

計畫編號：MOHW106-CDC-C-315-114714

衛生福利部疾病管制署 106 年署內科技研究計畫

計畫名稱：細菌性傳染病病原體變化之分析研究

年度/全程研究報告

執行單位：研究檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：江春雪

研究人員：王昱嵐、陳奕璇、任柏宇

執行期間：106 年 01 月 01 日至 106 年 12 月 31 日

目錄（包括目次、圖次、表次、附錄）

中文摘要	3
英文摘要	4
本文	
一、前言	5
二、材料與方法	10
三、結果	13
四、討論	17
五、結論與建議	20
六、計畫重要研究成果及具體建議	21
七、參考文獻	23
八、圖、表	26
附錄	35

中文摘要

關鍵字：退伍軍人病、退伍軍人菌、資料庫

免除疾病威脅是本署的首要任務，要達成此任務，需要正確且即時地偵測病原體、釐清感染源及傳播路徑，進而擬定防治策略、有效控制疾病及避免群聚感染。近年，各種傳染病病原體的變異速度比以往更快，威脅也更大，因此，持續研究病原體之變化在偵測病原體及群聚感染上愈顯重要。退伍軍人病在 1999 年納為第三類法定傳染病，是退伍軍人菌感染的一種嚴重傳染病，退伍軍人病多為偶發的，但是退伍軍人菌可以存在任何的水環境中，所以，國際上幾乎每年都有大規模的退伍軍人病群聚感染的發生。有鑑於此，本署自 2016 年開始，對於退伍軍人病陽性個案的感染源追蹤，亦將重點轉往公共環境相關的环境水檢體的採集與檢驗，目標便是群聚感染的早期偵測及防治。配合此一政策，本計畫為 106-109 年的四年期計畫，屬於細菌傳染病病原體變化之分析研究，目標為建立一個完整的台灣退伍軍人菌的 PFGE 及 SBT 的資料庫，包括臨床菌株和環境菌株，也包括時間和相關地理位置，將是一個包含即時性和回溯性的資料庫，以提供權責單位進行群聚感染的監測。同時，配合全球性的抗藥危機，本計畫也將監測退伍軍人菌的藥物敏感性情形，以提供權責單位及醫療單位的防治及用藥參考。本年度(2017)，我們建立了退伍軍人菌的 PFGE 及 SBT 的分子分型方法，應用 PFGE 於 2010-2017 年台北區與北區 118 株臨床菌株，DNA 指紋圖譜顯示有兩組可能的群聚感染，分別包含 4 及 3 名個案。我們也分析 2000-2017 年退伍軍人菌的檢驗及流行病學資料，2000-2017 年平均年發生率每十萬人口為 0.40 人，2005 年後每十萬人口的年發生率呈增加的趨勢，由 2005 年的 0.17 人到 2017 年的 0.62 人，本署六個分區的年發生率多半也顯現增加的趨勢，東區的年發生率高於其他五區。

英文摘要

Key words: Legionnaires' disease, *Legionella*, database

Being free from disease threat is the major goal of our Center. In order to reach this goal, we need to be able to correctly and timely identify pathogens, reveal agent sources and clarify transmission routes, as well as to design strategy, effectively control diseases and prevent outbreaks. In recent years, infectious agents mutate faster and become more threatening than ever, therefore, continuously monitoring variations in pathogens becomes more important in detection of both pathogens and outbreaks. Legionnaires' disease (LD), being listed in the third category of notifiable diseases in Taiwan in 1999, is caused by *Legionella*. LD is often sporadic. However, *Legionella* is present ubiquitously in every aquatic environments and large scale outbreaks occur every year globally. Therefore, our Center has shifted the focus in finding agent sources to public environments for cases of LD since 2016, aiming at early detection and prevention of outbreaks. Based on this new strategy, this four-year project, a study of variations in bacterial pathogens, aims to establish a PFGE and SBT database for *Legionella* in Taiwan, including clinical isolates and environmental isolates, as well as time and geographic information. This will be both an on-going and retrospective database, providing information to monitor outbreaks for decision makers. In the meantime, in order to participate in the global drug-resistant crisis, the antimicrobial susceptibility of *Legionella* will also be monitored. The information will be provided to decision makers and hospitals as references for disease prevention and treatment. This first year (2017), we have established the PFGE and SBT molecular typing methods for *Legionella*. We have applied PFGE to 118 *Legionella* strains isolated from LD patients in the Taipei and New Taipei Regions, and found 2 possible clusters of outbreaks involving 4 and 3 LD patients, respectively. We also analyzed LD cases. In 2000-2017, the average annual incidence of LD is 0.4 per 100,000 population. Since 2005, the incidence has increased, from 0.17 in 2005 to 0.62 in 2017. A similar trends were found for all 6 different Regions classified by CDC in Taiwan. The Eastern Region has a higher incidence than the other 5 Regions.

本文

一、前言（包括研究問題之背景與現況、研究目的等）

2015 年初，實驗室收到北區管制中心的通知，請求協助調查新北市前一年不尋常地增加的數例退伍軍人病(Legionnaires' disease)個案是否為群聚感染，當時針對這幾個個案的臨床分離菌株進行脈衝式電泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)分析並比對所產生的 DNA 指紋圖譜，發現確實有幾例的圖譜相同，根據以往幾次對退伍軍人菌感染源調查的經驗，知道具有相同 PFGE 圖譜的退伍軍人菌菌株應該是流行病學上具有相關性的菌株，不過，疫調最後並沒有找到這些個案之間的相關性。當時，深感實驗室若擁有一個完整的台灣退伍軍人菌的 PFGE 圖譜或者其他分子分型的資料庫，包括臨床菌株和環境菌株，也包括時間和相關地理位置，也許更能協助區管中心，找到個案之間或者與環境之間的相關性。

退伍軍人病是由伍軍人菌感染的一種急性疾病(1-3)。西元 1976 年，美國有 200 多名退伍軍人參加退伍軍人團體的聚會之後，陸續發生不明原因的肺炎症狀，其中 34 名病患死亡，經研究人員調查之後終於找到病原菌，並將此細菌命名為嗜肺性退伍軍人菌(*Legionella pneumophila*)(4)。依臨床症狀，退伍軍人菌感染可分為兩種，一種為龐提亞克熱(Pontiac fever)，患者症狀較為輕微，類似感冒，不會發生肺炎；另一種為退伍軍人病(Legionnaires' disease)，患者多數會發展成肺炎。退伍軍人病潛伏期一般約 2-10 天，開始時有厭食、身體不適、肌痛與頭痛等症狀，通常在 1 天內會快速發燒且伴隨畏寒，出現乾咳、腹痛及下痢等症狀，體溫通常高達 39.0-40.5°C，患者胸部 X 光會出現肺部堅質化且會擴散至肺兩側，最後則出現呼吸衰竭，一般患者的死亡率約 8-12%，若患者免疫能力有缺失，死亡率可能更高，而院內感染者的死亡率約 15-34%(3)。退伍軍人病的實驗室鑑定方法有數種，細菌培養仍為黃金標準(gold standard)，其他常用的有尿液抗原檢測、血清

學檢測以及分子生物學方法的檢測，基於未治療的退伍軍人病的高致病率與死亡率，臨床上對退伍軍人病的最優先處置，便是早期診斷和立即使用有效的抗生素做治療。

一般人都可能受到退伍軍人菌感染，但大多數健康人對此菌都有抵抗力，而容易感染退伍軍人病的危險因子(1)，包括吸煙、高齡、酗酒、糖尿病、慢性心血管或者肺部疾病、惡性腫瘤以及免疫受抑制者，最容易罹患退伍軍人病，罹患者男女之比例約為 2.5:1。多數退伍軍人病患者的年齡大於 50 歲，通常個案的年齡越大，病情越嚴重，臺灣自 2000-2015 年共有 1,384 個確定病例，50 歲以上個案有 1,120 人，佔 80.9% (1,120/1,384)，其中 65 歲以上個案有 717 人，佔 50 歲以上個案的 64.0% (717/1,120)。

退伍軍人菌為革蘭氏陰性桿菌，目前已知至少有 59 個菌種及 70 個血清型(serogroups)(5)，包括嗜肺性退伍軍人菌(*L. pneumophila*)及其它退伍軍人菌種(*Legionella species*)，其中約有一半會造成人類呼吸道疾病，而且大部份是由嗜肺性退伍軍人菌所造成，其中又以血清型第一型(serogroup 1)最為有關(1-3)。退伍軍人菌普遍存在自然以及人為的水環境中，包括溪流、井水、飲用水、中央空調的冷卻水塔、溫泉浴池、蓮蓬頭的霧滴等，可存活於 5-65°C，pH 5.5-9.5 之間溫暖潮濕的環境，尤其在 35-45°C 為最適溫度，對氯忍受度很高，可在經氯處理過的自來水中存活數月之久。退伍軍人菌的傳染途徑通常是藉由空氣中的水霧傳播，在人為環境中包括冷卻水塔、水龍頭、淋浴設備，甚至溫泉與游泳池、醫院、飯店等公共場所之用水都有可能成為傳播媒介(1, 6, 7)，也可經由吸嚥入受污染之水而致病(8)。雖然大家一直認為退伍軍人菌不會人傳人，但是 2016 年葡萄牙報導了一例可能是人傳人的案例(9)。

