

計畫編號：DOH101-DC-2201

行政院衛生署疾病管制局 101 年度科技研究發展計畫

國內沙氏桿菌群聚感染早期偵測系統

研究報告

執行機構：衛生署疾病管制局

計畫主持人：邱乾順

研究人員：魏嵩璽、劉敏芝、羅一鈞、王培任、廖盈淑、魏孝倫、曹其森、廖春杏

執行期間：2012 年 1 月 1 日至 2012 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外研究成果應事先徵求本署同意

目 錄

一、摘要	2-4
二、本文	
(一)、前言	5-11
(二)、材料與方法	12-14
(三)、結果	15-17
(四)、討論	18-23
(五)、結論與建議	24
(六)、計畫主要研究成果及具體建議	25
(七)、參考文獻	26-28
(八)、圖表	
表一、合作醫院寄送之 <i>Salmonella</i> 菌株樣本數月 統計表(2012/4/1 ~ 2012/11/16)	29
表二、 <i>Salmonella</i> 菌株血清型統計表	30
表三、 <i>Salmonella</i> 血清型 Enteritidis、 Typhimurium 與 Newport 之 PFGE 基因型 別分佈	31
表四、Enteritidis 主要 PFGE 基因型在 2009 至 2012 年 6 月底之比率(%)分布	32
圖一、 <i>S. Typhi</i> 菌株之遺傳關係圖	33-34
附件一、沙門氏菌群聚感染流行病學調查問卷	
附件二、中部疑沙門氏菌群聚感染事件問卷調查報告	

摘要

本研究是食媒性疾病監測的先導計畫，利用國際標準化的脈衝電泳 (PFGE) 技術，進行沙門氏菌感染症的監測。本計畫與中部地區 12 家醫院合作，收集分離之沙門氏菌菌株，進行 PFGE 基因分型與血清分型，調查血清型別分布與偵測基因型群聚，再進行流行病學調查，找出感染來源。自 4 月開始至 11 月中旬為止，醫院寄送近 800 株菌株樣本，在 734 株已確定為沙門氏菌且完成分型之菌株中，共鑑定 32 種血清型別，Enteritidis 佔 36.6% 排名第一，Typhimurium (28.9%)、Newport (5.6%)、Paratyphi B var. Java (3.5%)、Livingstone var. O14 (2.5%) 分佔前 2-5 名。PFGE 基因分型顯示 Enteritidis 有三個基因型別 (SEX.010, SEX.003, SEX.001) 有較多群聚、Typhimurium 有一個基因型別 (STX.807) 有較多群聚，和 2009-2011 年資料庫資料比較，Enteritidis 之 SEX.010 與 SEX.003 比率有明顯偏高。疾病管制局流病班派出流病人員進行流病調查，但未能找出可疑的污染食品。2012 年 4 月新北市出現一 92 歲傷寒病例，感染來源為其印尼籍看護，自該看護工分離之 101 株菌株，共鑑定出 5 種 PFGE 圖譜與 23 種 MLVA 圖譜，PFGE 圖譜相差 8 條 DNA 片段，MLVA 相差 4 個 VNTRs，證明傷寒長期帶原者可同時排出多種基因圖譜差異大的菌株。

關鍵字：沙門氏菌 (*Salmonella*)、食媒性疾病分子分型監測網 (PulseNet)、脈衝電泳 (PFGE)、多位址重覆序列分析 (MLVA)

Abstract

This project is a pilot study on foodborne disease surveillance using a standardized molecular subtyping method, pulsed-field gel electrophoresis. Salmonellosis is the surveillance target. To carry out this project, we collaborated with 12 hospitals in central Taiwan to collect *Salmonella* enterica isolates and the demographic data of the patients. Specimens were re-purified; confirmed *Salmonella* isolates were subjected to PFGE genotyping and to determination of their serotypes. Since April, around 800 specimens were sent from the hospitals. Of the *Salmonella* isolates confirmed, 734 had been characterized with PFGE genotyping and 32 serotypes were determined. Enteritidis was the most prevalent serotype, accounted for 36.6%. Typhimurium (28.9%), Newport (5.6%), Paratyphi B var. Java (3.5%), Livingstone var. O14 (2.5%) were the next four most prevalent serotypes. Three PFGE genotypes of Enteritidis (SEX.010, SEX.003, SEX.001) and one of Typhimurium (STX.807) were clustered with higher numbers of isolates during the period of surveillance. Compared to the PFGE genotypes distribution of Enteritidis with those collected in 2009-2011, the frequencies of SEX.010 and SEX.003 increased significantly. Epidemiologist of the Field Epidemiology Training Program of Taiwan Centers for Disease Control was sent for investigation of the clusters. However, the investigation was not able to trace back the source of infection. In April 2012, a 92-old typhoid patient was identified in the New Taipei City. *S. Typhi* was detected from the Indonesian caregiver of the patient. A total of 101 isolates were picked up from primary culture plates streaking with stool from the caregiver. Five PFGE patterns with up to 8 DNA band difference and 23 MLVA profiles with up to 4 VNTR difference were identified in the

101 isolates. These data indicate that a long-term typhoid carrier can simultaneously disseminate *Salmonella enterica* serovar Typhi variants with considerable genetic differences.

Keywords: *Salmonella*, PulseNet, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilocus variable-tandem repeat analysis (MLVA)

前言

近年來大型食品安全問題層出不窮；2008年源於中國的三聚氰胺風暴，今年我國食品添加塑化劑事件，日本生牛肉大腸桿菌O111感染導致4人死亡事件，德國大腸桿菌O104:H4流行導致3,500餘人感染、40人死亡事件[1]，這些重大事件皆突顯食品安全管理的重要性。民以食為天，天天吃進肚子的食物是否安全，關係著國民健康甚鉅，加上食品是恐怖份子最容易使用做為生物恐怖攻擊的媒介，因此食品安全也是國家安全重要的一環。

有關食媒性疾病負擔(disease burden)，以美國為例，每年估計有7,600萬食媒性疾病例，導致的住院數有325,000例，5,000例死亡[2]，當中由在已知的病原引發的病例約1,400萬例，導致60,000住院數與1,800例死亡。在1,400萬例中，病毒佔了67.2%、細菌病原佔30.2%，寄生蟲佔2.6%。排名前10名病原，以Norwalk-like viruses佔66%最多，其它依次為*Campylobacter* spp. (佔14.2%)，non-typhoidal *Salmonella* (9.4%)、*Clostridium perfringens* (1.8%)、*Giardia lamblia* (1.4%)、*Staphylococcus* food poisoning (1.3%)、*Toxoplasma gondii* (0.8%)、*Shigella* spp. (0.6%)、*Yersinia enterocolitica* (0.6%)與*Escherichia coli* O157:H7 (0.5%)；*Salmonella*、*Listeria monocytogenes*與*Toxoplasma*每年導致約1,500人死亡，為已知病原引發死亡人數的75%。

我國有關食媒性疾病數、住院數與死亡數等疾病負擔，缺乏精確的統

計數字。依據1986年至1995年衛生單位通報的852件食品中毒群突發事件(outbreaks)的檢驗結果，細菌病原案件有555件(佔65%)，其中 *Vibrio parahaemolyticus* 有197件(35%)、*Staphylococcus aureus* 有169件(30%)、*Bacillus cereus* 有104件(18%)[3]。計畫主持人先前曾統計1995年至1999年期間台灣發生的850件食品中毒群突發事件，細菌病原案件有610件(佔71.8%)，其中 *V. parahaemolyticus* 佔542件(63.8%)，*Salmonella* spp. 佔44件(5.2%)、*S. aureus* 佔21件(2.5%)、*B. cereus* 6件(0.7%)[4]。1996年至1999年曾爆發新型 *V. parahaemolyticus* O3:K6 的全球性流行[5, 6]，該新型 *V. parahaemolyticus* O3:K6 的流行，亦是導致1997-1999年台灣食品中毒案件大量增加的主要原因[4]。

然而這些台灣食品中毒案件的分析，仍無法呈現台灣食媒性疾病的全貌，原因包括：(一)檢驗與監測不週全：過去衛生署預防醫學研究所與現在的衛生署疾病管制局，針對衛生單位通報的食品中毒案件檢體，只檢驗 *V. parahaemolyticus*、*V. cholerae*、*Shigella* spp.、*Salmonella* spp.、*S. aureus* 與 *B. cereus* 等數種病原，針對有血便患者的事件檢體加做 *E. coli* O157:H7 的檢驗。近年鑑於腹瀉病毒在食媒性疾病的重要角色，疾病管制局已針對一些食品中毒案件進行病毒病原的檢驗，也發現了台灣第一例由 Sapovirus 引發的群突發感染事件[7]，但對於一些國際上經常引發食媒性疾病的病

