

計畫編號：DOH94-DC-1016

行政院衛生署疾病管制局九十四年度科技研究發展計畫

台灣南部地區隱孢子蟲症及環孢子蟲症之實驗診斷及
監視

研究報告

執行機構：高雄醫學大學寄生蟲學科

計畫主持人：顏全敏 教授

研究人員：顏全敏、李俊德、蘇怡如

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見

目 錄

	頁 碼
封面	(1)
目錄	(2)
中文摘要	(3-4)
英文摘要	(5-6)
前言	(7-9)
材料與方法	(10-13)
結果	(14-17)
圖表	(18-27)
討論	(28-30)
結論與建議	(31-32)
參考文獻	(33-35)

中文摘要

民國九十四年一月至十二月調查台灣南部山地鄉居民隱孢子蟲及環孢子蟲的感染情形，受檢地區包括屏東縣的牡丹、獅子、春日、來義、泰武、瑪家、三地門及霧臺共八個山地鄉，每個月定期兩次至各山地鄉收集住民糞便檢體，共檢查山地鄉住民 2005 人，所收集的糞便檢體利用福馬林—乙醚濃縮法及修飾的抗酸性染色法鏡檢，共發現有 95 人(男、女分別有 53 及 42 人)感染隱孢子蟲，感染者經酵素連結免疫分析抗體套組確認隱孢子蟲抗原也均呈現陽性反應，總感染率為 4.74%，男、女住民的感染率分別為 6.08% 及 3.71%，隱孢子蟲感染者在男女性別之間統計學並未顯示顯著差異，分析年齡層與感染情形方面，以 0 歲到 9 歲的陽性率最高(6.92%)，30 歲到 39 歲的陽性率次之(6.72%)，隱孢子蟲之感染在年齡層之間呈現顯著性的差異 ($P < 0.01$)；2005 個檢體中未發現環孢子蟲的存在。另外檢查屏東縣及高雄縣共 11 個山地鄉 22 處的水源，經過定期追蹤收集得到 58 個水源檢體，經濃縮分離及染色鏡檢後發現 7 個山地鄉其中的 9 處水源所追蹤收集得到的 19 個檢體有隱孢子蟲卵囊體的存在，其陽性率為 33%，當中隱孢子蟲卵囊體陽性的水源都是來自山泉水，而簡易自來水及自來水的水源檢體未發現隱孢子蟲卵囊體的存在。本研究結果顯示，台灣南部山地鄉居民飲用水污染隱孢子蟲及居民感染隱孢子蟲的值得重視。

關鍵詞：隱孢子蟲，山地鄉，糞便檢體，抗酸性染色。

Abstract

The present study on the prevalence of *Cryptosporidium* and *Cyclospora* infection, from January to December 2005, was conducted among aborigines in southern Taiwan. The surveyed and monitored areas included eight montane townships at Pingtung county. The fecal specimens were collected twice each month, concentrated by Fomaldehyde-ether Sedimentation method and examined by Modified acid-fast stain. Of 2005 specimens, 95 (male: 53, female: 42) specimens were *Cryptosporidium*-positive reconfirmed by enzyme-linked immunosorbent assay. The infection rate is 4.74% (male: 6.08%, female: 3.71%) and there is no significant difference between infection rate and genders. Of the *Cryptosporidium* infection, 0-9 ages had the highest infection rate (6.92%), followed by 30-39 ages (6.72%). There is significant difference between infection rate and age ($P < 0.01$). No *Cyclospora* oocyst was found in all of the fecal specimens. At Pingtung and Kaohsiung counties, 58 water samples from 11 townships, 22 districts were collected. Of the 58 water samples, 19 samples from 7 townships, 9 districts were positive for *Cryptosporidium* by microscopy. The positive rate is 33% and all of the positive samples are from mineral water, neither simple tap water nor tap water. Based on our results, the infection of

Cryptosporidiosis in residents was need to be taken account and the contamination of *Cryptosporidium* oocyst in mineral water among montane areas in southern Taiwan.

Keywords: *Cryptosporidium*, montane townships, fecal specimen, acid-fast stain.

前言

隱孢子蟲是一種微小的原蟲類，它可感染動物造成腹瀉或呼吸道症狀^{1, 2}，其傳播方式是經由水源污染，在小孩及免疫妥協或缺陷的病人，隱孢子蟲感染常造成持續而嚴重的腹瀉，甚至於死亡^{3, 4}；在免疫力正常的人，其感染後的腹瀉大多維持一至二週，為可自癒性的。最近幾年在已開發國家，包括英國、美國及日本曾爆發多起隱孢子蟲症的流行，而被認為是一種重要的再興起的感染性疾病^{5, 6}。台灣地區從1993年蘭嶼的學童糞便檢體未發現有隱孢子蟲卵囊體⁷，到最近在2002年發現同樣蘭嶼地區的居民感染率為27.8%，顯示感染情形有增加的趨勢；另外，也首次在台灣本島牧場工作人員發現有29.2%的糞便檢體有檢出隱孢子蟲卵囊⁸；截至目前為止，在本島始終沒有廣泛的本土性人體隱孢子蟲感染的流行病學資料。近幾年臺灣大量引進外籍勞工，這些勞工大多來自東南亞寄生蟲感染率高的國家，包括泰國、菲律賓、印尼、馬來西亞，而從流行病學研究結果顯示，在這些國家的人體隱孢子蟲感染率約在2至11%之間⁹⁻¹²，我們對於入境台灣的外籍勞工施以修飾性的抗酸性染色檢查糞便檢體，其隱孢子蟲感染率有2.7%¹³，無論以上這些本土的畜牧相關工作者或者由東南亞來的外籍勞工，都可能直接或間接的增加了台灣本土地區人類隱孢子蟲卵囊體的散播的機會。