退伍軍人病多為偶發的(sporadic)，不過，歷史上不乏許多廣為人知且

規模不小的退伍軍人病群聚感染，如其菌名由來的 1976 年美國費城退伍軍人聚會(空調系統)、1999 年荷蘭 Bovenkaspel 的花卉展(展示場內的噴泉)、2001 年西班牙 Murcia 的醫院(冷卻水塔系統)、2008 年日本 Miyazaki 的公共浴池(循環系統)、2012 年加拿大 Quebec 的速食餐廳(冷卻水塔系統)及 2014 年美國密西根州的 Flint 社區(更改水源河流)(3)，由於退伍軍人菌可能存在任何的水環境中，因此，能盡早偵測到群聚感染，並找出感染來源，避免演變成影響數十、甚至數百人大規模感染的社會事件，是各國公共衛生單位防治退伍軍人病的首要重點。

台灣在退伍軍人病的防治歷史，於 1989 年行政院衛生署預防醫學研究所自美日引進退伍軍人菌檢驗技術，1993 年臺灣發生醫院工作人員感染退伍軍人病，受醫界重視，1994 年臺大醫院請美國匹茲堡大學教授 Dr. Yu 來臺對此病作一系列之研討，1995 年衛生署規定區域級以上醫院如發現病例要通報，以研究計畫方式監測，1999 年正式納入第三類法定傳染病通報與監測，2004 年 6 月開始對通報個案採集痰液、尿液及血清三種檢體送驗，2004 年 7 月開始對陽性個案採集疑似感染源的相關環境水檢體送驗，2004 年 12 月退伍軍人菌統一由昆陽實驗室檢驗，2005 年開始對陽性個案血清型相同的臨床分離菌株與環境檢體分離菌株進行 PFGE 指紋圖譜分析，2013 年開始由認可的醫療機構執行尿液抗原檢驗，2016 年初開始對陽性個案不再採集疑似感染源的住家相關環境水檢體，不過，疑似感染源的公共環境相關環境水檢體則維持採檢送驗，這個改變，主要的考量便是公共環境可能會造成嚴重的群聚感染。

群聚感染或者感染源的調查，除了流行病學上的相關性之外，最重要的是實驗室能證明群聚感染患者的臨床分離菌株，或者患者的臨床分離菌株與疑似感染源的環境分離菌株是相同的菌株，而實驗室用於分辨菌株是

否相同的方法，必須有適當的分辨力、再現性、穩定度等等條件(10)。對於 *L. pneumophila* 血清型第一型菌株，有一個可以利用單株抗體的快速方法可用(11)，不過其解析度有限，只能將菌株分成 8-10 類左右，其他的分子生物學的分型方法(typing method)，以脈衝式電泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)以及 Sequence-based typing (SBT)最常被使用於退伍軍人菌。PFGE 是近年來被廣泛使用的分子分型技術(12)，細菌之染色體經酵素切割與電泳之後所產生的 DNA 指紋圖譜(PFGE patterns)，可作為分析菌株間親源關係之依據，此技術具有相當高的分型效力及再現性，分型結果可有效應用於進一步追蹤感染源(6)，美國 CDC 在 1996 年建立的 PulseNet 網絡便是根據此方法，而本實驗室亦於 2005 年開始將此法應用於分析陽性個案血清型相同的臨床分離菌株與環境檢體分離菌株的關聯性。SBT(13-15)是一種類似多位點序列分型(multilocus sequence typing, MLST)的方法，是歐洲退伍軍人病監測網絡(ELDSNet, European Legionnaires' Disease Surveillance Network)所使用的方法，使用七組基因的 DNA 片段序列來看菌株的相關性，許多研究建議嗜肺性退伍軍人菌並不是一個很純系的生物(clonal organism)(16, 17)，它會進行相當的基因重組，但是在 SBT 方法所使用的七組基因處發生基因重組的機率很低，一般新等位基因(new alleles)的出現最可能是來自點突變(point mutation)，而非基因重組，所以，以 SBT 方法所定出的菌株序列型(sequence type, ST)可以用於分辨菌株的異同，尤其適用於群聚感染的調查(18)，目前 SBT 的資料庫已將嗜肺性退伍軍人菌分成超過 2,194 型(2016.08.16 資料擷取)，逐漸成為國際性的標準方法。近年，全基因體定序(whole genome sequencing)也成為一個可能的分辨方法，也許此法有成為那個最終的分辨方法的潛力，不過可能要先精煉化全基因體序列資料的處理過程，當然也要待價格更加平易近人之時。

臨床上用於治療退伍軍人病的抗生素，以 macrolides、fluoroquinolones 和 cyclins 類家族的藥物為主，直到 1990s 為止，erythromycin 是治療退伍軍人病的第一選擇，不過，azithromycin 和 tetracycline 有較少的副作用，fluoroquinolones 在動物實驗的效果優於 erythromycin，因此目前推薦治療退伍軍人病的抗生素為 azithromycin 和 levofloxacin，這些藥物效果很好，逐漸成為健康和免疫有缺失的退伍軍人病病患的主要用藥(3)。退伍軍人菌的藥物敏感性試驗並沒有特別的規定，加上退伍軍人菌的營養需求異於其他細菌，因此有許多方法被用於測定其最低抑菌濃度(minimal inhibitory concentration, MIC)(19, 20)，不過，臨床上很少進行退伍軍人菌的藥物敏感性試驗，治療多以臨床經驗為主。

本計畫為四年期計畫，是屬於細菌傳染病病原體變化之分析研究，目標為建立一個完整的台灣退伍軍人菌的 PFGE 及 SBT 的資料庫，包括臨床菌株和環境菌株，也包括時間和相關地理位置，將是一個包含即時性和回溯性的資料庫，以提供權責單位進行群聚感染的監測，同時，為配合全球性的抗藥危機，本計畫也將監測退伍軍人菌的藥物敏感性情形，以提供權責單位及醫療單位防治及用藥參考。

本報告為此四年期計畫的第一年，目標為建立脈衝式電泳(PFGE)及 SBT 的分子分型方法，並將此方法應用於臨床菌株，以建立臨床菌株的資料庫，用於比對菌株和菌株之間的相關性，協助偵測臨床個案是否有疫調不明顯的關聯性。

二、材料與方法

1. 檢體收集及病人基本資料

符合退伍軍人病通報定義，由各醫院採集檢體並依傳染病通報模式送至疾病管制署呼吸道細菌實驗室，進行菌株之培養及鑑定，同時提供病人的基本資料。

2. 痰液檢體之菌株分離鑑定

痰液經過酸處理後，取 0.5 mL 接種到選擇性培養基，內含 BCYE 培養基(Buffered charcoal yeast extract agar)，生長要素添加物 L-cysteine 以及抗生素添加物 PNV(polymyxin B, natamycin and vancomycin)，置於二氧化碳培養箱中，溫度 35°C、CO₂ 濃度 2.5-5.0%，相對溼度 60-90% 條件下培養，每天觀察，若觀察到可疑菌落則挑出來再次培養，並進行革蘭氏染色、L-cysteine 生長需求測試、抗體乳膠凝集試驗，以及直接免疫螢光抗體試驗(DFA)，確認其菌種及血清型。

3. 環境水檢體之菌株分離鑑定

首先使用孔徑 0.2 μm 的濾膜過濾水檢體 500 mL，加入 3 mL 滅菌水並加以震盪，使濾膜上的殘留物再度懸浮於水中，取出其中 1 mL 溶液進行酸處理與培養，酸處理的過程與上述痰液檢體處理過程相同，使用的選擇性培養基為 BCYE 培養基添加 L-cysteine 以及 MWY，接下來的培養、觀察與鑑定的方法同痰液檢體。因為環境檢體時常發現不止一種退伍軍人菌，所以盡可能挑選許多菌落做進一步的鑑定後，再以直接免疫螢光抗體試驗確認其菌種及血清型。

4. 菌株血清型鑑定

採用直接免疫螢光抗體試驗法和 m-TECH 抗體，檢驗過程參照產品使用手冊，將待測菌落挑出重新培養 48 小時之後，取部份菌量溶解於 1% 福馬林中，吸取少量菌液滴在玻片上，自然風乾之後過火固定，加入不同血清型之抗體共軛物，於室溫反應 20 分鐘。取出玻片以 PBS 及蒸餾水沖洗，自然風乾，封片後以螢光顯微鏡檢視。

5. 菌株的脈衝式電泳(PFGE)分子分型

將待測菌株培養 48 小時，挑取適當菌量加入 2 mL 緩衝溶液(100 mM EDTA, 100 mM Tris, pH 8.0)，調整適當濁度，另外配製 1% agarose 溶解於 TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)，將菌液與 agarose 等體積混合後注入模具。凝固的膠塊放入 proteinase K 溶液(20 mg/mL Proteinase K, 50 mM Tris, 50 mM EDTA, pH 8.0, 1% Sarcosine)，在 56°C 反應 2 小時，以滅菌水清洗 2 次，TE Buffer 清洗 4 次，每次皆在 56°C 水浴槽搖晃 15 分鐘。以 *Sfi* I 限制切割酵素(New England Biolabs, MA, USA)於 50°C 反應 4 小時，每管 200 μ L 溶液內含酵素 10 Unit，反應完成後將膠條黏貼上模具，以 1% agarose 鑄膠，接著使用 Bio-Rad CHEF MAPPER 電泳儀(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)進行電泳。電泳條件為電場梯度 6 V/cm、電場角度 120°，變換間距 3 秒至 40 秒，電泳總時間 20 小時。電泳完成後以 ethidium bromide 染色並照相，使用 BioNumerics (Applied Maths, Kortrijk, Belgium)軟體進行分析。