原，如 *Campylobacter* spp.、*C. perfringens*、*G. lamblia*等病原，則未加以檢驗與調查其盛行率，另外對於高致死率與會引發流產與死胎的 *L. monocytogenes*也未加以監測；德國的 *E. coli* O104與日本的 *E. coli* O111引發的感染流行事件，則突顯過去針對腸出血性大腸桿菌 (enterohaemorrhagic *E. coli*, EHEC)只監測 *E. coli* O157的做法，將會出現嚴重的漏洞，未來應針對所有會產生 *Shigella*-like toxin (verotoxin)的 *E. coli* 都要進行監測；而這次德國的 *E. coli* O104菌株，是由EAEC菌株獲得了EHEC菌株所具有的shiga toxin (stx2)基因與抗藥基因，產生了一個高感染性、高嚴重度的超級菌株[1]，說明對其它類別 *E. coli*包括 enteroinvasive (EIEC)、enteropathogenic (EPEC)、enterotoxigenic (EPEC)、enteroaggregative (EAEC)等也應加以研究與監測。(二)通報體系的不足：目前台灣衛生單位的通報體系，是針對時間與地點群聚的事件加以通報，即在短時間內某一地點有病例數的大量增加，衛生/醫療單位才會警覺到異常而進行通報。但由於交通的發達與食品保存技術的提升，一地製造的污染食品能在廣大地區或國際間販售，其被食用的期間也可長達數年，因此病例可能呈現時空的「散發性」，這種以零星病例呈現的食品污染事件，無法依賴現行的時空群聚方式加以偵測。是故，隨著時代的變遷，需發展其它的食媒性疾病監測系統加以因應。

在細菌性食媒性疾病監測上，美國疾病管制預防中心(US Centers for Disease Control and Prevention, US CDC)建構一個全國性的實驗室監測網(laboratory-based foodborne disease surveillance network)，稱為PulseNet [8-10]。該監測網源於追查1993年一個跨越數個州的*E. coli* O157:H7感染流行事件。PulseNet監測網的實驗室使用標準化基因分型技術，分析菌株DNA指紋圖譜，透過網路傳送到資料庫進行比對，在發現相同圖譜的疑似群聚感染時，再由各地之流病人員進行調查，追蹤可能的污染來源。因為食品管理源頭在FDA，US CDC在調查時會將疫情通知FDA，讓FDA同時調查可能的污染食品。該監測網的運作成效良好，因能早期偵測，而大大減少群突發事件的規模，在美國911恐怖攻擊事件發生後，PulseNet亦被納入生物防禦(biodefense)的體內。PulseNet USA目前監測的食媒性病原包括*E. coli* (EHEC)、*Salmonella* sp.、*Shigella sonnei*、*Listeria monocytogenes*與*Campylobacter* spp.。US CDC也將PulseNet推廣到世界各地，目前已在亞太地區(成員包括13個國家/地區)、歐洲(成員包括31個國家)、拉丁美洲(成員包括15個國家)、中東地區(成員包括10個國家)、非洲(成員包括11個國家)成立區域級的PulseNet組織，和加拿大簽署合作備忘錄，結合成一個龐大的全球性食媒性疾病監測網，稱為PulseNet International <http://www.pulsenetinternational.org/Pages/default.aspx>。台

灣曾參加2002年PulseNet Asia Pacific籌備會議，成為會員與執委會委員，並於2006年宣佈成立了PulseNet Taiwan，建立實驗室使用標準化PFGE分型技術的能力，也建立國際交換菌株DNA圖譜的管道。過去數年曾多次獲得PulseNet International分享食品污染流行菌株訊息與DNA圖譜，曾証實2005年法國嬰兒奶粉*Salmonella Agona*污染事件(該污染奶粉曾進口到台灣)[11]，排除在歐洲與澳洲引發感染流行的泰國玉米筍污染*S. sonnei*[12]在台灣流行的可能，這次德國*E. coli* O104的流行菌株DNA指紋圖譜，亦早經由PulseNet管道取得。

PulseNet的功能除了要有實驗室進行基因分型，偵測菌株基因型的群聚，同時需要流病調查團隊，進行流病調查，証實感染的發生並追查污染的食品來源。追查市售的污染食品來源，屬食品藥物管理局的業務職掌，有時更需要溯源到動植物生產的農場，此一部份為農委會動植物檢疫防疫局的職掌。所以，一個完整功能的PulseNet監測網，是一個跨單位、跨機關、跨部會的系統。但疾病管制局和監控生產食品的農政機構與監控食品的食品藥物管理局處於一個結構性的衝突角色，是因為源頭的食品生產沒有監控好，才會造成下游食品污染與病原菌抗藥性的問題，下游的監測發現問題，等於將食品生產監控漏洞問題曝露出來，等於在挖上游管理單位的瘡疤。美國的食品安全也是經歷不斷的重大食品污染事件，才逼迫政府

通過「食品安全現代法案, Food Safety Modernization Act」, 授與FDA更大的權責, 為食品安全把關。台灣歷經塑化劑風暴, 讓政府更加重視食品安全議題, 疾病管制局亦著手規劃一個中程施政計畫, 以建構台灣地區食媒性疾病監測防護網—「整合與提升我國食媒性疾病及其病原監測防護網計畫」, 預計在2014年實施。此監測計畫可望建立一個跨機關的PulseNet Taiwan工作團隊, 強化重要食媒性病原檢驗能力、研究調查與監測, 並對病原抗藥性進行全國性的監測。

檢視引發台灣食媒性疾病之細菌病原, 以 *Salmonella* 最為重要。

Salmonella 是重要人畜共通病原, 在世界各國皆相當盛行, 為先進國家積極監測的食媒性病原對象。*Salmonella* 擁有兩個種, *S. enterica* 與 *S. bongori*。*S. enterica* 擁有2,500餘種血清型, 每一血清型擁有特定的宿主範圍, 一個國家或地區 *Salmonella* 血清型的盛行率分佈, 是推測 *Salmonella* 感染源頭, 擬定 salmonellosis 防治策略的重要依據, 因此血清型別盛行率的流病調查, 是防治 salmonellosis 的基礎。在台灣只有 *S. Typhi* 與 *S. Paratyphi A, B & C* 感染的傷寒與副傷寒被列入法定傳染病, 近十年傷寒病例年平均為45例、副傷寒為12例(皆由 *S. Paratyphi A* 所感染), 其中有1/3以上, 是境外移入病例。其它非傷寒 *Salmonella* (non-typhoidal *Salmonella*) 的感染, 則未使列入監控目標, 故每年非傷寒 *Salmonella* 感染病例不明。

不過，由每年全國醫院分離至少10,000株菌株數，再依據美國每年平均分離48,000株菌株與1,400,000 salmonellosis病例數例推估[2]，台灣每年可能至少有30萬 *Salmonella* 感染病例。*Salmonella* 的防治重點在源頭的管理，先進國家在食品與農牧生產都有嚴格的監控與防治政策，對下游的被感染者監控，近十年已陸續建立各種流病監測管道，以期能早期偵測可能的群聚感染事件。國內大部份擁有檢驗室之醫院皆具有 *Salmonella* 檢驗的能力，推估國內醫院每年有10,000株 *Salmonella* 分離株，故在疾病的監測上，不需再花費經費進行菌株分離，可仿照US CDC所建置之PulsNet監測網，利用既有之資源，與各地醫院合作，收集各區醫院分離之菌株，進行菌株DNA圖譜比對，偵測可能的群聚感染，再由防疫醫師為主的流病班進行流調調查，確定疫情並追蹤感染源。

本研究是一個食媒性疾病監測的小型先導計畫，與中部地區主要醫院合作，收集各醫院分離之沙門氏菌菌株，進行血清分型與PFGE基因分型，在有基因型別群聚時，將資料交給本局流行病學訓練班進行流行病學調查，追查可能感染來源。藉由此一計畫，建立疾病管制局內部的「食媒性疾病監測工作團隊」，與整理出可能出現的問題與困難，為即將推動的跨機關「整合與提升我國食媒性疾病及其病原監測防護網計畫」預做準備。

材料與方法

- (一) **拜訪中部各醫院建立合作關係**：在計畫前 3 個月逐家拜訪中部地區主要醫院之檢驗與院感負責人，進行簡報說明，取得醫院同意提供菌株和菌株來源寄主(病人)之相關資料。
- (二) **菌株運送與流病資料收集**：各醫院分離之菌株，由檢驗室每週兩次利用簽約的貨運公司寄送到實驗室(疾病管制局中區實驗室)，院內感染控制室透過本局「法定傳染病通報系統」提供病人之資料(居住縣市/鄉鎮、發病日期、菌株分離日期、出生年月日、性別、菌株分離來源檢體種類)。
- (三) **菌株純化與鑑定**：醫院來源之菌株，先培養於 SS agar (*Salmonella Shigella* agar) 培養基，檢視是否已純化(有無污染其它菌種)，不確定為 *Salmonella* 之菌株，以 PCR 方法偵測其 *invA* 基因[13]，進行鑑定確認。
- (四) **PFGE 基因分型**：使用國際標準化之 PFGE 方法[14]，進行菌株之 DNA 圖譜分析。PFGE 圖譜使用 BioNumerics 進行分析，匯入菌株來源之流病資料，建立流病資料與菌株 DNA 圖譜聯結的資料庫。
- (五) **菌株血清分型**：實驗室自 2004 年開始即已收集 *Salmonella* 菌株，目前資料庫已有 2 萬餘筆菌株 DNA (PFGE) 指紋圖譜資料，菌株分屬於