由於山地鄉的飲用水源容易受到野生動物糞便的污染，以及部分居

民不適當的生飲方式增加了隱孢子蟲及環孢子蟲感染的機會，所以在台灣流行病學上，山地鄉族群的監視是防範隱孢子蟲及環孢子蟲引起群聚感染的最重要方法，也因此針對山地鄉的此種寄生蟲監視是刻不容緩的，雖然中北部山地鄉的調查已有初步結果¹⁴，但是南部地區仍存有廣大的山地鄉住民，本計劃主要針對台灣南部地區進行隱孢子蟲症及環孢子蟲症之實驗診斷及流行病學監視，以期將來能針對有疑似集體感染的檢體作正確的檢查及分析。除了以制式的糞便檢體濃縮前處理及抗酸性染色鏡檢外，以酵素連結免疫分析法辨認捕捉蟲體抗原來確認，另外也進行分子檢驗，建立完善的實驗室診斷機制。

另外依據1999年全臺水源隱孢子蟲卵囊體的調查，發現未經處理過的水中，卵囊體存在率為72.2%，而經處理過的水中，卵囊體存在率為38.5%，顯示此種寄生蟲的高存在性¹⁵。水源污染的隱孢子蟲可能來自動物或人類，隱孢子蟲卵囊體的生殖芽孢，通常在小腸破裂進行生長與生殖，最終以卵囊體形態由宿主的糞便中排至環境中。此類致病性原生動物一旦污染水源易造成大規模的流行，由於國內畜牧產業已檢測出隱孢子蟲之存在⁸，而畜養之區域部分位於水源區內，假使管理不當很容易污染水源，並且危害大眾之飲水健康。從文獻結果顯示¹⁵，本省河川多有隱孢子蟲，表示河川已受動物糞便污染，本研究也調查是否山地鄉水源亦有同樣情形。

材料與方法

針對屏東縣的牡丹鄉、獅子鄉、春日鄉、來義鄉、泰武鄉、瑪家鄉、三地門鄉及霧臺鄉共八個山地鄉收集住民的糞便檢體，每個山地鄉依據所包括村里的大小及居民的數目，每個月兩次透過各鄉負責人發送不同數目的糞便檢體盒給與各村的公衛護士，再由各村的公衛護士隨機選擇不同戶人家分發糞盒，隔天回收至各鄉衛生所冷藏保存，然後再至當地衛生所收集回收的糞便檢體，帶回高雄醫學大學寄生蟲學科實驗室檢查，鏡檢陽性者則用酵素免疫分析法做隱孢子蟲的卵囊體抗原確認，兩種檢驗方法皆呈陽性者，則另外做分子檢驗分析。

另外針對南台灣各山地鄉地區，包括高雄縣的茂林鄉、桃源鄉及三民鄉，及屏東縣的牡丹鄉、獅子鄉、春日鄉、來義鄉、泰武鄉、瑪家鄉、三地門鄉及霧臺鄉共十一個山地鄉，每個山地鄉選擇兩處的住民水源，進行水源的隱孢子蟲檢查，並針對至少一處的水源作每隔兩個月的定期監視追蹤，運送方式為攜帶 20 公升水樣塑膠桶，定期至各山地鄉水源取水，帶回高雄醫學大學寄生蟲學科實驗室，進行水樣的孢子蟲的濃縮分離鏡檢。

糞便檢體的檢驗

1. 前處理步驟：以 Formalin-ether acetate Method 離心沉澱法收集孢子蟲的卵囊體，其步驟如下：取約花生米大小的糞便檢體於試管內，加

約 3 ml 的 10% 福馬林，用木棒攪拌均勻，準備好紗布、漏斗及乾淨的試管，把紗布壓放於漏斗上，漏斗放於試管上，倒入已攪拌均勻的糞便檢體，然後加 5 ml 的 10% formalin 混合均勻，再加入 2 ml 的乙醚，蓋上蓋子上下搖晃均勻，經過離心 2000rpm、5 分鐘後，倒掉上清液及雜質，殘餘的底層沉澱液冷藏保存之。

