

計畫編號：MOHW103-CDC-C-114-112804

衛生福利部疾病管制署 103 年委託科技研究計畫

計畫名稱：台灣廣東住血線蟲及其螺、鼠病媒監測

103 年 度/全 程 研 究 報 告

執行機構：國立陽明大學

計畫主持人：蕭孟芳教授

研究人員：張世欣

執行期間：103 年 1 月 1 日至 103 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意

目錄

	頁碼
封面	
目錄	(1)
中文摘要	(2)
英文摘要	(3)
前言	(4)
材料與方法	(5)
結果	(8)
討論	(10)
結論與建議	(11)
計畫重要研究成果及具體建議	(12)
參考文獻	(13)
圖表	(15)
	共 (18) 頁

中文摘要

廣東住血線蟲感染是造成東南亞及太平洋週遭地區嗜伊紅性腦炎與嗜伊紅性腦膜炎的主要成因，嚴重感染常造成中樞神經不可恢復的傷害甚至是死亡。台灣是廣東住血線蟲流行的地區之一，近年常發生民眾或外籍勞工因為食入受廣東住血線蟲污染的生鮮蔬果或是未完全煮熟的福壽螺或蝸牛而染感的事件，危害大眾健康甚巨。為能了解廣東住血線蟲在台灣自然界中的地理分布及盛行率，本研究將自近年來病患確診地區採集螺類及鼠類樣本，並分析其感染率與地理分布，分別建立三者的親緣地理學資料庫。本研究第一年已至西部、東部及南部縣市進行調查，共檢測螺類及鼠類檢體 424 件，結果顯示螺類的感染率約為 10.1%，而鼠的感染率約為 5.1%。初步的結果發現中部地區，特別是雲林縣，鼠類與螺類的廣東住血線蟲感染比例皆偏高，與過去認為廣東住血線蟲主要發生於屏東等南部地區的印象不同，值得後續研究，並做為防治參考。本研究亦已針對分別螺類及鼠類，利用形態比對與分子生物學技術進行鑑定，並建立基因資料庫，以進行後續地理親緣分析。

關鍵詞：廣東住血線蟲，地理親源關係，野鼠，非洲大蝸牛，福壽螺

英文摘要

Angiostrongylus cantonensis a major causative agent of human eosinophilic meningitis and eosinophilic meningoencephalitis in Asian and Pacific Rim. Although the clinical course of infection is usually benign and self-limited, severe infections may lead to severe outcomes and even death. Taiwan is also one of the areas that *Angiostrongylus cantonensis* is prevalent. In recent years there were several outbreaks and patients infected by ingesting of contaminated vegetables or by eating raw or uncooked snails. The impact to public health is very huge. In order to understand the geographical distribution and prevalence of *Angiostrongylus cantonensis* in Taiwan, we analyze the prevalence and distribution of its reservoir hosts, snail and rodent vectors, and to establish their phylogeographic database. Both captured snails and rodents are recorded for their morphological characteristics, and then dissected to collect their tissue specimens and the worms inside them. Subsequently, the genomic DNAs of *Angiostrongylus* worms, snails and rodents are extracted for genotype analyses; and the phylogenetic relationship among them are analyzed. Our studies indicate the infection rate in snails and rodents are about 10% and 5%, respectively. The high prevalence rate in snails and rodents in western part of Taiwan is interesting and the further studies are needed.

