計畫編號：DOH96-DC-2013

行政院衛生署疾病管制局 97 年度科技研究發展計畫

台灣地區新興腸道病毒之環境調查及風險評估

研 究 報 告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局 研究檢驗中心

計畫主持人：吳芳姿

研究人員：楊辰夫、林慶豐、江大雄、洪健翔

執行期間：97 年 1 月 1 日至 97 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

封　　面　　頁　碼

摘要 4

壹、前言 6

貳、材料與方法 10

參、結果 17

肆、討論 22

伍、結論與建議 25

陸、參考文獻 26

柒、圖&表 29

圖一、病毒在人體停留時間(員山) 29
圖二、病毒在人體停留時間(八里) 29
圖三、朴子溪採樣點地圖： 30
表一、Norovirus Real Time PCR核酸引子序列 31
表二、宜蘭員山榮民醫院環境採檢 31
表三、環境採檢中陽性分析 31
表四、宜蘭員山榮民醫院人員送檢 96 年 12 月 32
表五、宜蘭員山榮民醫院環境採檢 97 年 5 月 32
表六、署立八里療養院環境採檢 32
表七、署立八里療養院人員送檢 96 年 12 月 33
表八、署立八里療養院環境採檢 97 年 9 月 33

表九、水產品檢驗結果 33
表十、水樣本檢驗結果 34
附件一：腸胃炎調查問卷 35

摘要

計畫摘要：請摘述本計畫之目的與實施方法及關鍵詞

關鍵詞：諾羅病毒(Norovirus)、急性腸胃炎、群聚性感染監測、Real Time RT-PCR、親源分析

在美國每年約 7600 萬人發生食因性疾病，其中由致病原感染發病約 1400 萬人，住院約 6 萬人，其中 1800 人因此死亡；而病毒性感染約佔已知病原感染的 79%，其中諾羅病毒感染占 79.6%、輪狀病毒及星狀病毒感染各佔 10%[1]。本局自 93-95 年研究中發現，輪狀病毒感染率較高月份多發生於 10 月至次年 3 月間，但 95 年上半年陽性個數上升約 10%；諾羅病毒群聚案例在 93-94 年間發生於氣溫低的冬季及早春，但今(95)年上半年發現氣溫上升但群聚案例卻有暴增的現象。因此，是否台灣地區流行的病毒株發生變異，以及在非流行月份間，該類新興病毒在環境中的分布情形，為本計畫將執行的重點。

諾羅病毒（Norovirus），屬於 Caliciviridae 單股 RNA 病毒[2, 3]。具有三種基因型，其中感染人之型別為第一、二型（GI、GII）[4]。據流行病學調查，在工業化國家中諾羅病毒是成人非細菌性急性腸胃炎的主要致病源，佔食物中毒感染原因之 30% 左右，並且約佔病毒性群聚性感染的 70~95 %[5]。

諾羅病毒感染好發於成人及較大之孩童，並且容易在安養院、醫院、學校及水上活動造成群聚型感染[6-9]，全年皆有病例報告，但以冬天稍多，但以本局 95 年前半年監測，病毒似乎出現變異，流行案件自一月至五月呈

現暴增的群聚現象。在臨床上主要症狀為急性水瀉、嘔吐、腹絞痛及些微發燒，許多病患主訴症狀為嘔吐，並且過往多發生於冬季因此該疾病又被稱為冬季嘔吐病（winter vomiting disease）。其潛伏期約 12~48 小時，並且症狀會持續約 12~60 小時，感染發病之病患多數在 12~60 小時後自癒，但對於嬰幼兒及無法自我照護者，偶而會因脫水而病情加重。傳染途徑為糞-口傳染，感染者的糞便污染環境介面、飲水或食物，特別是貝殼類食物而傳染給其他人，尤其在日本、亞洲地區及法國等地，當地居民喜好食用大量生魚及貝類，在過去許多流行病學調查中顯示，諾羅病毒引起之腸胃炎與牡蠣等貝類產收季節有相當大的相關性[10]，由於此類病毒會持續存在環境中，並且研究也發現貝類會濃縮病毒；台灣地區在 94-95 年間監測，諾羅病毒引起之急性腸胃炎多屬於學校或醫院及看護中心群聚感染，約佔 70%以上，但病毒在環境間存在及傳播之相關性仍不了解，因此引起食物中毒之危險因子之監測及了解確切傳播途徑可以作為防疫上之重要參考。

至目前諾羅病毒仍無法以細胞培養方式分離與增殖病毒株，傳統以電子顯微鏡檢測腹瀉病人之糞便檢體中是否含有病毒顆粒，目前也有發展EIA方式檢測病毒表面蛋白抗原，但由於病毒基因及抗原變化性相當大[11]，因此檢測試劑的靈敏度受到各區域性病毒型不同影響，靈敏度僅 10^5~10^6 PFU /mL。在流行病學調查，大部分使用RT-PCR或Real Time RT-PCR方式分析，靈敏度可達 10~10^2 PFU /mL。本研究計劃擬就諾羅病毒引起之食物中毒案件，收集腹瀉病人之糞便檢體，及採集疑似引起腹瀉之食物及環境檢體，以Real Time RT-PCR方式分析，並將兩者基因序列作分子基因親源相關性比對分析；藉由此計畫，可以了解台灣地區，在急性腸胃炎中諾羅病毒之流行情形，並可了解環境及食物中相關危險因子。

壹、前言

在已開發中國家如美國，急性腸胃炎是僅次於急性病毒性呼吸道疾病的急症[12]，全世界每年約有大於 700,000,000 個案發生於小於 5 歲之孩童[13]，腸胃炎在臨床上的表現大多為腹瀉、嘔吐、腹絞痛等，但在開發中國家，仍有約 5%以上嚴重腹瀉造成脫水而死亡 [14-16]。引起急性腸胃炎之病源體包括細菌、病毒、寄生蟲等，在過去腸胃炎多數為細菌及寄生蟲所引起，並且許多無法分析感染原。在 1972 年，發現諾羅病毒也是造成急性腸胃炎之致病源，病毒性腹瀉個案數(率)急速上升[17]。能引起腸胃炎的病毒主要為輪狀病毒（Rotavirus A），星狀病毒（Astrovirus），腺病毒（adenovirus）第 40、41 型，杯狀病毒之 Sapovirus（即原先之 Sapo-like virus）及 Norovirus（即原先之 Norwalk-like virus），其他如冠狀病毒（Coronavirus）、A 型肝炎病毒（Hepatitis A virus）、E 型肝炎病毒(Hepatitis E virus)及 Aichivirus 等也會有相似的症狀，在這些腹瀉病毒中，僅杯狀病毒仍無法以細胞培養病毒株。

諾羅病毒最早發現於 1968 年，美國俄亥厄州之 Norwalk 小城一小學爆發集體急性腸胃炎，初次感染率約 50%，再次感染率約 32%；受感染者在 12 至 24 小時內，有 90% 以上出現噁心、嘔吐，38% 出現腹瀉的現象。至

1972 年，Kapikian 利用免疫電子顯微鏡發現病毒顆粒，大小約 27nm [17]。之後陸續許多腸胃炎群聚型感染都證明與諾羅病毒相關[18-22]，才開始對此病毒有深入的研究。諾羅病毒（Norovirus），在早期依其外型命名為 SRSV（Small Round －Structured Viruses），屬於 Caliciviridae、單股（+）RNA 病毒，不具外蛋白膜[3]，病毒顆粒大小約 27~40nm，RNA 長度 7.6 bps，分成三個 ORFs。依病毒在 RNA dependent RNA polymerase 序列差異，可區分成三種基因型，其中感染人之型別為第一、二型（GI、GII）[4]。

據流行病學調查，在工業化國家中諾羅病毒是成人非細菌性腸胃炎的主要致病源，也是食物中毒最主要的致病源，約佔群聚性感染的 70~95 %，好發於成人及較大之孩童，並且容易在安養院、醫院、學校及水上活動造成群聚型感染，全年皆有病例報告，但以冬天稍多。主要的臨床症狀為急性水瀉、嘔吐、腹絞痛及些微發燒，由於許多病患主訴症狀為嘔吐，因此該疾病又被稱為冬季嘔吐病（winter vomiting disease）。其潛伏期約 12~48 小時，並且症狀會持續約 12~60 小時，感染發病之病患多數在 12~60 小時後自癒，但對於嬰幼兒及無法自我照護者，偶而會因脫水而病情加重；傳染途徑為糞-口傳染，感染者的糞便經由污染環境介面、飲水或食物[23]，特別是貝殼類食物而傳染給其他人[18, 24, 25]，在日本及亞洲國家，人民特別喜好生食魚貝類，尤其牡蠣及文蛤，調查顯示，諾羅病毒感染引起之腸