100 餘種血清型。研究發現相同血清型別菌株比其它血清型別菌株有較高的 PFGE 圖譜相似度，因此可用 PFGE 圖譜推測未知菌株之血清型。本研究優先使用 PFGE 圖譜比對法，而非耗時、耗力、高成本與鑑定錯誤率高的傳統血清鑑定法，鑑定新菌株之血清型。此種方法約可決定 97-98% 的菌株血清型別。2-3% 菌株屬台灣稀有血清型，無法利用 PFGE 圖譜和 Database 之 PFGE 圖譜比對決定其血清型者，使用 luminex-based 的方法決定 7 種 O 抗原與 31 種 H 抗原[15]，決定菌株血清型；此種由美國 CDC 發展出來的 luminex-based DNA serotyping 方法可決定約 100 種血清型；無法使用此方法鑑定之菌株，再使用 PCR 方法增幅其 H1 與 H2 基因 DNA 再加以定序，將 DNA 序列與 GenBank 內之 H1 與 H2 序列比對，決定鞭毛基因種類(此種方法幾乎可用於決定所有 H 抗原基因種類)，再利用傳統血清凝集法鑑定這些菌株之 O 抗原型別，以決定血清型；此種 *Salmonella* typing scheme 為本實驗室所發展，可大量減少使用傳統血清分型的操作，節省時間與血清試劑成本，提升鑑定正確率到接近 100%。PCR 使用之 H1 primers 為 H1_F: ATGGCACAAGTCATTAATACA 與 H1_R: TTAACGCAGTAAAGAGAGGAC 和 H2 primers 為 H2_F: ATGGCACAAGTAATCAACACT 與 H2_R:

TAACGTAACAGAGACAGCAC。

(六) 偵測群聚感染案件，追查感染來源：在發現在明顯基因型別群聚時，簽請局長同意，由流行病學訓練班(流病班)進行流行病學調查。流病班指派之防疫醫師，進行調查前，行文到各醫院同意提供病人之聯絡資料，進行問卷訪問(問卷內容如附件一)。問卷結果利用統計迴歸分析，探討病人可能之感染途徑。

結果

合作醫院：總計拜訪 15 家中部地區之醫學中心與大型醫院，取得同意提供菌株，並同意透過「法定傳染病通報系統」提供病人資料，以利在偵測到有同型基因型別群聚時，能進一步取得聯絡資料，進行流行病學調查，追蹤可能感染來源。由 4 月 1 日開始每週分兩次寄送菌株，到 11 月 16 日止，共有 12 家醫院寄送菌株 793 株菌株檢體(表一)。以彰化基督教醫院與中國醫大附設醫院送驗之菌株最多；台中榮總醫院、澄清醫院與秀傳醫院因院內感控室有意見，沒有寄送菌株。

菌株鑑定：793 株菌株檢體中，有 4 株為 *Listeria monocytogenes*，7 件檢體有污染，經再純化取得 *Salmonella* 菌株，12 件檢體鑑定不是 *Salmonella*，1 件檢體沒有菌生長。

血清鑑定：734 株已完成血清型鑑定之 *Salmonella* 菌株，分屬於 32 種不同血清型別，Enteritidis 佔 36.6%最多，Typhimurium 佔 28.9%次之，Newport、Paratyphi B var. Java、Livingstone var. O14、Stanley、Weltevreden、Albany、Agona、Derby 分屬前十名血清型(表二)。

基因型別分析：PFGE 基因型別分布，顯示 Enteritidis 與 Typhimurium 各有數個基因型別其菌株數超過 10 株(表三)，排名第三之 Newport 基因型別相當多樣化，只有一基因型(SNX.014)菌株數達 9 株。269 株 Enteritidis 菌株，鑑定出 22 個 PFGE 基因型，顯示此血清型親緣關係相當單純，有三個基因型(SEX.010、SEX.003、SEX.001)有較多菌株數，分析其出現時間，三個基因型皆相當平均分布於各個月份。212 株 Typhimurium 菌株則有 81 種 PFGE 基因型，顯示該血清型親緣關係複雜；STX.807 有 29 株菌株，主要分布在 4~7 月份，STX.734 則均勻分布在 4~10 月分之間，無明顯的

時間群聚現象。

Enteritidis 是遺傳單形化(monomorphic)生物，可能是數百年前才出現的新物種[16, 17]，PFGE 基因型別不多，SEX.010、SEX.003、SEX.001 等三種基因型皆為過去台灣的主要基因型別，但對照 2009 年至 2011 年的資料，顯示 SEX.010 與 SEX.003 在 2012 年有明顯偏高現象，SEX.001 則有降低情形(表四)。基因型別統計顯示，Enteritidis 之 SEX.010、SEX.003 與 Typhimurium 之 STX.807 型別，值得進行流行病學調查，追蹤是否具有感染來源的同源性。

流行病學調查：在發現 Enteritidis 與 Typhimurium 有基因型群聚現象，即簽文請本局同意由流行病學訓練班進行流行病學調查。在獲得本局一層同意後，流病班指派劉姓防疫醫師行文至各醫院，請同意提供病人聯絡資料供進行流病調查。根據文獻資料，禽類是 Enteritidis 的主要寄主，該菌能感染禽類卵巢與輸卵管[18]，因此雞蛋是最主要感染來源。本次流病調查主要針對 2 歲以下嬰兒與禽類關係進行調查，Typhimurium 之 STX.807 因為在調查期間已甚少出現，推測流行期已過，放棄調查。然而因調查之樣本數不多，且時間已有拖延，調查結果並未能找出具體感染源。調查報告如附件二。

傷寒事件調查：2012 年 4 月新北市出現一 92 歲傷寒病例，本局由該病例之印尼籍看護糞便分離出傷寒菌(*S. Typhi*)，然而由病人與看護分離之 2 株菌株，其 PFGE 基因型別與 MLVA 基因型別不同。在取得本局北部實驗室的糞便檢體後，繼續培養，再挑取 100 個菌落進行分析。該糞便檢體在 SS agar 與 HE agar 培養基長出之菌落形態皆相當一致，所挑出的 100 顆菌株，鑑定皆為 *S. Typhi*。基因分型結果，該無症狀看護工所分離之 101

株菌株，共有 5 種 PFGE 基因型與 23 種 MLVA 基因型，PFGE 圖譜差異最多高達 8 個 DNA 片段，MLVA 圖譜最多則有 4 個 VNTR 的差異(圖一)，病人分離株屬於帶原者當時排出之菌株中較為稀少的基因型別。

討論

食媒性疾病之防治策略，首在追溯其源頭，即從農場到餐桌(from farm to table)的監測策略；上游的農畜與食品沒有病原菌污染，即不會有感染發生。然而，許多食媒性病原例如 *Salmonella* 是人畜共通病原，有些血清型或變異株並不會引發動物明顯病灶，卻會引發人嚴重感染，這些病原大量存在動物宿主，容易污染到食品。雖然食品加工製造過程，業者會盡力避免病原菌的污染，然而國內外大型食品污染事件仍然層出不窮，因此，完整的監測系統需包括下游端，即包括對人的監測，因此有人提出監測策略要從上中游到攝食食品的下游端按下馬桶的沖水閥為止，即 from farm to flush 的監測策略，完整的食媒性疾病的監測系統，必需結合農畜、食品與疾病管理的機關共同合作。

疾病管制局在食媒性疾病監測，在內部的工作團隊，必需結合疫情資料的收集、實驗室的菌株驗證與分析、流病調查追查感染來源，同時要有跨機關的溝通平台，在調查過程中和農畜、食品管理機關相互支援，追查感染來源後，方能即時進行有效的行政處分，去除污染來源，守護民眾健康。

本研究是推動跨機關的合作之前的一個先導計畫，利用該計畫建立局內食媒性疾病的監測團隊，並找出未來執行跨機關監測計畫時，可能面對的不足與問題。未來的計畫，在疾病管制局方面，需：1)疫情中心的加入，建立醫院檢驗室病原菌檢驗結果的自動化通報系統，劃出各種病原菌出現的基線(baseline)，並能快速取得流病資料；有些群聚感染流行事件，可經由此一監測系統即可得知異狀，可快速啟動流病調查；2)實驗室的菌株分型，使用標準化分型技術進行菌株的基因分型，可提高監測系統的偵測靈

敏度，是偵測群聚感染流行事件的利器，過去 16 年美國 CDC 建立的 PulseNet 系統就是一個相當成功的範例，PulseNet International 的組織化，更促進國際公衛實驗室在食媒性疾病監測的合作願意與成就；3) 流行病學調查能力的提升：唯有流病調查，方能追查出感染來源，証實群聚感染流行事件。流病調查，是整個監測系統成功與否的關鍵，也是最困難的部份，需有專業人才熱忱的投入，累積經驗，方能看到成果。

本研究受限研究經費大量刪減，只能與中部地區醫院合作，冀望在較小的範圍內，集中焦點，盡可能收集醫院分離的所有菌株，以偵測到流行中的群聚感染。本計畫預計可收集超過 1,000 株菌株，然而有些醫院配合意願不高，到 11 月中旬只收集到 700 餘株 *Salmonella* 菌株，雖然有偵測到數個基因型別的群聚，啟動流病調查，然而並未能成功追查到感染來源。