2. 染色：

(1). 修飾的抗酸性染色：取一滴上述的沉澱液塗抹於載玻片上，做成厚抹片，以修正的抗酸性染色染隱孢子蟲及環孢子蟲：首先塗抹片風乾，將片子放於玻片架上浸入 carbol-fuchsin 溶液，微微加熱染 5 分鐘，以自來水潤洗，用 Acid alcohol 脫色約 30 秒，自來水潤洗後流乾，將玻片浸於 Malachite green 染背景約分鐘 2 分鐘，以自來水潤洗後流乾，再風乾。

(2). 番紅染色：取一滴上述的沉澱液塗抹於載玻片上，做成厚抹片，以番紅染色來確認環孢子蟲：塗抹片風乾，用 Acid alcohol 固定五分鐘，自來水潤洗後流乾，將片子放於玻片架上浸入 safranin 微微加熱，染 1 分鐘，以自來水潤洗將玻片浸於 Malachite green 染背景約 1 分鐘，以自來水潤洗後流乾，再風乾。

3. 鏡檢：

以光學顯微鏡油鏡檢視玻片，隱孢子蟲及環孢子蟲卵囊體在抗酸性染色下

呈現紫紅或粉紅色，以卵囊體大小及孢子數目區分隱孢子蟲及環孢子蟲，有疑似環孢子蟲卵囊體的檢體則加做番紅染色，環孢子蟲卵囊體在番紅染色下會呈現穩定的橙紅色。

4. 酵素免疫分析法：

以酵素連結免疫分析抗體套組(CRYPTO CELISA, Cellabs)偵測糞便中的隱孢子蟲抗原，糞便經過初步之過濾後冷藏保存，分別吸取適量的正控制組、負控制組及待檢糞便檢體於酵素連結免疫抗體套組的孔洞中，經過靜置反應及以沖洗液進行數次的沖洗後，加入孢子蟲抗原的單株抗體(anti-rabbit IgG peroxidase)及呈色受質(TMB)，以終止試劑停止反應，用酵素連結免疫分析儀於 450nm 判讀呈色結果。

5. 分子檢驗分析：

從新鮮或-80°C 冷凍保存的糞便檢體中，使用 Qiamp mini stool kit 套組(Qiagen)萃取出隱孢子蟲蟲體的去氧核糖核酸¹⁶，置於4°C保存，使用 primers CPBDIAGF and CPBDIAGR¹⁷ 進行聚合酶連鎖反應(5 min at 80 °C, denaturation for 30 sec at 98 °C, annealing for 30 sec at 55 °C, extension for 1 min at 72 °C, and denaturation for 30 sec at 94 °C, for 35 cycles)，其產物以 2% Agarose gel 進行去氧核糖核酸電泳，所得的產物在紫外燈下如果顯示有 435 bp，則為 *Cryptosporidium parvum* 的特異性條帶。

水源檢體的濃縮分離檢驗

一. 飲用水樣品以 20 公升的塑膠桶採集，運送至實驗室進行過濾濃縮分離等前處理步驟。在採樣之後的 72 小時之內完成前處理。

二. 水源的隱孢子蟲卵囊體的檢查

1. 水樣之過濾與流洗：以實驗室水樣濾心(nucleopore)及濾膜(1.2 μ m, pall)過濾 20 公升的水樣，將過濾液樣品使用緩衝液進行流洗後收集在離心管中。
2. 樣品之濃縮與分離：流洗液經過離心機將水樣濃縮，然後加入免疫磁性抗體套組(Dynalbeads anti-*Cryptosporidium* Kit, Dynal)振盪以磁性抗體分離的方法將卵囊體分離，準備玻片，加入 NaOH，將樣本溶液完全吸至玻片上，室溫下讓玻片上的樣本溶液慢慢風乾。
3. 樣品染色：吸取 10 μ L 含 200 至 400 個的卵囊體 (Meridian) 至玻片上當作正控制組，吸取 50 μ L 150 mM PBS 至玻片上當負控制組。待上述玻片及樣本玻片風乾，然後各加一滴的檢測試劑至玻片上，再加上一滴的對比染劑至玻片上，將玻片經過洗劑沖洗後，再加上 50 μ L 的 DAPI 染劑，再經過封片後，用紙巾吸去玻片周圍多餘的封片液，最後以螢光為光源的微分干涉差顯微鏡進行鏡檢。
4. 顯微鏡鏡檢觀察：正控制組的玻片在螢光顯微鏡下以 400 倍的倍率

