

2019年蘭嶼地區鼠媒傳染病監測調查

陳國卿^{*}、謝博軒、黃信憲、高治華、郭明德、洪耀文、
張聿秀、梁忠誌、林珮如、吳玉屏、金遠凡、林文智、
鄭仙忠、陳正忠、謝欣倫、林昌棋

摘要

蘭嶼屬亞熱帶島嶼型氣候，很適合各種鼠媒病原菌孳生，恙蟲病病例居高不下。在公衛監控和維護民眾健康的信念下，國防醫學院預防醫學研究所於2019年4月執行鼠類相關傳染病之監測調查計畫，進行野外捕鼠、收集血液及組織器官、採集體外寄生蟲。實驗室採乳膠凝集測試法(LA)、間接免疫螢光分析(IFA)、聚合酶連鎖反應(PCR)等方法，檢測鼠疫桿菌、Q熱病原體、鉤端螺旋體菌、恙蟲病立克次體之病原。野外捕鼠：老鼠捕獲率16.0% (41/262)，組織病變率56% (23/41)，恙蟎寄生率100% (41/41)，恙蟎指數202 (8,300/41)。鼠類血清抗體檢測結果：Q熱病原體抗體陽性率3% (1/29)，恙蟲病立克次體抗體陽性率76% (31/41)。核酸PCR檢測結果：Q熱病原體陽性率為10% (1/10)，鉤端螺旋體菌陽性率為40% (4/10)，恙蟲病立克次體陽性率為66% (27/41)。由實驗室數據得知蘭嶼地區潛存著Q熱病原體、鉤端螺旋體菌、恙蟲病立克次體的病原。此監測調查結果值得相關衛生單位參考防範，應加強環境衛生、滅鼠、民眾遊客衛教，在野地活動時，必需做好防護，民眾有不明發燒，一定要就醫，對症用藥。

關鍵字：蘭嶼、鼠疫桿菌、Q熱病原體、鉤端螺旋體菌、恙蟲病立克次體

緣起

蘭嶼是一個純樸古老的火山小島，位於臺灣本島東南方的西太平洋上，東經121度30.08–121度36.22，北緯22度00.06–22度05.07，距離西方鵝鑾鼻約70公里，是離島中較為封閉的小島。該地區屬於亞熱帶氣候、植物及動物相多元，

國防醫學院預防醫學研究所
通訊作者：陳國卿^{*}
E-mail：kuoching44@gmail.com

投稿日期：2019年07月29日
接受日期：2019年10月14日
DOI：10.6524/EB.202105_37(9).0001

很適合節肢動物及老鼠生長，更適合各種鼠媒病原菌孳生。如鼠疫桿菌、Q 熱病原體、鉤端螺旋體菌、恙蟲病立克次體，尤其地里恙蟎(*Leptotrombidium deliense*)寄生在亞洲家鼠(*Rattus tanezumi*)身上，寄生率達 100%，其恙蟲病立克次體(*Orientia tsutsugamushi*)的感染率很高[1,2]，是恙蟲病的好發地區。

鼠疫桿菌(*Yersinia pestis*) [3]為革蘭氏陰性菌，屬於第一類法定傳染病，在人類歷史上多次大流行，造成非洲、歐洲及亞洲等極大的傷亡，即歷史上著名的黑死病。鼠疫疾病分為局部淋巴腺炎之腺鼠疫、敗血性鼠疫及吸入飛沫感染的肺鼠疫。腺鼠疫主要由被感染的跳蚤叮咬；肺鼠疫藉由空氣散播，吸入飛沫而感染，感染後潛伏 7 天而發病，發病時出現發燒、寒顫、不適、虛脫、白血球增多等症狀，由於死亡率很高，對人類威脅性很大。目前流行地區為南美洲、非洲。臺灣最早在 1896 年發生，1901 年與 1904 年這二年最嚴重，1950 年金門曾發生病例，1953 年後雖然宣告絕跡，但各項預防性的檢測，還是需要維持。

Q 熱致病原(*Coxiella burnetii*) [3-5]為革蘭氏陰性菌，屬於第四類法定傳染病，以牛、羊為主要宿主。傳染方式為：動物感染 Q 熱致病原，排出體外之胎盤組織、羊水、子宮排出物、乳汁、排泄物等污染土壤，再藉由空氣微粒或塵埃傳播病原。潛伏期約 2-3 週，被感染後有發燒、盜汗、畏寒、頭痛、身體不適、肌肉酸痛、肝炎或肺炎，病後有持久的免疫力。一般民眾避免跟動物親密接觸，尤其正在分娩或產後之牛羊。從事農場員工、獸醫、皮毛、畜牧業者及相關研究人員在工作時，均必須穿戴適當的防護裝備，避免感染。目前國內未引進 Q 熱疫苗。

鉤端螺旋體菌屬(*Leptospira*) [3]為螺旋菌科(*Spirochaetales*)致病性鉤端螺旋菌，屬於 *Leptospira interrogans* 菌種。在世界各地，不論鄉村或城市皆有鉤端螺旋體病發生，感染對象如：農民、礦工、獸醫、畜牧業、漁民及軍人等，可經由食入或接觸受感染動物之尿液，組織污染的水、土壤、食物。症狀包括：發燒、頭痛、腸胃不適、畏寒、紅眼、肌肉酸痛，嚴重者有腎衰竭、黃疸、出血現象。國內已有快篩檢驗試劑。