流病調查受限於個人資料保護法，在取得病人聯絡資料時，公文往返耗費甚多時日，有些小型群聚感染流行事件可能早已過去了，而時日太久，許多病人也有記憶上的偏差，都讓調查容易徒勞無功。菌株取得不易，樣本數太少，也不利流病調查。

Salmonella 有 2,500 餘種血清型[19]，除了傷寒(*S. Typhi*)與副傷寒菌(*S. Paratyphi*)引發的感染，被列為法定傳染病，依法醫院需通報外，其它沙門氏菌血清型的感染，醫院不需通報。利用計畫的方式，提供每株菌株 50 元與每筆流病資料 50 元的誘因，因為會計制度的限制，工作人員無法拿到錢，自然配合意願低落，無意寄送所有分離之菌株；雖然本計畫設計透過「法定傳染病通報系統」的「其它疾病」管道，請各醫院感染控制室提供病人相關資料，以確保病人資料之保密性，但有些醫院感控室仍然以個資法的理由拒絕提供資料與菌株，且在流病班進行調查時，均需出具公文方

能取得病人聯絡資料，甚至衛生局也會來文質疑病人個資保密性的問題，都增加計畫執行上的困擾。

上、中、下游跨機關的「整合與提升我國食媒性疾病及其病原監測防護網計畫」，可能在 2014 年上路，若無行政上的措施，將面臨本計畫同樣的難題。本局第業務組應思考利用何種方式，例如公告監測的病原所引發的疾病為法定傳染病，或通報疾病，以取得法源基礎，方能解決目前所面臨的困境。

2012 年 4 月發生在新北市的傷寒病例，其印尼籍看護為感染來源的長期帶菌者，由此帶原者同一糞便檢體分離之 101 株菌株，共有 5 種不同 PFGE 圖譜與 23 種 MLVA 圖譜，PFGE 圖譜間最多有 8 條 DNA 差異，MLVA 圖譜在測試的 8 個 VNTRs 中最多相差 4 個 VNTRs。PFGE 結果打破了 Tenover 準則[20]，該準則用於解釋 PFGE 圖譜與流病的關係，認為 PFGE 圖譜相差等於或大於 7 條 DNA 片段之菌株，不可能源於同一爆發流行事件 (outbreak)；另外，在 MLVA 圖譜的應用上，學者根據研究調查的資料，認為可接受同一爆發流行事件之菌株有一個 VNTR 的差異[21, 22]，但長期帶原者卻可同時排出有具有 4 個 VNTRs 差異的菌株。這些結果增加對未來公衛實驗室應用 PFGE 與 MLVA 資料，判斷流病關聯性的複雜度。

2012 年 4 月的新北市傷寒事件研究結果，也解開 2005 年桃園縣傷寒事件的謎團。桃園縣在 2005 年的一個月期間出現 14 例傷寒病例，台灣傷寒病例相當少，一個月內在同一個縣內出現多達 14 例病例，是相當不尋常，推測應該是來自同一感染來源的爆發流行事件。然而來自 14 病例的 14 株菌株有 5 種不同 PFGE 圖譜，最大差距也高達 8 條 DNA 片段，MLVA 則有 4 種圖譜，最大差距有 2 個 VNTRs，這個共同感染來源的推論受到同儕學

者的質疑。新竹地區在 2007 年開始，即有零星傷寒病例，菌株擁有相同 PFGE 圖譜，但 MLVA 圖譜則不盡相同，卻找不到共同的流病關聯；2010 年新竹某高科技電子廠有 4 名員工出現傷寒群聚感染，菌株擁有相同的 PFGE 圖譜與 MLVA 圖譜，此基因型別和 2007 年以來新竹地區幾個傷寒菌株相同，但仍未能找到感染來源。2011 年，該高科技電子廠又出現 4 例傷寒病例，本局流病調查查出，這些病例皆在下午茶時外叫數公里外一個麵攤的印尼風味餐，該麵攤由一原印尼籍歸化的 60 歲婦人經營。實驗室自該婦人連續兩日的糞便檢體分離出傷寒桿菌，兩件檢體分離之菌株，和電子廠員工病例所分離菌株之 PFGE 圖譜相同，但第一天檢體的菌株 MLVA 圖譜則有 3 個 VNTRs 的差異，第二天檢體的菌株 MLVA 圖譜和電子廠病例菌株又相同。此一結果，可推論病原在長期帶原者體內有足夠的時間演化出不同的變異種，因此可同時排出基因型別不同的菌株；可惜原糞便檢體已銷毀，無法再分離更多菌株確認此一推論。2012 年 4 月的傷寒事件，提供了驗證的機會，也証實長期帶原者可能同時排出 PFGE 與 MLVA 基因型別差異相當大的菌株。此一發現，也可同時解釋過去台灣出現數起桿菌性痢疾事件的疑惑，本實驗室曾處理至少 4 起桿菌性痢疾事件，有 2 起發生在兩個精神病安養院，其菌株有不同 PFGE 與 MLVA 基因型別，甚至一起事件的菌株有不同血清型別，當時懷疑痢疾可能已在這些機構流行多年，才可能出現基因圖譜差異如此大的菌株，但桿菌性痢疾為法定傳染病，這些機構應不至於隱瞞疫情，由傷寒菌在長期帶原者的演化事例，可推論只寄生在人類或其它靈長類的痢疾桿菌(*Shigella* spp.)，在長期帶原者身上也會發生基因演化，同時排出許多基因圖譜差異相當大的菌株。

有些沙門氏菌血清型有特定之宿主，例如血清型 Enteritidis 主要宿主為禽類，且該血清型菌株可存在雞蛋內部(蛋黃、蛋白)[18]，因此雞蛋是

Enteritidis 最主要媒介，歐盟因此對蛋雞與雞蛋的檢疫訂有嚴格法規，以降低 *S. Enteritidis* 的疾病負擔(disease burden)。本計畫發現 Enteritidis 是排名第一的血清型，其來源動物相當明確，本次流病調查卻未找到和禽類與蛋的關聯性，故然可能是調查樣本數不夠，或記憶日久消逝，然而和國內一些獸醫學系教授的合作，發現自禽類分離之 300 餘株菌株，竟然沒有發現 Enteritidis。未來仍有賴與農政機關合作，以追查國內 Enteritidis 來源之謎。

S. Typhimurium 具有非常廣之宿主範圍，在全球各地多屬高盛行的血清型，但因源頭追查不易，防治不易。本計畫結果顯示 Typhimurium 的感染相當普遍，而且基因型別相當複雜，可見應有相當多元感染來源。由於 PFGE 對 Typhimurium 的分型效力不錯，且本實驗室過去發展的 MLVA 方法可克服 PFGE 對本土少數主要基因型分型效力不足的缺點[23]，可強化對 Typhimurium 的監測效能。

美國每年分離約 5 萬餘株 *Salmonella* 菌株，菌株皆進行 PFGE 分型，加上 16 年運作 PulseNet 的經驗，因此能經常偵測到大型食品中毒案件。台灣 *Salmonella* 感染率應該高於美國甚多，估計每年分離菌株應超過 1 萬株，過去本實驗室已建立世界級的 PFGE 分析能量，若有足夠的人力支持，將可比照美國，分析所有 *Salmonella* 菌株。*Salmonella* 血清分型是一項更耗費資源的工作，需要數倍於 PFGE 分析的人力、經費成本與時間；過去數年本實驗室的研究發現，可利用 PFGE 的比對進行血清型別的鑑定。目前本實驗室資料庫已有近 100 種血清型 2 萬餘筆菌株的 PFGE 圖譜資料，初步的測試結果顯示，今年有 98% 左右的菌株可利用 PFGE 圖譜決定其血清型。唯該項觀察，仍需經科學數據的驗證。明年將與日本國家傳染病研究所，丹麥 SSI 研究所與美國 CDC 合作，以驗證該項觀察。若可行，每年

除了可節省數百萬年血清分型的人事與血清等試劑的費用，也可加速監測系統的運作。

結論與建議

1. 沙門氏菌是食媒性疾病主要病原，*S. Enteritidis* 是排名第一之沙門氏菌血清型，禽類是其唯一或主要寄主，雞蛋是主要污染來源，應參考歐盟做法，與農政機關合作進行溯源調查工作，以守護人民健康，減少醫療花費。
2. *S. Typhimurium* 是排名第二的沙門氏菌血清型，擁有廣大寄主範圍，來源複雜，加上大部份菌株擁有多重抗藥性，需要特別重視這些多重抗藥菌株的來源。本計畫因為經費的限制，無法持續進行抗藥性的監測與比較，然而只進行人類分離株的調查，仍無法追蹤抗藥株產生的主要來源。唯有結合農政與食品管理機關，共同監測上、中、下游端分離之菌株，方能釐清來源，進行防治。
3. 本計畫為食媒性疾病 *Salmonella* 病原的監測，此一防疫監測工作以計畫的方式執行，在菌株與分離來源相關資料的取得上阻礙相當多，特別是在個資法上路後，許多醫院更不願意加入計畫，在流病調查上也很難進行。唯有防疫機關的行政介入，將監測食媒性疾病列入法定傳染病，方能順利推動監測工作。

101 年度計畫重要研究成果及具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：國內沙氏桿菌群聚感染早期偵測系統