下觀察，可見到蘋果綠原蟲，負控制組則否。樣本玻片若發現典型大小或非典型的卵囊體構造，如空的隱孢子蟲卵囊體或或其卵囊體內含孢子，則均為陽性。

結果

總共所收集的 2005 個住民糞便檢體(男性 872 個、女性 1133 個)中，各山地鄉住民糞便檢體數目與性別的分布情形如表一所示，其中牡丹鄉 118 個(男性 47 個、女性 71 個)、獅子鄉 223 個(男性 91 個、女性 132 個)、春日鄉 116 個(男性 55 個、女性 61 個)、來義鄉 295 個(男性 116 個、女性 179 個)、泰武鄉 343 個(男性 193 個、女性 343 個)、瑪家鄉 296 個(男性 129 個、女性 167 個)、三地門鄉 483 個(男性 232 個、女性 251 個)及霧台鄉 131 個(男性 52 個、女性 79 個)。另外各山地鄉住民糞便檢體數目與年齡層的分布情形如表二所示，其中 0 歲到 9 歲的有 347 個，10 歲到 19 歲的有 240 個，20 歲到 29 歲的有 140 個，30 歲到 39 歲的有 253 個，40 歲到 49 歲的有 259 個，50 歲到 59 歲的有 253 個，60 歲到 69 歲的有 213 個，70 歲到 79 歲的有 196 個，80 歲到 89 歲的有 79 個，90 歲到 99 歲的有 25 個。

使用修飾的抗酸性染色鏡檢發現有隱孢子蟲卵囊體，經酵素連結免疫分析抗體套組偵測糞便中的隱孢子蟲抗原呈現陽性者，總共有 95 個檢體(男性 53 個，女性 42 個)，這其中並沒有發現液態狀的可能腹瀉檢體。住民糞便檢體隱孢子蟲陽性數目與性別的分布情形如表三所示，這些包括牡丹鄉 5 個(男性 3 個、女性 2 個)、獅子鄉 8 個(男性 6 個、女性 2 個)、春日鄉 2 個(男性 2 個、女性 0 個)、來義鄉 20 個(男性 12 個、女性 8 個)、泰武鄉

14 個(男性 6 個、女性 8 個)、瑪家鄉 12 個(男性 6 個、女性 6 個)、三地門鄉 29 個(男性 17 個、女性 12 個)及霧台鄉 4 個(男性 1 個、女性 3 個)，經統計的結果分析，住民糞便檢體隱孢子蟲陽性數目與男女性別之間並沒有差異($X^2=1.274$, $P>0.05$)。另外隱孢子蟲的總陽性率為 4.74%(男性 6.08%、女性 3.71%)，如表四所示，其中牡丹鄉為 4.24%(男性 6.38%、女性 2.82%)，獅子鄉為 4.04%(男性 6.59%、女性 2.27%)，春日鄉為 1.72%(男性 3.64%、女性 0.00%)，來義鄉為 6.78%(男性 10.34%、女性 4.47%)，泰武鄉為 4.08%(男性 4.00%、女性 4.15%)，瑪家鄉為 4.05%(男性 4.65%、女性 3.59%)，三地門鄉為 6.00%(男性 7.33%、女性 4.78%)，霧台鄉為 3.05%(男性 1.92%、女性 3.80%)，以來義鄉的陽性率最高，春日鄉的陽性率最低。

各山地鄉住民糞便檢體隱孢子蟲陽性率與年齡層的分布情形如表五所示，其中 0 歲到 9 歲的有 24 個，10 歲到 19 歲的有 12 個，20 歲到 29 歲的有 3 個，30 歲到 39 歲的有 17 個，40 歲到 49 歲的有 9 個，50 歲到 59 歲的有 10 個，60 歲到 69 歲的有 10 個，70 歲到 79 歲的有 6 個，80 歲到 89 歲的有 4 個，90 歲到 99 歲的有 0 個，經統計的結果分析，住民糞便檢體隱孢子蟲陽性數目與年齡層之間有顯著性的差異($X^2=12.32$, $P<0.01$)。各山地鄉住民糞便檢體隱孢子蟲陽性佔該鄉受檢人數的百分比與年齡層的分布情形如表六所示，其中 0 歲到 9 歲佔 6.92%，10 歲到 19 歲佔 5.00%，20 歲到

29 歲佔 2.14%，30 歲到 39 歲佔 6.72%，40 歲到 49 歲佔 3.47%，50 歲到 59 歲佔 3.95%，60 歲到 69 歲佔 4.69%，70 歲到 79 歲佔 3.06%，80 歲到 89 歲佔 5.06%，90 歲到 99 歲佔 0.00%，以 0 歲到 9 歲的陽性百分比最高，30 歲到 39 歲的陽性百分比次之。而受檢的 2005 個檢體當中使用抗酸性染色篩檢搭配番紅染色鏡檢確認後，沒有發現環孢子蟲的存在。

從陽性糞便檢體中所萃取得到的隱孢子蟲的去氧核糖核酸，使用 forward primer (5'-AAGCTCGTAGTTGGATTTCTG-3') 及 reverse primer (5'-TAAGGTGCTGAAGGAGTAAGG-3') 進行聚合酶連鎖反應，產物經去氧核糖核酸電泳，顯示有 435 bp 的 *Cryptosporidium parvum* 特異性條帶。

水源檢體的檢查，包括屏東縣的牡丹鄉，獅子鄉，春日鄉，來義鄉，泰武鄉，瑪家鄉，三地門鄉及霧臺鄉均各 2 處，共 16 處的水源檢體，和高雄縣茂林鄉，桃源鄉及三民鄉均各 2 處，共 6 處的水源檢體。總共收集 22 處的水源，其中屏東縣各山地鄉選擇 1 處的水源及高雄縣各山地鄉選擇 2 處的水源，每隔兩個月追蹤監視一次，總共收集得 58 個水源檢體。

