

食因性細菌傳染病分子分型監測網(PulseNet)簡介

邱乾順、吳和生

衛生署疾病管制局研究檢驗中心

摘要

行政院衛生署疾病管制局於 2006 年 10 月 3 日宣布，正式成立我國『細菌傳染病分子分型監測網』-簡稱台灣刺絲網(PulseNet Taiwan)。此監測系統之技術平台係傳承於美國疾病管制中心在 1996 年所建立之全國分子分型監測網—PulseNet，PulseNet 用於監測大腸桿菌 O157 等食因性疾病，成效卓著。PulseNet 技術平台包括標準化的 PFGE 基因分型技術、分析/比對 DNA 指紋圖譜與建立圖譜資料庫之電腦軟體—BioNumerics、與交換資料的網路系統。PulseNet 的運作，係由各實驗室分析菌株之 PFGE 圖譜，比對資料庫之菌株圖譜，交換資訊，找出同源菌株與可疑的群聚感染個案，指引流病調查方向，追查出感染來源，再由相關衛生單位接手進行防治工作；運作團隊包括公共衛生、農政與食品管理機關。PulseNet 已推廣到世界各地，朝建立全球性監測網目標邁進。台灣 PulseNet 可應用於監測全國食因性細菌傳染病，建立全國主要細菌傳染病病原 DNA 指紋圖譜資料庫，是國際 PulseNet 監測網之交流平台，可併入生物恐怖攻擊防禦體系之一環。本文介紹 PulseNet 監測網發展歷史，國際 PulseNet 監測網之發展現況，我國 PulseNet 之現況與發展方向，提供防疫界參考。

PulseNet 的成立與發展

1992-1993 年，美國發生一起橫跨數州的大腸桿菌(*Escherichia coli*) 血清群 O157:H7 食品中毒案件[1]，美國疾病管制中心(Centers for Disease Control

民國 95 年 12 月 10 日受理；民國 96 年 3 月 12 日接受刊載

通訊作者：邱乾順；聯絡地址：台中市南屯區文心南三路 20 號 5 樓

e-mail：nipmcs@cdc.gov.tw

and Prevention, CDC) 的實驗室應用脈衝電泳技術 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 分析自臨床病人與可疑食品所分離之菌株 PFGE 圖譜 (或稱 DNA 指紋圖譜), 証實感染媒介為速食店的漢堡牛肉餅, 相關單位得以緊急召回污染食品, 遏止疫情蔓延。應用 PFGE 分子分型技術分析細菌菌株 DNA 指紋圖譜, 經由比對指紋圖譜確立菌株之親緣關係, 由菌株來源追查可能的群聚感染個案, 指引衛生單位進行流行病學追蹤調查, 因而得以儘早查出感染來源, 施以防治措施, 此一應用模式對防疫工作有很大貢獻。1993 年的成功例子突顯 PFGE 技術, 在細菌傳染病流行病學調查上的卓越功能; 此後, 美國 CDC 湧入各地要求進行 PFGE 分析的大量菌株, 龐大的需求已超過美國 CDC 實驗室的負荷, 因而促使 PulseNet 的發展[2, 3]。

當時美國 CDC「食因性與腹瀉疾病實驗室」的負責人 Balasubra Swaminathan 博士, 提出將 PFGE 技術標準化, 再將標準 PFGE 技術, 推廣到各州的公共衛生實驗室, 由各州自行分析轄區內分離之 *E. coli* O157 菌株, 並將 PFGE 圖譜電子影像檔, 經由網路傳到美國 CDC 的資料庫中心, 如此可加快分析比對菌株的速度, 及時偵測群聚感染(cluster), 同時可解決 CDC 實驗室的負擔。1995 年開始執行試辦計畫, 由美國 CDC 與美國公衛實驗室協會 (Association of Public Health Laboratories, APHL) 結合 4 個州 (Massachusetts, Minnesota, Washington, Texas) 公衛實驗室開始此項「食因性疾病分子分型監測網」的監測工作。此項監測計畫後來發展成全國性的食因性疾病監測網, 稱為 PulseNet (National molecular subtyping network for foodborne disease surveillance)。PulseNet 在 1998 年由當時美國副總統高爾 (Al Gore) 主持正式成立典禮, 到 2001 年, 美國 PulseNet 成員已包括 50 州的公衛實驗室、美國農業部 (USDA) 與美國藥物食品管理局 (FDA) 轄下相關實驗室。在跨國食品銷售日趨興盛的趨勢和生物恐怖攻擊的陰影下, 需要全世界各國共同努力, 建立一完善的食品安全監測體系。PulseNet 因其執行成效卓著, 加上技術平台應用網際網路的快速優勢, 美國 CDC 開始推廣 PulseNet, 協助成立區域性的

