

德國 2011 年腸道出血性大腸桿菌感染疫情流病調查及可供我國借鏡之經驗

簡淑婉^{1*}、劉定萍¹、方啟泰^{2,3}

摘要

近年來我國與國際間食媒疾病事件層出不窮。在發生食品中毒事件時，衛生單位應視疫情規模及病原體特性，選擇適宜之流行病學方法進行調查，及確保實驗室具備相關病原體之檢驗技術及量能，並採行必要之防治措施，防杜疫情擴散。2011年德國發生腸道出血性大腸桿菌感染症，其規模遍及十餘國並造成四千餘人感染，本文搜尋線上相關文獻，彙整摘要本事件疫情始末，並分析德國衛生機構於調查期間所用之流行病學方法，以供我國參考借鏡。本事件疫情初期調查以探索性問卷調查及敘述性流行病學與病例對照研究為主，推斷個案罹病與飲食生菜相關，尚未釐清食品汙染源及與罹病之關聯。在發現群聚事件後陸續進行世代追蹤研究，利用食譜設計問卷及進行食品抽樣檢測，與追溯疑似汙染食品之生產鏈，而排除其他生菜為感染源，最終確定苜蓿為本次疫情禍首，並溯及一家苜蓿製造商。建議進行流行病學方法調查時須注意其特性與限制，如回溯性調查出現之回憶偏差，及病例對照研究之選樣偏差，與微生物檢驗時病原體型別差異等，才不致誤認汙染源，造成非必要之衝擊及損失。

關鍵字：苜蓿；食物中毒；德國；溶血性尿毒症候群；食媒性疾病

¹ 衛生福利部疾病管制署疫情中心

投稿日期：2015年03月02日

² 臺灣大學公共衛生學院流行病學與預防醫學研究所

接受日期：2015年04月20日

³ 臺大醫院內科部

通訊作者：簡淑婉^{1*}

DOI：10.6524/EB.20150609.31(11).001

E-mail：ellejian@cdc.gov.tw

前言

2011 年 5 月發生全球大規模之出血性大腸桿菌 (enterohaemorrhagic *E. coli*, 下稱 EHEC) 感染疫情, 其規模遍及十餘國並造成四千餘人感染, 50 人死亡, 大多數移入病例均具有德國旅遊史。經德國羅伯特·科赫研究所 (Robert Koch Institute, 下稱 RKI) 及地方衛生單位與跨國合作調查後, 確認該起疫情源自該國北部生產之苜蓿所致, 並與造成法國出血性大腸桿菌疫情之苜蓿種子來源相同, 疑似為本事件汙染源頭。德國當局進行多次流行病學調查及實驗室檢測, 最終釐清感染來源。近年來我國食品安全事件頻傳, 在民眾高度重視食品安全衛生議題下, 德國大規模食品中毒事件之調查經驗, 值得我國參考借鏡, 以下就本疫情事件流行病學調查方法進行分析探討。

材料與方法

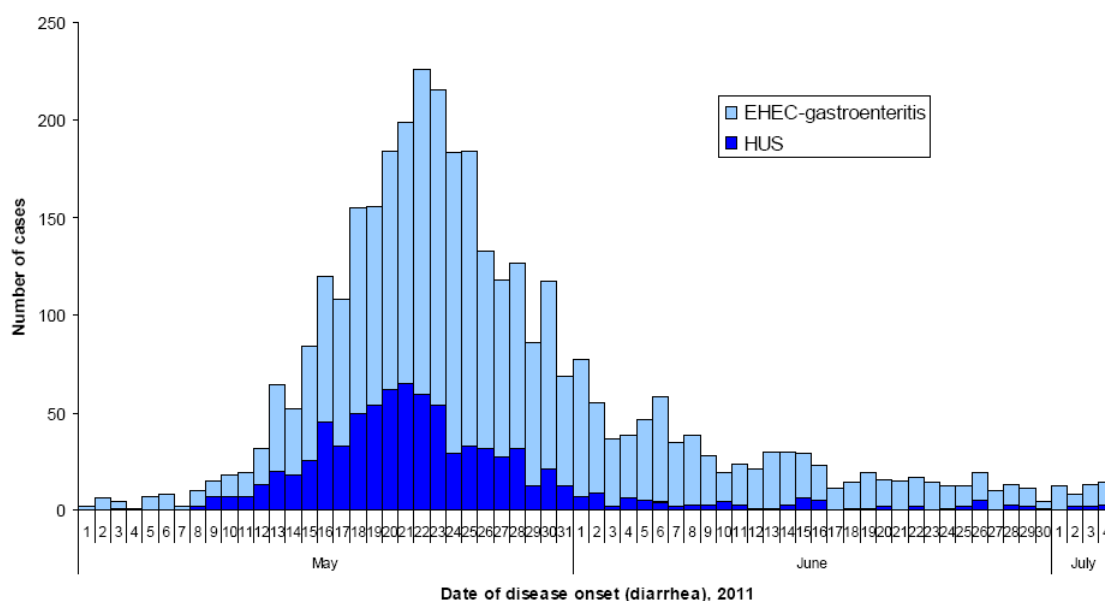
本文係以 Pubmed 及 Google Scholar 與 Google 等文獻搜尋引擎, 以 2011 年腸道出血性大腸桿菌感染事件相關關鍵字, 如「EHEC AND Germany AND epidemiology AND 2011」及「VTEC AND 2011 AND O104」等字串, 搜尋相關科學文獻及風險評估報告與疫情調查報告等, 彙整相關資料以進行疫情綜述及調查方法研析。