其中屏東縣各山地鄉水樣與採樣時間隱孢子蟲檢查結果，如表七所示，檢查結果共 4 處的水源檢體其隱孢子蟲卵囊體呈現陽性，其中包括屏東縣霧臺鄉的牡丹鄉的牡丹村、春日鄉的春日村、泰武鄉的泰武村及霧台鄉的霧台村各 1 處水源檢體，統計屏東縣山地鄉水源檢體隱孢子蟲卵囊體的陽

性率為 50%，在八九月雨量豐沛的季節有較高的陽性數(4 個)。

高雄縣各山地鄉水樣與採樣時間隱孢子蟲檢查結果，如表八所示，檢查結果共 5 處的水源檢體其隱孢子蟲卵囊體呈現陽性，其中包括茂林鄉茂林村的 2 處水源檢體、桃源鄉桃源村的 1 處水源檢體及三民鄉民族村和民權村的 2 處水源檢體，統計高雄縣山地鄉水源檢體隱孢子蟲卵囊體的陽性率為 83%，在七八月雨量豐沛的季節有較高的陽性數(5 個)。

屏東縣及高雄縣各山地鄉水樣來源與隱孢子蟲陽性率的分析如表九所示，總水源檢體數的陽性率為 33%，其中牡丹鄉為 60%，春日鄉為 20%，泰武鄉為 60%，霧台鄉為 60%，茂林鄉為 67%，桃源鄉為 34%，三民鄉為 50%，而獅子鄉、來義鄉、瑪家鄉及三地門鄉的水源檢體未發現隱孢子蟲卵囊體的存在，另外水源檢體來源呈現隱孢子蟲卵囊體陽性者都是來自山泉水，其陽性率為 44%，而簡易自來水及自來水的的水源檢體未發現隱孢子蟲卵囊體的存在。

表一、屏東縣各山地鄉受檢住民糞便檢體數目與住民性別的分布情形

	男性	女性	各鄉合計
牡丹鄉	47	71	118
獅子鄉	91	132	223
春日鄉	55	61	116
來義鄉	116	179	295
泰武鄉	150	193	343
瑪家鄉	129	167	296
三地門鄉	232	251	483
霧台鄉	52	79	131
性別合計	872	1133	2005

表二、屏東縣各山地鄉受檢住民糞便檢體數目與住民年齡層的分布情形

	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99	各鄉 合計
牡丹鄉	26	14	6	16	15	7	16	12	5	1	118
獅子鄉	30	26	17	24	22	17	34	30	18	5	223
春日鄉	9	18	10	11	16	16	12	13	8	3	116
來義鄉	58	29	15	38	36	43	32	34	9	1	295
泰武鄉	58	23	20	45	48	65	35	35	12	2	343
瑪家鄉	65	38	33	43	40	30	22	21	2	2	296
三地門鄉	87	73	38	59	59	62	45	32	19	9	483
霧台鄉	14	19	1	17	23	13	17	19	6	2	131
年齡層合計	347	240	140	253	259	253	213	196	79	25	2005

表三、屏東縣各山地鄉受檢住民糞便檢體隱孢子蟲陽性數目與住民性別的分布情形

	男性	女性	各鄉合計
牡丹鄉	3	2	5
獅子鄉	6	3	9
春日鄉	2	0	2
來義鄉	12	8	20
泰武鄉	6	8	14
瑪家鄉	6	6	12
三地門鄉	17	12	29
霧台鄉	1	3	4
性別合計	53	42	95

表四、屏東縣各山地鄉受檢住民糞便檢體隱孢子蟲陽性率與住民性別的分布情形

	男性	女性	各鄉合計
牡丹鄉	6.38%	2.82%	4.24%
獅子鄉	6.59%	2.27%	4.04%
春日鄉	3.64%	0.00%	1.72%
來義鄉	10.34%	4.47%	6.78%
泰武鄉	4.00%	4.15%	4.08%
瑪家鄉	4.65%	3.59%	4.05%
三地門鄉	7.33%	4.78%	6.00%
霧台鄉	1.92%	3.80%	3.05%
性別合計	6.08%	3.71%	4.74%

表五、屏東縣各山地鄉受檢住民糞便檢體隱孢子蟲陽性數目與住民年齡層的分布情形

	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99	各鄉 合計
牡丹鄉	0	1	0	1	2	1	0	0	0	0	5
獅子鄉	1	1	0	1	0	1	4	1	0	0	9
春日鄉	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
來義鄉	3	4	2	3	1	1	3	2	1	0	20
泰武鄉	4	0	0	3	2	2	1	2	0	0	14
瑪家鄉	6	0	1	1	1	1	1	1	1	0	13
三地門鄉	7	5	0	7	3	4	1	0	1	0	28
霧台鄉	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	4
年齡層合計	24	12	3	17	9	10	10	6	4	0	95