keywords : *Angiostrongylus cantonensis*, snail, rodent, phylogeography

前言

廣東住血線蟲 (*Angiostrongylus cantonensis*) 是造成人類嗜伊紅性腦膜炎 (eosinophilic meningitis) 與嗜伊紅性腦膜腦炎 (eosinophilic meningoencephalitis) 的最主要病原體，同時也是重要的人畜共通病源，感染主要分布在東南亞及太平洋週遭區域 [1]。此蟲最早於西元 1933 年在中國廣東省的歐亞家鼠 (*Rattus rattus*) 和溝鼠 (*Rattus norvegicus*) 肺動脈中所發現鑑定 [2]。在台灣，於西元 1937 年在花蓮的野鼠心肺中首次發現廣東住血線蟲的存在 [3,4]。全球第一例人類感染病例則於西元 1945 年在台灣所發現 [5]。近年來除了因為交通的快速發展與旅遊的興盛而導致北美和歐洲地區出現數起境外移入病例外 [6]，隨著氣候的暖化促使中間宿主，如非洲大蝸牛 (*Achatina fulica*) 及福壽螺 (*Pomacea canaliculata*) 的散播，亦使得廣東住血線蟲的分布逐漸擴展，迄西元 2012 年，全球已出現超過 2,900 例感染報告 [7]。在台灣，廣東住血線蟲症亦是一種重要的人畜共通疾病，過去曾在南部與東部地區造成區域性流行。近年來因為公共衛生的改善與教育普及，雖不再有大規模的感染流行，但每年仍常發生外籍勞工生食福壽螺而集體感染的事件，此外，台灣民眾也因近年興起的「生機飲食」，而常食入受污染的生鮮蔬果而遭感染 [8]。人若不慎感染廣東住血線蟲後，患者的臨床症狀主要為發燒、嘔吐、頭痛、嗜睡、倦怠、畏光、頸部僵直、肝脾腫大及顱內壓增高，雖然大部分輕度感染的患者經由支持性治療後可獲得痊癒，但是部份嚴重感染的患者常出現不可恢復的中樞神經損傷甚至是致命。

材料與方法

螺及鼠類採集

針對近年來幾個廣東住血線蟲群聚事件發生的地區之進行螺類及鼠類採集，總件數至少 200 件。在採集的同時亦詳細記載採集地之地理座標。

鼠類鑑定及形態鑑定

與疾病管制署王錫杰博士實驗室共同至野外採集。將採集之鼠類麻醉犧牲後，秤重、測量鼠隻鼻部尖端到肛門之距離並且拍照存檔依鼠科簡易所表及嚙齒類圖譜進行物種鑑定。隨後進行鼠類解剖，取出心肺觀察並收集廣東住血線蟲蟲體，將蟲體浸泡於濃度 70% (v/v) 之酒精，以待後續蟲體形態鑑定與抽取蟲體 DNA 進行分子鑑定。

鼠類基因型別分析

鼠類基因型別分析是取部份鼠體軟組織以 Genomic DNA Extraction Kit 抽取 DNA，以國際通用的細胞色素氧化酶 (cytochrome c oxidase I, COI) 特定之引子 (BatL5310: 5'-CCTACTCRGCCATTTTACCTATG -3'; R6036R: 5'- ACTTCTGGGTGTCCAAAGAATCA-3') 進行聚合酶連鎖反應，反應步驟為 94°C 4 分鐘，再經 94°C 30 秒、48°C 30 秒、72°C 60 秒，共 35 個循環。所得基因片段將進行基因定序，所得序列將建至基因資料庫並進行親源演化分析。親源演化結果將可與 CERoPath project (<http://www.ceropath.org/>)，所建置的東南亞嚙齒類病媒資料庫比較，進一步建立親源地理學資料。未來亦可上傳基因資料庫資料至此東南資料庫供國際使用。

螺類形態鑑定

陸生螺類性喜陰涼潮濕的環境，因此採集螺類的時間主要於傍晚或下過雨後。所有採集到的螺類皆浸泡於濃度 95% (v/v)酒精中保存，紀錄採集地點之 GPS 資訊，並分別拍攝標本的殼口面 (apertural view)、殼背面 (side view)，鑑進行形態鑑定。隨後進行螺類解剖，取出肉足、消化道等觀察並以消化酶處理後收集廣東住血線蟲蟲體，將蟲體浸泡於濃度 70% (v/v)之酒精，以待後續蟲體形態鑑定與抽取蟲體 DNA 進行分子鑑定。