結果

一、敘述性流行病學調查

德國在 2011 年 5-7 月發生了 EHECO104:H4 感染事件, 全球累計 16 國約 4,321 名病例, 其中 850 名個案出現溶血性尿毒症候群 (haemorrhagic uremic syndrome, 下稱 HUS) 及約 53 例死亡[1]。在德國 2,987 例急性腸胃炎病例中, 68% HUS 及 58% EHEC 個案為女性, 並以成人為主, 病例主要集中於德國北部省市, 並於 6 月初因受汙染苜蓿回收下架後下降, 後續僅出現散發病例, 主要為二代感染及實驗室感染個案, RKI 於該年 7 月 26 日宣布疫情終止。

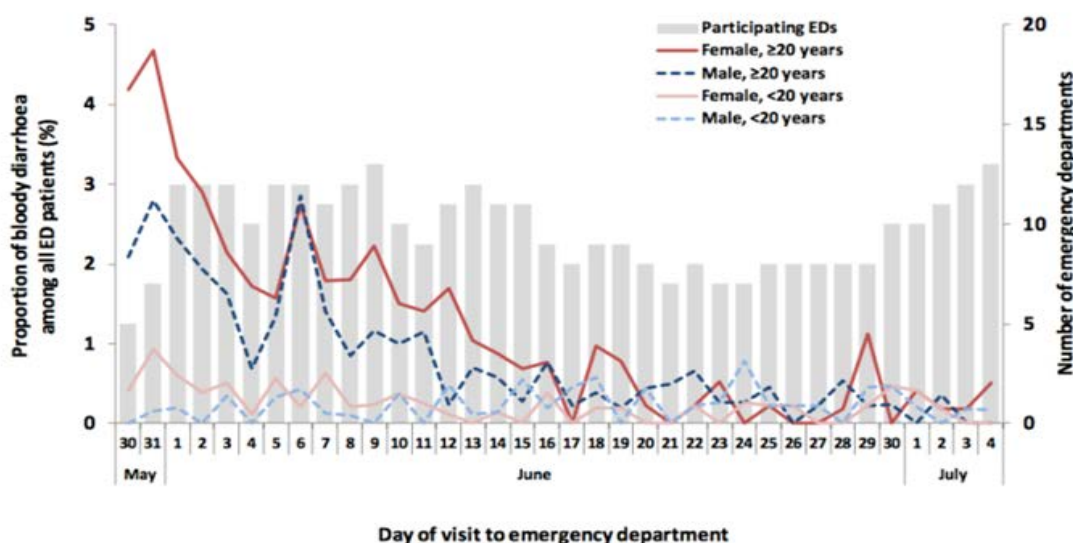
依據德國傳染病保護法第 6-7 項 (§ 6-7 IfSG, infection protection act), HUS 及 EHEC 疑似病例自 2001 年起即開始由臨床醫師進行線上通報及臨床實驗室檢驗, 並由當地衛生單位蒐集個案相關資訊。本事件疫情個案發病日自 5 月 8 日起迅速攀升, 在 5 月 22 日達高峰後下降, 最後個案發病日期為 7 月 4 日 (圖一), 另分析推測 HUS 個案暴露日期多在 5 月 23 日以前, 且集中於 5 月 12-14 日間。相較往年 EHEC 疫情, 本案 HUS 病例年齡分布明顯集中於成人, 且 5 歲以下病例數僅占 HUS 病例 1%, 另女性比例較 2001-2010 年之 EHEC 病例高 (68% 比 56%), 且潛伏期較往年 EHEC 事件長 (中位數 8 天, 往年約 3-4 天) [2]。6 月 1 日以後發病個案之年齡中位數及女性比例下降, 且分散至德國北部以外其他省市, 表示疫情後期之人口學特性已與往年 HUS 散發病例近似。RKI 於 5 月 19 日接獲漢堡市衛生單位通報, 遂於 5 月 20 日起與健康暨食品安全機構等聯邦及省市相關單位進行感染源調查。