表六、屏東縣各山地鄉住民糞便檢體隱孢子蟲陽性佔該鄉受檢人數的百分比與年齡層的分布情形

	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99	各鄉 合計
牡丹鄉	0.00%	7.14%	0.00%	6.25%	13.33%	14.29%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	4.24%
獅子鄉	3.33%	3.85%	0.00%	4.17%	0.00%	5.88%	11.76%	3.33%	0.00%	0.00%	4.04%
春日鄉	22.22%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.72%
來義鄉	5.17%	13.79%	13.33%	7.89%	2.78%	2.33%	9.38%	5.88%	11.11%	0.00%	6.78%
泰武鄉	6.90%	0.00%	0.00%	6.67%	4.17%	3.08%	2.86%	5.71%	0.00%	0.00%	4.08%
瑪家鄉	9.23%	0.00%	3.03%	2.33%	2.50%	3.33%	4.55%	4.76%	50.00%	0.00%	4.39%
三地門 鄉	8.05%	6.85%	0.00%	11.86%	5.08%	6.45%	2.22%	0.00%	5.26%	0.00%	5.80%
霧台鄉	7.14%	5.26%	0.00%	5.88%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	16.67%	0.00%	3.05%
年齡層 合計	6.92%	5.00%	2.14%	6.72%	3.47%	3.95%	4.69%	3.06%	5.06%	0.00%	4.74%

表七、屏東縣各山地鄉水樣與採樣時間隱孢子蟲檢查結果

	四、五月	六、七月	八、九月	十、十一月	各區總陽性數
牡丹鄉(1)*	陽性	陽性	陽性	陰性	3
牡丹鄉(2)*	無**	陰性	無	無	0
獅子鄉(1)	陰性	陰性	陰性	陰性	0
獅子鄉(2)	無	陰性	無	無	0
春日鄉(1)	陰性	陰性	陽性	陰性	1
春日鄉(2)	無	陰性	無	無	0
來義鄉(1)	陰性	陰性	陰性	陰性	0
來義鄉(2)	無	無	陰性	無	0
泰武鄉(1)	陽性	陽性	陽性	陰性	3
泰武鄉(2)	無	無	陰性	無	0
瑪家鄉(1)	陰性	陰性	陰性	陰性	0
瑪家鄉(2)	無	無	陰性	無	0
三地門(1)	陰性	陰性	陰性	陰性	0
三地門(2)	無	無	陰性	無	0
霧台鄉(1)	陽性	陽性	陽性	陰性	3
霧台鄉(2)	陰性	無	無	無	0

總陽性數	3	3	4	0	10
------	---	---	---	---	----

*(1)及(2)：分別代表同鄉兩處不同地區所採樣的水源檢體

**無：未採樣水源檢體

表八、高雄縣各山地鄉水樣與採樣時間隱孢子蟲檢查結果

	五、六月	七、八月	九、十月	各地區總陽性數
茂林鄉茂林村(1)*	陽性	陽性	陰性	2
茂林鄉茂林村(2)*	陽性	陽性	陰性	2
桃源鄉桃源村(1)	陰性	陰性	陰性	0
桃源鄉桃源村(2)	陽性	陽性	陰性	2
三民鄉民族村	陰性	陽性	陰性	1
三民鄉民權村	陽性	陽性	陰性	2
每隔兩個月的總陽性數	4	5	0	9

*(1)及(2)：分別代表同鄉兩處不同地區所採樣的水源檢體

表九、屏東縣及高雄縣各山地鄉水樣來源與隱孢子蟲陽性率的分析

	山泉水	簡易自來水	自來水	各鄉的陽性率
牡丹鄉	75%(3/4)	無*	0(0/1)	60%(3/5)
獅子鄉	0(0/1)	無	0(0/4)	0(0/5)
春日鄉	25%(1/4)	無	0(0/1)	20%(1/5)
來義鄉	0(0/4)	無	0(0/1)	0(0/5)
泰武鄉	75%(3/4)	0(0/1)	無	60%(3/5)
瑪家鄉	0(0/4)	0(0/1)	無	0(0/5)
三地門鄉	0(0/4)	無	0(0/1)	0(0/5)
霧台鄉	75%(3/4)	無	0(0/1)	60%(3/5)
茂林鄉	67%(4/6)	無	無	67%(4/6)
桃源鄉	67%(2/3)	0(0/3)	無	34%(2/6)
三民鄉	50%(3/6)	無	無	50%(3/6)
各種水源的 陽性率	43%(19/44)	0(0/5)	0(0/9)	33%(19/58)

**無：未採樣水源檢體

討論

目前台灣的一些關於居民隱孢子蟲盛行率的調查，包括 1993 年蘭嶼的學童糞便檢體未發現有隱孢子蟲卵囊體⁷；2002 年蘭嶼地區的居民感染率為 27.8%；台灣中部牧場工作人員的感染率為 29.2%；入境台灣的外籍勞工感染率為 2.7%¹³；本研究所調查的台灣南部山地鄉地區住民的隱孢子蟲的感染率為 4.74%，提供不同的族群其隱孢子蟲的盛行率資料。