螺類基因型別分析

將螺類組織以 Genomic DNA Extraction Kit 抽取 DNA，以國際通用的細胞色素氧化酶 (cytochrome c oxidase I, COI) 特定之引子 (Snail_coxIF: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'; Snail_coxIR: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') 進行聚合酶連鎖反應，反應步驟為 94°C 4 分鐘，再經 94°C 30 秒、50°C 30 秒、72°C 60 秒，共 35 個循環，所得基因片段將進行基因定序。

廣東住血線蟲形態鑑定

Angiostrongylus 屬之線蟲形態鑑定主要依據為成熟雄蟲尾端之交尾囊 (copulatory bursa)，在中間宿主螺內的第三期幼蟲，主要則以吻端與尾端的結構來做鑑定區分。雄性廣東住血線蟲成蟲蟲體長度約為 2 至 4 公分，雌性成蟲長度略長，約為 2.5 至 4 公分，體內充滿血液的褐色消化道與白色生殖道交錯纏繞是最顯著的特徵。

廣東住血線蟲基因型別分析

廣東住血線蟲基因型別分析是以 COI gene 特定引子 (COI_F: 5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3'; COI_R: 5'

-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG- 3') 利用聚合酶連鎖

反應，反應步驟為 94°C 5 分鐘，再經 94°C 30 秒、55°C 30 秒、72°C 1 分鐘，共 30 個循環，得到增幅片段，所得基因片段將進行基因定序，所得序列將建至基因資料庫並進行親源演化分析，並與其他國家廣東住血線蟲進行親緣關係之研究。

結果

自民國 98 至 102 年，疾病管制署共接獲 23 例疑似廣東住血線蟲感染通報，其分佈分別為桃園縣 1 例、彰化縣 7 例、雲林縣 2 例、嘉義縣 1 例、台南市 5 例、高雄市 2 例以及屏東縣 2 例。在此 23 例感染通報中，男性佔 18 位，其中 11 位為外籍人士，女性佔 5 位，全都為本國籍。除了在民國 101 年有較多的感染病例，共有 9 例通報外，其餘年份每年約維持在 2 至 5 例通報。依月份比較，病例最多發生在 6 月，佔了 6 人，12 月與 1 月則較少，分別各只有 1 人。分析這些通報病例的接觸史，其中 16 人在發病前曾經食用蝸牛或福壽螺或是徒手捏碎蝸牛。

在鼠的方面，本年度分別至台東縣、屏東縣、台南市和雲林縣採集，共捕獲 6 種 236 隻鼠類，總感染率為 5.1%。感染率最高的鼠種為小黃腹鼠 37.5%，其次為鬼鼠 16.7%，至於在錢鼠、溝鼠、田鼯鼠和赤背條鼠中，則尚未發現廣東住血線蟲感染（表一）。

若依地區比較，以雲林縣鼠類的 18.5% 感染率為最高，其次分別為屏東縣的 16.7%、台東縣 1.5% 以及台南市 0.9%（表二）。

在螺的方面，共檢測 3 種 188 隻螺類，總感染率約為 10.1%。在非洲大蝸牛的感染率最高為 12.1%，其次為福壽螺的 4.9%，在石田螺中則未發現廣東住血線蟲感染（表三）。

若依地區比較，依舊以雲林縣 15.3% 為最高，其次為台東縣 14.3%、屏東縣 11.4%、南投縣 6.7% 以及台南市 5.3%（表四）。

分別抽取自鼠類心肺所採集到的廣東住血線蟲 genomic DNA，利用 COI gene 特定引子進行 PCR 得到長度約為 450bp 的基因片段，將此片段定序並利用 CLC Sequence Viewer 軟體與 NCBI 資料庫內日本千葉(Accession no. AB684359)、泰國曼谷(Accession no. AB684368)、中國福建省(Accession no.