6. 菌株的 Sequence-based typing (SBT)分子分型：Amplification primers

Gene	primer name	position	Primer sequence (5'-3')	Annealing temp	Fragment size (bp)
<i>flaA</i>	fla-587F	568-587	GCG TAT TGC TCA AAA TAC TG	55 °C	414

	fla-960R	981-960	CCA TTA ATC GTT AAG TTG TAG G		
<i>pilE</i>	pilE-35F pilE-453R	12-35 471-453	CAC AAT CGG ATG GAA CAC AAA CTA GCT GGC GCA CTC GGT ATC T	55 °C	460
<i>asd</i>	asd-511F asd-1039R	487-511 1062-1039	CCC TAA TTG CTC TAC CAT TCA GAT G CGA ATG TTA TCT GCG ACT ATC CAC	55 °C	576
<i>mip</i>	mip-74F mip-595R	58-74 616-595	GCT GCA ACC GAT GCC AC CAT ATG CAA GAC CTG AGG GAA C	55 °C	559
<i>mompS</i> R	mompS-450F mompS-1116	430-450 1140-1116	TTG ACC ATG AGT GGG ATT GG TGG ATA AAT TAT CCA GCC GGA CTT C	55 °C	711
<i>proA</i>	proA-1107F proA-1553R	1090-1107 1570-1553	GAT CGC CAA TGC AAT TAG ACC ATA ACA TCA AAA GCC	55 °C	481
<i>neuA</i>	neuA-196F neuA-634R	176-196 634-611	CCG TTC AAT ATG GGG CTT CAG CGA TGT CGA TGG ATT CAC TAA TAC	55 °C	459
<i>neuAh</i>	neuAh-L neuAh-R		ATCCAGCAGTTTTTAMAAATTTAGG TGGCTGCATAAAYTAATTCTTTAGCC A		791-794

Sequencing primers:

As above except that *mompS*-1015R instead of *mompS*-1116R is used for the reverse sequencing reaction of the *mompS* target. *mompS*-1015R CAG AAG CTG CGA AAT CAG

7. 實驗室過去收集的菌株

菌株保存在-80°C 冷凍櫃，使用前再次培養在 BCYE 培養基上。

三、結果

2017 年退伍軍人病個案檢驗及流病資料

本年度(2017 年)自 1 月 1 日至 11 月 14 日止，通報退伍軍人病有 341 例個案，以台北區 146 例最多，佔 42.8%，其餘五區個案數介於 31~44 例之間。經由細菌培養、尿液抗原檢測及血清學檢測為檢驗方式，整體檢驗陽性率為 42.5%，以南區 66.7% 最高，東區 29.0% 最低。確定個案數共有 145 例，以台北區 52 例最多，佔 35.9%，東區 9 例最少，佔 6.2%。今年共有 29 株臨床分離菌株，整體菌株分離率為 20.0% (29/145)，以台北區 25.0% 最高，東區 0% 最少。分離菌株數以台北區 13 株最多，佔 44.8%。(表一)

今年 145 例確定個案的年齡分布，以 70 歲以上 47 例為最多，佔 32.4%，50 歲以上個案數合計 116 例，佔 80.0%，沒有年齡 19 歲以下的個案。整體年發生率為每十萬人口 0.62 人，以 70 歲以上 2.31 為最高。整體男性與女性個案數比例為 5.0，各年齡層介於 3.3~7.8 之間，差異最大的為 50-59 歲與 60-69 歲的 7.5 與 7.8。(表二)

2000-2017 年退伍軍人病個案檢驗及流病資料

退伍軍人病於 1999 年列為第三類法定傳染病納入監測，到 2017 年 11 月 14 日為止，一共通報 15,337 例個案，其中確定個案數為 1,643 例。2000~2005 年間，每年通報約 1,000-1,800 例，檢驗陽性率介於 2.9%~7.9% 之間；2006~2011 年間，每年通報約 550-750 例，檢驗陽性率介於 8.9%~13.7% 之間；2012~2016 年間，每年通報約 450-550 例，檢驗陽性率介於 16.9%~28.6% 之間；2017 年僅有通報 341 例，檢驗陽性率高達 42.5%。(圖一)

2000-2017 年共 1,643 例確定個案，平均年發生率為每十萬人口 0.40 人，以本署六個分區來看，台北區、北區、中區、南區、高屏區和東區各區平

均年發生率每十萬人口分別為 0.43、0.25、0.32、0.34、0.41 和 1.71(資料未顯示)。各年來看，自 2005 年之後，全國每十萬人口的年發生率雖然有些波動，整體呈現增加的趨勢，2005 年為 0.17，2017 年為 0.62。(圖二) 各區各年來看，2005-2017 年間，台北區、北區和南區呈上升趨勢，中區與高屏區近年有點下降，東區波動最大，不過整體而言是呈現上升的趨勢。(圖三)

以 2000-2017 年確定個案來看各年的年齡分布，雖然有些波動，每年皆以 70 歲以上個案數最多，2004 佔 50.0%最高，2005 年佔 26.3%最低。50 歲以下個案數佔比，則介於 2007 年的 10.7%和 2003 年的 26.8%之間，平均約 18.7%。(圖四)

以 2000-2017 年整體 1,643 例確定個案來看年齡分布，70 歲以上 671 例為最多，佔 40.8%，50 歲以上個案數合計 1,338 例，佔 80.9%，年齡 19 歲以下的個案數僅有 8 例，佔 1.7%。整體男性 1,265 例與女性 378 例個案數比例為 3.3，以 50-59 歲年齡層的比例 6.0 差異最大，而 40 歲以下個案的男女比例(0.9~1.7)明顯較 40 歲以上個案的比例(3.1~6.0)為低。(圖五) 各年齡層每十萬人口的年發生率，不論是整體或者分為男女性別，皆隨著年紀增加而上升，70 歲以上年齡層整體、男性和女性的年發生率分別為 2.23、3.47 和 1.06。(圖六)

2002-2017 年退伍軍人病臨床菌株分布

2002 年之後，實驗室開始從個案的臨床檢體分離出退伍軍人菌，截至今年，一共有 431 株，其中以嗜肺性退伍軍人菌(*Legionella pneumophila*)血清型第一型 372 株最多，佔 86.3%，非嗜肺性退伍軍人菌共有 15 株，佔 3.5%，以 *L. longbeachae* 7 株為最多。(圖七)

退伍軍人菌的脈衝式電泳(PFGE, Pulsed-Field Gel Electrophoresis)分析

針對退伍軍人病的陽性個案，自 2004 年 7 月開始採集其相關的環境水檢體進行檢驗，以期釐清可能的感染來源之後，每當自個案的臨床檢體分離出的菌株和自環境水檢體分離出的菌株為相同的退伍軍人菌和血清型時，實驗室都會進一步執行配對菌株的 PFGE，以判斷兩者是否為相同來源。多年來歷經多位同仁的傳承，執行退伍軍人菌菌株的 PFGE 方法雖然大同小異，不過並不一致，因此，為了建立長久的資料庫，必須先將執行方法的一些因子都考慮進去並固定下來。以 *Sfi* I 限制酵素於 50°C 切割 DNA 的反應時間，2 小時看起來已經相當完全，但考慮到每個檢體的 DNA 量可能會有些出入，為了確保作用完全，最後訂為 4 小時。(圖八)電泳時的變換間距，在測試了不同的條件之後，訂為 3 秒至 40 秒，此條件可以獲得比較清晰的 DNA 圖譜。(圖九)

將 PFGE 應用於個案臨床菌株時，原本計畫書規劃以年度方式進行，緣於前言所述關於北區疑似群聚感染事件，希望能盡早偵測到與其具有相同 DNA 指紋圖譜的菌株，包括過去與近年的，因此 PFGE 的執行改為以地區進行。台北區與北區合計執行了 118 株臨床菌株的 PFGE，2010、2011、2012、2013、2014、2015、2016 和 2017 年分別有 8、8、15、14、25、19、17 和 12 株菌株，地區分布在台北市(43 株)、基隆市(1 株)、宜蘭市(2 株)、新北市(59 株)和桃園市(13 株)。(表三)

所獲得的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜如圖十所示，圖譜相當的分歧，不過有兩組指紋圖譜相同的菌株出現，一組為前述北區疑似群聚感染，一組為新發現的。前者與前述北區疑似群聚感染有相同 DNA 指紋圖譜，有 4 株菌株，包括先前為北區管制中心調查時發現的 3 株，皆來自 2014 年個案，新北市中和區 2 株和三重區 1 株，新發現的菌株為 2016 年一名新北市蘆洲區個案。(圖十一)後者有相同 DNA 指紋圖譜的有 3 株菌株，分別來自 2012

年桃園市、2013 年台北市士林區和 2017 年士林區。(圖十二)

另外，今年 9 月一位高屏區陽性個案，其臨床分離菌株和來自 3 處環境水檢體的分離菌株皆為嗜肺性退伍軍人菌血清型第一型，執行菌株的 PFGE 後，發現個案的臨床菌株與其中兩處環境水檢體菌株有相同的 DNA 指紋圖譜。(圖十三)