PulseNet 組織，目前先後成立之區域性組織，包括 PulseNet Europe、PulseNet Asia Pacific、PulseNet Latin America，目前已超過 50 個國家參與區域性 PulseNet 組織[4]；美國與加拿大更已簽署備忘錄，雙方之 PulseNet 實驗室皆能進入對方資料庫，直接進行菌株 PFGE 圖譜之即時比對。

PulseNet 之技術平台

PulseNet 技術核心，包括標準化的 PFGE 分子分型技術，分析 PFGE 圖譜與建立圖譜資料庫的電腦軟體—BioNumerics、與交換資訊的網際網路。PFGE 是分析細菌全基因體限制酶片段之技術，操作過程中將細菌體包埋在瓊膠(agarose)內，以避免基因體 DNA 在操作過程中斷裂；經由酵素與化學藥劑分解細菌體及清洗膠體過程，將細胞壁、細胞內容物清洗掉，留在瓊膠內之基因體 DNA 經特定的限制酶切割後，使用特殊的電泳儀器(脈衝電泳儀)分開巨大的 DNA 片段，DNA 片段依大小排列在大片瓊膠中，形成獨特的 PFGE (DNA)指紋圖譜，經由比對 DNA 圖譜，可比對菌株間之種源親緣性。PFGE 技術受到許多因素包括培養細菌的培養基、限制酶種類、瓊膠強度/密度、電泳儀器與電泳條件的影響，因此必需將分析的流程標準化，所得到 DNA 圖譜，方能在不同實驗室間進行比對。PFGE 技術的應用已有 20 年，但 PFGE 操作流程複雜，從萃取 DNA 到完成電泳膠分析，往往要耗費 5-7 天的時間，且產生的圖譜品質難以控制，實驗結果往往由個別操作人員或實驗室技術所決定，然而經由美國 CDC 研究人員的努力，現今整個 PFGE 操作流程只需 2 天[5]，且 DNA 圖譜品質良好穩定。

PFGE 技術雖已大有改進，但無法自動化，仍然是相當耗費人力與時間的技術，難以分析大量菌株；為解決此問題，我國疾病管制局實驗室依照美國 CDC 之原始設計，請廠商組裝清洗膠體的自動化機器(如圖一)，此機器用於最耗費人力與時間的膠體清洗步驟，降低 PFGE 操作的人為因素，所產生之 PFGE 圖譜品質優良穩定(如圖二)，提昇實驗室分析菌株數之容量。

PFGE 雖被認為是目前細菌基因分型技術中最優者，然而對某些細菌病原之分型效力仍不符期待，加上其在操作上耗時、耗力，產生之圖譜為記憶容量龐大的影像資料，圖譜比對需複雜昂貴的電腦軟體等缺點，發展與 PFGE 相當或更高分型效力、操作容易/可自動化、資料形式簡單/容易透過網路傳輸/比對分析的下世代分子分型技術，一直是學術界研發的重點。美國 CDC 在評估現今各種基因分型方法後，認為多位子重覆序列變異位址分析 (multi-locus VNTR [variable-number tandem repeat] analysis, MLVA) 方法，與 PFGE 具有互補的效能，可做為發展與評估之目標。該方法在 *E. coli* O157 的應用，已通過跨國跨實驗室的評估[6]，將被 PulseNet 實驗室採用，補強對 *E. coli* O157 的分型效力。現今已有許多菌種之 MLVA 技術已發展完成 [7-14]，然在應用上，仍有待有系統性的評估與確效(validation)過程。

圖譜分析與比對之電腦軟體，也是 PulseNet 監測網之核心。目前 PulseNet 採用由比列時 Applied Maths 公司所發展的 BioNumerics 電腦軟體，用來分析 DNA 圖譜與建置圖譜資料庫。該電腦軟體陪伴 PulseNet 成長，並替美國 CDC 解決 PulseNet 運作過程中，所面臨之圖譜資料傳輸與資料庫線上存取/比對之問題。由於 PFGE 圖譜是影像資料，資料記憶容量大，在資料之線上傳輸與分析比對時，面臨許多問題，此皆有賴 Applied Maths 公司和 PulseNet 工作團隊的溝通與合作解決。

現代的電腦網際網路系統，也是 PulseNet 監測網得以運作的關鍵。除了應用網路傳輸 PFGE 圖譜到資料庫外，各地實驗室也透過網路到資料庫進行圖譜的比對。美國疾病管制中心亦建立了 PFGE Webboard 的虛擬論壇空間，提供交換監測情報，相關問題的問答等，該 Webboard 亦設有自動轉信功能，將公佈在 Webboard 之訊息自動傳送給各地實驗室相關人員，大大提高 PulseNet 的運作效能。