AB684364)、中國廣東省 (Accession no. AB684365) 以及中國浙江省 (Accession no. AB684374) 等地的廣東住血線蟲進行親源比對。結果顯示，採集自台灣各地區的廣東住血線蟲彼此親源關係接近，沒有顯著的區隔 (圖二)。

在鼠類及螺類基因型別分析方面，經由 COI gene 特定引子進行 PCR 得到長度分別約為 750bp 及 710BP 的基因片段 (圖三、圖四)，目前正與 CERoPath project (<http://www.ceropath.org/>)，所建置的東南亞嚙齒類病媒資料庫比較，進一步建立親源地理學資料。未來亦可上傳基因資料庫資料至此東南資料庫供國際使用。

討論

廣東住血線蟲的生活史複雜，生活史中鼠類為終宿主，成蟲寄生於鼠類心肺，交配產卵後，孵化的第一期幼蟲跟隨糞便排至體外，存活於溫暖潮濕環境中，經由穿透體表或被攝食而進入蝸牛或福壽螺等軟體動物中間宿主，並在肺部或肌肉內蛻皮發育為感染性幼蟲，當人類食入了具有感染性幼蟲的軟體動物、或是被感染性幼蟲污染的食物，蟲體穿透人體消化道進入循環系統，此外，感染性幼蟲也可經由傷口感染而進入人體。進入血液循環系統的蟲體在數小時內即會到達腦部，症狀的程度與感染的蟲數相關，但近年來研究也發現，不同的蟲株似乎也是造成宿主不同程度病理變化的原因之一 [9]。

近年來雖然廣東住血線蟲的感染不若以往嚴重，但每年仍有數起感染發生 [10,11]。本研究所檢測的鼠及螺類皆採及自城市周遭民眾平日活動範圍內的區域，結果顯示，在生活的週遭，螺的感染率仍約維持在 10%，而鼠的感染率則約維持在 5%，因此，一般民眾生活仍有相當的機會接觸到廣東住血線蟲。

以往廣東住血線蟲的研究多針對台灣南部區域 [10,12,13,14]，本研究分析近五年來疾病管制署之感染通報，除南部的台南市、高雄市與屏東縣共有 9 例通報外，西部的台中市、彰化縣和雲林縣合計也有 12 例通報。分析本年度鼠及螺採樣的結果也發現，不論在鼠或螺的感染率方面，位於西部的雲林縣皆具有較高的感染率，這是以往研究所未曾發現的現象，此一結果值得往後更進一步探討研究。

結論與建議

本研究至廣東住血線蟲病例通報縣市採集廣東住血線蟲在自然界中的宿主，分析其感染率。從結果發現除了以往所重視的南部區域外，在西部縣市的鼠及螺中亦存在著相當程度的感染率。而西部為重要的葉菜產區，近年來自行栽種、與生機飲食風氣逐漸盛行，因此宜多加對民眾宣導，在食用前留意葉菜的清洗與烹調。

計畫重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

- (1) 人類病例及螺鼠高感染區域一致，多發生在市郊荒雜地區。
- (2) 在南部及西部地區，在居住範圍週遭，螺類的廣東住血線蟲盛行率約為 10.1%，鼠類的廣東住血線蟲盛行率約為 5.1%。以往的研究多著墨於南部地區，而缺少西部地區相關盛行率資料。
- (3) 在台灣，廣東住血線蟲主要的中間宿主為非洲大蝸牛。而終宿主主要為小黃腹鼠及鬼鼠。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

滅鼠及處理螺類時避免傷口感染，以及適度的清洗葉菜和烹調，能降低廣東住血線蟲的感染機率。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

- (1) 若患者出現嗜伊紅性腦炎或嗜伊紅性腦膜腦炎，並有螺類接觸史，則可進一步以血清學檢測是否為廣東住血線蟲感染。
- (2) 本研究發現，廣東住血線蟲所感染的鼠類以小黃腹鼠及鬼鼠等野鼠為主，因此在防治上可特別針對此鼠種食性進行滅鼠。
- (3) 近年來小農有機栽種與生機飲食風氣逐漸盛行，因此宜多加對民眾宣導，在食用自家栽種葉菜時，應留意清洗，避免螺類的附著，並充分烹調加熱，以免遭受感染。