退伍軍人菌的 Sequence-based typing (SBT)分析

退伍軍人菌的 Sequence-based typing (SBT)採用歐洲退伍軍人病監測網絡(ELDSNet, European Legionnaires' Disease Surveillance Network)所使用的方法，使用七組基因的 DNA 片段序列來看菌株的相關性，其相關的引子序列及 PCR 的反應條件，皆參考網站上的資料。目前已經完成並獲取 sequence type (ST)型別的菌株包括 56 株臨床菌株和 31 株環境菌株，還有數十株已經進行但是尚未能獲取 ST 型別，有些是未完成七組基因的 DNA 片段序列，有些則是尚未出現的 ST 型別，等待進一步的釐清。(表四)臨床菌株的 ST 型別比較分歧，最多的型別為有 14 株菌的 ST1，佔 25.0%，其餘各 ST 型別皆未超過 5 株菌株。環境菌株的 ST 型別比較集中，有 22 株菌為 ST1，佔 71.0%，其餘各 ST 型別皆未超過 3 株菌株。目前資料顯示，臨床菌株和環境菌株皆出現的 ST 型別只有 ST1、ST42 和 ST59。

四、討論

我國自 1999 年將退伍軍人病納入第三類法定傳染病監測項目，持續監測國內退伍軍人病流行情形，截至 2017 年 11 月 14 日止，共有 1,643 例確定個案，2000-2017 年間平均年發生率每十萬人口為 0.40 人，自 2005 年之後，全國每十萬人口的年發生率整體呈現增加的趨勢，由 2005 年的 0.17 人到 2017 年的 0.62 人，有 3.7 倍的增加。退伍軍人病一向被認為是一個被低報的疾病，因此，這個增加有可能是真的增加，因為人口老化、高危險族群增加以及房屋供水系統老舊等等因素，也有可能不是真的增加，而是因為醫師比較注意以及疾病檢驗的增加，當然也可能兩者都有。國內退伍軍人病的尿液抗原檢測自 2013 年開始由認可檢驗機構檢驗，有些醫學中心將此項檢驗作為肺炎病人的例行性檢驗，應該也會增加個案數，尤其是病情較不嚴峻，原本可能不會被當成退伍軍病檢驗的病人。美國通報的退伍軍人症，包含病情嚴重的退伍軍人病和病情較輕微的龐蒂亞克熱(Pontiac fever)，也看到增加的趨勢，由 2000 年每十萬人口的 0.39 增加到 2011 年的 1.36 (21)。不過，歐盟的監測資料則呈現平穩的年發生率，2010-2014 年每十萬人口分別為 1.3、1.0、1.1、1.1 和 1.4 人(22)。如果以 2011 年的年發生率做比較，台灣、美國及歐盟分別為每十萬人口 0.42、1.36 和 1.0 人，顯示國內的年發生率低於歐美，同樣地這個差異有可能是真的，也可能是低報的結果，不過，由於國內的醫療普及，因此推測這個差異應該有相當程度是真的。

以本署台北區、北區、中區、南區、高屏區和東區的六個分區來看，2000-2017 年各區退伍軍人病平均年發生率每十萬人口分別為 0.43、0.25、0.32、0.34、0.41 和 1.71，顯示東區的發生率高於其他五區，由於 2002-2004 年間東區的陽性個案數不尋常地偏高，因此，若僅以 2005-2017 年來看，各

區平均年發生率每十萬人口分別為 0.46、0.28、0.37、0.42、0.44 和 0.75，東區的發生率依然高於其他五區，為各區的 1.6-2.7 倍高。東區的人口數少於其他各區，2000-2017 年間平均人口只有其他五區的 8%~17% 之間，因此只要增加幾例個案，年發生率便會顯著高於其他各區，不過，除了這個因素之外，也許和族群結構、人口的社經地位、環境有關，值得進一步探討，美國一篇關於 2002-2011 年紐約市的退伍軍人病的調查指出，發生率跟著社經地位走，最貧窮的地區的發生率最高(21)。

對於退伍軍人病的檢驗，這些年檢驗陽性率持續提高，確實有很大的進步，由於自 2005 年至今的檢驗方法及陽性判定標準並沒有改變，因此這個進步應該要歸功於醫師精準的臨床判斷，以及前述某些認可檢驗機構將退伍軍人菌尿液抗原檢測項目作為肺炎病人的例行性檢驗，提高陽性個案的被診斷出來。然而，尿液抗原檢測項目被普遍用於肺炎病人的例行性檢驗，雖然有助於發現個案，不過尿液抗原檢測只能檢驗出血清型第一型嗜肺性退伍軍人菌的感染，至於其他的退伍軍人菌或者非血清第一型的嗜肺性退伍軍人菌的感染則偵測不到，因此，就算尿液抗原檢測為陰性，但是臨床症狀又值得懷疑的個案，建議還是採集痰液和血清送本署檢驗，以免錯過非血清第一型的嗜肺性退伍軍人菌感染的個案。

針對 2010-2017 年台北區與北區 118 株退伍軍人菌臨床菌株所做的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜相當的分歧，根據過去執行退伍軍人病陽性個案的臨床菌株和環境菌株的 PFGE 分析的經驗，PFGE 分型方法對於退伍軍人菌有相當高的分型效力及再現性，如果沒有流行病學上的相關性，幾乎沒有遇見過 DNA 指紋圖譜相同的退伍軍人菌菌株，因此 DNA 指紋圖譜相同的菌株幾乎可以相當肯定它們有相同的來源，因此 118 株臨床菌株的 DNA 指紋圖譜很分歧是預期中的結果。也就是因為退伍軍人菌菌株具有 PFGE 的

DNA 指紋圖譜相當分歧的特性，才覺得這個資料庫可以應用於比對菌株之間的相關性，協助偵測臨床個案是否有疫調上不明顯的關聯性，以期早期偵測出群聚感染。

在所獲得的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜中，有一組包含 4 株菌株的相同指紋圖譜，其中 3 株菌株來自前述北區疑似群聚感染的 3 名新北市中和區和三重區陽性個案，新增的 1 株是來自 2016 年 1 名新北市蘆洲區的個案，顯示具有這個 DNA 指紋圖譜的退伍軍人菌的感染源依然存在，可能就存在新北市的某處，持續感染新的個案。在所獲得的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜中，發現第二組包含 3 株菌株的相同指紋圖譜是有點意料之外，這 3 株菌株分別來自 2012 年桃園市、2013 年台北市士林區和 2017 年士林區的個案，將試著進一步查看 2017 年這位個案的可能的感染來源。偵測到這第二組具有相同指紋圖譜的菌株，表示以 PFGE 的相同 DNA 指紋圖譜來偵測可能的群聚感染的這個計畫構想應該是可行的，只是在時間上要更及時，等我們將資料庫建置的更完整些時，應該便可以更及時的找到潛在的群聚感染的相關個案，到時候再配合區管中心對個案的詳細疫調，應該就有希望找到感染源，以減少未來可能的新個案的出現。

五、結論與建議

退伍軍人病自 1999 年開始被納為第三類法定傳染病的監測項目，截至 2017 年 11 月止，共有 1,643 例確定個案，2000-2017 年間平均年發生率每十萬人口為 0.40 人，比較美國與歐盟的年發生率為低。全國退伍軍人病每十萬人口的年發生率，自 2005 年後呈現增加的趨勢，由 2005 年的 0.17 人到 2017 年的 0.62 人，有 3.7 倍的增加，這個年發生率增加的趨勢多半也顯現在本署的六個分區裡，另外，東區的年發生率高於其他五區。年發生率上升以及東區較高的年發生率，可能是很多因素影響的結果，如人口老化、高危險族群增加、房屋供水系統老舊、族群結構、人口的社經地位、相關環境、醫師注意增加以及疾病檢驗增加等等，值得進一步探討，以為退伍軍人病防治政策擬定時的參考資料。

近年，退伍軍人病的檢驗陽性率顯著提高，由於檢驗方法及陽性判定標準並未改變，因此要歸功於醫師精準的臨床判斷，以及某些檢驗機構將退伍軍人菌尿液抗原檢測項目作為肺炎病人的例行性檢驗。不過，尿液抗原檢測只能檢驗血清型第一型嗜肺性退伍軍人菌的感染，因此臨床疑似個案，就算尿液抗原檢測為陰性，仍建議採集痰液和血清送本署檢驗，以免錯過其他退伍軍人菌或者非血清第一型的嗜肺性退伍軍人菌的感染個案。

2010-2017 年台北區與北區 118 株退伍軍人菌的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜，顯示有兩組可能的群聚感染，一組包含前述北區疑似群聚感染的 3 名個案及 1 名 2016 年的個案，一組包含 3 名分別來自桃園市及台北市士林區的個案。顯示以退伍軍人菌 PFGE 的相同 DNA 指紋圖譜來偵測可能的群聚感染是可行的，因此，建議盡快將資料庫建置完整，以便更及時的發現潛在的群聚感染的相關個案，再配合區管中心對個案的詳細疫調，期能找到感染源，以減少未來可能的新個案的出現。

