

類鼻疽群突發事件之臨床檢驗

李昭代 1,4 莊銀清 3 張文瀚 2 廖東南 4 吳介仁 1

1 台南市立醫院檢驗科 2 感染科 3 奇美醫學中心醫學研究部 4 中華醫事科技大學

類鼻疽(Melioidosis)是流行於東南亞及北澳洲地區的感染性疾病，其病原菌為類鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)。主要引起局部性感染、肺部感染或血流感染。具慢性疾病和免疫功能不全患者易受感染，特別是免疫功能不全的病人，若受 *B. pseudomallei* 感染常導致嚴重的致死性敗血症。在 2005 年之前，台灣的類鼻疽病例都是零星個案，大多分佈在南台灣，本院在 2004 年僅有 2 例確定病例。2005 年 7 月，因海棠颱風侵襲，造成南台灣爆發類鼻疽疫情。在這次疫情期間，本實驗室通報 28 例，經疾病管制局確認之確定病例。菌株以脈衝式電泳作基因分型，呈現二種基因型，證實這次類鼻疽群突發事件之菌種分屬於二種不同基因遺傳體系。綜合以上 30 例類鼻疽檢體的分析，提出本實驗室臨床檢驗流程及方法，供臨床醫師檢驗之參考。(感控雜誌 2008;18:205-16)

關鍵詞：類鼻疽、群突發、類鼻疽伯克氏菌

前 言

類鼻疽(Melioidosis)是指受類鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)感染所引起的疾病。*B. pseudomallei* 屬於假單孢菌屬革蘭氏陰性桿菌，為環境中的腐生性細菌，主要存在土壤、水池及積水環境中，會感染馬、羊、豬等動物以及人類[1]。此細菌在惡劣的環境下，仍然能長期存活下來，包括長期缺乏養份、含抗生素或清潔劑的溶劑、酸性環境(在 pH 4.5 環境下可存活 70 天)、乾燥環境(土壤含水量小於 10%可存活 70 天)等 [2,3,4,5,6]。類鼻疽的感染途徑，是由表皮傷口接觸到受細菌污染的土壤或水源，也可能由吸入帶菌的塵土或食入受污染的飲水而感染[1,2]。

B. pseudomallei 之生態分佈在熱帶及亞熱帶地區，主要在南、北緯 20 度之間。類鼻疽的流行地區為東南亞及北澳洲地區，如泰國、新加坡、馬來西亞、越南等國[2]。台灣為類鼻疽可能的流行地區[2]，首例病例是 1982 年到菲律賓不幸溺水而遭受感染的個案。台灣疾病管制局從 2000 年開始，將類鼻疽納入通報監測。至 2004 年共有 43 例確定病例，其中並無大規模流行，都是零星個案[1]。

台灣是一個海島型國家，夏季多颱風侵襲，常造成部分地區淹水。澳洲有研究顯示，類鼻疽的發生與雨季有密切關聯，尤其是強風及豪雨，容易增加吸入病原菌的機會[6]。在 2005 年 7 月，台灣南部地區遭受海棠颱風侵襲，造成許多地區淹水，在一星期之後，本院首先發現了台灣首例類鼻疽群突發事件。

本院在 2005 年 7 月，分離出第一例類鼻疽病例，接著一週內，再分離出 14 例個案。不同於本院在 2004 年僅有 2 例確定病例，在短短二個月之內，共分離出 28 例類鼻疽確定病例，這些病例主要來自二仁溪流域，且遭受淹水地區的居民。由於類鼻疽病的臨床表現差異非常大，可能呈現無症狀感染、皮膚的局部感染、急性或慢性肺炎、最嚴重的可造成致死性敗血症[1,7]。因此實驗室的檢驗結果為臨床診斷的重要依據。

臨床上，有許多更快速的檢驗方法來鑑定 *B. pseudomallei* 菌種，例如直接抗原偵測(此方法尚未有商品化產品)[7,8]、抗體偵測(在疾病流行期間，無法確認是否真正感染)[7,9]、分子生物學方法(臨床微生物室多數未設置此檢驗方法)[2,10,11]。臨床上還是以細菌培養的結果為診斷依據。所以細菌培養是診斷類鼻疽的「黃金標準」(gold standard)[7,12]。