參考文獻

1. Wang QP, Lai DH, Zhu XQ, et al: Human angiostrongyliasis. *Lancet Infect Dis* 2008;31:621-30.
2. Chen HT: Un nouveau nematode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis* n g., n. sp., des rats de Canton. *Ann Parasitol hum comp* 1935;13:312-7.
3. Matsumoto T. On a nematode found in the lung, especially with the pulmonary artery of the wild rat. *J Med Assoc Formosa* 1937;36:2620-3.
4. Yokogawa S. A new species of nematode found in the lung of rats, *Haemostrongylus rattii*: sp. nov. *Trans Nat Hist Soc Formosa* 1937;27:247-50.
5. Nomura, S., and Lin PH: First case report of human infection with *Haemostrongylus ratt* Yokogawa. *Taiwan No Ikai* 194;53:589-92.
6. Ali AB, Van den Enden E, Van Gompel A, et al: Eosinophilic meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis* in a Belgian traveler. *Travel Med Infect Dis* 2008;6:41-4.
7. Wang QP, Wu ZD, Wei J, et al: Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:389-95.
8. Tsai HC, Chen YS, Yen CM: Human parasitic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* infection in Taiwan. *Hawaii J Med Public Health* 2013;72:26-7.
9. Lee JD, Chung LY, Wang LC, et al: Sequence analysis in partial genes of five isolates of *Angiostrongylus cantonensis* from Taiwan and biological comparison in infectivity and pathogenicity between two strains. *Acta Trop* 2014;133:26-34.
10. Tseng YT, Tsai HC, Sy CL, et al: Clinical manifestations of eosinophilic

meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*: 18 years' experience in a medical center in southern Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2011;44:382-9. Am J Trop Med Hyg 2004;71:222-6.

11. Tsai HC, Lee SS, Huang CK, et al: Outbreak of eosinophilic meningitis associated with drinking raw vegetable juice in southern Taiwan.
12. Yen CM, Chen ER, Cheng CW: A survey of *Ampullarium canaliculatus* for natural infection of *Angiostrongylus cantonensis* in south Taiwan. J Trop Med Hyg 1990;93:347-50.
13. Tsai TH, Liu YC, Wann SR, et al: An outbreak of meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* in Kaohsiung. J Microbiol Immunol Infect 2001;34:50-6.
14. Tsai HC, Lee SS, Huang CK, et al: Outbreak of eosinophilic meningitis associated with drinking raw vegetable juice in southern Taiwan. Am J Trop Med Hyg 2004;71:222-6.

圖表

表一 不同鼠種之廣東住血線蟲感染率

中文名	學名	檢測數量	陽性數量	感染率 %
小黃腹鼠	<i>Rattus losea</i>	24	9	37.5
鬼鼠	<i>Bandicota indica</i>	18	3	16.7
溝鼠	<i>Rattus norvegicus</i>	54	0	0
錢鼠	<i>Suncus murinus</i>	128	0	0
田鼫鼠	<i>Mus caroli</i>	11	0	0
赤背條鼠	<i>Apodemus agrarius</i>	1	0	0
總數		236	12	5.1

表二 各地區鼠種與廣東住血線蟲感染率

中文名	學名	台東縣		屏東縣		台南市		雲林縣	
		數量	感染率 %	數量	感染率 %	數量	感染率 %	數量	感染率 %
小黃腹鼠	<i>Rattus losea</i>	1	0	5	80	7	0	11	45.5
鬼鼠	<i>Bandicota indica</i>	10	10	2	50	6	16.7	0	0
溝鼠	<i>Rattus norvegicus</i>	4	0	0	0	50	0	0	0
錢鼠	<i>Suncus murinus</i>	50	0	19	0	48	0	11	0
田鼫鼠	<i>Mus caroli</i>	1	0	4	0	1	0	5	0
赤背條鼠	<i>Apodemus agrarius</i>	0	0	0	0	1	0	0	0
總數		66	1.5	30	16.7	113	0.9	27	18.5