美國 PulseNet 監測網之運作模式

美國 PulseNet 監測網包括 50 個州的公共衛生實驗室、農業部(USDA)與

食品藥物管理局(FDA)轄下之實驗室，各實驗室使用標準化 PFGE 操作程序，即時分析各醫院或農畜產品所分離之監測菌種株，例如 *E. coli* O157、*Listeria monocytogenes*、*Shigella sonnei*、nontyphoidal *Salmonella* 等，將菌株 PFGE 圖譜和資料庫內最近六個月內所分離之菌株圖譜進行比對，當至少有 2 株菌株具有相同圖譜者，即視為一個群聚(cluster)，各實驗室必需將該群聚菌株圖譜與分離來源的個案相關病流病訊息放到 PFGE Webboard 上，同時將菌株圖譜上傳位於亞特蘭大的疾病管制中心資料庫，該電腦 Webboard 程式會自動將訊息轉寄到各實驗室相關人員電子信箱，要求各實驗室啟動資料庫比對作業，有圖譜符合的實驗室再將訊息回報 Webboard，各州視監測之訊息，自行啟動流病調查，疾病管制中心的管理者也給予群聚事件統一編號，方便各實驗室交換監測資訊，在有跨州流行時，亦會由疾病管制中心啟動流病調查，追查感染來源，在追查確定感染來源時，再由食品管理單位接手公佈疫情，啟動食品之回收等後續行政措施。由實驗室偵測到一個可疑的群聚，到後來成功追察出感染來源，成功率可達 30%，花費之時間可能數日到數個月之久。例如今年(2007 年)2 月 14 日美國 FDA 公佈由 ConAgra 食品公司生產的 Peter Pan 與 Great Value 牌花生醬遭沙門氏菌(*Salmonella Tennessee*)污染事件，即經歷數個月的持續偵測與追查，才証實可能的污染產品。食品污染很難經由例行性的食品抽樣檢查作業而發現，而人食用污染的食品生病，會前往醫院治療，進而分離到病原菌株，所以 PulseNet 的監測系統，是為食品安全把關的利器。美國 PulseNet 的監測網主角雖然是人醫的公共衛生單位，但農政與食品安全單位的參與，也是 PulseNet 整個系統能否成功運作的關鍵條件。由於食品是生物恐怖攻擊最容易下手的標的，美國 PulseNet 運作的單位有時也會包括 FBI 聯邦調查局。

PulseNet 監測網應用範圍

食因性疾病即時監測：由於現今食品貯存技術進步與販售通路網發達，

食品能被長時間保存並銷售到廣大地區，因此食品一旦遭受污染，經常會波及各地，但這類“散發式”的群突發事件(diffused outbreak)，開始時往往以“零星病例”形式出現，故很難被傳統的監測系統偵測到。然而如能應用 PulseNet 監測網，即可在少數“零星”病例出現時，即透過 PFGE 圖譜比對，找出可能為同源的菌株，由菌株標定可能的群聚感染(cluster)個案，再透過流病人員調查確認群突發事件，追蹤感染來源，再由相關單位接手進行後續的疾病控制工作。PulseNet 偵測群聚感染之靈敏度高，因此具有早期偵測傳染病之功能。美國疾病管制中心創立 PulseNet 最初目的，在監測 *E. coli* O157 的流行，因成效卓著，而陸續加入 *L. monocytogenes*、*Shigella* spp.、nontyphoidal *Salmonella* 與 *Campylobacter* spp. 等食因性疾。每一新列入 PulseNet 監測項目的疾病，被發現之群突發事件皆大量增加，但病例規模皆大為縮小[15]。群突發事件之規模縮小與 PulseNet 之靈敏度有關，因群聚感染能被早期偵測到，及早遏止感染的蔓延，也與許多小規模之群突發事件能被偵測到有關。

防禦生物恐怖攻擊：大規模毀滅性的生物戰，會受到國際共同報復，未來發生之機會不大，但目的在製造社會恐慌與經濟損失而暗中發動的生物恐怖攻擊，在不對稱戰爭的思維下，未來可能會層出不窮，而食品與飲用水是生物恐怖攻擊最容易使用之攻擊媒介。PulseNet 能敏感地監測食因性與其它細菌性傳染病之群聚感染，是生物防禦體系(biodefense system)偵測生物恐怖攻擊事件的利器。PulseNet 使用之分子分型技術與系統平台，亦可運用於管理高危險等級(high risk group)之病原菌。