材料及方法

檢體與菌株

收集 2004 年 6 月至 2005 年 9 月，由臨床檢體(包含血液、尿液、膿、肋膜液、腦脊髓液及痰檢體)所分離的 *B. pseudomallei* 菌株共 30 株。其中 2 株菌株為 2004 年所收集，以及 2005 年由不同病人分離的 28 株 *B. pseudomallei* 菌株(同一病人由多處部位分離出病原菌，以血液檢體為主進行鑑定)。血液檢體先利用自動化分析儀器(Bactec 9240, Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA)進行培養與偵測，呈現陽性結果時再進行次培養。每項檢體分別接種到血液培養基(blood agar plate; BAP)，伊紅美藍瓊脂培養基(eosin-methylene blue agar; EMB)與巧克力培養基(chocolate agar)上，再置入 35°C 的 5% CO₂ 培養箱隔夜培養。

革蘭氏染色法

檢體與菌株先製作一薄抹片，待乾燥後以火固定，接著以革蘭氏染色法(Gram stain)進行染色。革蘭氏染色法依照廠商建議標準操作流程(Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA)，步驟為：抹片加結晶紫(crystal violet)作用 1 分鐘，水洗後加碘溶液(iodine solution)作用 1 分鐘，再水洗，接著加脫色液(decolorizer)脫色至無色為止，最後加沙紅溶液(safranin solution)作用 30 秒複染，水洗後將抹片以濾紙壓乾或在空氣中待乾後，置於油鏡下觀察。

生化反應與 API 20NE 鑑定系統

B. pseudomallei 菌株為葡萄糖非發酵革蘭氏陰性桿菌，菌種鑑定利用生化學之測試再配合商用套組之鑑定系統(API 20 NE)來鑑定。首先操作生化試驗三醣鐵培養基(triple sugar iron agar; TSI)與氧化? (oxidase)試驗，再依 API 20NE 製造商(BioMerieux, Marcy-L' Etoile, France)的操作手冊進行試驗。

先挑取 BAP 上純培養的菌落，挑入 2 mL 的 0.85% NaCl，將菌液濁度調到 0.5 硫酸鋇標準液(No 0.5 MacFarland standard; 相當於 0.5×10⁸ CFU/mL)。將待測菌液加入 API 20 NE 試驗條的凹槽內，由 NO₃ 至 PNPG(P-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside)試驗孔的凹槽位置，其中在 GLU、ADH、URE 試驗孔要覆蓋無菌礦物油。再取 200 μL 的菌液加入 AUX medium 中混合均勻，再將混合液加入 GLU 至 PAC (Programmable automation Controllers)試驗孔。

操作完成的試驗盤須在底部加無菌水，以保持濕度。將試驗盤放到 30°C 的一般培養箱中培養。前 3 個試驗孔在 24 小時後判讀；測試同化試驗(assimilation test)的試驗孔，則要培養 48 小時再判讀。試驗結果依製造商之判讀標準進行判讀，反應結果能得到一組 7 位數的鑑定數值。再利用 API 電腦軟體，查詢鑑定數值結果，即可得到菌種的鑑定結果。

藥物敏感性試驗

利用 BD Phoenix™ 自動微生物系統(Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland, USA)進行抗生素最低抑菌濃度(minimum inhibitory concentration; MIC)試驗(依照廠商之標準操作流程進行)。同時以 *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853(American Type Culture Collection)標準菌株進行品管。測試的抗生素包括：amikacin、amoxicillin/clavulanic acid、ceftazidime、imipenem、levofloxacin、piperacillin/tazobactam 以及 trimethoprim/sulfamethoxazole。結果之判讀依據美國臨床及實驗室標準機構(Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI)對於 *B. pseudomallei* 菌的抗生素 MIC 值之判讀標準；amikacin、levofloxacin 與 piperacillin/tazobactam 則依 Non-Enterobacteriaceae 的 MIC 值判讀標準[13]。