六、計畫重要研究成果及具體建議

1. 本計劃檢驗本年度(2017)通報退伍軍人病個案的痰液及血清檢體，並分離鑑定出 29 株退伍軍人菌。
2. 退伍軍人病自 1999 年納為第三類法定傳染病，截至 2017 年 11 月止共 1,643 例確定個案，2000-2017 年間平均年發生率每十萬人口為 0.40 人。
3. 自 2005 年後，全國退伍軍人病每十萬人口的年發生率呈現增加的趨勢，由 2005 年的 0.17 人到 2017 年的 0.62 人，有 3.7 倍的增加，本署六個分區的年發生率多半也顯現增加的趨勢，東區的年發生率高於其他五區。
4. 2000-2017 年的 1,643 例確定個案中，50 歲以上佔 80.9%，70 歲以上佔 40.8%。男女性個案數比例為 3.3，以 50-59 歲年齡層的比例 6.0 差異最大，40 歲以下的男女性比例明顯較 40 歲以上的比例為低。各年齡層每十萬人口的年發生率，皆隨著年紀增加而上升，以 70 歲以上年齡層最高，整體、男性和女性的年發生率分別為 2.23、3.47 和 1.06。
5. 近年退伍軍人病的檢驗陽性率顯著提高，今年更高達 42.5%，由於檢驗方法及陽性判定標準並未改變，因此應該歸功於醫師精準的臨床判斷，以及檢驗機構將尿液抗原檢測作為肺炎病人的例行性檢驗項目。
6. 2010-2017 年台北區與北區 118 株退伍軍人菌的 PFGE 的 DNA 指紋圖譜，顯示有兩組可能的群聚感染，一組包含前述北區疑似群聚感染的 3 名個案及 1 名 2016 年的個案，一組包含 3 名桃園市及台北市士林區的個案。
7. 退伍軍人病年發生率上升以及東區較高的年發生率，可能是很多因素影響的結果，如人口老化、高危險族群增加、房屋供水系統老舊、族群結構、人口的社經地位、相關環境、醫師注意增加以及疾病檢驗增加等等，值得進一步探討，以為退伍軍人病防治政策擬定時的參考資料。
8. 尿液抗原檢測只能檢驗血清型第一型嗜肺性退伍軍人菌的感染，因此臨

床疑似個案，就算尿液抗原檢測為陰性，仍建議採集痰液和血清送本署檢驗，以免錯過其他退伍軍人菌或者非血清第一型的嗜肺性退伍軍人菌的感染個案。

9. 退伍軍人菌 PFGE 的相同 DNA 指紋圖譜來偵測到兩組可能的群聚感染，因此建議盡快將資料庫建置完整，以便更及時的發現潛在的群聚感染的相關個案，再配合區管中心對個案的詳細疫調，期能找到感染源，以減少未來可能的新個案的出現。

七、參考文獻（請依台灣醫誌編排方式）

1. Stout JE, Yu VL. Legionellosis. The New England journal of medicine. 1997 Sep 4;337(10):682-7.
2. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clinical microbiology reviews. 2002 Jul;15(3):506-26.
3. Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, Stagg HR, Zhang N, Kumar K, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. The Lancet Infectious diseases. 2014 Oct;14(10):1011-21.
4. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. The New England journal of medicine. 1977 Dec 1;297(22):1189-97.
5. Rizzardi K, Winiecka-Krusnell J, Ramliden M, Alm E, Andersson S, Byfors S. Legionella norrlandica sp. nov., isolated from the biopurification systems of wood processing plants. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2015 Feb;65(Pt 2):598-603.
6. Su HP, Tseng LR, Tzeng SC, Chou CY, Chung TC. A legionellosis case due to contaminated spa water and confirmed by genomic identification in Taiwan. Microbiology and immunology. 2006;50(5):371-7.
7. Jernigan DB, Hofmann J, Cetron MS, Genese CA, Nuorti JP, Fields BS, et al. Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. Lancet. 1996 Feb 24;347(9000):494-9.
8. Wei SH, Chou P, Tseng LR, Lin HC, Wang JH, Sheu JN, et al. Nosocomial neonatal legionellosis associated with water in infant formula, Taiwan. Emerging infectious diseases. 2014 Nov;20(11):1921-4.
9. Correia AM, Ferreira JS, Borges V, Nunes A, Gomes B, Capucho R, et al. Probable Person-to-Person Transmission of Legionnaires' Disease. The New England journal of medicine. 2016 Feb 4;374(5):497-8.

10. van Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L, Haeggman S, Cookson B, Fry NK, et al. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2007 Oct;13 Suppl 3:1-46.
11. Helbig JH, Kurtz JB, Pastoris MC, Pelaz C, Luck PC. Antigenic lipopolysaccharide components of *Legionella pneumophila* recognized by monoclonal antibodies: possibilities and limitations for division of the species into serogroups. *Journal of clinical microbiology*. 1997 Nov;35(11):2841-5.
12. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of clinical microbiology*. 1995 Sep;33(9):2233-9.
13. Gaia V, Fry NK, Afshar B, Luck PC, Meugnier H, Etienne J, et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *Journal of clinical microbiology*. 2005 May;43(5):2047-52.
14. Mentasti M, Underwood A, Luck C, Kozak-Muiznieks NA, Harrison TG, Fry NK. Extension of the *Legionella pneumophila* sequence-based typing scheme to include strains carrying a variant of the N-acetylneuraminyl transferase gene. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2014 Jul;20(7):O435-41.
15. Ratzow S, Gaia V, Helbig JH, Fry NK, Luck PC. Addition of neuA, the gene encoding N-acetylneuraminyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. *Journal of clinical microbiology*. 2007 Jun;45(6):1965-8.
16. Coscolla M, Comas I, Gonzalez-Candelas F. Quantifying nonvertical

inheritance in the evolution of *Legionella pneumophila*. *Molecular biology and evolution*. 2011 Feb;28(2):985-1001.

17. Gomez-Valero L, Rusniok C, Jarraud S, Vacherie B, Rouy Z, Barbe V, et al. Extensive recombination events and horizontal gene transfer shaped the *Legionella pneumophila* genomes. *BMC genomics*. 2011;12:536.

18. Underwood AP, Jones G, Mentasti M, Fry NK, Harrison TG. Comparison of the *Legionella pneumophila* population structure as determined by sequence-based typing and whole genome sequencing. *BMC microbiology*. 2013;13:302.

19. Bruin JP, Ijzerman EP, den Boer JW, Mouton JW, Diederren BM. Wild-type MIC distribution and epidemiological cut-off values in clinical *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2012 Jan;72(1):103-8.

20. De Giglio O, Napoli C, Lovero G, Diella G, Rutigliano S, Caggiano G, et al. Antibiotic susceptibility of *Legionella pneumophila* strains isolated from hospital water systems in Southern Italy. *Environmental research*. 2015 Oct;142:586-90.

21. Farnham A, Alleyne L, Daniel Cimini D, Balter S. Legionnaires' Disease Incidence and Risk Factors, New York, New York, USA, 2002–2011. *Emerging Infectious Diseases* 2014 Nov;20(11):1795-802.

22. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2015. Legionnaires' disease. Stockholm: ECDC; 2016. Available from:

https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/legionnaires_disease/surveillance/Documents/aer2016/AER-Legionnaires.pdf

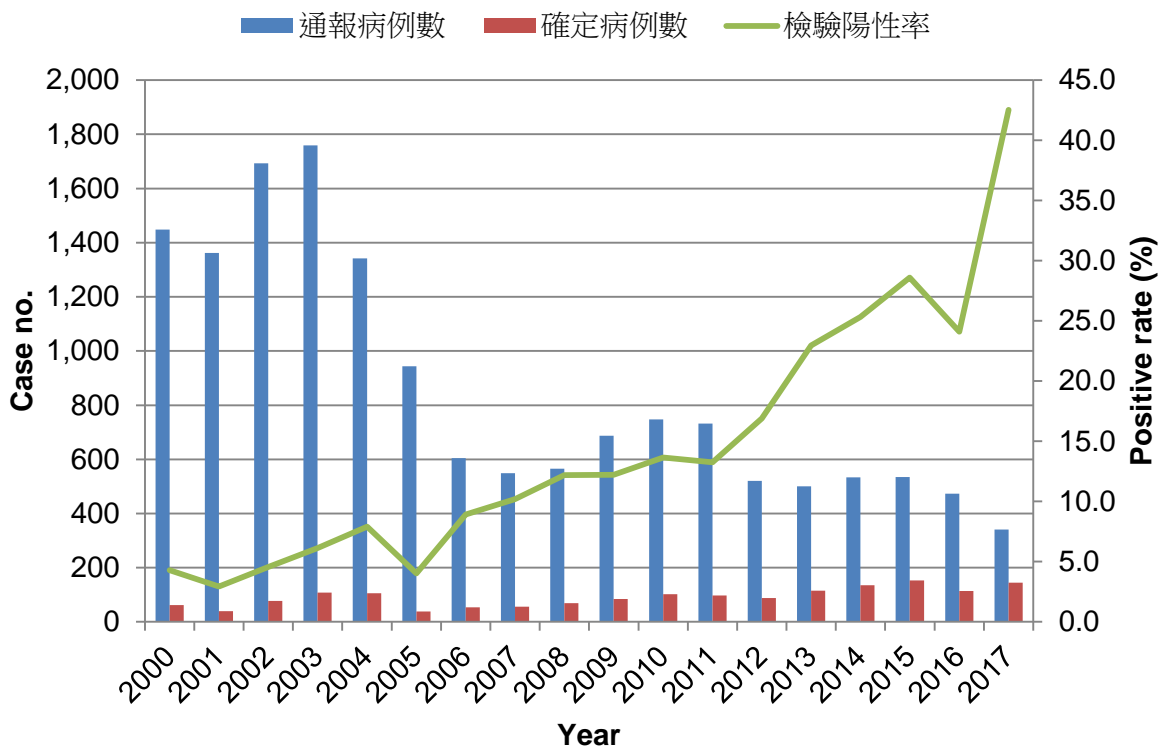
八、圖表

表一、2017年通報退伍軍人病個案的檢驗資料(2017/01~2017/11)