胃炎在牡蠣及文蛤收成季節時發病率特別高[10]。台灣地區，在 2004 年二月間，爆發首例諾羅病毒引起之院內感染事件[26, 27]，當時受到相當的重視，之後陸續開始出現病毒性群聚事件[2, 6-9, 28]。此外，本局曾經利用分子演化分析自 2004 年 11 月至 2005 年 3 月間，共 12 起腹瀉群聚事件之有症狀個案糞便檢體，經分析結果 12 起均為諾羅病毒感染，在基因分析發現共有 6 種不同基因型別，分別為 GII/11、GII/14、GII/3、GII/4、GII/6、GII/18，而 GII/4 為主要流行型別佔 83%[29]，其中，學校群聚事件佔 41.66%（5/12），醫院或安養中心院內感染事件佔 33.33%（4/12）。但因缺乏即時疫情調查，對於諾羅病毒的傳染途徑仍不清楚。

95 年國內諾羅病毒（Norovirus）引起腹瀉群聚事件有增多趨勢，依本局症狀系統腹瀉監測資料顯示迄今共有 72 件群聚事件，其中 61 件（85%）群聚事件證實由諾羅病毒引起；94 年全年共有 30 件群聚事件，其中 17 件（57%）群聚事件證實由諾羅病毒引起。綜合本局症狀系統及人口密集機構傳染病監測系統資料分析顯示，95 年諾羅病毒腹瀉群聚事件，好發場所依序為人口密集機構（老人養護機構(含榮民之家等)佔 22%、護理之家佔 19%、安教養機構佔 13%）、醫院（精神科病房佔 11%、其他病房佔 22%）、學校（國中佔 5%、國小佔 3%）及營區（佔 5%）。依據分局及各衛生局所疫情調查資料顯示，多數疑似為人與人密集接觸、或感染病毒之病患或工

作人員間相互傳播，但實際傳播途徑是經由水源或環境介面間接傳播均無法證實。由於台灣地區在人口密集機構好發群聚感染比率高於其他國家，因此為了解台灣地區實際傳播情形，必須將環境檢測方法標準化，在實際發生群聚事件時，可以與人體檢體檢測到的病源序列一同比對，以釐清確實感染源，甚至可以阻斷二次或再次傳播。

現今諾羅病毒仍無法以細胞培養病毒株，因此傳統以電子顯微鏡檢測腹瀉病人之糞便檢體中是否含有病毒顆粒，目前也有發展EIA方式檢測病毒表面蛋白抗原，目前已知 16 種Genogroup I及 18 種Genogroup II，在日本實驗室已經成功建置類病毒表現庫(viral-like particle library)，在各不同的genogroup或genotype表現的病毒外蛋白(VLP)及抗病毒外蛋白抗體(Anti-VLP)是無法中和反應。[30]在試劑的研發上很難涵蓋所有的型別，而導致專一性及敏感度無法達到很高,所以在流行病學調查中,多使用RT-PCR或Real Time RT-PCR方式分析，不僅靈敏度可達 $10\sim10^2$ PFU /mL，所需要的檢體量較低，同時又要進行基因比對相關性或演化，因此各國在公共衛生急性腸胃炎疾病防治業務上，多數採用RT-PCR來提高檢測效率，並達到防治之目的。

貳、材料與方法

在台灣地區，腹瀉性病毒的研究，自 2004 年起疾病管制局，對於通報無原因腹瀉群聚事件之人體糞便檢體開始加入諾羅病毒篩檢，在通報的檢體中，主要年齡大於 10 歲以上，多數為群聚性腹瀉聚集事件，諾羅病毒檢出陽性率高達 25.23% ，檢出陽性率約為輪狀病毒的 28 倍。此外，在醫院的看護中心與安養院發生率最高佔 43%，其次為學校佔 33%，依據少數調查報告推測傳播方式約 90%為接觸性感染，而確切引起之群聚性感染與食物及環境間之相關性尚不清楚。台灣地區諾羅病毒群聚感染發生場所，以學校、養護中心、醫院為主，和美國及加拿大發現較相似；而鄰近的日本主要以飲食店（46.8%）、旅館（17.6%）及學校（6.3%）為主，歐洲主要發生於海上活動。各國發生場所相差很多，所以，台灣地區群聚感染發生場所的差異，是否與病毒在環境分布的情形，及本國生活習慣影響傳播模式有關。

本計畫擬就諾羅病毒引起之食物中毒案件，收集腹瀉病人及接觸者之糞便檢體，及採集疑似引起腹瀉之食物及環境檢體，以 Real Time RT-PCR 方式分析，並將兩者基因序列作分子基因親源相關性比對分析。本計畫擬就諾羅病毒引起之食物中毒案件，收集腹瀉病人及接觸者之糞便檢體，及採集疑似引起腹

瀉之食物及環境檢體，以 Real Time RT-PCR 方式分析，並將兩者基因序列作分子基因親源相關性比對分析。計畫中使用之分析方法及原理如下：

一、　檢體來源：

（1）病毒性食物中毒腹瀉個案及接觸者之糞便檢體，

（2）疑似引起腹瀉之食物及環境檢體。相關聯性之檢體，就其懷疑感染途徑分成三類：第一類，如醫院病房、安養中心、特殊教育中心，疑似由看護者傳播，同時採集看護人員糞便檢體。第二類，如學校群聚性感染，除即時問卷調查（附件一）外，應就指標病例、及相關可疑環境或餐盒供應途徑調查並採集檢體，包括環境水、餐盒供應工作者之糞便檢體。第三類，懷疑水源感染，如游泳池或水上活動引起之群聚腹瀉事件，除腹瀉個案檢體外，同時採集水質樣本。

二、　檢體收集定義：

（1）糞便細菌性培養呈陰性

（2）平均潛伏期約 24~48 小時

（3）發病症狀出現期間約 12~60 小時

（4）有 50% 個案以上出現嘔吐症狀。

三、　個案臨床症狀調查表:

針對受檢者作調查，臨床症狀包括，嘔吐、腹瀉(水樣便或軟便，次/每天)、

噁心、腹痛、頭痛、發燒(溫度)。

四、　疫情調查與環境採檢：

群聚感染個案及接觸者配合填寫「腸胃炎調查問卷」（如附件一）。在環境採檢中，針對病房中的電話、水龍頭、門把等，一些員工或是病患常常會接觸的物體，其表面使用 Copan universal transport medium (UTM-RT) system swab 來採檢後置入保存液後帶回實驗室萃取 RNA。

五、　糞便檢體處理：

腹瀉病毒檢驗通常必須採用新鮮糞便檢體，以低溫保存從採件處運送至實驗室。處理情形如下：將糞便檢體與 PBS 以 1:10（w/v, v/v）混合均勻，以無菌吸管吸取至已滅菌之離心管中，於 4℃，3000×g 離心 15 分鐘，收集上清液分裝至 2 隻冷凍小管中，標示號碼及日期保存於－70℃。

六、　貝類檢體處理：

先取出貝類的肉質部分加入適量的 PBS，於混合處理器(Pulsifier, Microgen Bioproducts ,UK)中混合均勻 2 分鐘後，取出均質後產物離心(3000g 15min)，取出 10ml 上清液加入 0.27g PEG、0.07g NaCl(若上清液過多則 PEG 與 NaCl 依比例調整)，待 PEG 與 NaCl 完全溶解後加入 BSA(final 0.1%)放置 4℃隔夜，隔夜後將上清液離心(10000g 1hr)，取沉澱物用無菌水溶解成 2ml 後取 200ml 產物抽 RNA。

七、　水樣檢體處理：

水樣檢體必須經過過濾處理。將已滅菌之過濾用漏斗、過濾管、幫浦架設好，將 0.22um 過濾膜置放於通管中，放入水樣檢體。過濾後將濾膜以滅菌之鑷子稍加摺疊，取出置放於 15ml 離心管中，加入 3ml AVL-Buffer，搖晃試管使所有濾膜均浸泡到，利用 QIAamp viral RNA Mini Kit (Cat NO.52906) 抽取 RNA。

八、　RNA 的萃取：

使用 QIAGEN 生產之 QIAmp Viral RNA kit 萃取純化病毒 RNA。取處理過之糞便檢體上清液 140μL 加入 560μL Buffer AVL 室溫作用 10 分鐘，再加入 560μL 絕對酒精 vertexing 混合均勻，將上述全部混合液通過 QIAmp spin column，將過濾後之混合液丟棄，取 column 以 Buffer AW 清洗兩次後，以 Buffer AVE 100ul 將 RNA 溶出，加入 5U DNase I（Takara, Tokyo, Japan），置於-80℃待用。

九、　Real Time RT-PCR 反應引子設計及反應分析：

諾羅病毒分析：依 Similarity Plot 分析[25]，諾羅病毒基因於 RNA dependent RNA polymerase 區域至核蛋白 N 端區間具極高穩定性，GI 基因群於病毒核酸序列 5279 至 5381 間之 102bp，GII 基因群於病毒核酸序列 4988 至 5108 間之 120bp，在各個基因型別間 GI 有 88~100%而 GII 有 86~100% 相似性，