分子分型法

30 株 *B. pseudomallei* 菌株利用脈衝式電泳法(pulsed-field gel electrophoresis; PFGE)將菌株分型。方法如下：
(1)檢體的製備：參考 Bart JC 等人方法，並將部分修改[14]。刮取 BAP 上純培養的菌落，加入 PIV 緩衝液(10 mM Tris-HCl, pH7.6; 1 M NaCl)混合後，10,000rpm 離心 5 分鐘，清洗 1 到 2 次；再以 PIV 緩衝液將菌液密度調整為 1.0(O.D.610nm)。以 PIV 緩衝液溶解低燃點洋菜膠(low-melting-point agarose; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)至 2%，維持在 55°C。以 0.5mL 細胞懸浮液和 0.5mL 洋菜膠均勻混合，再將混合液加入填充模型(plug mold; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) 中，4°C 靜置 30 分鐘使其凝固。等填充物凝固後，取出填充物放進 solution C (40 mM EDTA, pH 8.0; 1% sarcosine; 10 mg/mL RNase; 20mg/mL Lysozyme)在 37°C 水浴 4 小時；其後再將填充物置於 lysis buffer (50 mM Tris, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 1% sarcosine; 1 mg/mL proteinase K)中，在 50°C 水浴 16-20 小時。移除 lysis buffer。以 5mL 滅菌水浸泡填充物 5 分鐘；在室溫中以 TE 緩衝液(10 mM Tris, pH 8.0; 1 mM EDTA, pH 8.0)浸泡填充物 5 分鐘。以 TE 緩衝液清洗 4 次，每次 30 分鐘。將填充物置於 200 μ L 限制酵素反應溶液(不含限制酵素)中反應 30 分鐘。移除反應溶液。將填充物放在剛混合好的 30 U XbaI 限制?反應液 (New England Biolabs, Inc. Beverly, USA)中，在 37°C 培養箱中 16 小時反應。完成上述步驟後，將填充物預先浸泡在 0.5 \times TBE 電泳緩衝液，置室溫備用。

(2)脈衝式電泳：將置於室溫備用之填充物置入 1.0%洋菜膠中，以電泳槽 CHEF-mapper 脈衝式電泳系統跑 1.0%洋菜膠。電泳條件為恆溫槽溫度為 14°C、變換時間(pulse ramp)為 10 至 60 秒、速度 6V/cm、電泳時間 34 小時。以 Lambda Ladder PFG marker (New England Biolabs, Inc. Beverly, USA)當作分子量標記。將電泳膠放在 1L 之 EtBr 溶液(含 100 μ L ethidium bromide, 10 mg/mL)中染色 30 分鐘。再以 1 公升蒸餾水褪染 3 次，每次 30 分鐘。拍照紀錄電泳膠上的結果，並儲存成圖檔。利用數位分析軟體分析紀錄圖檔。並進行 PFGE 模式分析[14]。

結果

菌落與革蘭氏染色形態

B. pseudomallei 為環境中的嗜氧性細菌，因此血液培養呈現陽性的檢體，全部均為嗜氧血瓶(aerobic culture bottle)。經培養 24 小時的菌落，在 BAP 與 chocolate agar 上呈現白色有點黏稠樣菌落。EMB 為粉紅色黏稠樣菌落，此時菌落較小有點油亮感。持續培養 48 小時後，菌落較大，表面乾燥，呈現如肚臍般皺摺的形態(圖一)[15]。一些 *Pseudomonas* species 也會呈現乾燥具皺摺樣，但形態較不規則，在 EMB 上呈現暗粉紫菌落。*B. pseudomallei* 則呈現較規則，且鮮豔粉紅色菌落。

由菌落及檢體直接抹片(如痰檢體)的染色結果，*B. pseudomallei* 會呈現典型革蘭氏陰性短桿菌，菌體兩端呈現較濃染之雙極性染色，似安全別針形態(圖二)[2]。血液檢體的染色結果，菌體呈現較細長之革蘭氏陰性桿菌。