表三 不同螺種之廣東住血線蟲感染率

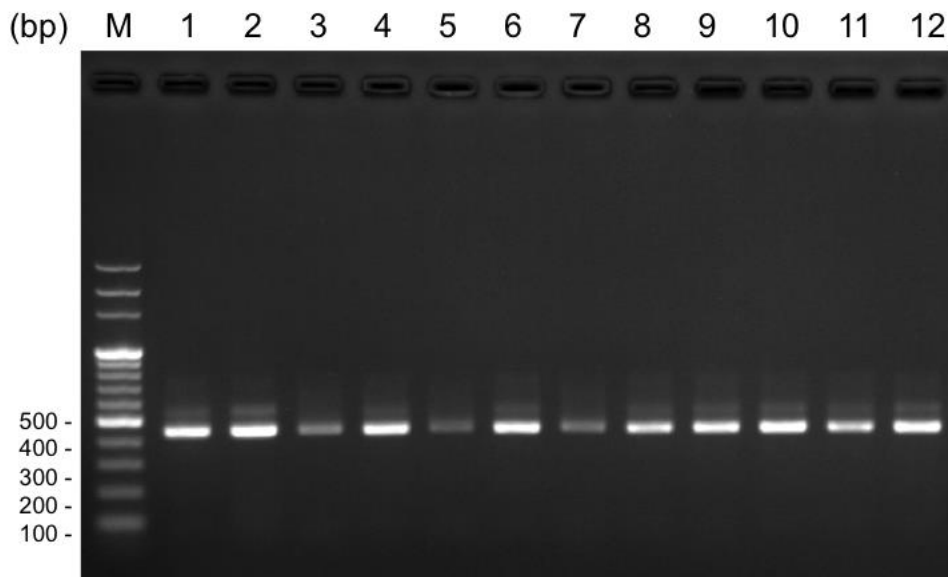
中文名	學名	檢測數量	陽性數量	感染率 %
非洲大蝸牛	<i>Achatina fulica</i>	140	17	12.1
福壽螺	<i>Pomacea canaliculata</i>	41	2	4.9
石田螺	<i>Sinotaia quadrata</i>	7	0	0
總數		188	19	10.1

表四 各地區螺種與廣東住血線蟲感染率

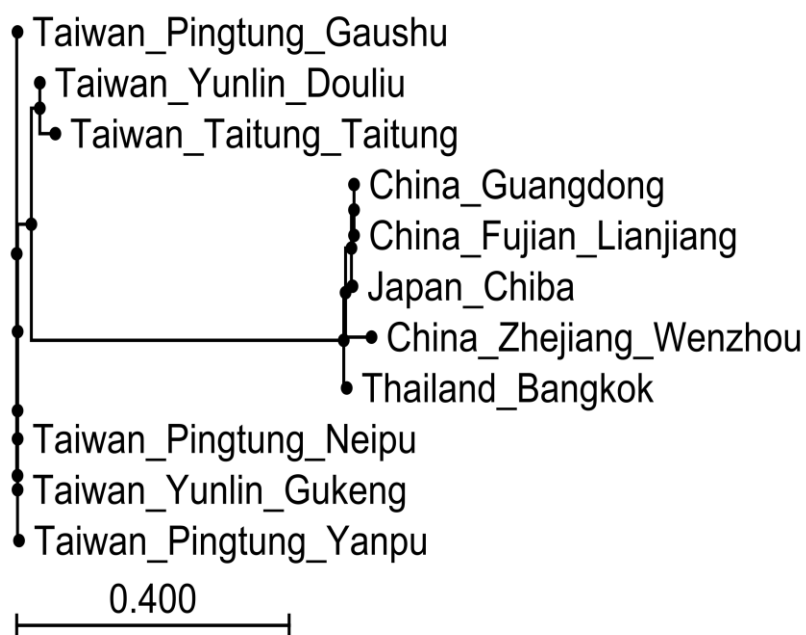
中文名	學名	花蓮縣		台東縣		屏東縣		台南市	
		數量	感染率 %	數量	感染率 %	數量	感染率 %	數量	感染率 %
非洲大蝸牛	<i>Achatina fulica</i>	7	0	7	14.3	44	11.4	38	5.3
福壽螺	<i>Pomacea canaliculata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
石田螺	<i>Sinotaia quadrata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
總數		7	0	7	14.3	44	11.4	38	5.3