建立細菌病原 DNA 指紋圖譜資料庫：例行性分析食因性疾細菌病原，可累積大量菌株 DNA 指紋圖譜資料庫。原本用於監測食因性疾病的 PulseNet 監測網，其技術平台亦可用於建立其它細菌傳染病病原之 DNA 指紋圖譜資料庫，用於觀測傳染病病原的長期動態變化，與鑑定區別本土與外來病原。

國際 PulseNet 監測網

隨著國際食品交易增加，一地生產之食品，消費地往往遠在千萬里外的

地區。近年來，食品污染所爆發的國際感染流行事件案例層出不窮[16-19]，加上生物恐怖攻擊的威脅，突顯建立食因性疾病國際監測網的必要性。PulseNet 的技術平台與功能，受到許多國家防疫機構的重視，紛紛派員到美國 CDC 研習，並建立本國之 PulseNet 監測網，美國 CDC 亦積極援助成立區域性的 PulseNet 組織。國際 PulseNet 監測網，包括國家級與區域性的 PulseNet 組織，主要有 PulseNet USA、PulseNet Canada、PulseNet Asia Pacific、PulseNet Latin America 與 PulseNet Europe，國際監測網成員目前已超過 50 個國家，且參與國家數正持續增加中。以下簡介各 PulseNet 組織發展過程與現狀，詳細資料可參考美國 CDC 之 PulseNet 網站[4]與所列之參考資料[20]。

PulseNet USA：1996 年美國首先在 CDC 建立此一監測系統，1998 年由當時的副總統高爾宣布正式成立。參與監測網的實驗室包括掌管公共衛生的 CDC、50 個州與少數市級/郡級實驗室，以及管理食品產品的 FDA 與管理農畜產品的 USDA 轄下實驗室等。最初監測項目為 *E. coli* O157，陸續加入 *L. monocytogenes*、*Shigella* spp.、nontyphoidal *Salomonella*、*Campylobacter* spp.、*Vibrio cholerae* 等[15]。美國 PulseNet 監測網分析菌株量逐年增加，由 1996 年的 196 株到 2004 年的近 40,000 株，偵測到眾多食因性疾病群突發事件。2005 年與加拿大簽署備忘錄，開創國與國間即時分享病原菌株資訊與 PFGE 圖譜之國際防疫典範。

PulseNet Canada：2003 年採用 PulseNet USA 之標準 PFGE 方法，整合各省公衛實驗室正式成立 PulseNet Canada，2005 年並和美國簽署備忘錄，兩國間因此能即時地分享資料庫之菌株資料與 PFGE 圖譜。在正式成立 PulseNet Canada 之前，加拿大即與美國透過非正式管道，即時分享菌株 PFGE 圖譜，啟動流病調查，確定多起美國與加拿大的跨國食品污染群突發事件，例如 1999 年柳橙汁污染 *Sal. Muenchen* 的事件[21]，2001 年綠豆芽污染 *Sal. Enteritidis* 事件[22]，2000/2001 年與 2003/2004 年杏仁污染 *Sal. Enteritidis* 事件[23, 24]。2003/2004 杏仁污染事件的調查工作，導致廠商回收 1 千 3 百萬

磅製品，這些製品不只在北美洲販售，也出口到法國、義大利、日本、韓國、馬來西亞、墨西哥、英國與台灣。PulseNet Canada 監測項目主要為 *E. coli*、*Salmonella*、*Shigella*、*L. monocytogenes*。

PulseNet Asia Pacific：2002 年 12 月在夏威夷召開籌備會議後，與會 11 國家(澳洲、孟加拉、中國、日本、韓國、馬來西亞、紐西蘭、菲律賓、台灣、泰國、越南)同意成立 PulseNet Asia Pacific 組織，組成執委會，台灣亦被選為執委會成員。2004 年，印度亦加入，至此 PulseNet Asia Pacific 涵蓋人口數高達 29 億人。雖然各國流行之主要食因性疾病差異頗大，但 *Salmonella* 污染是各國共同之問題，且因 PulseNet 平台不僅可監測食因性疾病，亦可監測其它細菌傳染病，因此 PulseNet Asia Pacific 將此一監測網監測範圍擴大，定位為細菌傳染性疾病之監測網。惟因組織內成員國之傳染病/食品監測系統發展程度、經濟與技術發展和各國政府支持程度差異甚大，加上政治因素，此監測網在短期內很難發揮具體功能。由於各國難以取得政府經費支持，定期召開年會相當困難，幸日本政府以國際研究計畫名義，撥款支助各國，並在美國 CDC 與 APHL 部份經費支持下，PulseNet Asia Pacific 成立已來，迄今已陸續召開 3 次年會，研商推動監測網之運作。