鑑定結果

菌株的 TSI 試驗呈現 K/K 反應(即葡萄糖非發酵性反應)，oxidase 試驗則為陽性反應。30 株菌株經 48 小時反應後，判讀所得鑑定數值結果，依 API 電腦軟體查詢鑑定數值，結果得到 3 組的鑑定數值，分別為 1556557(n=23), 1556577(n=5) 及 1556576(n=2)。鑑定百分比(%ID)分別為 96.6%, 99.8% 與 99.8%，典型指數(T index) 分別為 0.51%, 0.79% 與 0.51%(表一)。

API 20 NE 套組鑑定系統中，鑑定百分比為菌株之生化反應與資料庫中所有菌株比對，該菌株為此實驗結果的機會率。鑑定百分比值越高，結果越吻合。T 值為同一菌株各項生化反應的典型程度，T 值越接近 1，菌株生化反應的程度越典型。30 株菌株經比對結果，均得到 *B. pseudomallei* 的鑑定結果。

藥物敏感性試驗結果

測得 30 株 *B. pseudomallei* 菌株對 7 種抗生素的 MIC 值，其結果見(表二)。30 株 *B. pseudomallei* 菌株對 amoxicillin/clavulanic acid、ceftazidime、imipenem、levofloxacin、piperacillin/tazobactam、trimethoprim/sulfamethoxazole 皆呈現敏感性(susceptible)；僅 1 株菌株(MIC 值為 4 μ g/mL)對 levofloxacin 呈現中程度抗性(intermediate)。30 株 *B. pseudomallei* 菌株對 amikacin 皆呈現抗藥性(resistant)。

分子分型結果

30 株 *B. pseudomallei* 菌株以 PFGE 模式分析結果。引用 Tenover 準則論述將 30 株菌株分為兩大族群[16]，分別為菌株編號 1-10, 12, 15-18, 20-24, 27, 28, 29, 共 23 株菌，菌株間獲得相同脈衝式電泳模式，可能是源自同一基因型的菌株，定義為 A 型。菌株編號 11, 13, 14, 19, 25, 26, 30, 共 7 株，菌株間獲得相同脈衝式電泳模式，可能源自同一基因型的菌株，為另一族群，定義為 B 型(圖三)。二種型別菌株之限制酶每切割片段，進行差異比對後，反應出大於七個片段的差異，可以確定本院類鼻疽菌可分為 A 與 B 兩型，即菌株(strains)分為二種不同基因遺傳體系。

討論

台灣地處亞熱帶地區，氣溫和濕度皆高(尤其是南部地區)，*B. pseudomallei* 菌喜好溫熱潮溼氣候，所以南部環境更適合此菌生長。過去類鼻疽通報病例多分佈在南部台灣[14]，由於病例都零星出現，許多臨床微生物室未曾分離過此細菌，若遇到類鼻疽個案，可能無法正確鑑定出病原菌。因此臨床檢驗人員，有必要熟悉對此菌之鑑定技術。

臨床上 *B. pseudomallei* 菌落在培養基上的特殊形態(肚臍般皺摺狀)，及染色特徵(安全別針狀)，都能提供檢驗人員初步鑑定的依據。但是此菌生長緩慢，典型的菌落形態，要培養 48 小時以上才會出現。因此，檢驗人員在觀察培養基時要特別小心，仔細觀察菌落的形態。尤其是痰檢體培養，因為一些革蘭氏陰性桿菌可能覆蓋住 *B. pseudomallei* 菌落(例如 *P. aeruginosa* 及 *Klebsiella pneumoniae*)，使真正病原菌被忽略了。

B. pseudomallei 從檢體培養，到菌種鑑定相當耗時，往往須要 5 至 7 天。類鼻疽的臨床表現又呈現多樣化，臨床醫師很難就臨床症狀正確診斷病情。急性病程的敗血性類鼻疽，若沒有及時投予適當的抗生素治療，其死亡率甚至可高達 90% 以上[17]。因此臨床醫師更須依賴微生物室的培養結果，作為臨床鑑別診斷及選用