為核酸序列高度穩定區域。因此，為提高 Real Time RT-PCR 反應靈敏度，引子對選取此基因片段設計，序列如表一。

Real-time RT-PCR 反應條件分成兩階段：（1）反轉錄(reverse transcription)反應：取病毒 RNA 萃取液 5ul 為模板，加入單管 15ul 的反轉錄混合液，內含 50mM Tris-HCl，75mM KCl，3mM MgCl2，10mM DTT，10mM dithiothreitol，0.1 μM Random primer，30U of RNase inhibitor (Roach)，200U SuperScript II RNase H (-) (Invitrogen)，於 42℃作用 2 小時進行反轉錄反應，合成 cDNA 後保存於-20℃。

（2）分成兩管作 GI 或 GII 反應，取 5ul cDNA 為模板，加入 15ul LightCycler TaqMan master mix (Roach)，再分別加入 GI 引子 400nM COG1F、COG1R 及 TaqMan 探針 600nM RING1(a)及 200nM RING1(b)，或 GII 引子 400nM COG2F、COG2R 及 TaqMan 探針 200nM RING2 進行 Real Time RT-PCR。反應程序為：50℃ 2min，95℃ denature 10min，之後進入 45 個循環：95℃ 15sec，56℃ 1min。結果由 LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche)偵測分析。

十、 序列分析：

使用 ABI PRISM（BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit）作核酸序列分析，反應條件如下：取適量 RT-PCR 反應產物、1 μM 反應引子 SR33、1

μL BigDye3.1、反應緩衝液，最後總體積為 10 μL。將裝有反應物之微量離心管於 96℃ 作用 1 分鐘，之後反應條件為 96℃ 10 秒、50℃ 5 秒、60℃ 4 分鐘，共 25 次循環。

反應產物純化：為減少反應混合物中游離標記物之干擾，先將定序反應後之產物純化。將定序反應產物 10μL 加入等體積的 ddH2O、60μL 的絕對酒精、5μL 的 125 mM EDTA，於室溫下靜置 15 分鐘，再以 4000 rpm 離心 30 分鐘；去除上清液後，以 70 % 酒精清洗，4000 rpm 離心 5 分鐘，最後將沉澱物烘乾，再加入 10μL Hi-diformamide。

基因定序反應：將純化後產物置於 96 ℃ 作用 2 分鐘後，馬上置於冰上，再放入 ABI 3730 自動化核酸螢光定序儀（DNA Autoseqencer）進行核酸序列分析。

十一、　病毒基因庫分析比對

（1）將定序後之鹼基序列與 NCBI 基因資料庫中已知之基因序列進行比對分析，以確定其相關性。

（2）將歷年病毒序列比對分析，比較病毒變異性。

十二、　病毒基因親源演化分析比對

RT-PCR 產物經核酸定序分析後，將臨床糞便、水樣或環境檢體分析得到之病毒基因序列與基因資料庫擷取之各國諾羅病毒基因片段，利用 EMBOSS

中 Emma 程式進行多序列並列分析（multiple sequence alignment）後，再應用電腦軟體 PHYLIP 作病毒株演化親源分析，分析的相關性資料將有助於即時疫情調查，並可將各次群聚性案件之資料進行流行病學資料分析，有助於了解台灣地區諾羅病毒之基因流行型別。

參、結果

自 95 年起，傳染病通報腹瀉群聚事件並經由實驗室證實為諾羅病毒引起事件數占所有通報之腹瀉群聚事件之八成，並為 94 年同類事件數的 8 倍以上，分析諾羅病毒陽性群聚主要發生場所為人口密集機構及醫院病房，其次為學校，分析原因有二：一、自 94 年起，本局研檢中心開始對於腹瀉症狀通報（含食物中毒事件）開始加入諾羅病毒檢驗項目，在通報群聚檢體中，發現許多為諾羅病毒感染，為提升衛生局(所)對於諾羅病毒感染的認識，並在防疫調查時能夠拿捏調查方向，本實驗室配合衛生局在各縣市上課宣導，有助於各地方單位在發生疫情時正確通報，而使隔年後諾羅病毒陽性群聚通報數上升。二、分析諾羅病毒陽性群聚主要發生場所為人口密集機構及醫院病房，其次為學校，與外國發生場所，如餐廳或旅遊時食用貝類飲食引起、水上活動等，不太相同。在台灣衛生條例規定，人口密集機構發生腹瀉群聚事件時，必須通報腹瀉症候群監測並採檢送驗；但如果腹瀉群聚事件發生在其他的地方時，是依食物中毒方式通報，並且多數只採細菌性肛拭，而不通報病毒性檢驗。

目前的衛生局(所)疫情調查資料，依照細菌性食物中毒調查方式設計，多數無法證實台灣地區諾羅病毒群聚事件的傳播途徑，或病毒的存在模式，因此擬以本研究計畫，依台灣地區主要通報場所，逐步分析諾羅病毒

可能在環境存在特性及傳播媒介，並將提供研究結果做為防疫阻斷之政策參考。本研究計畫自 96 年 1 月 1 日起，為期三年的計畫，本年度為計畫執行第二年，在本年度主要在分析人口密集機構諾羅病毒存在模式、貝類產品的監測、環境水源測量這三個方面。

一、分析人口密集機構諾羅病毒存在模式：

A. 於流行季及非流行季節定期採樣分析

本計畫今年與宜蘭員山榮民醫院(住民一半為行動不便之榮民，一半為精神病患)，及八里療養院(住民為精神病患)合作。

1. 宜蘭員山榮民醫院於 95.11.23 及 96.12.10 曾通報並證實為諾羅病毒群聚，經與該院院長聯繫，合作以該院作為研究諾羅病毒存在模式調查，定期於流行季及非流行季節，採檢環境、住民及工作人員糞便檢體，至該批檢測結果由陽性轉呈陰性為止。

96 年 9 月非流行季，初步對宜蘭員山榮民醫院做環境檢體採樣。在 96 年 12 月 10 日，該院發生一起諾羅病毒群聚事件，在本次群聚期間前往發病病房採檢環境檢體及人體檢體，並配合醫院對醫護人員座談及衛教宣導。對於群聚事件中檢出陽性個案，徵得同意後持續追蹤篩檢，每隔 7 天採檢一次糞便至檢出為陰性為止。

96 年 12 月群聚事件發生時，就有症狀發病者住房為環境採集地點，並

且間隔 7 日後再次採檢，就檢驗樣品數及檢驗結果如表二。第一位指標病例發病日為 12 月 10 日、第二位為 12 月 12 日，在 12 月 14 日分別在兩位病患住房的馬桶內緣，及廁所沖水把手，以病毒性拭子採樣並檢出諾羅病毒，病毒量高達 4.8×10^{6}及 2.53×10^{5} copies/swab（如表三）。推測可能檢出原因為病患持續在排出病毒，或諾羅病毒可以在環境中存在 2-4 天，但必須再詳加研究。

表四則是群聚發生後，就發病期間檢出陽性個案同意後定期追蹤，篩檢諾羅病毒在人體中可以持續排出天數及病毒量，參加持續追蹤 71 人，共收到 92 件檢體。以病患問卷得知的發病日為第 0 天，定期追蹤糞便定量分析人體排放病毒的天數(如圖一)，多數病患持續排出病毒天數在 8-14 天，最長達 30 天。

非流行季追蹤採檢:在 97 年 5 月我們也針對宜蘭員山榮民醫院做了例行性的環境採檢，結果如表五所示，諾羅病毒檢驗皆為陰性。

2. 署立八里療養院於 96.11.28 曾通報並證實為諾羅病毒群聚，故與該院合作為研究諾羅病毒存在模式調查，定期於流行季及非流行季節，採檢環境、住民及工作人員糞便檢體，至該批檢測結果由陽性轉呈陰性為止。

在 96 年度 11 月 28 日，該院發生一起諾羅病毒群聚事件，在本次群聚期間前往發病病房採檢環境檢體及人體檢體，並配合醫院衛教宣導及對醫

護人員座談。對於群聚事件中檢出陽性個案，徵得同意後持續追蹤篩檢，每隔 7 天採檢一次糞便至檢出為陰性為止。

並在 96 年 12 月群聚事件發生時，前往八里療養院就有症狀發病者病房樓層採集環境檢體，檢驗樣品數及檢驗結果如表六。第一位指標病例發病日為 11 月 28 日，在 12 月 7 日環境採檢之時，仍在馬桶內緣以病毒性拭子採樣並檢出病毒，推測可能檢出原因為病患持續在排出病毒，或諾羅病毒可以在環境中存在數日，而且八里療養院的病房廁所是屬於病患共用，而不同於員山榮民醫院是每間病房都有獨立的廁所，藉由廁所傳播病毒的機會更大，因此在隔離方面更是困難。