圖一、德國 2011 年 EHEC O104:H4 病例發病日之疫情趨勢[3] ($N_{\text{HUS}}=809$, $N_{\text{EHEC}}=2,717$ 。
來源: Final presentation and evaluation of epidemiological findings in the EHEC
O104:H4 Outbreak, Germany 2011:P. 6, RKI)

二、參與醫院急診血便病例監測

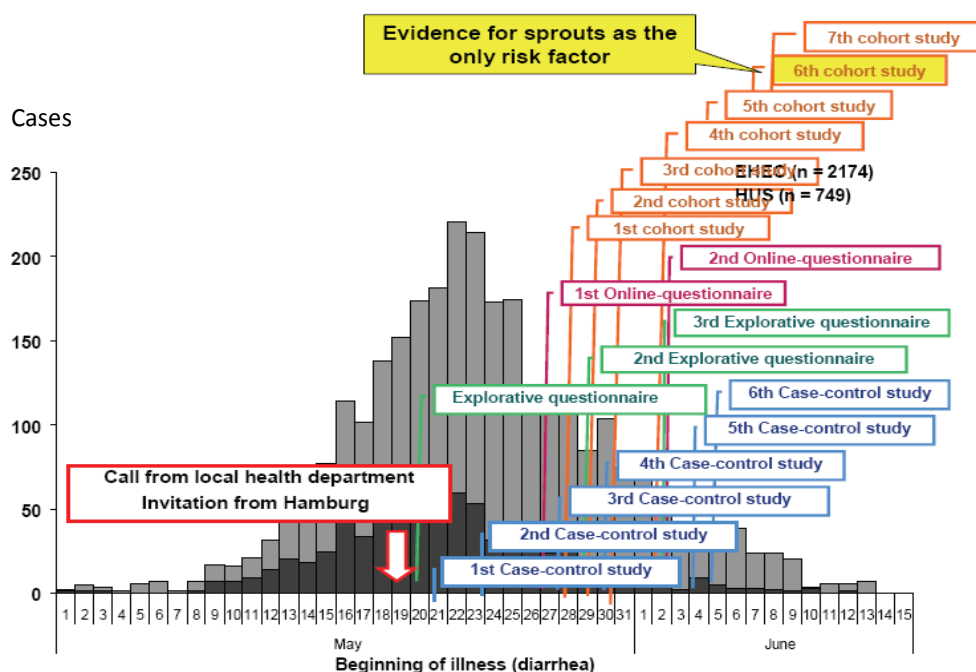
德國自 2011 年 5 月 27 日起開始，進行該國各省市參與醫院急診血便症狀監測，以掌握更多疑似 EHEC 個案，資料內容包括每日急診人次及血便個案之性別及年齡（大於或小於 20 歲）分布數，並每日以電子郵件或傳真方式逕送 RKI。自 5 月 28 日至 6 月 30 日，累計 193 家醫院急診病房參與監測，疫情主要發生省份之血便就診病例百分比比較其他省份高（3.3%比 0.7%），疫情後期則逐漸降低至監測背景百分比[3]（圖二）。



圖二、2011 年 5 月 30 日至 7 月 4 日德國醫院急診室血便症狀監測結果趨勢[3]
($N=1,021$ 。來源: Final presentation and evaluation of epidemiological
findings in the EHEC O104:H4 Outbreak, Germany 2011:P. 10, RKI)