抗生素的依據。

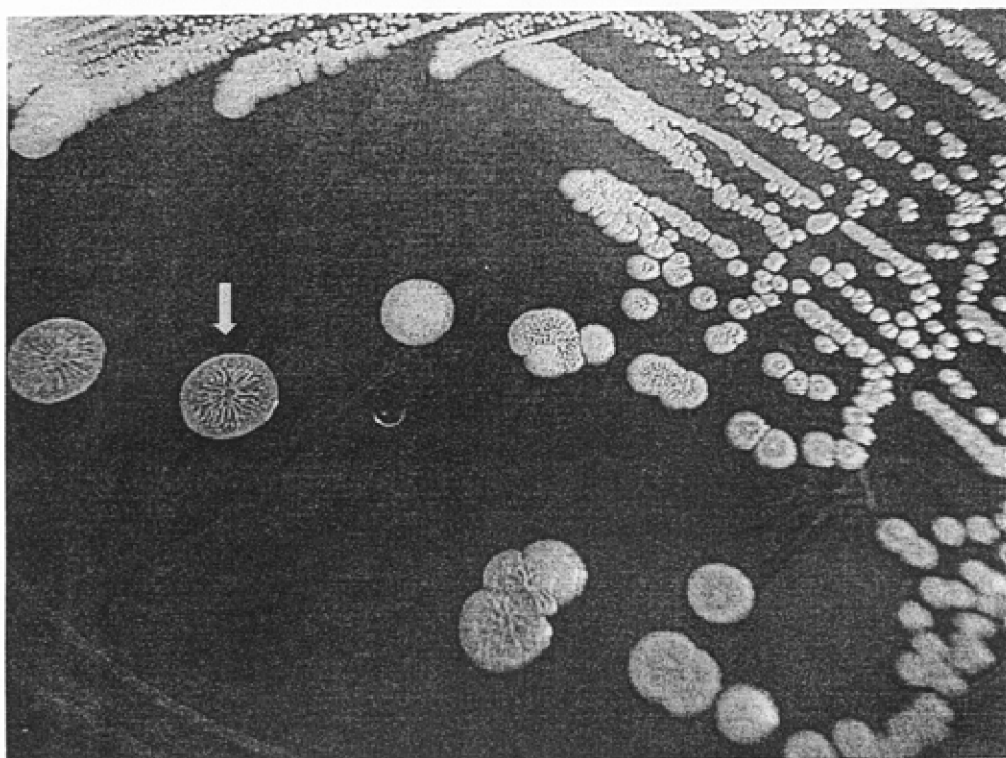
儘管現今分子生物檢驗技術發展快速，並不是每間實驗室都有具備。一般臨床微生物室，還是以傳統的鑑定方法為主，再輔以商品化鑑定套組，或自動化鑑定儀器。針對 *B. pseudomallei* 的鑑定方法，評估 API 20NE 套組準確性之報告，其差異頗大，Inglis 的研究指出，API 20NE 套組出現約有 20% 不符合的菌種鑑定結果 [18]。根據本實驗室檢驗結果顯示，菌株在生化反應之表現型，差異不大(30 株菌株得到 3 組的鑑定數值)，且鑑定百分比與菌種之吻合度高，再配合菌落形態與染色結果，API 20NE 套組鑑定系統可以提供準確的鑑定結果。

根據菌體基因分型結果，這次類鼻疽群突發事件，分二種基因型別，包括 2 株在 2004 年分離的菌株。此二種基因型為不同的基因遺傳體系，推測在這次群突發之前，這二型菌株已經存在環境中，因此有必要針對此菌在南台灣環境中的分佈情形，進行相關的研究與調查。