表七則是群聚發生後，就發病期間檢出陽性個案同意後定期追蹤，篩檢諾羅病毒在人體中可以持續排出天數及病毒量，參加持續追蹤 8 人，共收到 22 件檢體。以病患問卷得知的發病日為第 0 天，定期追蹤糞便定量分析人體排放病毒的天數(如圖二)，最短在 7 天內便測不到病毒，最長可達 35 天。

非流行季追蹤採檢:在 97 年 9 月我們也在署立八里療養院做了例行性的環境採檢，結果如表八所示，皆為陰性。

二、貝類產品的監測：

在日本，因食用水產貝類（如牡蠣、文蛤等...），導致諾羅病毒感染之

群聚事件約佔諾羅病毒群聚事件的 5 成。貝類的中腸管具有過濾進水的功能，能夠濃縮多種的病毒，如 A 型肝炎病毒、腸病毒、輪狀病毒、諾羅病毒及沙波病毒等；多數貝類養殖場設在河水出海口或河岸、海岸邊，因此與人體排泄息息相關。雖然在目前台灣食物中毒群聚事件的疫情調查資料中，無法得知是否有因食用貝類引起的諾羅病毒群聚事件。因此，隨著檢測貝類病毒方法的建立，希望能藉由本研究，先對本土養殖貝類中病毒的含量進行檢測分析，有助於了解部分諾羅病毒食因性的傳播途徑。根據 2007 年漁業年報得知，在雲嘉南一帶，養殖漁業盛行，其貝類養殖為台灣主要之產地，尤其以蚵和文蛤為主要產物。因此，我們於 97 年 9 月份首先前往嘉義布袋的漁貨市場，採購了本土養殖的蚵、文蛤、海瓜子、竹蟶四種活體貝類食物，經過檢測結果如表九所示，檢測了諾羅病毒、輪狀病毒、沙波病毒這三種病毒，結果皆為陰性。

三、環境水源測量：

在水源檢測方面，我們首先針對嘉義朴子溪採取水樣本，分佈區域從上游到下游，共採取 11 個點，如圖三所示，每個點採水檢體 1 公升，進行溫度、酸鹼度、大腸桿菌數、總菌數、諾羅病毒、輪狀病毒、沙波病毒等檢驗，結果如表十，目前尚未有諾羅病毒、輪狀病毒、沙波病毒三種腹瀉型病毒被檢驗出為陽性。

肆、討論

一、分析人口密集機構諾羅病毒存在模式：

在我們合作的兩個醫院都有過諾羅病毒的群聚發生。因此，我們與這兩家醫院進行長時間的合作計畫，觀察在非流行期與流行期中環境是否含有病毒的存在，並且釐清環境中病毒與群聚之間的關係。在非流行期中，由我們實驗結果可以發現環境中沒有引起腹瀉的病毒存在，但是若有群聚發生後，兩間醫院都會採取將病患隔離治療直到病人症狀消失，在隔離的環境中還是可以檢出病毒的存在。有論文指出，諾羅病毒在正常人體內的半衰期約為 2.5 天，也就是當受到病毒感染後，病毒量在人體達到最高峰後，每 2.5 天便會減少一半，而看到我們的環境採檢中，採檢日期與病人發病日期比照後，發現我們的採檢日因該是屬於病人正在排放病毒的最高峰時期，而病毒量在人體達高峰期時約為 10^7~10^9 copies/g stool[31]，由此推測，當腹瀉個案出現後，病人正在環境中大量的排放病毒，但可能因醫護人員未發覺或是環境的消毒不夠完全，導致在原本沒有病毒存在的環境中卻被病毒污染，最後造成群聚。

再者，由病毒存在於人體天數而言，有論文指出病毒潛伏期由 10 天到 47 天[31]，而我們的實驗結果在 7~35 天，是符合國外論文。而在病房的環境採檢項目的決定上，我們參考了數篇論文[32-34]，雖然這幾篇論文主要

採檢的病房為收治小兒科病房與免疫不全的病房，陽性率最高發生在水龍頭、電燈開關和電視開關等病人與醫護人員最常碰觸到的物體，因此我們參考並且了解採檢病房的活動情形，而規劃出該採檢的項目，本次在馬桶和沖水把手上檢驗出諾羅病毒存在，但在非流行季的採檢中尚未檢驗出任何陽性檢體。因此，爲釐清病毒引起群聚的傳染途徑，將加強本次冬季至下半年度初期，腹瀉病毒流行期的採樣。希望可以預測出是否會有群聚的發生，以達到減少群聚個案的產生、防堵疫情的擴散。

二、貝類產品的監測：

由 2007 漁業年報中得知台灣地區在 2007 年牡蠣產量為 28,085 公噸、文蛤產量為 35,629 公噸、蜆產量為 14,547 公噸；而在水產進口上，牡蠣進口 1,914 公噸、文蛤為 1,361 公噸。由此可知，在台灣牡蠣、文蛤、蜆等貝類動物絕大多數是本土產的居多，並不一定仰賴進口。因此，檢測台灣生產的活體貝類中是否含有病毒是一個很重要的研究。引起腸胃炎的病毒都是由糞口傳染，病毒由口而入；若本身所食用的貝類就帶有病毒的存在，更是會大大的增加病毒感染的可能性。由文獻中我們得知，在日本大約有 10％的牡蠣帶有諾羅病毒，在法國約有 20％的牡蠣帶有諾羅病毒，在挪威約有 7％的貝類帶有諾羅病毒[35]，雖然本次採檢嘉義的貝類還沒有檢出任何含病毒貝類，但是參考了國外的期刊發現[35]，在日本調查牡蠣是否含有

諾羅病毒上，其收集貝類的時間為該年 10 月到隔年 3 月這段時間，而檢出陽性的牡蠣多集中在 12 月至 1 月這兩個月被檢出，而檢出陽性率約為 5-10％，檢出率不高，而在這些陽性牡蠣中所含的病毒數約只有 100 個 copy number。所以比照起我們的採樣，仍需多處與多次的採檢才是能夠證明台灣真正貝類受污染的情況。

三、環境水源測量：

由幾篇日本的文獻中指出[36-38]，在日本的海水、河水以及自來水等水源，都有過被驗出含有諾羅病毒的存在，因此水源中是有可能有諾羅病毒存在的，若是以這樣的水源，去養殖牡蠣、文蛤等貝類動物，那麼這些貝類帶有諾羅病毒的可能性就會升高，或是使用這樣的水源當作日常生活中所需用水的話，如此一來引起諾羅病毒群聚的可能性變大大提高。

伍、結論與建議

分析人口密集機構諾羅病毒存在情況，我們希望藉由觀察醫院環境中的諾羅病毒，可以提早預測出群聚發生的可能，以降低社會成本、醫療成本。而在貝類與水源檢驗方面，由於諾羅病毒是屬於糞口傳染，容易造成食因性的食物中毒。因此檢測水源貝類等食物的諾羅病毒，並且宣導正確的衛教觀念，以達到降低食物中毒的機率。

陸、參考文獻

1. Mead, P.S., et al., *Food-related illness and death in the United States.* Emerg Infect Dis, 1999. **5**(5): p. 607-25.
2. 吳芳姿、江大雄、莫之欣、梁淑媛、洪健翔、楊志元、楊辰夫、吳和生。, *台灣地區首例沙波病毒腹瀉群聚感染事件。*. 疫情報導, 2007. **23**(12): p. (In press).
3. Xi, J.N., et al., *Norwalk virus genome cloning and characterization.* Science, 1990. **250**(4987): p. 1580-3.
4. Ando, T., et al., *Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses (Norwalk-like viruses) by reverse transcription-PCR and southern hybridization.* J Clin Microbiol, 1995. **33**(1): p. 64-71.
5. Noel, J.S., et al., *Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution.* J Infect Dis, 1999. **179**(6): p. 1334-44.
6. 潘淑玲、蔡韶慧、張冏年、吳芳姿、蘇勳璧、李翠鳳, *台中縣某醫院精神科病房 Norovirus 引起之腹瀉群聚事件。*. 疫情報導, 2006. **22**(12): p. 805-810.
7. 蔡麗淑、蔡韶慧、吳芳姿、賴佩芳、巫旻靜、陳安汝、楊志元、蘇勳璧、葉彥柏、李翠鳳, *彰化縣某殘障教養院院民集體發燒及腹瀉群聚事件調查.* 疫情報導, 2006. **22**(8): p. 525-530.
8. 江大雄、林茹玉、吳芳姿、郭馨蔚、莊苹、許雲霞、林詩晴, *台北市某重殘照顧中心住民與員工腹瀉、嘔吐群聚事件調查.* 疫情報導, 2007. **23**(8): p. 420-430.
9. 廖盈淑、劉玉蓮、吳芳姿、劉士豪、岳瑞雪、鄭萬金、林文斐, *宜蘭縣員山鄉某醫院Norovirus 腸胃炎群聚之調查與防治策略.* 疫情報導, 2007. **23**(9): p. (In press).
10. Mounts, A.W., et al., *Cold weather seasonality of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses.* J Infect Dis, 2000. **181 Suppl 2**: p. S284-7.
11. Nakata, S., et al., *Prevalence of human calicivirus infections in Kenya as determined by enzyme immunoassays for three genogroups of the virus.* J Clin Microbiol, 1998. **36**(11): p. 3160-3.
12. Dolin, R., J.J. Treanor, and H.P. Madore, *Novel agents of viral enteritis in humans.* J Infect Dis, 1987. **155**(3): p. 365-76.
13. Snyder, J.D. and M.H. Merson, *The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data.* Bull World Health Organ, 1982. **60**(4): p. 605-13.
14. Bern, C., and R. I. Glass., *Impact of diarrheal diseases worldwide.* Viral infections of the gastrointestinal tract, ed. A.Z. Kapikian. 1994, New York. p. 1-26.
15. Guerrant, R.L., et al., *Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies.* Rev Infect Dis, 1990. **12 Suppl 1**: p. S41-50.

