍亂病例，包括大陸、香港、印度、馬來西亞及泰國等。

台灣地區自民國以後共發生四次大流行(民國 1、8—9、35、和 51 年)，前三次患者人數共 10,645 人，死亡 6,834 人(64%)，由於醫療進步，民國 51 年的 388 名患者中共有 24 名死亡(6%)。台灣地區自民國 51 年本土霍亂絕跡後，到民國 79 年才又發生境外移入病例，患者是在旅遊雅加達時染病。民國 83 年 4 月有兩例前往泰國普吉島旅遊而感染霍亂。今年 2 月、3 月及 7 月則各有一人自峇里島染病回國之案 1 列，由以上數字可發現境外移入之案例有越來越頻繁之趨勢，值得國人重視。此外，日本國內到二月底為止，已有超過 150 個由峇里島旅遊境外移入霍亂之案例。希望國人出國旅遊時要特別注意飲食衛生，以免感染疾病。

五、霍亂之臨床症狀

霍亂的主要症狀是腹瀉，若較輕之病例，一般而言其糞便是軟性的，腹瀉次數亦只是一天數次而已，且一天之糞便量不到一公升，但如屬重症者，除有腹部之不快感及精神不安外，會突然間發生嚴重腹瀉及嘔吐，然後陷入休克狀態，其糞便如米湯樣，即白色混濁水樣，並混有少許黏液及具特有之甘味與腥味，每日糞便量自十公升至數十公升之多，在罹病期中之糞便總量，幾達體重之二倍量是常見的⁽³⁾。今年國內境外移入之病例，即有一天下瀉 40 次之情況發生。

表二 113 例感染孟加拉型霍亂病患之臨床症狀

症 狀	病例數 (百分比)
嘔吐	104 (92.0)
腹痛	50 (44.2)
食慾不振	54 (47.8)
發燒 99°F (37.2°C)	2 (1.8)
脫水 無	0 (0)
輕度	17 (15.0)
重度	96 (85.0)
住院前之腹瀉總時間 (小時，平均值 ± SD)	14.1 ± 10.1
住院前每小時的嘔吐次數 (平均值 ± SD)	0.8 ± 0.5
住院前每小時的腹瀉次數 (平均值 ± SD)	12.1 ± 6.0
年齡 (平均值 ± SD)	34.2 ± 18.7

(資料來源：Wachsmuth IK , Blake PA , and Olsvik O. *Vibrio cholerae and cholera*.1994 , P.99)

SD : 標準差

脫水狀態如屬輕度時，其皮膚彈性會稍有影響，脈搏變快且弱，不容易摸到脈動，如水份喪失量達體重之 8%—12% 時，就達最嚴重之脫水程度，同時其血壓收縮壓會下降，皮膚變乾燥、缺乏彈性、意識消失、講話聲音會變為嘎嘎聲或幾為失聲、小便次數減少，甚至呈現無尿狀態、有時併有低血鉀症之痙攣症狀，此時病人全身之特徵是眼球下陷、兩頰凹陷，其手指頭皮膚有皺紋，以及皮膚有壓痛感等症狀出現，但通常不致伴有腹痛及發熱。

孟加拉型霍亂之臨床症狀與 O1 血清型霍亂並無兩樣，其特徵是呈白血球增多的患者較多，主訴腹痛之病患亦多(很難與肌肉痛區別，如附表二)。如和艾托 O1 型霍亂相比較，不同的地方是其症狀較為嚴重，且罹病者大都是成人羣。

六、感染性及免疫性

個人感受性差異很大，胃酸缺乏者將增加發病的危險性，不過即使在嚴重的流行區域，侵襲率也甚少超過 2%。感染後數種抗體增加(殺弧菌抗體、抗毒素抗體，和凝集抗體)，可抵抗再次感染，尤其是對同一型的細菌持續時間更長，最長可達三年⁽²⁾。在霍亂呈地方流行的地區，大部分的人於成年早期均已獲得抗體。