PulseNet Latin America：2003 年 12 月，12 個拉丁美洲國家在阿根廷首都布宜諾斯艾利斯(Buenos Aires)召開會議，同意成立 PulseNet Latin America 監測網，並將此監測網納入各國之監測系統，目前有 12 個會員國，第一階段監測目標包括 *Salmonella* 與 *E. coli* O157。然而缺乏政府支持是組織成員國普遍面臨之問題，各國仍有待加強群突發事件的主動偵測與通報系統，與公衛部門和食品生產部門之溝通。

PulseNet Europe：2004 年 9 月 PulseNet Europe 正式成立，成員包括 30 個國家 57 個機構，這些機構包括 35 個公衛、21 獸醫與食品機構。PulseNet Europe 是目前三個區域性 PulseNet 組織中，成員最多，組織最健全，加上之前已有跨國腸道菌監測網(Enter-net)，累積國與國間之交流經驗與基礎，在新

成立的歐盟疾病管制中心(European Centers for Disease Control)架構下，PulseNet Europe 發展前景相當樂觀。第一階段監測項目包括 *Salmonella*、產 Shiga 毒素型 *E. coli* 與 *L. monocytogenes*。

台灣 PulseNet 簡介

2002 年疾病管制局派員到美國 CDC 研習 PulseNet 之標準化 PFGE 技術與使用 BioNumerics 圖譜分析軟體與建置圖譜資料庫的方法。2002-2003 年執行「建立重要傳染性病原細菌 DNA 指紋資料庫」研究計畫，在疾病管制局中區實驗室經由建立 *Shigella* spp.、*Neisseria meningitidis*、*Streptococcus pyogenes* 之 DNA 指紋圖譜資料庫之同時，購置儀器軟體設備，訓練實驗室成員操作標準 PFGE 之能力，建置 BioNumerics 圖譜資料庫與 PulseNet Taiwan 網站，並改善 PFGE 之操作流程；改善之 PFGE 流程優於目前各國使用之 PulseNet 標準 PFGE 流程，實驗室因而擁有分析大量菌株之容量。目前台灣 PFGE 分析容量，已屬亞太地區國家中規模最大者。2004-2005 年執行「建構台灣細菌病原實驗室分子分型即時監視網」研究計畫，開始監測全國之 *Shigella* spp.、*Sal. Typhi*、*Sal. Paratyphi*、*N. meningitidis*，同時添購疾病管制局各區實驗室之儀器與軟體設備，舉辦操作標準 PFGE、BioNumerics 與應用網際網路上傳圖譜資料之教育訓練。2002 年參與 PulseNet Asia Pacific 之籌備會議，並成為該區域監測網組織執委會一員；派員出席 2005 年 11 月在日本舉辦之 PulseNet Asia Pacific 第三次年會和 2006 年 12 月在中國舉辦之第四次年會，發表論文。在陸續運作近三年後，2006 年 10 月 3 日正式對外宣布 PulseNet Taiwan—台灣細菌傳染病分子分型監測網(簡稱台灣剝絲網)成立。台灣 PulseNet 能應用於食因性疾病即時監測，建立台灣主要細菌病原 DNA 指紋圖譜資料庫，這些細菌病原 DNA 指紋圖譜資料庫之建置，將可做為國際 PulseNet 監測網與生物防恐之資訊交流平台。台灣 PulseNet 技術平台系統之主要功能：

食因性疾病即時監測：世界各國與各地區盛行之食因性疾病不同，但 *Salmonella* 感染則是世界各國共同的問題。根據 1995 至 1999 年之統計[25]，引發台灣食因性疾病群突發事件之細菌病原，以腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 為首，佔所有食因性疾病群突發事件之 63.8%，*Salmonella* 佔第二位，佔 5.2%，金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 第三位，約佔 2.5%。至今台灣尚無 *E. coli* O157 之本土病例，亦無 *L. monocytogenes* 引發群突發事件之記錄。*Salmonella* 每年引發之群突發案件數只有十件左右，應屬嚴重低估，最大原因應該是目前傳統監測系統，無法偵測到經由廣大流通之食品引發的“散發性”群突發事件。目前台灣尚無 *Salmonella* 感染數之完整統計資料，不過若以美國每年有 140 萬 *Salmonella* 感染病例推估[26]，人口數為美國 1/13 的台灣每年至少有 10 萬例 *Salmonella* 感染病例，加上 *Salmonella* 國際感染流行事件發生頻率高，*Salmonella* 感染症應列為台灣首要的監測項目。*V. parahaemolyticus* 為海鮮魚貝類常駐菌，處理時因生熟食交叉污染，造成感染，監測效益不大。而 *L. monocytogenes* 引發之病例雖然不多，但該疾病之病情嚴重，致死率高，也常傳出國際間因食品污染引發的流行事件，需加強監測。唯 nontyphoidal *Salmonella* 與 *L. monocytogenes* 皆非法定傳染病病原，菌株取得困難；如何即時取得菌株，有賴疾病管制局之法規或行政措施的配合。