主持人：邱乾順 計畫編號：DOH101-DC-2201

1.計畫之新發現或新發明

証實傷寒菌之長期帶原者可同時排出 PFGE 與 MLVA 基因型別差距大的菌株。此發現對公衛實驗室解釋 PFGE 與 MLVA 資料與病例流行病學關聯性之認知，將產生極大影響。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

以禽類為唯一宿主的 *S. Enteritidis* 是台灣排名第一的血清型，強化養禽業者的管理與相關食品的監測，應可大大降低沙門氏菌的感染病例。

食媒性疾病的監測，需結合上、中、下游的農政、食品管理、公衛防疫機關的合作，建立共同監測的平台，追溯上游污染來源，釐清人類感染途徑，可預防大型群聚感染事件的發生。

參考文獻

1. Scheutz F, Møller Nielsen E, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, Nataro JP, Caprioli A: **Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011.** *Euro Surveill* 2011, **16**(24).
2. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV: **Food-related illness and death in the United States.** *Emerg Infect Dis* 1999, **5**(5):607-625.
3. Pan TM, Wang TK, Lee CL, Chien SW, Horng CB: **Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995.** *J Clin Microbiol* 1997, **35**(5):1260-1262.
4. Chiou CS, Hsu SY, Chiu SI, Wang TK, Chao CS: ***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**(12):4621-4625.
5. Nair GB, Ramamurthy T, Bhattacharya SK, Dutta B, Takeda Y, Sack DA: **Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants.** *Clin Microbiol Rev* 2007, **20**(1):39-48.
6. Okuda J, Ishibashi M, Hayakawa E, Nishino T, Takeda Y, Mukhopadhyay AK, Garg S, Bhattacharya SK, Nair GB, Nishibuchi M: **Emergence of a unique O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan.** *J Clin Microbiol* 1997, **35**(12):3150-3155.
7. Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J *et al*: **Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan, 2007.** *Emerg Infect Dis* 2008, **14**(7):1169-1171.
8. 邱乾順, 吳和生: **食因性細菌傳染病分子分型監測網(PulseNet)簡介.** *疫情報導* 2007, **23**(4):204-220.
9. Swaminathan B, Gerner-Smidt P, Ng LK, Lukinmaa S, Kam KM, Rolando S, Gutierrez EP, Binsztein N: **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**(1):36-50.
10. Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV: **PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United**

- States.** *Emerg Infect Dis* 2001, **7**(3):382-389.
11. Brouard C, Espie E, Weill FX, Kerouanton A, Brisabois A, Forgue AM, Vaillant V, de Valk H: **Two consecutive large outbreaks of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula.** *Pediatr Infect Dis J* 2007, **26**(2):148-152.
 12. Lewis HC, Kirk M, Ethelberg S, Stafford R, Olsen K, Nielsen EM, Lisby M, Madsen SB, Molbak K: **Outbreaks of shigellosis in Denmark and Australia associated with imported baby corn, August 2007--final summary.** *Euro Surveill* 2007, **12**(10):E071004 071002.
 13. Malorny B, Hoofar J, Bunge C, Helmuth R: **Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard.** *Appl Environ Microbiol* 2003, **69**(1):290-296.
 14. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, Swaminathan B, Barrett TJ: **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**(1):59-67.
 15. McQuiston JR, Waters RJ, Dinsmore BA, Mikoleit ML, Fields PI: **Molecular determination of h antigens of *Salmonella* by use of a microsphere-based liquid array.** *J Clin Microbiol* 2011, **49**(2):565-573.
 16. Holt KE, Baker S, Weill FX, Holmes EC, Kitchen A, Yu J, Sangal V, Brown DJ, Coia JE, Kim DW *et al.*: ***Shigella sonnei* genome sequencing and phylogenetic analysis indicate recent global dissemination from Europe.** *Nat Genet* 2012, **44**(9):1056-1059.
 17. Filliol-Toutain I, Chiou CS, Mammina C, Gerner-Smidt P, Thong KL, Phung DC, Pichel M, Ranjbar R, Sow AG, Cooper K *et al.*: **Global Distribution of *Shigella sonnei* Clones.** *Emerg Infect Dis* 2011, **17**(10):1910-1912.
 18. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F: **Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis.** *FEMS Microbiol Rev* 2009, **33**(4):718-738.
 19. Popoff MY, Bockemuhl J, Gheesling LL: **Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme.** *Res Microbiol* 2004, **155**(7):568-570.
 20. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B: **Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing.** *J Clin Microbiol* 1995, **33**(9):2233.
 21. Liang SY, Watanabe H, Terajima J, Li CC, Liao JC, Tung SK, Chiou CS: **Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis for Molecular**

- Typing of *Shigella sonnei*. *J Clin Microbiol* 2007, 45(11):3574-3580**
22. Noller AC, McEllistrem MC, Pacheco AG, Boxrud DJ, Harrison LH: **Multilocus variable-number tandem repeat analysis distinguishes outbreak and sporadic *Escherichia coli* O157:H7 isolates. *J Clin Microbiol* 2003, 41(12):5389-5397.**
 23. Chiou CS, Hung CS, Torpdahl M, Watanabe H, Tung SK, Terajima J, Liang SY, Wang YW: **Development and evaluation of multilocus variable number tandem repeat analysis for fine typing and phylogenetic analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Int J Food Microbiol* 2010, 142(1-2):67-73.**

表一：合作醫院寄送之 *Salmonella* 菌株樣本數月統計表(2012/4/1 ~ 2012/11/16)

代號	醫院	累計	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov
CA	行政院台中榮民總醫院	0								
CA	台中榮民總醫院	0		0		0	0			
CB	沙鹿童綜合醫院	47				25	10		12	
CC	中山醫學大學附設醫院	75	6	9	15	6	11	9	11	8
CD	中國醫藥大學附設醫院	161		38	16	16	39	32		20
CE	光田醫療社團法人沙鹿光田醫院	70	0	15	10	12	15	10	3	5
CF	澄清綜合醫院(中港院區)	0								
CG	財團法人彰化基督教醫院	223	6	27	26	38	53	31	39	3
CH	秀傳醫療社團法人秀傳紀念醫院	0								
CI	署立豐原醫院	76	2	12	8	3	17	21	7	6
CJ	署立彰化醫院	16		1	2	2	4	3	4	
CK	署立南投醫院	18		0	3	2	4	3	4	2
CM	台中榮民總醫院埔里分院	5		0	2	0	1	2		
CN	林新醫療社團法人林新醫院	47	5	5	10	9	6	5	6	1
CO	財團法人佛教慈濟綜合醫院台中分院	38		6	9	4	12	5	2	
CP	埔基醫療財團法人埔里基督教醫院	17	0	5	6		1	2	2	1
	總計	793	19	118	107	117	173	123	90	46