霍亂弧菌對外界環境抗性不強，耐鹼而不耐酸，在室溫下數小時即死亡，也易為化學消毒劑所殺死。因此，飲水中加氯消毒法(chlorination)一般即可破壞霍亂弧菌，而 55°C 中加熱 10 分鐘亦可將之殺死。牛奶、水或飲料經巴斯德滅菌法處理後，已足夠保證安全。根據美國路易斯安那州 1978 年流行之研究結果得知：蟹類應煮沸至少十分鐘才可殺死其中存在之霍亂弧菌⁽⁴⁾，國人嗜食海鮮，故要特別注意。此菌貯藏在寒冷潮濕的環境下與新鮮水果蔬菜的表面可生存四至七天，在凍結的冰內亦可活三至四天。即使誤食霍亂弧菌，胃酸可殺死其中大部分；其他腸道細菌之拮抗作用亦可壓制其繁殖，因此至少需食入一億至一百億個細菌，才能致病，而沙門氏菌和志賀氏痢疾桿菌，只要吃進一百到十萬個細菌即可感染。

七、檢體之採取與送檢

在採取檢體之時最好在尚未投與藥物(抗生素)之前，通常每一個案採兩個檢體，分別放入兩種培養基中：(1)鹼性蛋白練水與(2)保存培養基 Cary Blair 以常溫輸送，並應事先與檢驗單位(衛生署預防醫學研究所或各地檢驗站)連繫，以便事先準備檢驗用培養基，以縮短檢驗判定時間。

(一)人體糞便檢體之採檢：

- 1.將患者所排泄之糞便(白色混濁水樣)或嘔吐物分別採取 1—2 公克分別放入 1%蛋白練水及保存培養基內。
- 2.如無糞便可採時,改用肛門揮拭法(RectalSwab)以下列方法採取肛門拭子檢體：
先將無菌棉棒沾取蛋白陳水後插入病患肛門 2—3 公分再將棉棒轉一圈後抽出放入蛋白陳水試管內(及將棉棒穿入保存液內)，但如以本方法採取時最好採兩支，以補檢體量之不足。
- 3.若醫院或診所一時無法取得蛋白練培養基，可將吸墨紙浸於液狀糞便吸取糞便後，將其置入密閉塑膠袋後送驗。
- 4.接觸者之採檢亦同(使用同一廚房、餐廳、廁所、水源〔自來水除外〕及其他可疑人員)

(二)環境檢體之採檢：

- 1.病患住家(包括病患用餐之食堂、餐館)
 - (1)廁所內大便檢體：採 1 公克放入裝有 15mL 之 1%蛋白練水試管內。
 - (2)自來水、井水及下水溝檢體：採取檢體約 450mL 之容有 50mL 10%(10 倍)蛋白練水塑膠瓶內。
 - (3)陰堂、餐館之廚房及可能被污染之公用處所(如休息室之飲水、飲茶處等)
在實施廚房之採檢時請特別注意調理用砧板、餽水、食物、水果、食器等，其採取檢體方法如下：將 1 蛋白凍水 1—2mL 倒在砧板或食器上面用棉棒在其上面擦拭後將棉棒放入試管內。至於餽水之採檢即取 2—5 公克餽水直接放入試管內搖動混合。
- 2.排水溝、河川：
準備 500mL 裝塑膠瓶(無菌)內裝 10%(10 倍)蛋白陳水 50mL，將檢體 450mL 裝進以常溫送驗，在採取河川檢體時最好採取該河川之出海交界處之檢體為主。
- 3.採檢工作上應行注意事項：
 - (1)採檢用之鹼性蛋白練水因較容易變質、生霉，在工作前應先行檢視是否已變質。
 - (2)採檢用具(棉棒、酒精棉、送檢名冊、複寫紙、原子筆、標籤紙、簽字筆、酒精燈、打火機等)應事先準備齊全裝妥採檢箱，以利採檢作業。