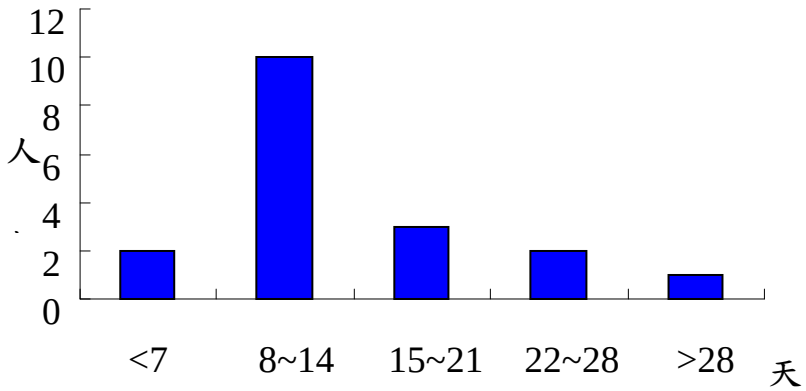
16. Warren, K.S., *Tropical medicine or tropical health: the Heath Clark lectures, 1988.* Rev Infect Dis, 1990. **12**(1): p. 142-56.
17. Kapikian, A.Z., et al., *Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis.* J Virol, 1972. **10**(5): p. 1075-81.
18. Beuret, C., et al., *Norwalk-like virus sequences in mineral waters: one-year monitoring of three brands.* Appl Environ Microbiol, 2002. **68**(4): p. 1925-31.
19. Chiba, S., et al., *An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home.* J Med Virol, 1979. **4**(4): p. 249-54.
20. Beuret, C., *A simple method for isolation of enteric viruses (noroviruses and enteroviruses) in water.* J Virol Methods, 2003. **107**(1): p. 1-8.
21. Cubitt, W.D., D.A. McSwiggan, and S. Arstall, *An outbreak of calicivirus infection in a mother and baby unit.* J Clin Pathol, 1980. **33**(11): p. 1095-8.
22. Lodder, W.J., et al., *Molecular detection of Norwalk-like caliciviruses in sewage.* Appl Environ Microbiol, 1999. **65**(12): p. 5624-7.
23. Kukkula, M., et al., *Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses.* J Infect Dis, 1999. **180**(6): p. 1771-6.
24. Belliot, G.M., R.L. Fankhauser, and S.S. Monroe, *Characterization of "Norwalk-like viruses" and astroviruses by liquid hybridization assay.* J Virol Methods, 2001. **91**(2): p. 119-30.
25. Hafliger, D., P. Hubner, and J. Luthy, *Outbreak of viral gastroenteritis due to sewage-contaminated drinking water.* Int J Food Microbiol, 2000. **54**(1-2): p. 123-6.
26. 吳芳姿、王明琴、莫之欣、連怡佳、楊志元、陳豪勇, *諾瓦克病毒（Norovirus）署立台北醫院疫情及實驗室分析.* 疫情報導, 2004. **20**(8): p. 407-419.
27. 柯政欽、吳芳姿、陳豪勇、呂玫嬌、林世華、廖皓宏、陳建源、張上淳, *類諾瓦克病毒在呼吸照護病房引起的群突發感染.* 感染控制雜誌, 2004. **14**(5): p. 267-277.
28. 賴珮芳、周娟秀、洪淑娟、吳芳姿、張蕊仙、楊志元、羅財樟、李翠鳳, *某醫院精神科病房 Norovirus 引起之住民腹瀉群聚事件.* 疫情報導, 2006. **22**(4): p. 220-223.
29. Wu, F.T., et al., *Genetic diversity of noroviruses in Taiwan between November 2004 and March 2005.* Arch Virol, 2006. **151**(7): p. 1319-27.
30. Hansman, G.S., et al., *Genetic and antigenic diversity among noroviruses.* J Gen Virol, 2006. **87**(Pt 4): p. 909-19.
31. Tu, E.T., et al., *Norovirus excretion in an aged-care setting.* J Clin Microbiol, 2008. **46**(6): p. 2119-21.
32. Gallimore, C.I., et al., *Use of a heminested reverse transcriptase PCR assay for*

detection of astrovirus in environmental swabs from an outbreak of gastroenteritis in a pediatric primary immunodeficiency unit. J Clin Microbiol, 2005. **43**(8): p. 3890-4.

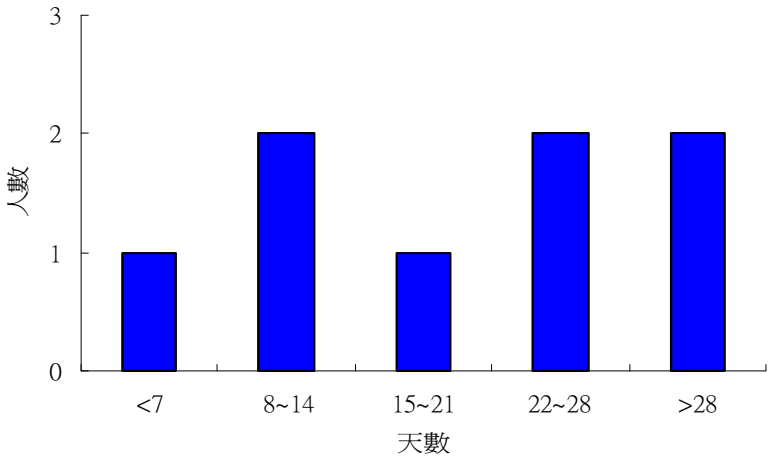
33. Gallimore, C.I., et al., *Environmental monitoring for gastroenteric viruses in a pediatric primary immunodeficiency unit.* J Clin Microbiol, 2006. **44**(2): p. 395-9.
34. Gallimore, C.I., et al., *Contamination of the hospital environment with gastroenteric viruses: comparison of two pediatric wards over a winter season.* J Clin Microbiol, 2008. **46**(9): p. 3112-5.
35. Nishida, T., et al., *Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan.* Microbiol Immunol, 2007. **51**(2): p. 177-84.
36. Katayama, H., A. Shimasaki, and S. Ohgaki, *Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater.* Appl Environ Microbiol, 2002. **68**(3): p. 1033-9.
37. Haramoto, E., H. Katayama, and S. Ohgaki, *Detection of noroviruses in tap water in Japan by means of a new method for concentrating enteric viruses in large volumes of freshwater.* Appl Environ Microbiol, 2004. **70**(4): p. 2154-60.
38. Haramoto, E., et al., *Application of cation-coated filter method to detection of noroviruses, enteroviruses, adenoviruses, and torque teno viruses in the Tamagawa River in Japan.* Appl Environ Microbiol, 2005. **71**(5): p. 2403-11.