中文名	學名	雲林縣		南投縣		嘉義縣	
		數量	感染率 %	數量	感染率 %	數量	感染率 %
非洲大蝸牛	<i>Achatina fulica</i>	30	26.7	11	9.1	3	0
福壽螺	<i>Pomacea canaliculata</i>	29	3.4	12	8.3	0	0
石田螺	<i>Sinotaia quadrata</i>	0	0	7	0	0	0
總數		59	15.3	30	6.7	3	0

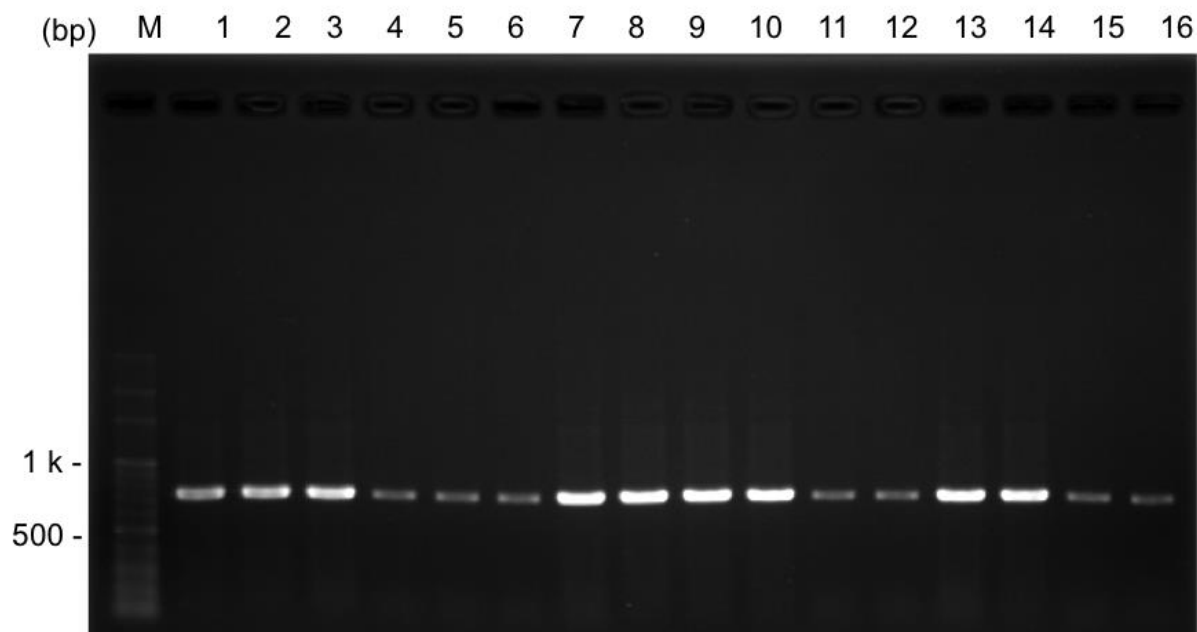
圖一 抽取不同地區的廣東住血線蟲成蟲 genomic DNA，利用 PCR 得到 COI 基因片段 (M: marker, Lane 1-12: 採集自不同的區之廣東住血線蟲)



圖二 台灣與日本及中國大陸廣東住血線蟲之親源關係



圖三 抽取不同地區鼠類之 genomic DNA，利用 PCR 得到 COI 基因片段(M: marker, Lane 1-12: 採集自不同的區之鼠類)



圖四 抽取不同地區螺類之 genomic DNA, 利用 PCR 得到 COI 基因片段(M: marker, Lane 1-12: 採集自不同的區之螺類)