表二、*Salmonella* 菌株血清型統計表

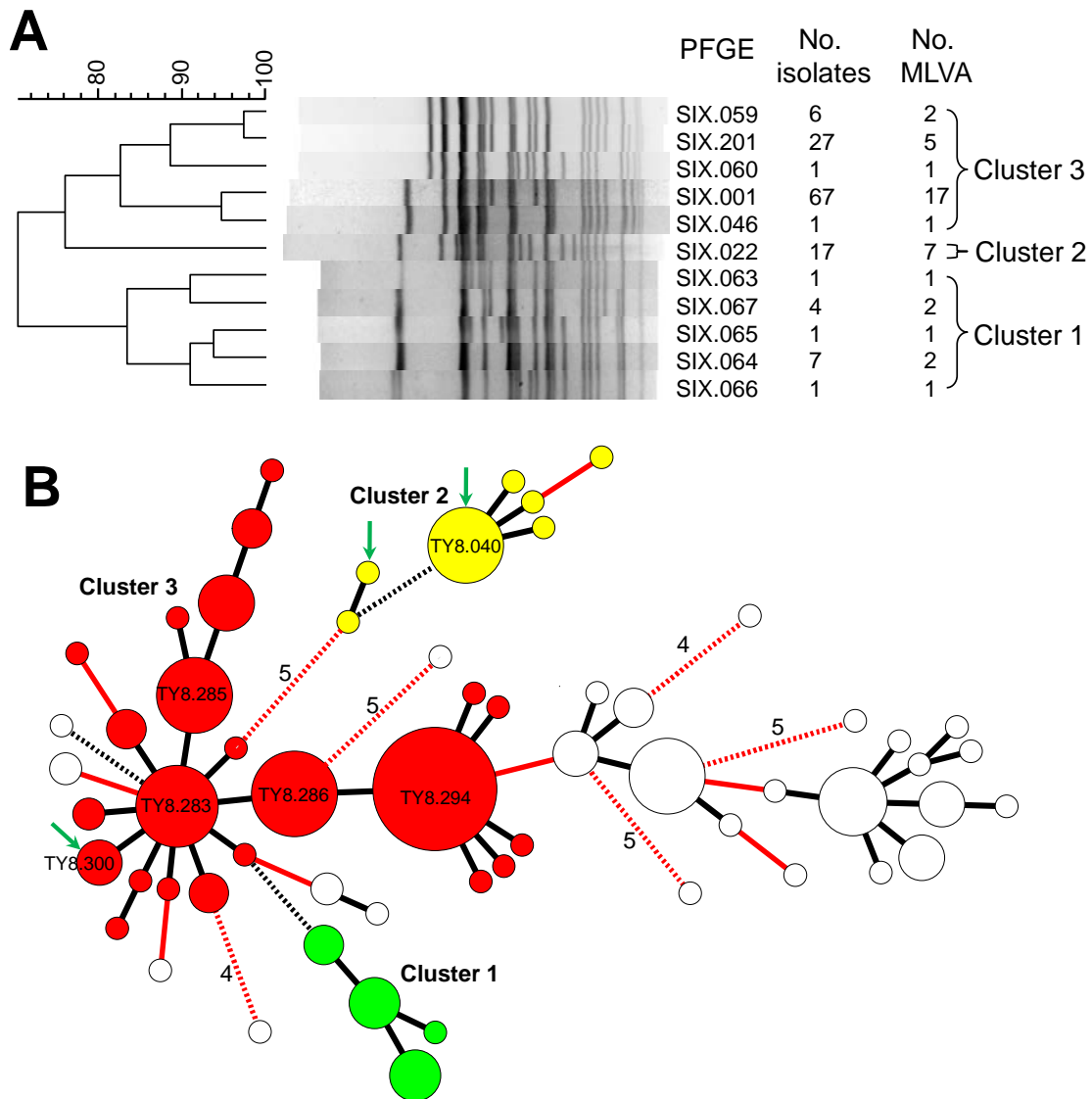
Serotype	No. of isolates	Ratio (%)
Enteritidis	269	36.6%
Typhimurium	212	28.9%
Newport	41	5.6%
Paratyphi B var. Java	26	3.5%
Livingstone var.O14	18	2.5%
Stanley	18	2.5%
Weltevreden	17	2.3%
Albany	16	2.2%
Agona	13	1.8%
Derby	12	1.6%
Hadar	12	1.6%
Braenderup	11	1.5%
Schwarzengrund	10	1.4%
Bareilly	9	1.2%
Virchow	8	1.1%
Itami	7	1.0%
Potsdam	6	0.8%
Choleraesuis	4	0.5%
Infantis	4	0.5%
Mbandaka	4	0.5%
Cerro	3	0.4%
Havana	2	0.3%
IIIa35:z4,z23:-	2	0.3%
Litchfield	2	0.3%
Anatum	1	0.1%
Blukwa	1	0.1%
Dublin	1	0.1%
Kedougou	1	0.1%
London	1	0.1%
Meleagridis	1	0.1%
Montevideo	1	0.1%
Rissen	1	0.1%
Total	734	100.0%

表三、Enteritidis、Typhimurium 與 Newport 之 PFGE 基因型別分佈

Enteritidis		Typhimurium		Newport	
PFGE type	No. isolates	PFGE type	No. isolates	PFGE type	No. isolates
SEX.010	113	STX.807	29	SNX.014	9
SEX.003	58	STX.734	24	SNX.062	3
SEX.001	38	STX.559	18	SNX.003	2
SEX.002	10	STX.001	16	SNX.016	2
SEX.034	10	STX.601	8	SNX.050	2
SEX.016	8	STX.166	5	SNX.236	2
SEX.126	5	STX.489	5	SNX.001	1
SEX.006	4	STX.049	4	SNX.004	1
SEX.009	4	STX.575	4	SNX.005	1
SEX.178	4	STX.732	4	SNX.025	1
SEX.037	3	STX.828	4	SNX.030	1
SEX.152	2	STX.848	4	SNX.039	1
SEX.004	1	STX.376	3	SNX.040	1
SEX.015	1	STX.572	3	SNX.087	1
SEX.027	1	STX.676	3	SNX.120	1
SEX.040	1	STX.843	3	SNX.155	1
SEX.052	1	STX.845	3	SNX.156	1
SEX.058	1	STX.010	2	SNX.171	1
SEX.069	1	STX.013	2	SNX.176	1
SEX.090	1	STX.146	2	SNX.183	1
SEX.097	1	STX.342	2	SNX.195	1
SEX.220	1	60 other types	64	6 other types	6
Total	269		212		41

表四、Enteritidis 主要 PFGE 基因型在 2009 至 2012 年 6 月底之比率(%)分布

PFGE	2009 (n = 636)	2010 (n = 625)	2011 (n = 199)	2012 (n = 99)
SEX.001	39.8	36	30.7	15.2
SEX.002	4.6	6.4	2	2
SEX.003	19.8	18.2	14.1	26.3
SEX.010	14.3	20.2	24.6	45.5
SEX.016	3.5	1.9	4	2
SEX.034	2	1.6	4.5	3
SEX.037	0.3	0.6	0.5	1
SEX.058	0.6	0.5	0	1
SEX.069	0.2	0	0	1
SEX.152	0.2	0.2	0	1
SEX.178	2.5	1.1	3	2



圖一、*S. Typhi* 菌株之遺傳關係圖。A. PFGE 圖譜關係圖，菌株來自 3 個群聚感染事件。B. MLVA 圖譜關係圖，使用菌株 8 個 VNTRs 之資料所建構；菌株來自 3 個群聚感染事件與資料庫內具有 SIX.001 PFGE 型別之菌株。每一個圈代表一個 MLVA 型別，圓圈大小與擁該 MLVA 型別之菌株數量成正比。粗黑線代表兩個 MLVA 型別間 1 個 VNTR 差異，細紅線有 2 個 VNTR 差異，虛黑線有 3 個 VNTR 差異，虛紅線有 4 個或以上 VNTR 的差異並加注差異數。群聚感染事件 2 來自帶原者與群聚事件 3 來自病人菌株的 MLVA 型別，以綠色箭頭標示。來自群聚

感染事件 1, 2, 3 菌株之 MLVA 型別，分別以綠色、黃色與紅色標示；其它屬於 SIX.001 PFGE 型別菌株，其 MLVA 型別以白色標示。

沙門氏菌群聚感染流行病學調查問卷

編號：_____

生日：(西元) _____ 年 _____ 月 _____ 日 發病日： _____ 年 _____ 月 _____ 日 星期 _____

發病年齡： _____ 歲 _____ 個月

性別： _____

電話1： _____

電話2： _____

居住地： _____

就診醫院： _____

訪問時間： _____ 月 _____ 日 _____ 時 _____ 分

聯絡情況： 電話無人接聽 電話錯誤 順利聯絡

1. 您好，我是疾病管制局的_____醫師， _____小朋友於今年____月曾因身體不適至_____醫院就診，檢驗出沙門氏菌，並將檢體送至疾病管制局分析菌株(結果為_____)，我們需要了解他/她生病前及日常生活的狀況，是否可以打擾您幾分鐘的時間？

拒絕受訪(問卷結束) 接受訪問(接下題)

2. 請問您是他/她的： 父母 祖父母 其它： _____

3. 請問他/她白天的主要照顧者為： 父母 祖父母 其它： _____

4. 請問他/她晚間或假日的主要照顧者為： 父母 祖父母 其它： _____
(以下問題以詢問主要照顧者為原則)

5. 請問他/她當時生病時是否有住院： 無

有，日期： _____ 月 _____ 日起，共 _____ 天

6. 請問他/她當時生病最早有症狀的日期為： _____ 月 _____ 日 星期 _____ 忘記

其它： _____，持續 _____ 天

7. 請問他/她當時生病，有下列哪些症狀？

發燒 腹瀉 (型態： 糊便 水便 血便 黏液便 其他)

嘔吐 腹痛 食欲差 活力差 其他： _____

8. 請問有其它人有類似症狀嗎？ 無

有，關係： _____ 年齡： _____ 日期： _____ 月 _____ 日

9. 同住家人含個案共 _____ 人

10. 請問他/她本身是否有以下疾病： 早產(GA _____ 週)

新生兒篩檢異常： _____ (非本次)住院或開刀(病名： _____)

其它需長期追蹤： _____ 無

11. (發病前一個月內)平日的飲食情況

時間	餐別	內容	來源	備註(奶粉廠牌)

12. 生病前一個月內他/她本人或周遭人(家人、保姆、托嬰…等同住或照顧者)是否曾經出國？

否(接下題)

是，關係：_____，國家：_____日期：___月___日至___月___日

13. 生病前一週內他/她本人是否曾經有國內旅遊？

否(接下題)

是，關係：_____，國家：_____日期：___月___日至___月___日

14. 生病前一週內他/她本人是否曾有聚餐或外食(含外帶)？否(接下題)

是，___月___日，地點_____，菜色_____

15. 生病前一週內他/她本人是否曾食用以前未曾食用之食物？否(接下題)

是，___月___日，來源_____，菜色_____

16. 生病前一週內他/她是否曾食用禽肉(含雞鴨鵝鳥等)？否(接下題)

是，___月___日(或生病前___日)，有 無煮熟，

購買時為生鮮 已熟即食(是否當餐食用是否)，

來源為：傳統市場 大賣場 超級市場 便利商店 餐廳 網購

其它：_____，商品名稱或廠牌：_____，

若為生鮮，烹調者為：父母 祖父母 其它：_____，

烹調方式為_____

17. 若在家烹調雞肉，處理生雞肉的砧板如何處理？(勾選)生熟食工具分開嗎？那刀子呢？(請用圈選)