本研究發現隱孢子蟲陽性數目與年齡層之間呈現顯著性的差異，而且 0 至 9 歲的幼童感染率最高；有地區性的研究報告顯示相類似結果，即隱孢子蟲症與性別及年齡有關，特別是女孩的感染率偏高¹⁸；但是本研究並未發現隱孢子蟲陽性數目與男女性別有關，另外感染率次高的年齡層為 30-39 歲的成人；有文獻報告指出隨著年齡的增加，超過 44 歲的腹瀉病人其篩選致病原因時，必須考慮是否由隱孢子蟲所引起¹⁹。另外在本研究中，陽性的住民在初檢時並未呈現腹瀉的症狀，且經過追蹤複檢其糞便檢體後，隱孢子蟲的檢查已呈現陰性，顯示經過腸道所排出的卵囊體已經排空，這些陽性者應為暫時性的帶原者，其卵囊體暫時性的通過人體消化道，或並未在腸道大量增殖而造成明顯腹瀉症狀。另外由於本島原住民經過長期衛教推廣，其飲用水亦大多都經過煮沸，此種方式可有效殺死隱孢子蟲卵囊體，推測其進入住民腸道的主要原因，可能是部分少數原住民仍然飲用生水的

習慣未改變、尿布排遺污染、溪流山澗的天然游泳池、土壤、牛奶、肉品污染等其它途徑。

本研究發現住民隱孢子蟲陽性感染率以來義鄉最高，春日鄉最低，然而來義鄉的 2 處水源、5 個水檢體中，並未發現有隱孢子蟲卵囊體的出現，而春日鄉的 2 處水源、5 個水檢體中，有 1 個山泉水檢體發現有隱孢子蟲卵囊體的出現，可能在來義鄉受感染住民的飲用水源另有其處，而春日鄉因為地震大遷村的緣故，只剩極少數住民分布在高山地區的七佳村，而大部分住民已移到平地居住，所以在飲用水方面多選擇平地自來水，故其感染率最低。

其他的研究結果顯示¹⁵，從 18 個生水的水檢體發現隱孢子蟲的陽性率高達 72.2%，而在 13 個經過處理的飲用水檢體中發現有 5 個水檢體有隱孢子蟲卵囊體的出現，存在率為 38.5%；而在本研究中所收集的簡易自來水及自來水並未發現隱孢子蟲卵囊體的存在，雖然所收集的水樣檢體的體積已高達 20 公升，但是可能需要更多體積的水樣檢體，譬如 100 公升，才會發現更高的陽性率的表現，這是值得再進一步研究調查的方向。

當雨季來臨，特別是在七八月雨量豐沛的季節時，本研究顯示有較多水源檢體的隱孢子蟲卵囊體被發現，此時亦正逢本島颱風季節，在收集水樣檢體過程時，發現由於上游溪流土石被大量沖刷下來，造成住民的山泉

水濁度甚高；在其他研究亦顯示水質濁度會影響隱孢子蟲的陽性率表現⁶，推測這也是在本研究中，未在經過初步沉澱處理的簡易自來水及經過自來水廠處理的自來水中發現隱孢子蟲卵囊體的緣故，而是在山泉水發現隱孢子蟲卵囊體的可能原因。

結論與建議

本研究的結論包括以下幾點：

1. 南台灣山地鄉住民的隱孢子蟲的感染率為 4.74%。
2. 隱孢子蟲陽性數目與男女性別之間並沒有統計上的差異。
3. 隱孢子蟲陽性數目與年齡層之間呈現顯著性的差異，以 0 歲到 9 歲的陽性率最高(6.92%)，30 歲到 39 歲的陽性率次之(6.72%)。
4. 南台灣山地鄉住民的糞便檢體未發現環孢子蟲卵囊體的存在。
5. 南台灣山地鄉的水源檢體隱孢子蟲卵囊體的陽性率為 33%。
6. 卵囊體陽性的水源都是來自山泉水，而簡易自來水及自來水的的水源檢體未發現隱孢子蟲卵囊體的存在，顯示生飲山泉水會感染隱孢子蟲的可能性。

本研究的建議事項包括以下幾點：

1. 檢查隱孢子蟲卵囊體所需的修飾的抗酸性染色及環孢子蟲的番紅染色均為制式的常規染色法，但是一般實驗室及檢驗室因為病例少而並不熟悉，另外鏡檢其卵囊體需要經驗的累積才會有正確的判定，故有必要針對醫檢人員加強舉辦腸道孢子蟲的鏡檢染色訓練研習會。
2. 建立常見不明原因腹瀉實驗室檢查的標準流程，將隱孢子蟲的檢查