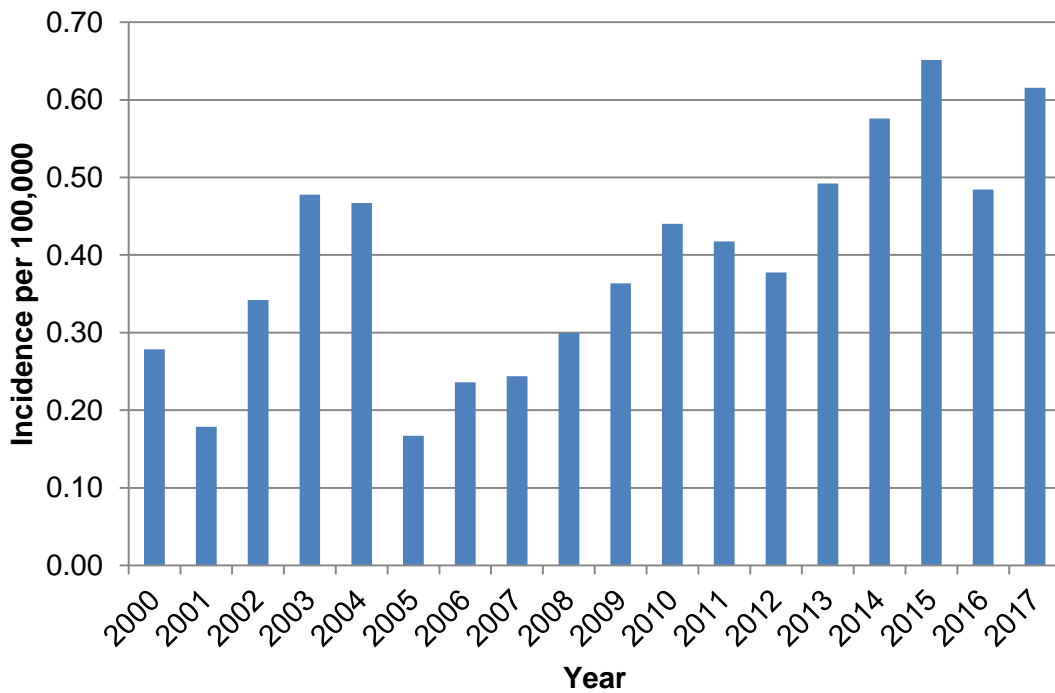
縣市區別	縣市	通報病例數	確定病例數	檢驗陽性率(%)	分離菌株數	菌株分離率(%)
台北區	台北市	53	19	35.8	5	26.3
	新北市	81	29	35.8	8	27.6
	基隆市	2	0	0.0	0	
	宜蘭縣	9	4	44.4	0	0.0
	金門縣	1	0	0.0	0	
	連江縣	0	0		0	
總計 台北區		146	52	35.6	13	25.0
北區	桃園市	25	14	56.0	3	21.4
	新竹縣	2	2	100.0	0	0.0
	新竹市	0	0		0	
	苗栗縣	12	2	16.7	1	50.0
總計 北區		39	18	46.2	4	22.2
中區	台中市	28	8	28.6	2	25.0
	彰化縣	13	8	61.5	2	25.0
	南投縣	3	1	33.3	0	0.0
總計 中區		44	17	38.6	4	23.5
南區	台南市	18	15	83.3	1	6.7
	雲林縣	15	7	46.7	3	42.9
	嘉義縣	2	2	100.0	0	0.0
	嘉義市	7	4	57.1	1	25.0
總計 南區		42	28	66.7	5	17.9
高屏區	高雄市	26	14	53.8	2	14.3
	屏東縣	13	7	53.8	1	14.3
	澎湖縣	0	0		0	
總計 高屏區		39	21	53.8	3	14.3
東區	台東縣	8	0	0.0	0	
	花蓮縣	23	9	39.1	0	0.0
總計 東區		31	9	29.0	0	0.0
總計		341	145	42.5	29	20.0

表二、2017年退伍軍人病確定個案年齡性別及發生率(2017/01~2017/11)

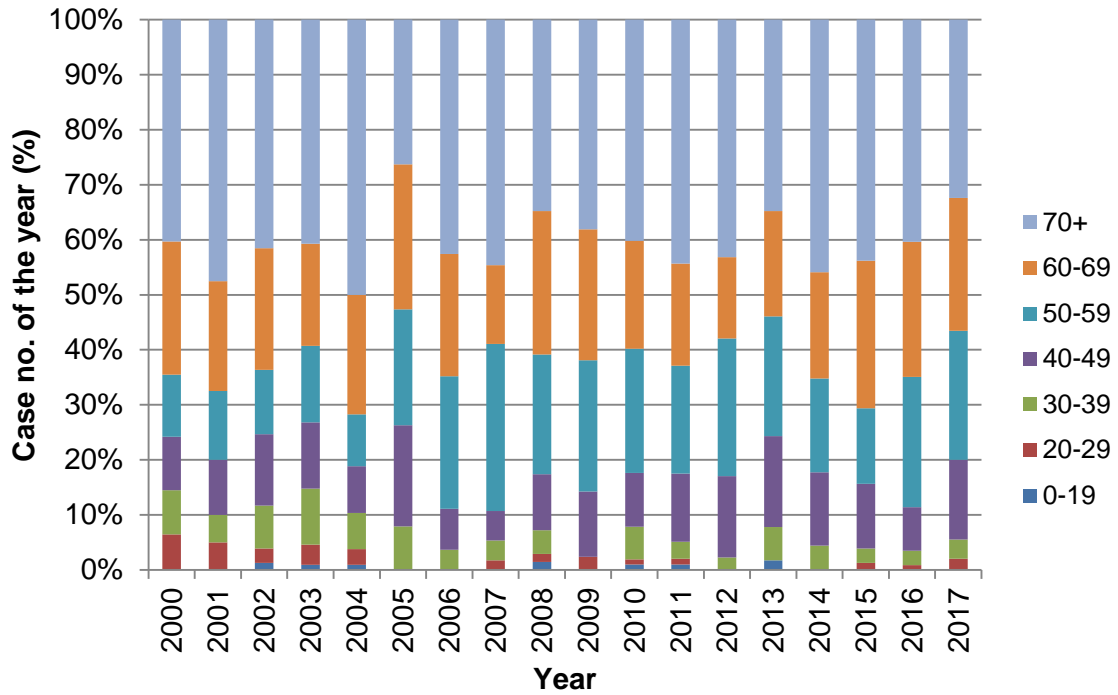
Age	Male	Female	Total	%	M/F	Incidence
0-19	0	0	0	0.0	NA	0.00
20-29	3	0	3	2.1	NA	0.09
30-39	4	1	5	3.4	4.0	0.13
40-49	17	4	21	14.5	4.3	0.57
50-59	30	4	34	23.4	7.5	0.94
60-69	31	4	35	24.1	7.8	1.26
70+	36	11	47	32.4	3.3	2.31
Total	121	24	145	100.0	5.0	0.62