三、感染源調查

依據德國對本疫情事件流行病學調查時序（圖三）及後續法國疫情，區分為初期、中期及晚期流行病學調查。



圖三、德國 2011 年 EHEC O104:H4 疫情流行病學調查時序圖(來源:RKI) [4]。

(一) 疫情初期流行病學調查（5 月 26 日以前）

疫情初期調查以敘述性流行病學及使用一般飲食史問卷進行探索性調查（exploratory questionnaire）與病例對照研究（case-control study）。初期流行病學調查發現，本次疫情與往年 EHEC/HUS 疫情相關之食品如生乳及生肉關連性低，第一次進行病例對照研究囿於病例數限制，僅發現個案食用蕃茄、小黃瓜及萵苣之頻率顯著較對照組高，惟後續食品安全機構調查結果並無相關證據證實上述食物與罹病之關係。另漢堡市政府在 5 月 20-21 日以一般飲食史之探索性問卷型態進行調查，12 名病例中僅有 25% 表示曾於潛伏期間食用苜蓿，回憶誤差導致疫情初期地方衛生單位之病例對照研究調查結果多與苜蓿無關。

2011 年 5 月 9-17 日，兩家位於法蘭克福市之公司總計 60 名員工出現血便症狀，其中 18 例出現 HUS，9 例為實驗室確定病例。經於 5 月 19 日起調查 23 名病例及 30 名健康員工公司餐廳之消費收據紀錄發現，病例組員工購買生菜沙拉的比例高於對照組員工 6 倍（Odds Ratio, OR:5.8, 95%CI:1.4-23.9），並且 87% 的個案皆有購買生菜沙拉的紀錄，其他食物則未達統計顯著性，因此推測生菜沙拉為可能感染源。後續調查兩家公司員工餐廳生菜沙拉內容物中，僅混合苜蓿皆來自一家位於下薩克森省之

苜蓿製造商[3]。RKI 及德國聯邦食品安全暨風險評估所(The Federal Institute for Risk Assessment, 下稱 BfR)遂於 5 月 24 日發布共同聲明, 建議民眾避免食用番茄、小黃瓜及萵苣。隔日, 漢堡市衛生研究所(Hamburg Hygiene Institute) 公布其在西班牙黃瓜檢出 EHEC, 並透過歐盟食品及飼料快速預警系統(The Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF)發布通知, 引發歐洲多國及俄羅斯發布對西班牙生蔬菜進口禁令, 造成西班牙農民逾 3.5 億歐元的損失。

(二) 疫情中期流行病學調查(5 月 27 日至 6 月 10 日)

BfR 之國家實驗室在 5 月 30 日發布通知, 經再次檢測西班牙黃瓜發現, 檢出之 EHEC 病原體與本案流行型別不同, 引發西班牙政府及農民不滿並要求賠償。RKI 同時持續以世代追蹤研究(cohort study) 及病例對照研究, 針對特定食物類別進行調查, 並以線上及電話問卷蒐集一般民眾及對照組的生菜飲食習慣。

德國 3 個主要疫情發生城市(不萊梅、不萊梅哈芬、盧貝克)在 5 月 29 日至 6 月 4 日間進行病例對照研究[2], 目的為釐清不同種類蔬菜與罹病之關係, 病例定義為當地於研究期間因 HUS 住院之成年病患, 並以年齡及性別與居住地配對挑選對照組, 病例組與對照組比例為 1:3, 問卷內容主要以發病或訪問前兩週內食用之蔬菜及水果進行調查, 累計病例組 26 名及對照組 81 名, 年齡中位數為 47.5 歲(介於 29-75 歲), 其中病例組及對照組曾食用苜蓿之比例分別為 25%及 9%。單變量分析結果顯示, 苜蓿(OR:4.4, 95%CI:1.1-18.0) 及小黃瓜(OR:3.5, 95%CI:1.0-12.9) 達統計顯著性, 另經調整其他食物類別變項後, 苜蓿(OR:5.8, 95%CI:1.2-28.6) 及小黃瓜(OR:6.0, 95%CI:1.1-31.3) 仍達統計顯著性。本次研究亦調查飲食地點, 發現 HUS 個案外食比例較對照組高達 9 倍(OR:9.4, 95%CI:2.7-32.8), 推測多數個案經外食生菜感染, 另生菜沙拉常同時包括苜蓿和小黃瓜, 疑似不易記得曾食用之生菜沙拉中含有苜蓿, 因此造成回憶偏差影響問卷填寫內容[3,12]。