列入，這種在先進國家已造成多次群聚感染及常侵犯免疫力較弱的宿主的寄生蟲，是必須列入致病原考慮的可能原因。

3. 檢查隱孢子蟲所需的輔助性的酵素連結免疫分析法，不僅適用於大量篩檢，且具有縮短檢查時間、操作容易及不需倚賴有經驗的技術人員等幾項優點，目前只能由國外購入，價格昂貴，建議本島應發展商用試劑，使價格降低，才能使隱孢子蟲的檢查更普及。
4. 從糞便檢體抽取出隱孢子蟲的去氧核糖核酸，使用 primers CPBDIAGF and CPBDIAGR 進行聚合酶連鎖反應，其產物進行去氧核糖核酸電泳，所得的 435 bp 的特異性條帶，為鑑定 *Cryptosporidium parvum* 的簡單而有效的分子檢驗方法。
5. 持續加強宣導原住民、甚至平地住民，勿飲用未煮沸的山泉水，以避免隱孢子蟲經由水源進入人體，造成疾病的可能性。
6. 目前國內水源之隱孢子蟲污染尚未管制，期待有關單位加快腳步制定管理法案，在未制訂法規管制前，國內自來水事業單位應先將之列為淨水廠功能評估的檢測項目，使全國大眾之健康得到保障。

參考文獻

1. Pohlenz J MH, Cheville NF, Bemerick WJ. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *J Am Vet Med Assoc.* 1978;172:452-457.
2. Dhillon AS, Thacker HL, Dietzel AV, Winterfield RW. Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. *Avian Dis.* Jul-Sep 1981;25(3):747-751.
3. O'Donoghue PJ. Cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol.* Feb 1995;25(2):139-195.
4. Vakil NB, Schwartz SM, Buggy BP, et al. Biliary cryptosporidiosis in HIV-infected people after the waterborne outbreak of cryptosporidiosis in Milwaukee. *N Engl J Med.* Jan 4 1996;334(1):19-23.
5. Lisle JT, Rose JB. Cryptosporidium contamination of water in the USA and UK: a mini-review. *J Water SRT.* 1995;44:103-117.
6. Goldstein ST, Juranek DD, Ravenholt O, et al. Cryptosporidiosis: an outbreak associated with drinking water despite state-of-the-art water treatment. *Ann Intern Med.* Mar 1 1996;124(5):459-468.
7. 蔡洪又欽. 隱孢子蟲之疫情：蘭嶼地區. 中華民國行政院衛生署科技計劃. 1993;DOH 82-TD-060.
8. 黃鴻堅. 利用分子生物技術快速診斷來評估反芻動物及各種水源的隱孢子蟲. 中華民國行政院衛生署科技計劃. 2002;DOH91-DC-1019.
9. Thamlikitkul V, Tepmongkol M, Lamon C, Sripochang S, Rungnapawate

- W, Suvajeejarun T. Cryptosporidiosis in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. Jun 1987;18(2):229-232.
10. Laxer MA, Alcantara AK, Javato-Laxer M, Menorca DM, Fernando MT, Ranoa CP. Immune response to cryptosporidiosis in Philippine children. *Am J Trop Med Hyg*. Feb 1990;42(2):131-139.
 11. Katsumata T, Hosea D, Wasito EB, et al. Cryptosporidiosis in Indonesia: a hospital-based study and a community-based survey. *Am J Trop Med Hyg*. Oct 1998;59(4):628-632.
 12. Ng KP, Shekhar KC. The prevalence of cryptosporidiosis in children and adults at University Hospital, Kuala Lumpur. *Med J Malaysia*. Sep 1993;48(3):293-296.
 13. Lee JD, Chiu ML, Chung LY, Yen CM. Prevalence of Cryptosporidium for foreign laborers in Taiwan. *Trop doctor*. 2004;34:185-186.
 14. 蔡洪又欽. 台灣山地鄉之隱孢子蟲症與環孢子蟲症的監測. 中華民國行政院衛生署科技計畫. 2002;DOH91-DC-1018.
 15. Hsu BM, Huang C, Jiang GY, Hsu CL. The prevalence of *Giardia and Cryptosporidium* in Taiwan water supplies. *J Toxicol Environ Health A*. Jun 11 1999;57(3):149-160.
 16. da Silva AJ, Bornay-Llinares FJ, Moura IN, Slemenda SB, Tuttle JL, Pieniazek NJ. Fast and reliable extraction of protozoan parasite DNA from fecal specimens. *Mol Diagn*. Mar 1999;4(1):57-64.
 17. Johnson DW, Pieniazek NJ, Griffin DW, Misener L, Rose JB. Development of a PCR protocol for sensitive detection of

Cryptosporidium oocysts in water samples. Appl Environ Microbiol. Nov 1995;61(11):3849-3855.

18. Laubach HE, Bentley CZ, Ginter EL, Spalter JS, Jensen LA. *A study of risk factors associated with the prevalence of Cryptosporidium in villages around Lake Atitlan, Guatemala.* Braz J Infect Dis. Aug 2004;8(4):319-323.
19. Casemore DP, Roberts C. *Guidelines for screening for Cryptosporidium in stools: report of a joint working group.* J Clin Pathol. Jan 1993;46(1):2-4.