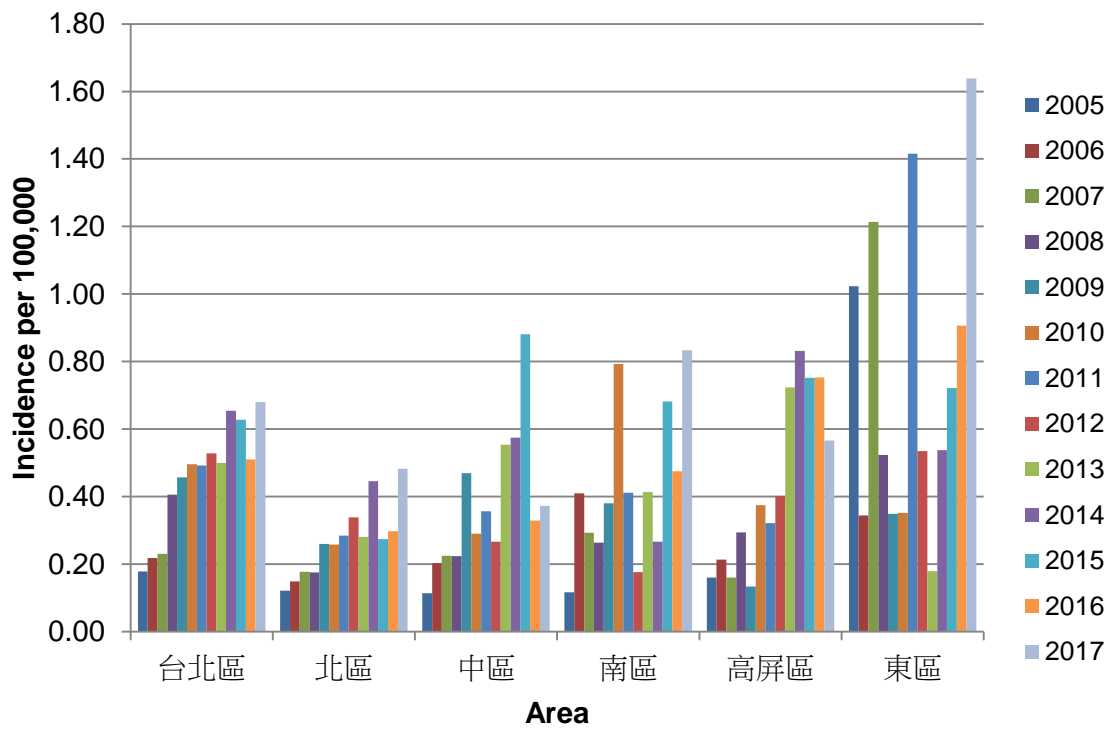
圖一、2000-2017 年退伍軍人病通報及確定個案數及檢驗陽性率



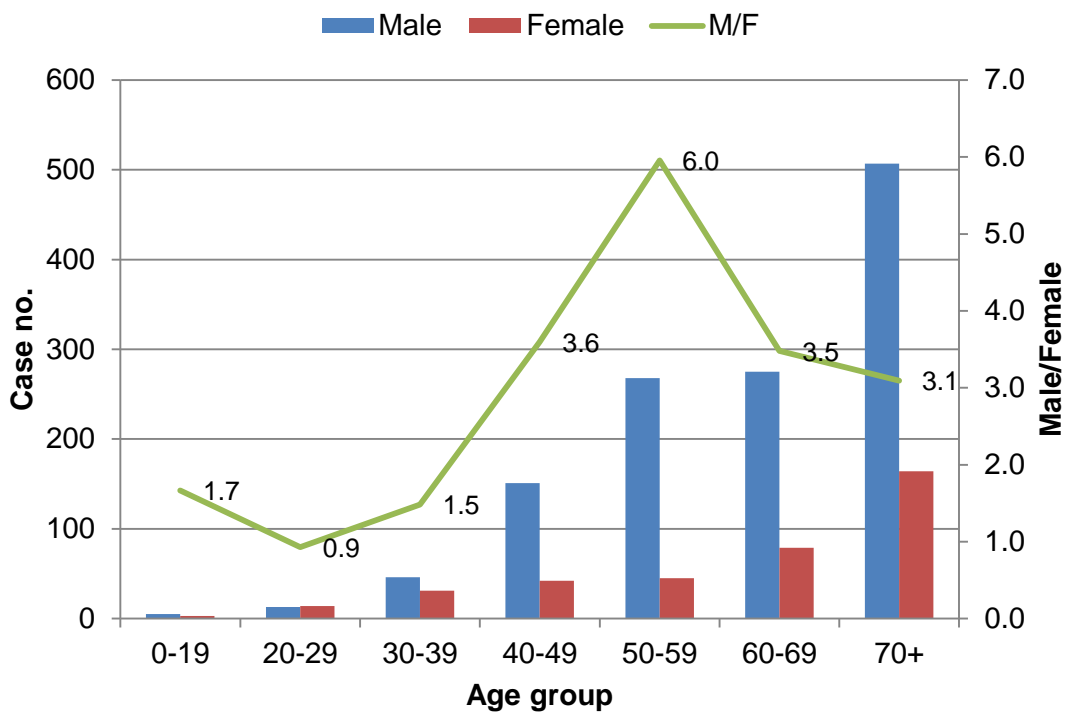
圖二、2000-2017 年退伍軍人病分年發生率



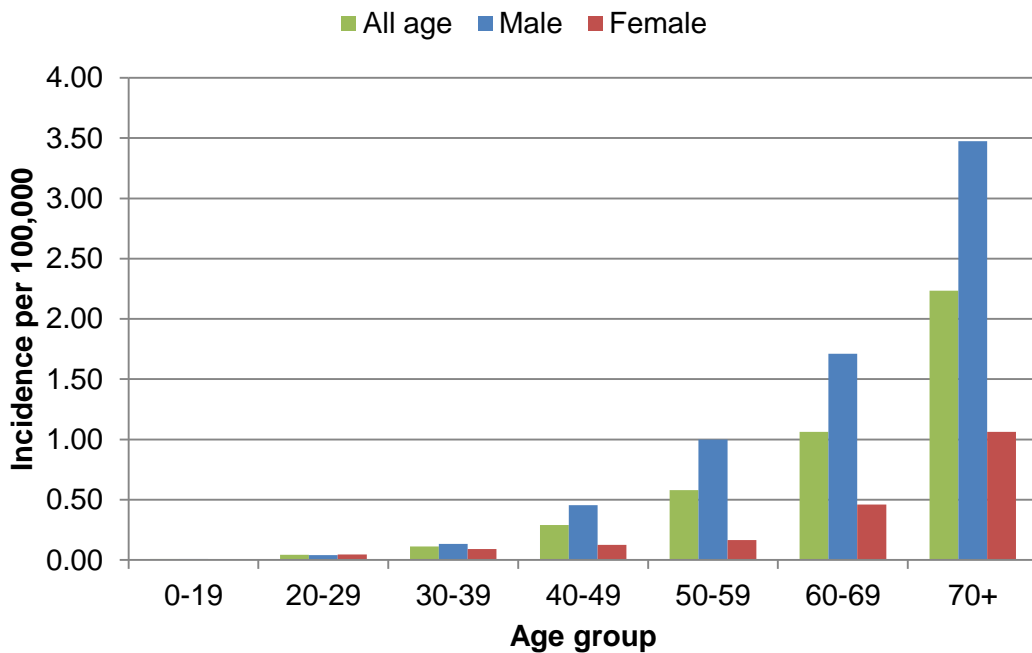
圖三、2000-2017 年退伍軍人病分年確定個案的年齡分布



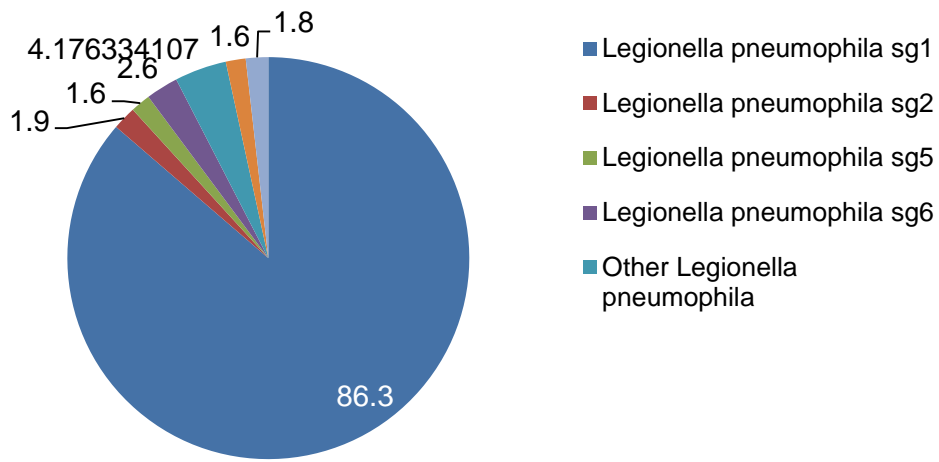
圖四、2005-2017 年退伍軍人病分年分區年發生率



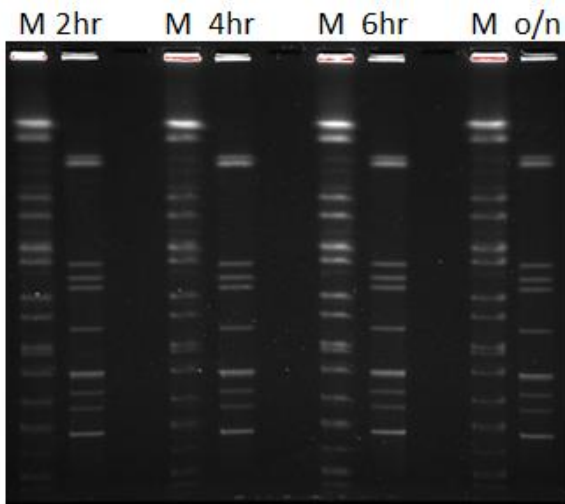
圖五、2000-2017 年退伍軍人病全部確定個案年齡分布及性別比



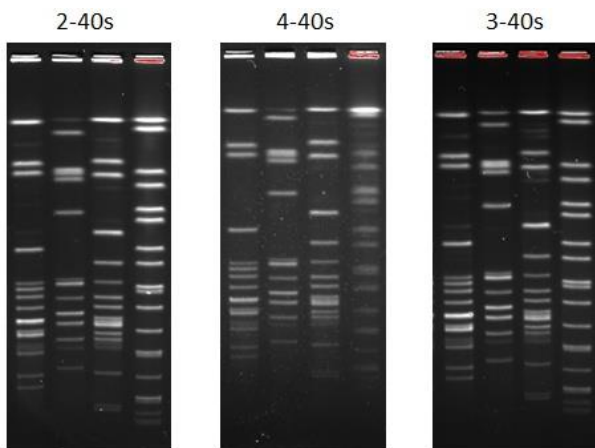
圖六、2000-2017 年退伍軍人病各年齡層發生率(每十萬人口)