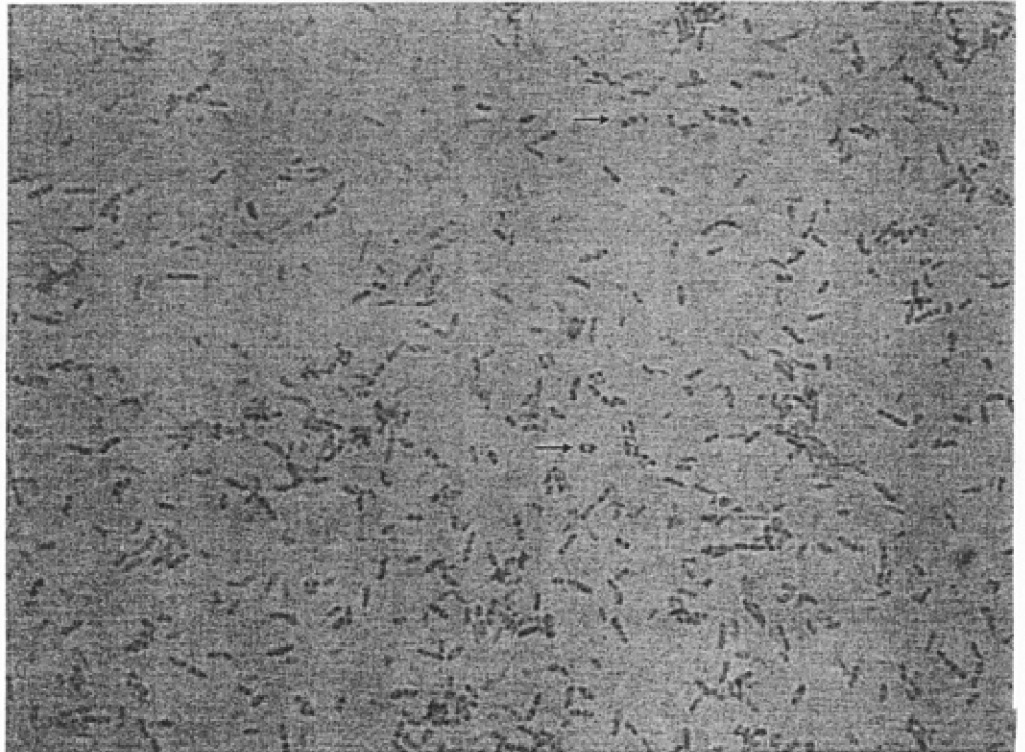
由於 *B. pseudomallei* 常導致嚴重的致死感染，以及能在環境中長期存活特性，被美國疾病管制及預防中心歸為生物戰劑之病原菌[19]。因此，類鼻疽病不僅是流行地區之重要議題，在非流行地區，也要對此疾病提高警覺。特別是在雨季及颱風過後，臨床醫檢師必須要有高度敏感性，對來自流行區域的感染病患，儘速分離及仔細鑑定出病原菌，提供臨床醫師作正確的鑑別診斷與治療，保障病患生命安全。