柒、圖&表

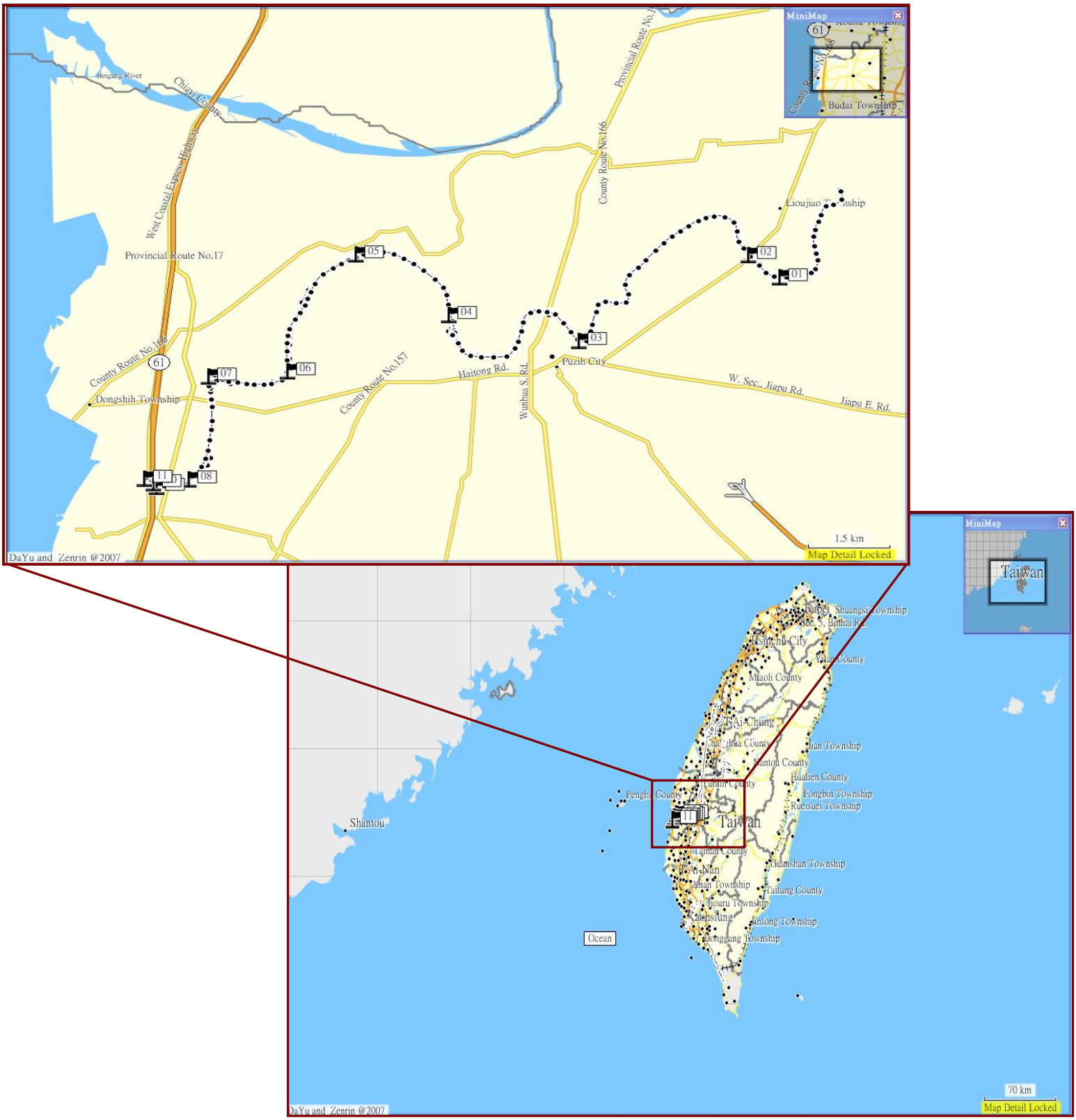
圖一、病毒在人體停留時間(員山)



圖二、病毒在人體停留時間(八里)



圖三、朴子溪採樣點地圖：


MiniMap
Budai Township
Bengang River
Chiayi County
West Coastal Express Highway
Provincial Route No.17
County Route No.166
Provincial Route No.1
Lioujiao Township
01
02
03
04
05
06
07
08
11
Puzih City
Haitong Rd.
Wunhua S. Rd.
County Route No.157
W. Sec., Jiapu Rd.
Jiapu E. Rd.
Dongshih Township
1.5 km
Map Detail Locked
DaYu and Zenrin @2007
Taiwan
Shuangsi Township
Hsinchu City
Miaoli County
TAI-Chung
Nantou County
Hualien County
Fongbun Township
Ruisuei Township
Penghu County
Shantou
Ocean
Guanshan Township
Taitung County
70 km

表一、Norovirus Real Time PCR 核酸引子序列

Name	Primer and probe sequences (5'-3')	Length (bp)
COG1F	CGYTGGATGCGNTTYCATGA	5291
COG1R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC	5375
RING1(a)-TP Probe	FAM-AGATYGCGATCYCCTGTCCA-TAMRA	5340
RING1(b)-TP Probe	FAM-AGATCGCGGTCTCCTGTCCA-TAMRA	5340
COG2F	CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG	5003
COG2R	TCGACGCCATCTTCATTCACA	5100
RING2-TP Probe	FAM-TGGGAGGGCGATCGCAATCT-TAMRA	5048

Y＝C or T； R＝A or G；B＝ not A；N＝any

表二、宜蘭員山榮民醫院環境採檢

日期	名稱	陽性	陰性
96.12.14	馬桶	1	2
	廁所沖水把手	1	2
	門把	0	1
96.12.21	馬桶	0	3
	廁所沖水把手	0	3
	門把	0	6

表三、環境採檢中諾羅病毒定量分析

名稱	病房	病人發病日期	病毒含量
馬桶	11w-74	96.12.12	4.80×10^{6}
沖水把手	11w-76	96.12.10	2.53×10^{5}

表四、宜蘭員山榮民醫院人員送檢 96 年 12 月

名稱	陽性	陰性	總數
人員	18	53	71
檢體數	21	71	92

表五、宜蘭員山榮民醫院非流行期環境採檢 97 年 5 月

名稱	陽性	陰性
馬桶	0	23
廁所沖水把手	0	23
門把	0	23
水龍頭	0	23
其他環境項目	0	6
人員	0	93

表六、署立八里療養院環境採檢

日期	名稱	陽性	陰性
96.12.07	水龍頭	0	2
	扶手	0	4
	馬桶	1	2
	廁所沖水把手	0	3
	門把	0	4

表七、署立八里療養院人員送檢 96 年 12 月

名稱	陽性	陰性	總數
人員	8	3	11
檢體數	12	10	22

表八、署立八里療養院非流行期環境及人員採檢 97 年 9 月

項目	Norovirus		Rotavirus		Sapovirus		adenovirus		Astrovirus	
	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
水龍頭	0	19	0	19	0	19	0	19	0	19
扶手	0	8	0	8	0	8	0	8	0	8
沖水把手	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5
馬桶	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5
門把	0	11	0	11	0	11	0	11	0	11
電話	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2
電梯按鈕	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2
飲水機	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
住民	0	41								
員工	0	4								
總數	0	98	0	53	0	53	0	53	0	53

表九、水產品檢驗結果

	Norovirus	Rotavirus	Sapovirus
海瓜子	陰性	陰性	陰性
蚵	陰性	陰性	陰性
竹蟶	陰性	陰性	陰性
文蛤	陰性	陰性	陰性

表十、朴子溪水樣本檢驗結果

地點編號	溫度(℃)	酸鹼值	大腸菌(CFU/ml)	總菌數(CFU/ml)	Norovirus	Rotavirus	Sapovirus
1	30.2	7.18	5.7×10^{3}	1.4×10^{5}	陰性	陰性	陰性
2	30.1	7.03	4.8×10^{2}	6.3×10^{4}	陰性	陰性	陰性
3	30.6	6.90	1.0×10^{2}	2.6×10^{5}	陰性	陰性	陰性
4	30.8	7.19	1.9×10^{3}	5.5×10^{4}	陰性	陰性	陰性
5	30.4	7.24	1.3×10^{3}	4.0×10^{4}	陰性	陰性	陰性
6	30.1	7.15	1.4×10^{3}	1.4×10^{5}	陰性	陰性	陰性
7	30.0	7.16	1.0×10^{2}	1.0×10^{5}	陰性	陰性	陰性
8	30.5	7.06	1.3×10^{3}	2.6×10^{5}	陰性	陰性	陰性
9	30.0	7.16	5.0×10^{2}	4.0×10^{4}	陰性	陰性	陰性
10	30.6	7.23	<10	4.0×10^{4}	陰性	陰性	陰性
11	30.4	7.14	6.0×10^{2}	4.0×10^{4}	陰性	陰性	陰性

附件一：腸胃炎調查問卷

腸胃炎調查問卷

研究組別：□1 □2 □3

編號：_____

訪員：_____

病歷號:_____

一、基本資料

姓名：_____ 性別：□男 □女

出生日期：_____年_____月_____日

體溫：_____ 心跳：_____ 呼吸：_____ 血壓：_____

1. 請問您一週後方便與您聯繫方式與時間：□ 白天（8:00 ~ 17:00） 電話：_____
□ 晚上（17:00 ~ 21:00） 電話：_____
□ 皆可（8:00 ~ 21:00） 電話：_____
□ 其他方式（請說明）_____
□ 請不要再與我聯絡