建置本土細菌病原 DNA 指紋圖譜資料庫：台灣四面環海，傳染病病原大多單純，但近年來，引入大量外勞，國人到中國、東南亞、非洲等疫區旅遊、經商、探親等，每日有數萬人出入國門，導致病原菌源源不絕傳入國內，在有系統性地建置各種細菌病原之 DNA 指紋圖譜資料庫後，可長期監測病原之流行變化，可用於鑑定本土與外來菌株，評估外來病原對我國防疫體系的衝擊。PulseNet 平台亦可應用於建立非食因性細菌疾病病原 DNA 指紋資料庫，目前疾病管制局所建立之病原資料庫，包括 *Sal. enterica*、*Shigella* spp.、*Str. pyogenes*、*Str. pneumoniae*、*N. meningitidis*、*Klebsiella pneumoniae*、*E. coli*

O157、*Bordetella pertussis*、*V. parahaemolyticus* 等，總計超過 12,000 筆病原資料；除此之外，在經過適當的評估後，該技術平台亦用於建立其它高危險等級(high risk group)之細菌病原 DNA 指紋圖譜資料，以強化對國內高危險級細菌病原之管控。

國際交流：在 PulseNet 監測網系統逐漸受到各國防疫部門的重視，逐漸整合成立國際性監測網之際，各國之 PulseNet 監測網與所建立之 DNA 指紋圖譜資料庫，將成為國際交流的基礎，相互交換疫情訊息，共同監測選定之傳染病。美國與加拿大在 2005 年簽定備忘錄，在能相互使用對方資料庫情形下，等於已建立了共同的傳染病監測網。台灣應朝與美日等重要國家或區域 PulseNet 監測網相互簽訂合作備忘錄的方向努力。在國際 PulseNet 聯監網完成整合之前，應先加強和其它建有 PulseNet 監測網的國家互動合作。2006 年 9 月爆發曾銷售到台灣的美國菠菜 *E. coli* O157 污染事件[27]，與 2004 年 8 月某航空公司供應餐點引發的國際 *S. sonnei* 感染群突發流行事件[28]，美國 CDC 皆在第一時間提供我國流行菌株之 PFGE 圖譜做為比對之用。國與國間合作進行食因性疾病群突發事件調查之模式，已因 PulseNet 技術平台的推廣，逐漸成形。

防禦生物恐怖攻擊：伴隨 2001 年 911 恐怖攻擊事件而來的炭疽孢子信件攻擊事件，讓世人再度陷於恐怖攻擊的陰影中。鑑於食品與飲用水是生物恐怖攻擊最可能利用的攻擊媒介，PulseNet 監測網應納入我國之生物防禦體系中，例行性監測食因性疾病的流行。

台灣 PulseNet 團隊

一個具完善功能的食因性疾病監測網必需整合農畜、食品與公衛部門，和相當的社會條件配合，例如建構完善的農畜產品追蹤系統，絕非單靠公衛部門的實驗室即能有效運作。美國 PulseNet 成功的原因，在於整合 50 個州的公衛實驗室，加上流行病學調查團隊充份的合作，同時有食品衛生管理的 FDA 和農畜管理的 USDA 參與，與完善的農畜產品販售的追蹤系統。一旦

PulseNet 監測到群聚感染後，立即將訊息提供流行病學專家，進行流病調查，追查確定感染來源，再由食品衛生管理部門與農畜管理部門進行相關行政處分。由於美國建有完善的農畜產品履歷系統(traceability system)，能有效追查食品感染來源。台灣之農畜產品之履歷系統正在建置當中，加上民眾與政府逐漸重視食品安全議題，未來台灣 PulseNet 監測網團隊，有機會整合包括農委會與衛生署所屬之疾病管制局與食品衛生處/藥物食品檢驗局，共同維護人民食的安全。

結語

傳染病流行之面貌已因快速便捷的交通發展與人類生活形態的改變，產生巨大變化。近年來，傳染病伴隨著國際化的潮流，跨越地理屏障，在國際間流竄；現今任何地區發生的流行性傳染病，皆有可能在 24 小時內傳到世界各個角落。食因性傳染病的監測，更值得特別重視，現今一地製造的污染食品，能被販售到世界各地引發感染流行，加上生物恐怖攻擊的陰影，食因性疾病的監測系統勢必要隨著時空環境而進化。現代化的監測系統，要能結合新的科技和觀念，整合政府各部門，通力合作。美國 PulseNet 監測網運作十年來，已成為一個新型傳染病監測系統的典範。台灣疾病管制局所屬實驗室已建立 PulseNet 監測網之技術平台，未來有待整合國內之衛生、食品與農畜管理部門，成立一個完整的食因性疾病監測網，建立由農場到餐桌(from farm to table)、餐桌到馬桶(from table to flash)的安全管理機制。在防疫國際化的潮流中，台灣 PulseNet 更應融入國際防疫體系，為人類共同的福祉貢獻心力。