生熟食有明確分開不可能共用

生熟食未分，但會：清水清洗 洗碗精清洗 熱水燙過

直接使用

18. 生病前一週內他/她是否曾食用蛋或蛋製品：蛋餅、漢堡、布丁、蛋糕、沙拉醬…

否(接下題)

是，___月___日(或生病前___日)，有 無完全煮熟，

購買時為生鮮 已熟即食(是否當餐食用是否)，

來源為：傳統市場 大賣場 超級市場 便利商店 餐廳 網購

其它：_____，商品名稱或廠牌：_____，

若為生鮮，烹調者為：父母 祖父母 其它：_____，

烹調方式為_____

19. 若在家烹調雞蛋，裝過蛋液的容器如何處理？

直接裝煮熟的蛋或食物 清水清洗 洗碗精清洗 熱水燙過

20. 他/她生病前，於家庭購買雞肉或雞蛋時，他/她曾同行嗎？否(跳17題)
是，同行方式為(可複選)：自行走動 手抱 揹巾 自備嬰兒推車
賣場提供嬰兒推車 與商品在同一推車上(有座) 與商品在同一推車上(無座)
21. 承上，他/她有可能可以碰觸生鮮商品嗎(未煮熟、非乾貨、不論包裝是否完整，如：菜、肉、蛋、魚)？否 是，種類為_____
22. 生病前一週內他/她是否曾食用冰品、生菜、奶粉外之乳製品或其它生食？
否 是，品名：_____來源：_____，日期：____月____日
品名：_____來源：_____，日期：____月____日
品名：_____來源：_____，日期：____月____日
23. 生病前一週內他/她是否曾接觸動物(包含在同一場所活動)？否(接下題)
是，為雞 鴨 鵝 鳥 其它：_____，來源：_____，
地點：_____，接觸情形：_____
24. 他/她在何種情況下會洗手？清洗方式及頻率？
- (1)吃東西前：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (2)玩玩具後：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (3)出門返家後：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (4)碰觸動物後：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (5)碰觸生鮮(含蛋殼)後：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (6)其它_____：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
25. 他/她的主要照顧者(_____)在何種情況下會洗手？清洗方式及頻率？
- (1)自己吃東西前：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，
主要方式：清水 肥皂 其它_____
- (2)餵食小孩前：否 是，
頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(3)自己如廁後：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(4)換尿布或訓練小孩如廁後：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(5)出門返家後：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(6)碰觸動物後：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(7)碰觸生鮮(含蛋殼)後：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

(8)其它_____：否 是，

頻率：每次 大多會 大多不會 不一定，

主要方式：清水 肥皂 其它_____

26. 是否有其它您覺得使她生病的可疑食品或風險？_____

27. 你的其它想法或建議

問卷到此結束，因應疫情可能後續再次聯繫，若您有疑問，也可來電疾病管制局
02-23959825 分機 0000 詢問 000 醫師，感謝您的合作。

中部疑沙門氏菌群聚感染事件問卷調查 2012.09

一、緣起及目的：

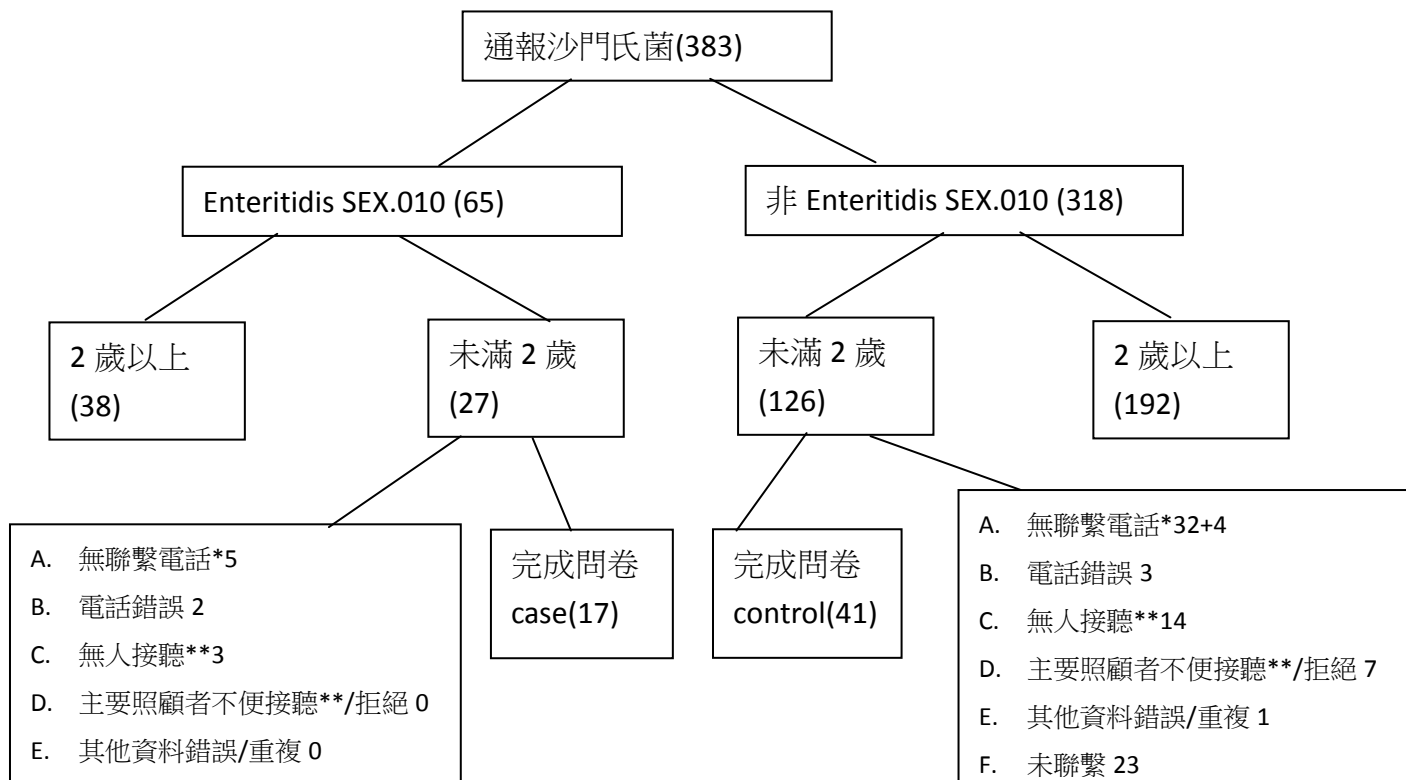
疾病管制局研究檢驗中心與中部地區醫院合作收集菌株，執行「沙氏桿菌群聚感染早期偵測系統」自行研究計畫，進行 PFGE 圖譜分析與比對，結果顯示有三個可能的群聚感染，其中 Enteritidis 寄主專一性高，禽類是其主要寄主，可供較長期貯存之禽肉、蛋與相關製品，較可能引發持續性的感染，為追蹤感染源與維護國民健康，由本局衛生調查訓練班進行流行病學調查，以瞭解有無共同感染源，以供後續防治參考。

二、調查方法：

於 8 月中旬函文至合作醫院，商請其提供該院聯繫窗口，並請提供調查病患聯繫電話。另由本局研檢中心提供自 2012 年 4 月 1 日至 2012 年 8 月 20 日之菌株及個案相關資料，篩選 2 歲以下患者，以感染 Enteritidis SEX.010 為 case，其餘通報者為 control，以進行病例對照之分析。電訪內容包含症狀、病程時間、接觸史、飲食情況等，訪問對象為病患之主要照顧者。問卷資料以 Epi Info7 軟體輸入及分析。

三、調查結果：

於 2012 年 4 月 1 日至 2012 年 8 月 20 日間，共有 383 筆菌株資料，其中 65 筆檢驗結果為 Enteritidis SEX010。聯繫成功並配合完成問卷訪問者有 case 16 人，control 41 人，詳如下圖：