(3)在舉行大規模環境採檢前，應事先與預防醫學研究所或各地之檢驗站連繫，以便準備檢驗培養基。

(4)環境檢體未轉為陰性前，每日仍應繼續採檢至轉陰為止

八、霍亂弧菌之形態及鑑定

霍亂弧菌雖曾於 1854 年於Florence被Pacini 觀察到，直到 1883 年才首先被Robert Koch 分離出來。第一次分離時，霍亂弧菌屬細菌呈逗點形彎曲棒狀，約 2 – 4 μm 長，藉單一極鞭毛運動。長期培養後，弧菌屬細菌會變為直棒狀，類似其他革蘭氏陰性腸內菌。

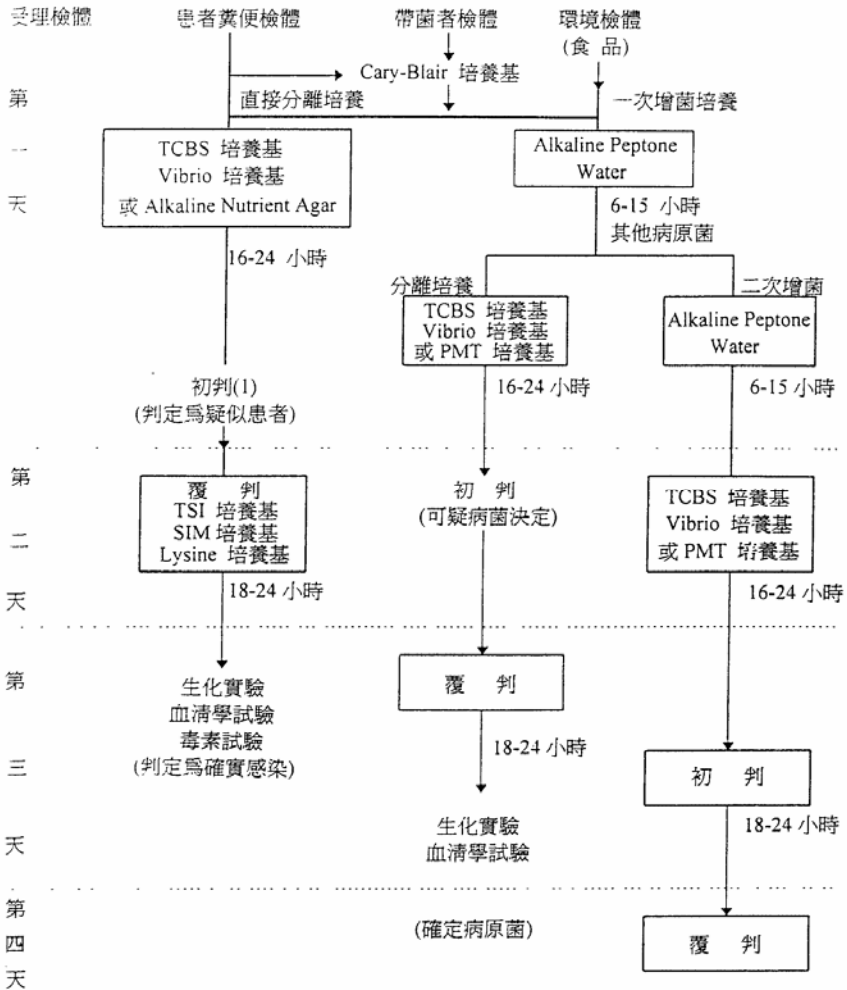
鏡檢檢體可由糞便採取黏膜小片，抹片觀察到的顯微外觀並不明確。暗視野或相位差顯微鏡可以顯示快速移動的弧菌。