圖七、2002-2017 年退伍軍人菌分布



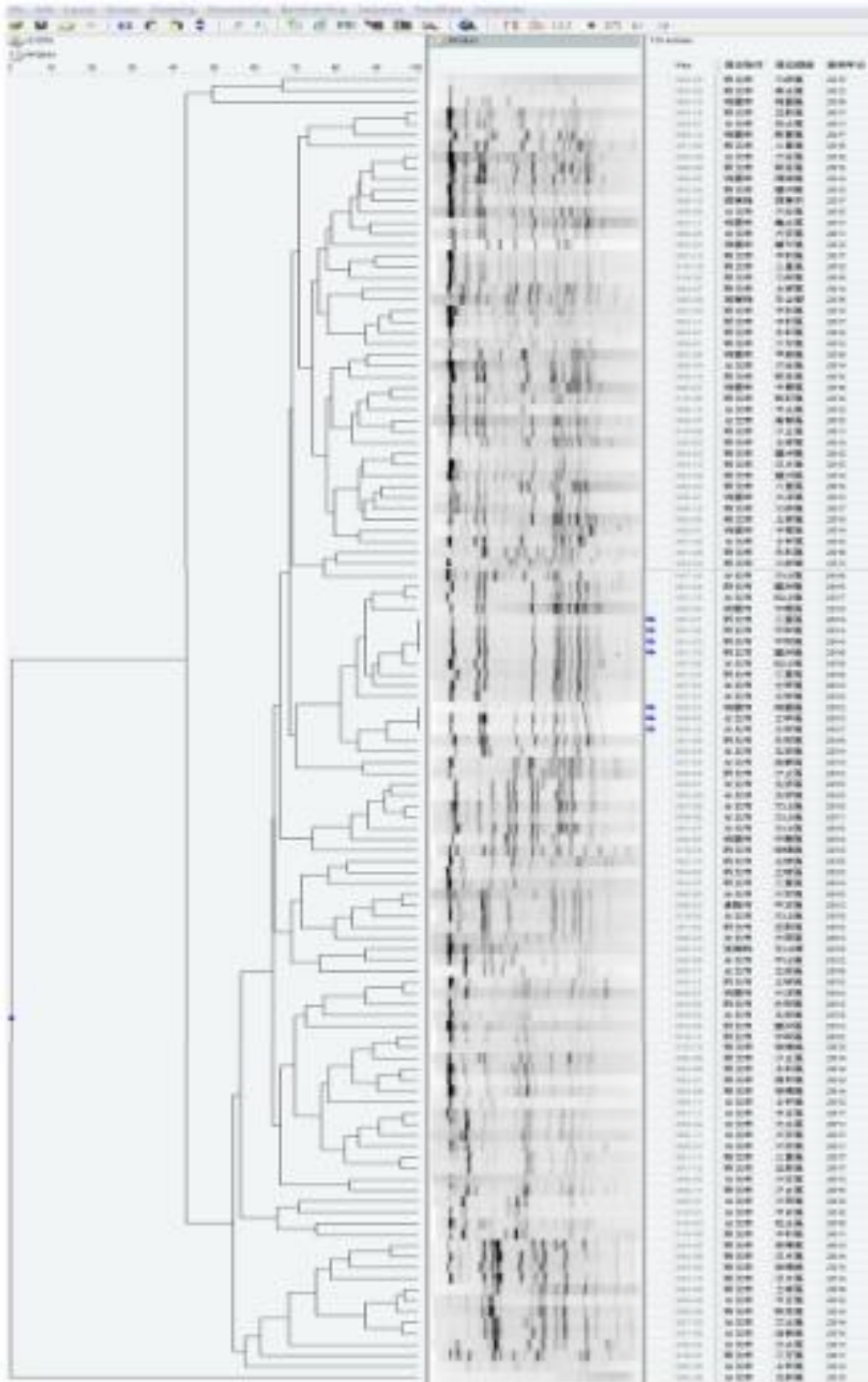
圖八、退伍軍人菌 PFGE 的 *SfiI* 酵素反應時間



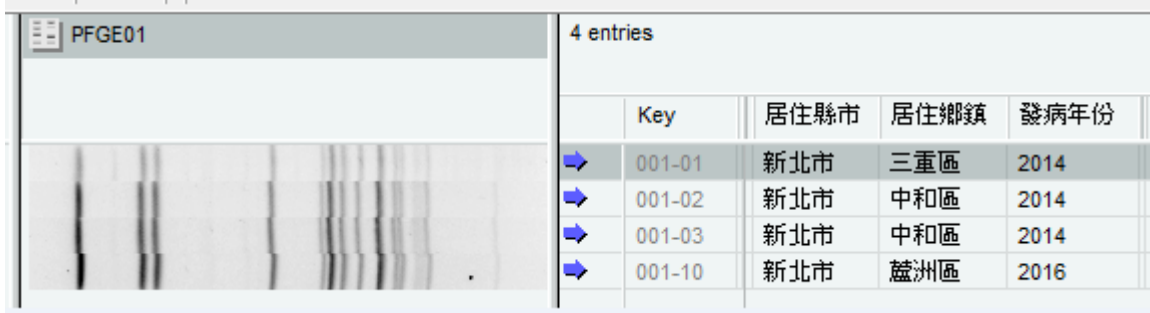
圖九、退伍軍人菌 PFGE 電泳的變換間距

表三、退伍軍人菌 PFGE 的個案地區分布

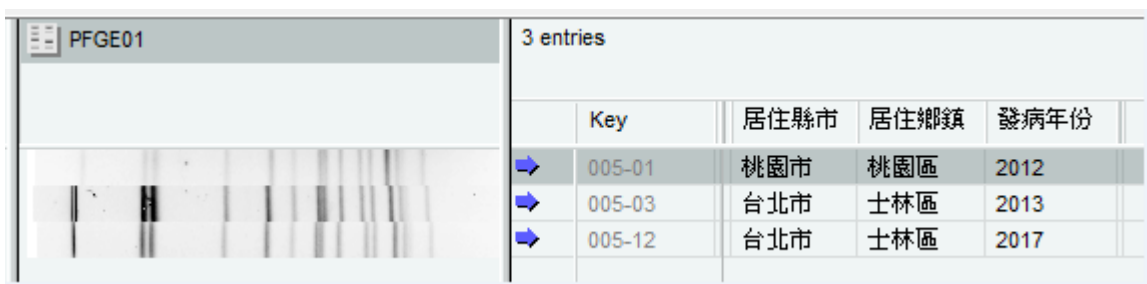
台北區			北區					
台北市	士林區	7	新北市	八里區	1	桃園市	大溪區	2
	大同區	2		三芝區	2		中壢區	4
	大安區	8		三重區	6		平鎮區	1
	中山區	2		三峽區	4		桃園區	2
	中正區	3		土城區	7		新屋區	1
	文山區	8		中和區	7		楊梅區	1
	北投區	6		五股區	3		龜山區	1
	松山區	4		永和區	5		蘆竹區	1
	信義區	2		汐止區	4		合計	13
	萬華區	1		板橋區	5			
	合計	43		泰山區	1			
				淡水區	3			
基隆市	中正區	1		新店區	3			
	合計	1		新莊區	1			
				樹林區	1			
宜蘭縣	冬山鄉	2		蘆洲區	6			
	合計	2		合計	59			



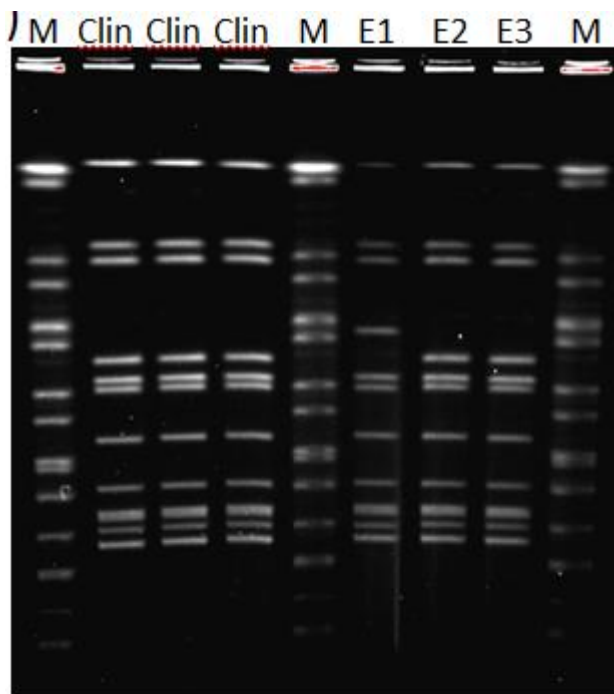
圖十、退伍軍人菌 PFGE 的 DNA 指紋圖譜



圖十一、退伍軍人菌 PFGE 的 DNA 指紋圖譜相同(1)



圖十二、退伍軍人菌 PFGE 的 DNA 指紋圖譜相同(2)



圖十三、退伍軍人菌 PFGE 的 DNA 指紋圖譜相同(3)

表四、退伍軍人菌的 SBT 分析

Clinical isolates (n=56)			Environmental isolates (n=31)		
ST	n	%	ST	n	%
1	14	25.0	1	22	71.0
42	5	8.9	42	1	3.2
37	4	7.1	59	3	9.7
120	4	7.1	82	1	3.2
18	2	3.6	160	1	3.2
59	2	3.6	448	1	3.2
118	2	3.6	609	1	3.2
496	2	3.6	739	1	3.2
507	2	3.6			
Others	19	33.9			
Total	56	100.0	Total	31	100.0

附錄（研究調查問卷、法規及其他重要資料均應列為研究報告附錄。）

無