2. 居住地：_____縣（市）_____鄉鎮市區；郵遞區號：_____

3. 您居住的房子有多少間臥室?_____間；
室內面積約有 □15 坪以下 □15 ~ 25 坪 □25 ~ 40 坪 □40 ~ 55 坪 □55 坪以上

4. 目前與您共同居住之親友，包含您**一共**住了_____位大人；_____位小孩（15 歲以下）

5. 教育程度：□不識字 □國小 □國中 □高中/高職 □大學（含專科） □研究所以上

6. 目前您是否是在校學生? □是 □不是
若**是**學生，請問您學校所在地：_____縣（市）_____鄉鎮市區；郵遞區號：_____

7. 目前您的職業是？□1.無 □2.農、林、漁、牧業 □3.礦業及土石採取業 □4.製造業 □5.水、電、燃氣業
□6.營造業 □7.批發及零售業 □8.住宿及餐飲業 □9.運輸、倉儲及通信業 □10.金融及保險業
□11.不動產及租賃業 □12.專業、科學及技術服務業 （會計師、律師、資訊等） □13.教育服務業
□14.醫療保健及社會福利服務業 □15.文化、運動及休閒服務業 □16.其他服務業 □17.公共行政業（公務人員）

8. 若您在工作，請問您公司或工廠所在地：_____縣（市）_____鄉鎮市區；郵遞區號：_____

9. 請問您是否有下列情形?（可複選）□高血壓 □糖尿病 □AIDS □肝硬化 □尿毒洗腎
□肺氣種/慢性支氣管炎 □氣喘 □曾經接受胃切除手術 □最近一個月服用類固醇/免疫抑制劑
□最近一個月接受化學治療 □以上皆無

二、身體狀況(請勾選）

1.過去一個月（不含此次），您是否有發生腹瀉或嘔吐之症狀? □有 □沒有

2.過去一個月（不含此次），您是否曾經來過本院填寫過此問卷? □有 □沒有

3.請問您現在有沒有下列不舒服的症狀？(請勾選，可複選)
□1 噁心 □2 嘔吐 □3 腹瀉 □4 腹痛 □5 腹脹 □6 食慾不振
□7 全身無力 □8 全身酸痛 □9 想大便卻又大不出來 □10 發燒 (>38℃) □11 畏寒發抖
□12 身上有紅疹 □13 頭痛 □14 痙攣/抽筋 □15 咳嗽 □16 流鼻水/鼻塞 □17 喉嚨痛
□18 呼吸困難/氣喘 □19 其它(請註明)_____ □**都沒有**

（若選都沒有，4~12 題不必回答，請直接跳答 13 題）

4.您開始出現不舒服症狀的時間是：___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點 ____ 分

5.您**最初開始出現**的不舒服症狀是：□嘔吐 □腹瀉

6.您腹瀉的症狀，1 天內最多幾次? □有；_____次/天（24 小時），□無

7.您嘔吐的症狀，1 天內最多幾次? □有；_____次/天（24 小時），□無

8.你腹瀉時，大便的形狀為何? □水便(如小便一樣) □ 不成形便(糊便) □正常便

9.您腹瀉時，是否合併有下列情形? □血便 □黏液便（糞便中有鼻涕般之黏液） □皆無

10. 您過去是否有痔瘡出血之情形? □有 □沒有

11. 若有上述的不舒服，在此之前，你有沒有自行服用藥物？ □有 □沒有

12. 若有上述的不舒服，在此之前，你有沒有去看過其他醫生？
□有【地點:_____醫院(診所)】 □沒有

若**有**去就醫治療，是否有接受糞便採檢？ □有 □沒有 □不知道

13. 請問您目前與誰一起居住？□家人 □同學 □同事 □朋友 □獨自一人 □其他 _____

14. 請問您的家人、同學、同事或朋友，過去四週內是不是也有上吐下瀉症狀？ □有 □沒有

若家人、同學、同事或朋友，過去四週**有類似的症狀**，請問是誰?（可複選）

□家人，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

□同學，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

□同事，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

□朋友，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

□鄰居，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

□其他(請說明)_____，請問有幾人? ____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

15. 請問您過去一週，是否有接觸小孩？ □沒有 □有；若**有**，是否有上吐下瀉的症狀？□沒有 □有

三、暴露因素資料

16. 你生病前一個月內，是否到國外旅遊？

□沒有 □有，(請說明國家)_____ ，何時去? ___月 ___ 日 何時回來？___月 ___ 日

17. 你生病前一個月內，是否到外地(國內)旅遊？

□沒有 □有，(請說明地點)_____ ，何時去? ___月 ___ 日 何時回來？___月 ___ 日

18. 你生病前一週內，是否曾經參加過聚餐（婚喪喜慶等）？□有 □沒有

若您回答**有**，請問是什麼形式聚餐活動？在什麼時候參加？（可複選）

□ 搭棚外燴食物（流水席） ___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點；地點：_____

□ 一般餐廳（中、西式餐廳） ___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點；地點：_____

□ 親友家聚餐（親友親自下廚)， ___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點

□ 親友家聚餐（非親自下廚，是外賣食物)，___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點

□ 速食店（如麥當勞、肯德基)， ___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

□ 其他(請說明) _____， ___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

19. 請問您過去一週，除了上述情形外，是否有在自宅以外的地方用餐？ □有 □沒有

若**有**，請問是到哪裡用餐？(請勾選，可複選)

□三明治早餐店 □燒餅/油條/豆漿店 □外賣便當 □ 路邊攤 □速食店（如麥當勞、肯德基）

□麵館 □中、西式自助餐 □中式餐廳（非自助式） □西式餐廳（非自助式）

□日式餐廳 □火鍋店 □炭烤餐廳 □其他（請說明)___ _____

20. 請問您生病前一週內，是否曾經參加過以下活動？

20-1 到戲院內，看電影？ □有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

20-2 到補習班？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

20-3 到百貨公司？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

20-4 到 KTV 唱歌？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午 ____點

20-5 到網路咖啡廳（網咖）？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午____點

20-6 廟宇、教堂等宗教聚會？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午____點

20-7 看比賽（如棒球、籃球）？□有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午____點

20-8 到舞廳或酒吧？ □有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午____點

20-9 到三溫暖、SPA？ □有 □沒有；若**有**，請問何時？___月 ___ 日，□上午□下午____點

21. 您居住處是否有養寵物？□有 □沒有；

若**有**，請問是什麼寵物？(可複選) □狗 □貓 □鳥 □鼠 □兔 □ 魚 □其他（請說明)_____

22. 請問您過去一週，是否有直接接觸動物？ □有 □沒有

若**有**，請問是什麼動物？(可複選) □狗 □貓 □鼠 □兔 □魚 □羊 □馬 □牛 □鳥

□家禽（雞、鴨、鵝） □其他（請說明)_____

23. 您過去一週是否曾經去游泳？ □有　□沒有

若**有**，請問在哪裡游泳？□海邊 □池塘 □湖邊 □河邊 □游泳池 □其他(請說明)_____

若**有**，請問在游泳當時，是否有不小心喝到水？ □有　□沒有

24. 您家中使用水之來源? （可複選）

□自來水　□瓶裝水　□山泉水　□井水　□簡易自來水　□其他水源(請說明)_____

25. 您家中的飲用水有無煮沸： □有　□沒有

26. 您家中有無使用開飲機? □有　□沒有

27. 請問您過去一週，是否曾經飲用下述水源？（可複選）

□生飲自來水　□井水　□未經處理的河水、湖水　□瓶裝水　□都沒有

28. 請問您過去一週，上完廁所後有沒有洗手？

□經常（10 次有 7 次以上）□有時候（10 次有 4~6 次）　□很少（10 次有 3 次以下）　□從不

29. 請問您過去一週，進食前有無洗手習慣？

□經常（10 次有 7 次以上）□有時候（10 次有 4~6 次）　□很少（10 次有 3 次以下）　□從不

30. 請問您過去一週，洗手時是否使用肥皂?