另 RKI 在 6 月 1-3 日以食譜進行回溯性世代追蹤研究(recipe-based restaurant cohort study)。利用經向餐廳預訂餐點之顧客進行調查, 可減少顧客於流病問卷訪問時出現回憶誤差之特性, 調查小組從病例名單中, 蒐集 5 月 12-16 日預約同一家餐廳用餐之 10 組(168 名)顧客, 進行問卷調查, 此次調查初期並無發現特定食物呈現統計顯著性, 後續因其他調查發現苜蓿為疑似感染源之一, 調查小組再度與廚師進行詳盡訪談, 釐清每項餐點的製作方式及內容物比例等發現, 數項餐點皆以苜蓿裝飾搭配, 對照飲食史發現所有病例其實皆有食用苜蓿, 顧客 EHEC 侵襲率為 18%, 除了已知預訂餐點輔助調查外, 亦以問卷結果及顧客提供之照片以提高資料正確性。調查結果發現食用苜蓿顧客之罹病風險為未食用者的 14 倍

(Risk Ratio, RR: 14.2, 95% CI 2.4 - ∞, $p < 0.01$), 且所有病例皆有食用苜蓿, 其他食物如蕃茄、小黃瓜等調整後風險比皆未達統計顯著性。該餐廳使用之混合苜蓿亦源自下薩克森省之苜蓿製造商[5]。

德國聯邦消費者保護與食品安全辦公室 (Federal Office for Consumer Protection and Food Safety), 於 6 月 3 日成立 EHEC 跨部會調查小組, 並選擇特定群聚進行世代追蹤研究。經彙整國外旅遊團赴德餐廳消費而發病資訊, 及臨床醫師、地方衛生單位、國外衛生單位 (瑞典、丹麥及美國)、個案自行通報等資訊, 最終累計 41 起群聚事件與本次疫情相關, 共逾 300 例病例, 經調查所有群聚事件之感染源皆可追溯至該苜蓿製造商。另兩名確定病例屬散發個案, 皆居住於下薩克森省且僅食用自行耕種的苜蓿, 經查個案與該苜蓿製造商使用之種子來源相同[3,6]。另 BfR 赴下薩克森省進行採檢化驗, 於 6 月 10 日在比嫩比特爾 (Bienenbüttel) 鎮之苜蓿檢體檢出同型 EHEC 菌株。由以上調查證據, 德國政府遂於 6 月 10 日解除於 5 月 24 日發布建議民眾避免食用番茄、小黃瓜及萵苣之警告, 並改為建議避免食用生苜蓿[6]。

(三) 疫情晚期流行病學調查 (6 月 10 日以後)

在德國疫情已發生一段時間後, 法國於 6 月 24 日經 RASFF 通報相同型別之 EHEC O104:H4 疫情, 累計 24 例病例, 侵襲率為 14%, 發病日在 2011 年 6 月 10-23 日間, 因病例係參與社區中心活動之居民, 容易掌握指標族群, 並提供餐敘照片輔助調查, 且德國已釋出受污染苜蓿導致疫情之訊息, 本事件聚餐使用之各種苜蓿皆進行詳細調查, 經個案飲食史及流行病學調查發現, 葫蘆巴苜蓿 (fenugreek sprout) 與罹病風險達顯著相關 (RR, 5.1; 95% CI, 2.3 - 11.1), 其感染源來自一家法國苜蓿製造商, 該商與德國苜蓿之葫蘆巴種子皆源自埃及同一批號之種子供應商, 惟種子未檢出 EHEC [7]。另外再出現 1 例瑞典及奧地利本土個案, 說明感染源非僅在德國[8-9]。

RKI 及地方衛生單位以橫斷式研究法 (cross-sectional study), 調查居家盛行率 (household prevalence), 以探討個案家戶中發生二代感染的可能性; 同時進行前瞻性世代追蹤研究 (prospective cohort study), 進行個案居家環境及帶菌時間調查, 總計 57 戶個案家及 36 戶個案家鄰近家戶參與調查, 研究發現僅 1 名個案家人發病, 其他家戶無出現不顯性感染個案; 另帶菌者排菌時間中位數為 10-14 天, 與其他 EHEC 型別無顯著差異 [10-11]。