210

類鼻疽群突發事件之臨床檢驗



圖一 *B. pseudomallei* 於 EMB 培養基上的菌落形態；菌落呈現肚臍般皺摺的形態；箭頭處為菌落呈現肚臍般皺摺的形態。



圖二 *B. pseudomallei* 菌株之革蘭氏染色結果 (X1000)。箭頭處為菌體兩端呈現較濃染之雙極性染色；似安全別針形狀。

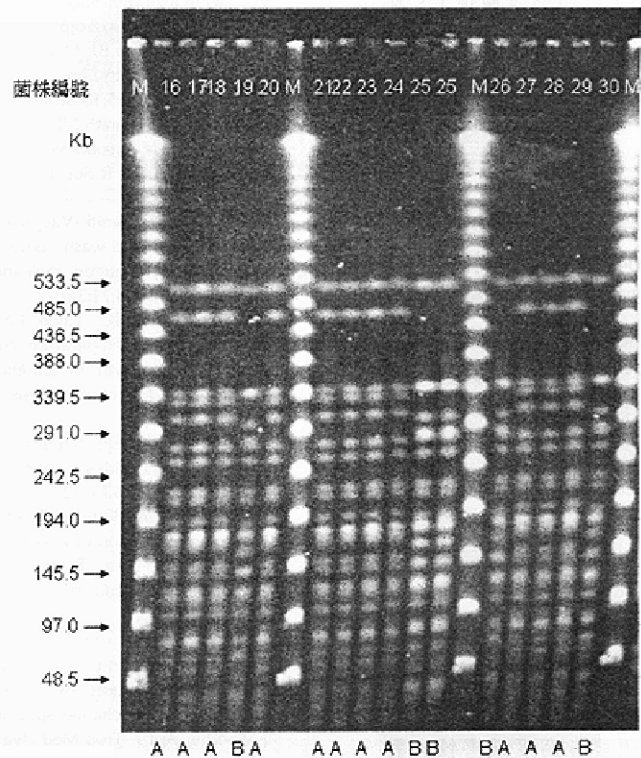
表一 30 株 *B. pseudomallei* 菌株之 API 20NE 反應結果統計表

Tests	API 20NE profiles		
	1556557 (N=23)	1556557 (N=5)	1556557 (N=2)
Nitrate reduction	+	+	+
Indole (tryptophane)	-	-	-
Glucose fermentation	-	-	-
Arginine dihydrolase	+	+	+
Urease	-	-	-
Esculin hydrolysis	+	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+
β -galactosidase	-	-	-
Assimilation of :			
Glucose	+	+	+
Arabinose	-	-	-
Mannose	+	+	+
Mannitol	+	+	+
N-acetyl-glucosamine	+	+	+
Maltose	-	-	-
Potassium gluconate	+	+	+
Capric acid	+	+	+
Adipic acid	-	+	+
Malate	+	+	+
Trisodium citrate	+	+	-
Phenylacetic acid	+	+	+
Oxidase	+	+	+

表二 30 株 *B. pseudomallei* 菌株之抗生素最低抑菌濃度結果統計表

菌株數	MIC($\mu\text{g/mL}$)								
	AN	AMC	CAZ	C	GM	IPM	LVX	TZP	SXT
21	>32	8/4	4	≤ 4	>8	≤ 1	2	$\leq 4/4$	$\leq 0.5/9.5$
4	>32	8/4	4	≤ 4	>8	≤ 1	2	$\leq 4/4$	1/19
2	>32	8/4	4	≤ 4	>8	≤ 1	≤ 1	$\leq 4/4$	$\leq 0.5/9.5$
1	>32	8/4	4	≤ 4	>8	≤ 1	4	$\leq 4/4$	$\leq 0.5/9.5$
1	>32	8/4	8	≤ 4	>8	≤ 1	2	$\leq 4/4$	$\leq 0.5/9.5$
1	>32	$\leq 4/2$	4	≤ 4	>8	≤ 1	≤ 1	$\leq 4/4$	$\leq 0.5/9.5$

註：MIC=minimum inhibitory concentration; AN=amikacin; AMC=amoxicillin/clavulanic acid; CAZ=ceftazidime; C=chloramphenicol; GM=gentamicin; IPM=imipenem; LVX=levofloxacin; TZP=piperacillin/tazobactam; SXT=trimethoprim/sulfamethoxazole.



圖三 脈衝式電泳法之結果，30株 *B. pseudomallei* 可分為A型與B型二種基因型。M: lamda marker。圖列出菌株16-18, 20-24, 27-29為A型；菌株19, 25, 26, 30為B型。菌株29及30為2004年分離的菌株。

誌謝

感謝奇美醫學中心檢驗科細菌室徐惠靜組長，協助確認細菌培養結果。

參考文獻

- 1.行政院衛生署疾病管制局(2007, 6月5日)·疾病介紹：類鼻疽·摘自 http://www.cdc.gov.tw/sp.asp?xdurl=disease/disease_content.asp&id=1668&mp=1&ctnode=/498
- 2.Cheng AC, Currie BJ: Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management. Clin Microbiol Rev 2005;18:383-416.
- 3.Wuthiekanun V, Smith MD, White NJ: Survival of *Burkholderia pseudomallei* in the absence of nutrients. Trans R Soc Trop Med Hyg 1995;89:491.