□經常（10 次有 7 次以上）□有時候（10 次有 4~6 次）　□很少（10 次有 3 次以下）　□從不

31. 請問過去一週，您們家拖地板的頻率？

□經常（有 5 次以上）□有時候（有 3~5 次）　□很少（3 次以下）　□從不

32. 請問過去一週，您們家擦拭餐桌的頻率？

□經常（有 5 次以上）□有時候（有 3~5 次）　□很少（3 次以下）　□從不

33. 請問您過去一週，出門曾經使用何種交通工具？

33-1. 飛機？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-2. 火車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-3. 大眾捷運？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-4. 公車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-5. 計程車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-6. 私家轎車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-7. 機車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-8. 腳踏車？　□經常　□有時候　□很少　□從不

33-9. 渡輪或郵輪？ □經常　□有時候　□很少　□從不

34. 請問您過去一週，是否曾經與人握手？　□經常　□有時候　□很少　□從不

35. 請問您過去一週，是否曾經與人擁抱或親吻？ □經常　□有時候　□很少　□從不

36. 請問您過去一週，是否有親友到您家中拜訪？ □有　□沒有

37. 請問您過去一週，是否曾經替兒童或臥床之家人更換尿布？ □有　□沒有

38. 請問您過去一週，在用餐地點是否見到附近有蒼蠅？ □有　□沒有

39. 請問您過去一週，在用餐地點是否見到附近有蟑螂？ □有　□沒有

40. 請問您過去一週，在家中是否見到蒼蠅？ □有　□沒有

41. 請問您過去一週，在家中是否見到蟑螂？ □有　□沒有

42. 請問您過去一週，在家的餐後剩菜有無儲存於冰箱？　□有　□沒有　□不一定

43. 請問您家中之砧板，是否有區分處理生、熟食之不同？　□有　□沒有　□不知道

44. 請問您是否曾經下廚，負責家中或自己的三餐? □是　□不是　□不一定

四、特殊食物

45. 請問您過去一週，是否曾經吃過下列的新鮮水果？（可複選）
□1 草莓 □2 芭樂 □3 蕃茄 □4 葡萄 □5 橘子 □6 柳丁 □7 西瓜 □8 蘋果 □9 香蕉
□10 鳳梨 □11 梨子 □12 李子 □13 蓮霧 □14 櫻桃 □15 棗子 □16 木瓜 □17 荔枝
□18 水蜜桃 □19 釋迦 □20 火龍果 □21 其他：_____

46. 請問您過去一週，是否曾經喝過下列的現榨水果？（可複選）
□1 蜜汁 □2 小麥草汁 □3 柳橙汁 □4 西瓜汁 □5 甘蔗汁 □6 木瓜 □7 奇異果
□8 檸檬汁 □9 芭樂汁 □10 蘋果汁 □11 蕃茄汁 □12 葡萄柚汁 □13 百香果汁
□14 綜合果汁 □15 其他_____

47. 請您回想：**過去一週**，您是否曾經吃過下列食物？

-1 生菜沙拉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，**請問您過去一週曾經吃過下列哪些生菜**？（可複選）
□苜蓿芽 □高麗菜 □紫色高麗菜 □西生菜（萵苣） □西芹 □小黃瓜 □洋蔥
□胡蘿蔔 □青椒 □豌豆苗 □苦瓜 □其他(請說明)_____

-2. 泡菜？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-3. 生蔥？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-4. 生薑？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-5. 涼拌類小菜？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-6. 涼麵？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-7. 隔餐的食物？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，**請問您吃了什麼食物是隔餐的？**（可複選）
□飯 □包子 □麵包 □饅頭 □肉類 □蛋 □青菜 □湯 □其他(請說明)_____
請問您吃的這些**隔餐的食物**是否**放冰箱保存？**
□經常（10 次有 7 次以上） □有時候（10 次有 4~6 次） □很少（10 次有 3 次以下） □從不

-8. 生蠔？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-9. 生魚片？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-10. 生雞蛋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-11. 半熟的蛋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

-12. 現擠牛奶（未消毒過）？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-13. 盒裝牛奶/調味乳？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-14. 羊奶？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-15. 優酪乳？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-16. 優格？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-17. 豆漿？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-18. 米漿？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-19. 冰淇淋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-20. 霜淇淋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-21. 冰棒/甜筒/雪糕？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-22. 刨冰？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-23. 冰沙？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-24. 珍珠奶茶？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-25. 封口杯冰茶？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

-26. 豆花？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-27. 仙草？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-28. 粉圓？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-29 起司？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-30. 三明治？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-31. 漢堡？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-32. 壽司？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

47. 請您回想：**過去一週**，您是否曾經吃過下列食物？（續）

-30.微波食品（麵、飯、水餃）□確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

-31.魚？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-32 蝦、蟹？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-33.蚵/貝/螺類？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-34.雞肉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-35.牛肉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-36.羊肉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-37 豬肉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-38.鴨/鵝肉？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
若**有**，如何烹調？（可複選） □炸 □烤 □煎 □炒 □煮 □蒸 □忘了

-39.水煮蛋/茶葉蛋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-40.滷蛋？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-41.滷味（海帶、豆干等）？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-42.皮蛋豆腐？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-43.香腸？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-44.熱狗？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

-45.魚丸？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-46.貢丸？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-47.速食麵？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-48.肉乾？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-49.蜜餞？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-50.布丁？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-51.奶酪？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定
-52.罐頭肉品？ □確定有 □可能有 □絕對沒有 □不確定

48. 請您回想：**過去一週，您用餐的食物，是在哪裡烹調完成？**

請**注意**此處**在家中**用餐：表示食物**在家中烹調**完成

在外面用餐：表示食物**不是在家中烹調**完成，即使是**買三明治或便當回家**用餐，都算是**在外面**用餐。

若您過去一週”**在外面**”用餐時，請依據下述之資料，完成表格內之問題：

（1）三明治早餐店　（2）燒餅/油條/豆漿店　（3）外賣便當　（3）自備便當　（4）路邊攤

（5）速食店（如麥當勞）　（6）麵館　（7）中、西式自助餐廳　（8）中式餐廳（非自助式）

（9）西式餐廳（非自助式）　（10）日式餐廳　（11）火鍋店　（12）炭烤餐廳　（13）其他

時間	餐別	烹調地點	在外面用餐的地點？請參考上表填入號碼
您不舒服的當天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前一天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前二天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前三天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前四天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前五天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前六天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
您不舒服的前七天 ___月 ___日	早餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	午餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	晚餐	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	
	其他（點心、宵夜）	□在家中 □在外面 □沒吃□ 忘了	

非常感謝您耐心完成問卷，祝您身體健康，萬事如意！

五、一週後追蹤項目：(以下問題不必回答)

訪問時間：___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點 ____ 分 **訪員：**_____

49. 請問您現在還有不舒服嗎？□有 □沒有

50. 請問您過去一週有下列哪些不舒服的症狀？(請勾選，可複選)

□1 噁心 □2 嘔吐 □3 腹瀉 □4 腹痛 □5 腹脹 □6 食慾不振
□7 全身無力 □8 全身酸痛 □9 想大便卻又大不出來 □10 發燒(>38℃) □11 畏寒發抖
□12 身上有紅疹 □13 頭痛 □14 痙攣/抽筋 □15 咳嗽 □16 流鼻水/鼻塞 □17 喉嚨痛
□18 呼吸困難/氣喘 □19 其它(請註明)_____ □**都沒有**

51. 您過去一週腹瀉的症狀，1 天內最多幾次? □有；_____ 次/天（24 小時） □無

您過去一週，若**有**腹瀉是否合併有下列情形? □血便 □黏液便（糞便中有鼻涕般之黏液） □皆無

52. 您過去一週嘔吐的症狀，1 天內最多幾次? □有；_____ 次/天（24 小時） □無

53. 您最後一次腹瀉是在 ___月 ___ 日，□上午□下午

54. 您最後一次嘔吐是在 ___月 ___ 日，□上午□下午

55. 所以說**您不舒服之症狀，持續多久?** _____ 天; 從_____月_____日 至 _____月_____日

56. 在到本院就醫之後，你有沒有再去看過其他醫生？□有【地點:_____醫院(診所)】 □沒有

若**有再**去就醫治療，是否有接受糞便採檢？ □有 □沒有 □不知道

57. 請問您的家人、同學、同事或朋友，過去四週內是不是也有與您類似的症狀？ □有 □沒有

若家人、同學、同事或朋友，過去四週**有類似的症狀**，請問是誰?（可複選）

□家人，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週
□同學，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週
□同事，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週
□朋友，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週
□鄰居，請問有幾人? _____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週
□其他(請說明)_____，請問有幾人?_____ 人，他們約在距今多久前發生？□1 週內 □1~2 週 □2~3 週 □3~4 週

58. 糞便採檢時間： ___月 ___ 日，□上午 □下午 ____點 ____ 分
59. 這次來本院就醫，是否給予抗生素？ □無 □有 ；(請說明)_____

60. CRP = _____；Glu = _____；BUN=_____；Cr=_____
AST=_____；ALT=_____；Na=_____；K=_____

61. Stool OB=_____；pus cell=□有 □沒有

62. Blood culture： □沒有做 □有做；result，growth：□無 □有；_____

63. WBC：_____ RBC：_____ HB：_____ Ht：_____ MCV：_____ Plt：_____
Seg：_____ Mono：_____ Lym：_____ Eosin：_____

64. Stool culture：

Salmonella： □有 □沒有
Shigella： □有 □沒有
Vibrio： □有 □沒有
Campylobacter： □有 □沒有
Staphyl. ： □有 □沒有
Bacillus cereus：□有 □沒有
Norovirus： □有 □沒有
Rotavirus： □有 □沒有
Astrovirus：□有 □沒有