針對受污染苜蓿下架回收後發生之病例, 需調查是否與本事件同一感染源, 除了需要藉由實驗室檢測病原體是否為 EHEC O104:H4 外, 再以 Shigatoxin1, 2 (stx1 陰性, stx2 陽性) 分型確認。若確定該病例感染之病原體與本次疫情同型, 需再配合流行病學調查個案是因食用苜蓿感染或是經

二代感染造成，或屬無流行病學關聯性之病例，惟仍要留意可能的回憶偏差。若有出現另一群聚事件與苜蓿及二代感染皆無關連性，則需要進一步調查其他可能的感染源。自疫情結束（7月5日）截至12月底，累計通報33例病例，感染源包括接觸罹病個案、實驗室感染及院內感染，皆與食用苜蓿無關，且未有證據顯示本事件之EHEC型別持續於德國境內流行[12]。

討論

一、流行病學調查

本事件無論疫情規模、致死率、菌株型別、抗藥性、潛伏期、感染源、性別及HUS比例皆較往年德國EHEC疫情不同，經全盤檢討疫情調查過程，早於5月9日即出現首例HUS個案，至5月19日RKI才接獲漢堡市衛生單位通報，延遲通報影響調查及防疫時效。進行回溯性問卷調查時，因通報延宕延後調查，受訪者較易出現回憶偏差，且病例對照研究法尚有選樣偏差疑慮，因此除應盡速通報外，建立民眾食品消費調查資料庫，可提供消費背景值。本案因苜蓿常為搭配餐點及生菜沙拉所用食材，問卷受訪者不易記得曾食用苜蓿等點綴類食物，且部分HUS病患出現神經症狀[13]，因此亦可能產生回憶偏差，影響分析結果。一項本疫情美國個案飲食史調查即發現，6名個案皆未有印象曾食用苜蓿，回憶偏差致調查難度提高[14]。建議以菜單、出貨單或食譜等資訊輔助問卷設計，或以個案照片、社群網站或手機短訊、消費收據等資訊協助調查，以提高問卷內容正確性。

苜蓿非生乳及生肉等常見EHEC污染源，初期由地方衛生單位進行的探索性調查與病例對照研究。因一般飲食史問卷題目涉及多項食物類別，或題目多與肉類及乳製品等常見EHEC污染源相關，難以發現感染源為污染苜蓿。建議大規模疫情或涉及食品回收等需審慎評估風險之事件，可使用兩種以上流行病學研究方法進行調查，並確定受污染食品樣本之病原體分型結果與臨床檢體相同。一項Le Polain de Waroux等人研究指出，高侵襲率疫情使用病例世代研究(case-cohort study)，其分析結果較病例對照研究接近實際罹病風險，且無病例對照研究選樣偏差及世代追蹤研究調查人數龐大之限制，在需要精準預測罹病風險，如評估回收受污染食品之證據強度或計算疫苗效果(vaccine effectiveness)時，病例世代研究法較傳統病例對照研究法精確[15]。

本事件於疫情中後期才自苜蓿中檢出同型EHEC，惟食品樣本常有未檢出病原體之情形，因此食媒傳染病疫情需藉流行病學研究方法及感染源調查佐證，以釐清污染食品來源，相關單位須建立食品從農場至餐桌之管理機制，以有效縮短調查食品供應鏈污染點之時間。

二、德國與歐盟防制作為與政策修訂

漢堡市政府因流行病學調查及病原體檢驗結果皆傾向受污染食物為西班牙黃瓜，未先行通知RKI或BfR等聯邦單位，逕自通報RASFF而發布警告[16]，造成西班牙農民損失嚴重。因此，對於大規模疫情，聯邦與各省應充分交換資訊，且單一對外通報或發布風險溝通訊息。