謝誌

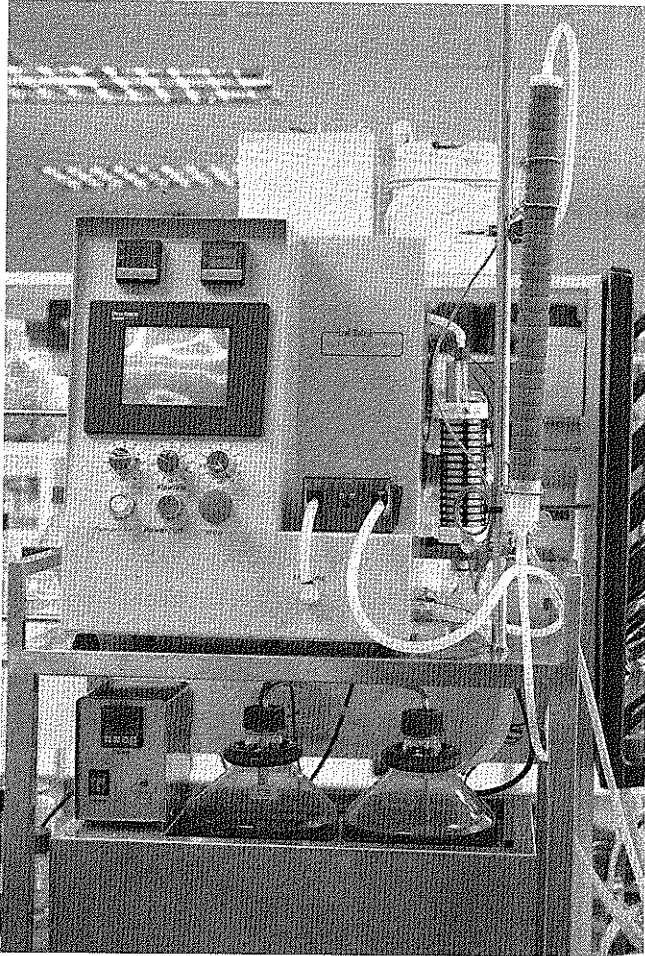
感謝美國疾病管制中心 Balasubra Swaminathan 博士在發展台灣 PulseNet 實驗室的技術協助。

參考文獻

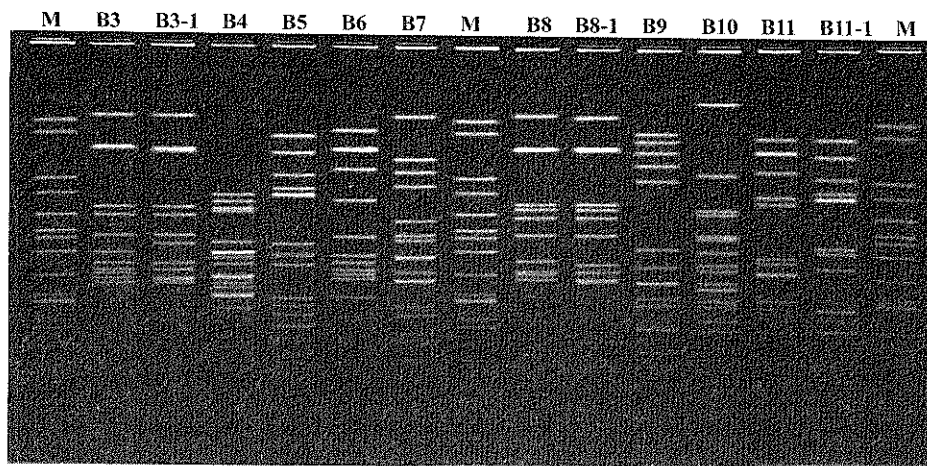
1. Centers for Disease Control and Prevention. Update: multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers--western United States, 1992-1993. *MMWR* 1993; 42: 258-63.
2. Barrett TJ, Lior H, Green JH, et al. Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 3013-7.
3. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, et al. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 382-9.
4. Centers for Disease Control and Prevention: PulseNet. [Online] [<http://www.cdc.gov/pulsenet/>] (accessed November 10, 2006).
5. 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.
6. Hyytia-Trees E, Smole SC, Fields PA, et al. Second generation subtyping: a proposed PulseNet protocol for multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 (STEC O157). *Foodborne Pathog Dis* 2006; 3: 118-31.
7. Ramisse V, Houssu P, Hernandez E, et al. Variable number of tandem repeats in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* for typing purposes. *J Clin Microbiol* 2004; 42:5722-30.
8. Pourcel C, Andre-Mazeaud F, Neubauer H, et al. Tandem repeats analysis for the high resolution phylogenetic analysis of *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol* 2004; 4:22.
9. Keim P, Price LB, Klevytska AM, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*.