4. Gal D, Mayo M, Smith-Vaughan H, et al: Contamination of hand wash detergent linked to occupationally acquired melioidosis. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71:360-2.
5. Chen YS, Chen SC, Chen CM, et al: Effects of soil pH, temperature and water content on the growth of *Burkholderia pseudomallei*. *Folia Microbiol (Prague)* 2003;48:253-6.
6. Currie BJ, Jacups SP: Intensity of rainfall and severity of melioidosis, Australia. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1538-42.
7. Novak RT, Glass MB, Gee JE, et al: Development and evaluation of a real-time PCR assay targeting the type III secretion system of *Burkholderia pseudomallei*. *J Clin Microbiol* 2006;44:85-90.
8. Dharakul T, Songsivilai S, Smithikarn S, et al: Rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* in blood cultures by latex agglutination using lipopolysaccharide-specific monoclonal antibody. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:658-62.
9. Khupulsup K, Petchchai B: Application of indirect hemagglutination test and indirect fluorescent antibody test for IgM antibody for diagnosis of melioidosis in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1986;35:366-9.
10. Dharakul T, Songsivilai S, Viriyachitra S, et al: Detection of *Burkholderia pseudomallei* DNA in patients with septicemic melioidosis. *J Clin Microbiol* 1996;34:609-14.
11. Kunakom M, Raksakait K, Sethaudom C, et al: Comparison of three PCR primer sets for diagnosis of septicemic melioidosis. *Acta Trop* 2000;74:247-51.
12. Walsh AL, Wuthiekanun V: The laboratory diagnosis of melioidosis. *Br J Biomed Sci* 1996;53:249-53.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. M100-S16, 2006.
14. Bart JC, Mark M, Nicholas MA, et al: A cluster of melioidosis cases from an endemic region is clonal and is linked to the water supply using molecular typing of *Burkholderia pseudomallei* isolates. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:177-9.
15. 李允吉, 劉建衛, 陳堯生: 類鼻疽。感控雜誌 2005;15:45-2。
16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
17. White NJ: Melioidosis. *Lancet* 2003;361:1715-22.

18.Inglis TJ, Chiang D, Lee GS, et al: Potential misidentification of *Burkholderia pseudomallei* by API 20NE. *Pathology* 1998;30:62-4.

19.Centers for Disease Control and Prevention: Biological and chemical terrorism: strategic plan for preparedness and response. *MMWR* 2000;49:1-14.

Microbiologic Diagnosis for an Outbreak of Melioidosis

Chao-Tai Lee^{1,4}, Yin-Ching Chuang³, Bruno Man-Hon Cheung², Tong-Nan Liao⁴, Chieh-Jen Wu¹

¹Department of Clinical Laboratory and ²Division of Infectious Diseases, Tainan Municipal Hospital, Tainan, Taiwan, ³Infection Control Committee, Chi-Mei Medical Center, Tainan, Taiwan, ⁴Chung Hwa University of Medical Technology, Tainan, Taiwan

Melioidosis, an infectious disease caused by *Burkholderia pseudomallei*, is endemic in northern Australia and southeast Asia. Melioidosis takes major forms as localized skin infection, pulmonary infection and blood stream infection. Patients with underlying chronic systemic illness and immunocompromised status are easily affected by *B. pseudomallei* and result in septic shock and fatal septicemia. Before 2005, only a few cases of melioidosis were reported in Taiwan and only two cases had ever been confirmed at our laboratory. In July 2005, owing to the flood caused by Typhoon Haitang, an outbreak of melioidosis was found in southern Taiwan. Totally 28 cases were identified in our hospital, All of them were confirmed by Centers for Disease Control, Taiwan. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) identified two different genotypic strains in these cases, which also confirmed this outbreak event of melioidosis. In this report, the general clinical procedures and methods of identification of *B. pseudomallei* in microbiology laboratory were provided. (*Infect Control J* 2008;18:205-16)

Key words: Melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, outbreak