現今監測並無證據顯示 EHEC O104:H4 疫情相關型別在德國本土持續流行，目前若出現血便或 HUS 症狀且符合疫情病例定義之個案，皆須儘速通報並以 RKI 特製問卷進行調查，以確定感染來源。疫情相關防治作為包括宣導加強個人及廚工手部衛生，以避免人傳人或經接觸污染器具表面感染。另調查發現該製造商以園藝公司註冊，食品稽查員定期調查相關硬體設施結果未曾出現異常紀錄，且調查期間在西班牙及德國皆檢出其他型別 EHEC，表示當時歐洲相關法規規範無法有效避免 EHEC 污染食物，且對於進出口種子或食物，亦應檢測 EHEC。

歐盟委員會於 2011 年 5 月 22 日經早期預警及因應系統(Early Warning and Response System, EWRS)接獲德國通知後，後續疫期資訊持續在 EWRS 及 RASFF 公布，歐洲國家藉此獲得疫情發展資訊。歐盟委員會正視此疫情對歐洲造成的衝擊，在 2013 年歐盟委員會以實施條例(EU) No 209-211/2013 修正(EC) No 852/2004 條文規定，地方食品衛生單位須至少至苜蓿生產廠抽驗及稽查一次，稽查內容包括生產廠的設計和硬體設施，應建立良好的食品衛生生產鏈，以防止生產步驟之間和過程中的污染[17]。種子和苜蓿接觸的所有設備，應保持在良好狀態且冷熱水供應充足，以供清洗及消毒。食物清洗設施之飲用水應充足供應並保持清潔，以確保符合相關衛生規定及民眾健康，降低污染風險。

誌謝

感謝疾病管制署疫情中心監測政策及系統發展科同仁提供疫情相關資訊。

參考文獻

1. Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 Infections associated with sprout consumption — Europe and North America, 2011. Available at: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6250a3.htm>
2. Frank C, Werber D, Cramer JP, et al. Epidemic profile of shiga-toxin – producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011;365(19):1771 – 80.
3. Robert Koch Institut. Final Report - EHEC/HUS O104:H4 outbreak, September 2011, Supplement update June 2014. Available at:http://www.rki.de/EN/Home/EHEC_final_report.html

4. Institute of Medicine (US). Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2012
5. Buchholz U, Bernard H, Werber D, et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med*. 2011;365(19):1763 – 70.
6. The Federal Institute for Risk Assessment. EHEC Outbreak 2011 investigation of the outbreak along the food chain. Available at: <http://www.bfr.bund.de/cm/350/ehec-outbreak-2011-investigation-of-the-outbreak-along-the-food-chain.pdf>
7. King LA, Nougareda F, Weill F-X, et al. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 associated with organic fenugreek sprouts, France, June 2011. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012;54(11):1588 – 94.
8. Beutin L, Martin A. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104:H4 infection in Germany causes a paradigm shift with regard to human pathogenicity of STEC strains. *J Food Prot*. 2012;75(2):408 – 18.
9. EFSA/ECDC Joint rapid risk assessment. Cluster of haemolytic uremic syndrome (HUS) in Bordeaux, France, 2011. Available at: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/2011June29_RA_JOINT_EFSA_STEC_France.pdf
10. Sin MA, Takla A, Fliieger A, et al. Carrier prevalence, secondary household transmission, and long-term shedding in 2 districts during the *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany, 2011. *J Infect Dis*. 2013 Feb 1;207(3):432 – 8.
11. Hedberg CW. Reducing uncertainty about the public health implications of *Escherichia coli* serogroup O104:H4. *J Infect Dis*. 2013 Feb 1;207(3):376 – 7.
12. Frank C, Milde-Busch A, Werber D. Results of surveillance for infections with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) of serotype O104:H4 after the large outbreak in Germany, July to December 2011. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2014;19(14).
13. Magnus T, Röther J, Simova O, et al. The neurological syndrome in adults during the 2011 northern German *E. coli* serotype O104:H4 outbreak. *Brain J Neurol*. 2012;135(Pt 6):1850 – 9.
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 infections associated with sprout consumption - Europe and North America, May-July 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013;62(50):1029 – 31.
15. Le Polain de Waroux O, Maguire H, Moren A. The case-cohort design in outbreak investigations. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2012;17(25).

16. Tuffs A. Outbreak of E coli in Germany is linked to cucumbers from Spain. *BMJ*. 2011;342(may31 2):d3394 – d3394.
17. Commission Regulation (EU) No 209/2013 of 11 March 2013 amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards microbiological criteria for sprouts and the sampling rules for poultry carcasses and fresh poultry meat. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32013R0209>