- J Bacteriol 2000; 182: 2928-36.
10. Farlow J, Smith KL, Wong J, et al. Francisella tularensis strain typing using multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis. J Clin Microbiol 2001; 39: 3186-92.
 11. Noller AC, McEllistrem MC, Pacheco AG, et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis distinguishes outbreak and sporadic *Escherichia coli* O157:H7 isolates. J Clin Microbiol 2003; 41: 5389-97.
 12. Koeck JL, Njanpop-Lafourcade BM, Cade S, et al. Evaluation and selection of tandem repeat loci for *Streptococcus pneumoniae* MLVA strain typing. BMC Microbiol 2005; 5:66.
 13. Liao JC, Li CC, Chiou CS. Use of a multilocus variable-number tandem repeat analysis method for molecular subtyping and phylogenetic analysis of *Neisseria meningitidis* isolates. BMC Microbiol 2006; 6:44.
 14. Marsh JW, O'Leary MM, Shutt KA, et al. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis for investigation of *Clostridium difficile* transmission in Hospitals. J Clin Microbiol 2006; 44: 2558-66.
 15. Gerner-Smidt P, Hise K, Kincaid J, et al. PulseNet USA: a five-year update. *Foodborne Pathog Dis* 2006; 3: 9-19.
 16. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of *Shigella sonnei* infection associated with eating fresh parsley--United States and Canada, July-August 1998. MMWR 1999; 48: 285-9.
 17. Mahon BE, Ponka A, Hall WN, et al. An international outbreak of *Salmonella* infections caused by alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *J Infect Dis* 1997; 175: 876-82.
 18. Centers for Disease Control and Prevention. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with ground beef from a U.S. military installation--Okinawa, Japan, February 2004. MMWR 2005; 54: 40-2.
 19. Werber D, Dreesman J, Feil F, et al. International outbreak of *Salmonella*

- Oranienburg due to German chocolate. *BMC Infect Dis* 2005; 5:7.
20. Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Ng LK, et al. Building PulseNet International: an interconnected system of laboratory networks to facilitate timely public health recognition and response to foodborne disease outbreaks and emerging foodborne diseases. *Foodborne Pathog Dis* 2006; 3: 36-50.
 21. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of *Salmonella* serotype Muenchen infections associated with unpasteurized orange juice--United States and Canada, June 1999. *MMWR* 1999; 48: 582-5.
 22. Honish L, Nguyen Q. Outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 913 gastroenteritis associated with mung bean sprouts--Edmonton, 2001. *Can Commun Dis Rep* 2001; 27: 151-6.
 23. Isaacs S, Aramini J, Ciebin B, et al. An international outbreak of salmonellosis associated with raw almonds contaminated with a rare phage type of *Salmonella enteritidis*. *J Food Prot* 2005; 68: 191-8.
 24. Chan ES, Aramini J, Ciebin B, et al. Natural or raw almonds and an outbreak of a rare phage type of *Salmonella enteritidis* infection. *Can Commun Dis Rep* 2002; 28: 97-9.
 25. Chiou CS, Hsu SY, Chiu SI, et al. *Vibrio parahaemolyticus* serovar O3:K6 as cause of unusually high incidence of food-borne disease outbreaks in Taiwan from 1996 to 1999. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4621-5.
 26. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-25.
 27. Centers for Disease Control and Prevention. Ongoing multistate outbreak of *Escherichia coli* serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach--United States, September 2006. *MMWR* 2006; 55: 1045-6.
 28. 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.



圖一、全自動膠體清洗機，用以取代操作 PFGE 最耗時、耗力的清洗膠體步驟，有助節省人力，增快分析速度與增大實驗室分析菌株的容量，可得到高品質 DNA，有助節省限制酵素使用量與產生高品質 PFGE 圖譜。



圖二、PulseNet 監測網標準化 PFGE 操作方法產生之 *Neisseria meningitidis* 高品質 PFGE 圖譜。膠體清洗步驟是產生高品質 DNA 之關鍵步驟，配合台灣廠商組裝之自動化膠體清洗機，不需耗費大量人力與時間，即可製備高品質 DNA，生產高品質 PFGE 圖譜。