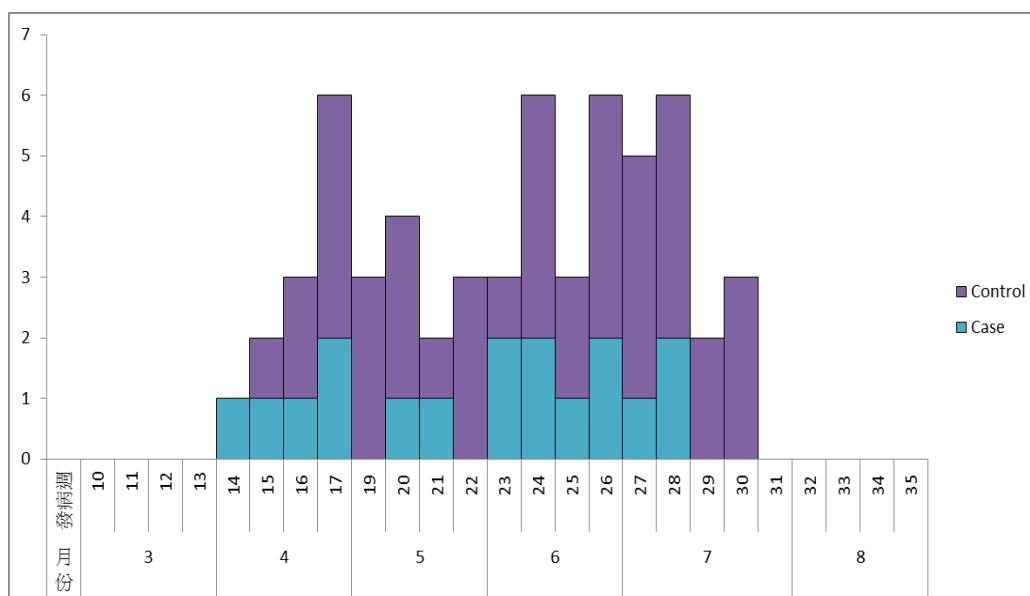
*某醫院回覆相關資料時間為預設電訪最後一日，故暫將該院病患皆歸類為無聯繫電話。

**皆曾於夜間致電仍無法聯繫

- 基本資料：

	Case(n=17)	Control(n=41)
月齡中位數	10(4-22)	13(4-22)
男	65%	61%
居住地		
台中	9(53%)	20(49%)
彰化	6(35%)	16(39%)
南投	1(6%)	1(2%)
其他	1(6%)	4(10%)
白天主要照顧者		
父母	11(64%)	14(34%)
祖父母	2(12%)	20(49%)
保姆	2(12%)	3(7%)
其他	2(12%)	4(10%)
夜間/假日主要照顧者		
父母	17(100%)	30(73%)
祖父母	0	10(24%)
其他	0	1(3%)
具過去病史	3(7%)	7(8%)

- Epi-Curve



Control 的 serotype 分布為：Enteritidis(非 SEX.010) 6, Typhimurium 27, Itami 3, Paratyphi B 2, Newport 1, Schwarzengrund 1, Agona 1

- 症狀分布及就醫情形

	Case	Control	P
發燒	16(84%)	36(88%)	0.65
腹瀉	17(100%)	40(98%)	1.00
血便	12(71%)	25(61%)	0.49
嘔吐	7(41%)	13(32%)	0.49
食欲差	7(41%)	24(59%)	0.23
活力差	11(65%)	19(46%)	0.20
住院	17(100%)	33(80%)	0.0498
症狀平均持續天數	10	8	0.33

● 相關因子分析(主要為發病一週前)

	Case (n=17)	Control (n=41)	OR (95%CI)	p
家人出國史	0	2(5%)	-	1.0
國內旅遊史	7(44%)	13(33%)	1.56(0.47-5.12)	0.47
動物接觸史	9(53%)	20(49%)	0.18(0.38-3.67)	0.77
雞	1	5	0.45(0.05-4.17)	0.66
鳥	1	3	0.79(0.08-8.20)	1.0
狗/貓	6	10	1.69(0.50-5.75)	0.40
兔	0	2	0	1.0
外食	6(35%)	18(45%)	0.67(0.21-2.16)	0.50
新接觸食品	3(19%)	3(9%)	2.62(0.47-14.65)	0.35
食用禽肉	4(24%)	20(49%)	0.32(0.09-1.16)	0.09
生鮮	4	19	-	1.0
熟食	0	2	0	1.0
加工品	0	0	-	-
禽肉來源				
傳統市場	3(75%)	15(75%)	1.0(0.08-11.93)	1.0
大賣場	0	0	-	-
超級市場	0	3(15%)	0	1.0
便利商店	0	0	-	-
餐廳	0	1	0	1.0
網購	0	0	-	-
其他	1(25%)	5(20%)	1.33(0.11-16.48)	1.0
食用蛋品	11(65%)	31(76%)	0.59(0.17-2.01)	0.40
生鮮	9(82%)	29(94%)	0.31(0.04-2.53)	0.28
熟食	0	1(3%)	0	1.0

	Case (n=17)	Control (n=41)	OR (95%CI)	p
加工品	4(36%)	10(32%)	1.2(0.28-5.07)	1.0
蛋品來源				
傳統市場	5(45%)	14(45%)	1.01(0.25-4.03)	0.99
大賣場	1(9%)	2(6%)	1.45(0.12-17.77)	1.0
超級市場	3(27%)	9(29%))	1.0
便利商店	1(9%)	3(10%)	0.92(0.20-4.26)	1.0
餐廳	0	1(3%)	0.93(0.09-10.04)	1.0
網購	0	0)	-
其他	3(27%)	14(45%)	0	0.48
			-	
			0.46(0.10-2.05)	
食用豬肉	7(41%)	25(61%)	0.45(0.14-1.42)	0.17
生鮮	5(71%)	18(72%)	0.97(0.15-6.23)	1.0
熟食	0	2(8%)	0	1.0
加工品	5(71%)	15(60%)	1.67(0.27-10.33)	0.68
)	
豬肉來源				
傳統市場	6(86%)	18(72%)	2.33(0.24-23.04)	0.65
大賣場	0	1(4%))	1.0
超級市場	1(17%)	4(16%)	0	1.0
便利商店	0	0	1.05(0.10-11.56)	-
餐廳	0	1(4%)	-	1.0
網購	0	0	0	-
其他	1(17%)	5(20%)	-	1.0
			0.8(0.08-8.47)	
砧板處理				
生熟食共用	5	13	0.92(0.26-3.28)	0.90
生熟食分開	10	24		
刀子處理				
生熟食共用	2	13	0.28(0.05-1.48)	0.16
生熟食分開	10	18		
蛋液容器處理				
僅清水清洗	4	15	0.30(0.07-1.36)	0.15
洗碗精清洗	7	8		
購買生鮮同行	7(41%)	12(29%)	1.69(0.52-5.49)	0.54

可能接觸生鮮	3(17%)	4(10%)	1.98(0.39-10.00)	0.41
其他生冷食品	5(29%)	8(22%)	1.51(0.41-5.57)	0.73
以未清潔手抓取物品入口	14(82%)	34(85%)	0.82(0.18-3.76)	1.0

Case 及 control 於旅遊史、動物接觸、禽肉、蛋品、豬肉、廚房用品處理等並未有顯著差異，另詢問部分受訪者(case 7 位, control 25 位)關於飲用水源及其飲用前處理，也未有統計差異。

- 於訪談中回覆有接觸者近期具類似症狀者，其分布為：

指標	Serotype 及 PFGE	具類似症狀人數	類似症狀者身分	發病日較指標早或晚
Case				
A	Enteritidis SEX.010	1	姊姊(2 歲)	早 7 天
B	Enteritidis SEX.010	2	哥哥(4 歲)、父親	晚 6 天
C	Enteritidis SEX.010	1	姊姊(2 歲)	晚 11 天
D#	Enteritidis SEX.010	1	雙胞胎姊妹	晚 1 天
E	Enteritidis SEX.010	1	祖母	早 7 天
Control				
a	Typhimurium STX.807	1	母親	晚 5 天
b##	Typhimurium STX.559	1	表姊(2 歲)	早 14 天
c	Typhimurium STX.734	1	台北舅舅(1 歲)	同日
d	Typhimurium STX.575	1	哥哥(3 歲)	不明
e	Enteritidis SEX.126	2	祖母、叔叔	晚 2 天
f	Typhimurium STX.822	2	阿姨、母親	晚 1-2 天

#Case-D 白天於托嬰中心受照護，母親說該中心(o 苗)當時疑有群聚情形。
##Control-b 白天於托嬰中心受照護，曾於表姊腹瀉出院後有接觸，經查兩者 serotype 皆為 Typhimurium，但 control-b 為 STX.559，表姊為 STX.836。除上列 2 位，其餘皆為家人照顧。

- 同一人不同檢體檢出不同型別

案甲：05-099-615721 檢出 Typhimurium STX.477，05-099-024261 檢出 Typhimurium STX.573

四、 討論與結論：

於此次問卷調查中，了解 Salmonella Enteritidis SEX.010 於未滿 2 歲之族群的臨床表現與其他血清型之沙門氏菌除住院率較高外，無明顯差異。最常見之症狀為腹瀉(100%)，而發燒(84%)及血便(71%)並非必要條件，另部分也以嘔吐(41%)表現。於資料庫中發現 1 名 14 個月大男病童自不同醫院通報送驗之菌株檢出不同 PFGE 型別之沙門氏菌。分析 Salmonella Enteritidis SEX.010 之飲食史、飲食來源、接觸史、衛生條件等之差別與其他型別之通報沙門氏菌患者無統計上意義。少數病童於患病前曾接觸過具類似症狀者，然多侷限於同住家庭接觸者，或非同住之親人，另曾回覆托嬰中心疑似群聚，然局內群聚資料並無此案。另以通報資料庫中同樣聯繫電話為可能家庭群聚，可找出 1 案為 2 歲多之雙胞胎，間隔一週發病。此問卷調查受限於回溯時間較長、及部分聯絡資料錯誤，於蒐集相關訪談資料時之完整性及正確性有其限制，但順利聯繫之病童家屬大多願意配合受訪。以此次問卷所得資訊，可知 Salmonella Enteritidis SEX.010 並未經由單一共同感染源造成此次地緣性群聚，建議以整體禽鳥類之感染控制為目前主要之介入措施。另於此次調查也建立了由醫院端提供病患電話之連繫窗口與合作模式，醫院連繫窗口如附件。