霍亂弧菌屬細菌產生凸面、光滑、圓形的菌落，光線照射下呈半透明及顆粒狀。霍亂弧菌與其他大部份弧菌於 37 $^{\circ}\text{C}$ 時可在各種培養基上長得很好，包括含有礦物鹽及以天門冬醯氨(asparigine)為碳、氮來源的培養基。霍亂弧菌於硫代硫酸鹽—檸檬酸鹽—膽鹽—蔗糖培養基(thiosulfate – citrate – bile – sucrose(TCBS)agar)上生長良好，形成黃色菌落。弧菌呈氧化酵素(oxidase)陽性反應，所以可與生長於含血瓊脂(blood agar)的腸內革蘭氏陰性菌分別。很特別地，這些細菌生長於高pH(8.5–9.5)值下，故很快會被酸殺死，故培養基若含有可醱酵之碳水化合物，會很快地變成無菌狀態。霍亂流行區內，直接培養於選擇性培養基(selective medium)，如TCBS 和添加鹼性蛋白練水(alkaline peptone water)的培養基比較合適。但是在霍亂很少的地區，沒有必要也沒有價值做例行糞便特殊培養基(如TCBS)培養⁽⁵⁾。

霍亂弧菌在蛋白陳培養基、pH 接近 9.0 的血液瓊脂或TCBS 瓊脂上生長迅速，18 小時內可得典型之菌落。為了增殖，可以滴幾滴的糞便於牛磺膽酸豐蛋白練肉汁(taurocholate – peptone broth)(pH 5.0–9.0)上培養 6–8 小時，再將菌體染色或再接種(subculture)。

O1 群霍亂弧菌可以玻片凝集試驗(slide agglutination)，利用抗O1 抗血清，和生化反應型式加以鑑別。行政院衛生署預防醫學研究所霍亂弧菌之檢驗方法如圖二所示。

圖二 行政院衛生署預防醫學研究所霍亂弧菌檢驗法



九、預防方法

最重要的預防方法，就是在霍亂流行地區內，絕不飲用生水及生吃任何食物，對病患及帶菌者之隔離，污染場所物品、日用品、食物之消毒等方法，但在流行地區，上列方法之執行是極度困難的。

目前，霍亂疫苗之預防接種效果並非絕對有效，其有效期限只有三至四個月，但現在已有關於口服霍亂疫苗之開發實驗報告，並發現已有相當效果。但該項疫苗僅對 O1 型霍亂弧菌有效，對孟加拉型霍亂弧菌並無預防效果。故早日開發出對孟加拉型霍亂弧菌有效的新疫苗是當務之急。前面曾提及世界衛生組織(WHO)已要求會員國，如發現孟加拉型霍亂患者時，應通報該組織，今後如發現有疑似病患或檢出疑似弧菌時，各地方衛生單位，應即送衛生署預防醫學研究所鑑定。診斷用之 0139 血清亦已上市，在市面上可購買得到。

十、大流行時應採取之措施

- (一)教育危險族群，若有發病應立即尋求適當的醫療。政府需提供有效的治療措施。
- (二)採取緊急措施確保供水安全，直到確定供水之氯化和防污已足夠；氯化或煮沸所有與食用有關的水，如飲水、煮食物水、洗碗盤水等。
- (三)確實監視食物和飲用水的準備：煮過的水和食物應防止被蒼蠅污染和使用不潔的處理方式。切記勿於霍亂患者死亡的場所提供食物，否則極易引起霍亂流行。
- (四)進行完整的流行病學調查以找出傳染媒介和人、時、地資料，並依此結果擬定防治計畫。
- (五)提供安全的污水處理設備。
- (六)疫苗沒有實效。

撰稿者：潘子明(行政院衛生署預防醫學研究所細菌組)

參考文獻

1. Baron S , Jennings PM. Medical Microbiology , 13th Ed. Churchill Livingstone Inc., New York , p.351 – 363 , 1991.
2. Wacho nuth IK , Blake PA and Olsvik O. Vibrio cholerae and cholera , ASM Press , Washington , DC , p.135 – 378 , 1994.

3. Murray PR , Drew WL , Kobayashi GS , et al. Medical Microbiology , CV Mosby CO., London , p.128—129 , 1990.
4. Blake BK , Allegra DT , Snyder : JD , et al. 1980 ; Cholera—A possible endemic focus in the United States. N. Eng. J. Med. 1980 ; 6 : 305—309.
5. Murray PR , Baron EJ , Pfaller MA , et al. Manual of Clinical Microbiology , 6th Ed. ASM Press , Washington , DC , p.465—476 , 1995.