恙蟲病(*O. tsutsugamushi*) [2,3,6,7,8,9]屬於第四類法定傳染病，其臨床症狀為猝發且持續性高燒、頭痛、背痛、惡寒、盜汗、淋巴結腫大。恙蟎叮咬處出現無痛性的焦痂，一周後皮膚出現紅色斑狀丘疹，會併發肺炎或肝功能異常。病人如無適當治療，死亡率高達 60%。以前醫療不發達的時代，蘭嶼的居民感染恙蟲病時，服用椰子水退燒，現在一定要就醫治療。這些恙蟲病的衛教，臺東縣政府相關單位，應在每年年初，預先知會蘭嶼鄉衛生局，事先做好恙蟲病防治知識的宣導，讓觀光客來訪時，免除恙蟲病的威脅。

國防醫學院預防醫學研究所配合國防部軍醫局之指導，於 2019 年 4 月 15 日至 4 月 19 日由所長謝博軒上校帶領，拜訪蘭嶼鄉鄉長夏曼·迦拉牧、秘書陳建逢，討論鼠類相關之防疫工作及發展相關疾病快速篩檢等方案。鄉長強調蘭嶼醫療資源匱乏，尤其是鼠媒流行病的預防知識，希望預醫所鼠媒相關疾病[10-11]監測調查的結果，提供臺東縣衛生局參考，以改善蘭嶼的醫療衛生環境。

材料與方法

一、採樣方式

(一) 地點選擇：

1. 根據疾病管制署網站查詢當地相關傳染病。
2. 疫情專家、學者、當地駐軍醫政官及衛生機關專員討論會後，整理疫情有關之區域。
3. 往年疫情調查的實驗結果。

做為優先捕捉地點，選擇社區、野地與軍營。野地包含農地、廢耕地、或是茂密草叢。社區選擇市場、人們居住社區周邊與房舍。軍營則是混合兩種，包含茂密草地與居住營舍、福利站周邊等。

(二) 鼠籠樣式：外觀為長方形約50–60公分長、高約20–30公分，以金屬網格製成，籠子內部有一個鈎環，鈎環上可以勾上誘餌，當鼠類進入籠子內部，試圖要取食誘餌時，鈎環受到擾動，會連動控制柵門的開關，而將柵門關閉，完成捕捉。

(三) 選擇捕捉地點掛上誘餌，野外為帶殼花生，住屋部落區域則以肉乾為主，於午後開始佈放鼠籠約5個地點，每點約20個鼠籠，隔日上午進行回收作業。

二、採集地點

本次在蘭嶼椰油、野銀、朗島、紅頭部落、青青草原、核廢料貯存場旁等7處採樣點，分布於該島各處。

三、捕獲樣本檢體收集

(一) 麻醉

將捕捉之老鼠以尼龍網捆住固定，並注射舒泰50 (Zoletil 50®, Virbac Lab. 06516 Carros France)動物用非管制品麻醉劑，原液稀釋10倍後，依鼠隻重量給藥，如小黃腹鼠與溝鼠，給予劑量約在1–3 cc之間。

(二) 檢體收集

1. 抽血：麻醉後進行抽血，抽血完成放置約4小時後，離心（3,000 rpm，30分鐘）分離血清，-70°C保存。
2. 體外寄生蟲：以梳子檢查跳蚤、硬蜱，再觀察耳朵部位是否有恙蟎幼蟲，捕捉體外寄生蟲，記錄數量，4°C保存。
3. 解剖：將鼠體解剖，取出肝、腎、脾、肺等組織器官，-70°C保存。
4. 紀錄：將老鼠編號，紀錄採集日期、地點、鼠種、性別，體外寄生蟲種類、數量，組織病變等情形。

四、乳膠微粒凝集測試(F1 Antigen-Antibody, LA) [12]

血清樣本，56°C水浴30分鐘，以稀釋緩衝液做2X系列稀釋，加入已接上F1乳膠試劑 (Catalog code:DS05R, 4.97 um) 之96孔盤內，隔夜觀察其凝集效價。

五、免疫螢光分析(immunofluorescence assay, IFA)方法

分析Q熱病原體及恙蟲病立克次體的抗體效價。Q熱病原體IFA antigen slide為Q-Fever IFA IgG Kit IF0200G (FOCUS) 豐技生物科技公司提供。恙蟲病立克次體IFA antigen slide為實驗室自備的菌株，包括:Karp、Kato及Gilliam strain混合3種菌株於檢測玻片上[13]。

血清樣本以PBS做1:40稀釋，加到含有Q熱病原體或立克次體的抗原孔盤上，放置30分鐘，PBS沖洗2次，加入二次混合抗體，經過PBS做1:100稀釋後，於37°C培養箱放置30分鐘，PBS沖洗2次，進行鏡檢。以螢光顯微鏡觀察(Olympus IX71, Tokyo, Japan)，樣本血清中若含有Q熱病原體或恙蟲病立克次體抗體反應，將會呈現亮綠色螢光。

六、聚合酶連鎖反應(PCR)方法檢測恙蟎DNA之Q熱病原體[14]、恙蟲病立克次體[13,15]、鉤端螺旋體基因[16,17]。

(一) DNA萃取：

1. 取樣：老鼠之肝臟、尿液，身上之蟬、恙蟎，各放入裝有PBS之1.5毫升離心管。
2. 樣本磨碎：取樣完成之離心管，進行離心(8,000 rpm)後去除上清液，加入75%酒精一滴消毒或PBS清洗，離心(8,000 rpm)後去除上清液，並再重複上述步驟一次。加入sucrose-phosphate-glutamate (SPG) buffer後磨碎，加入SPG buffer至600 ul，並取200 ul進行萃取，剩餘400 ul進行凍存。
3. 以QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN Cat.No.51306進行DNA萃取。

(二) PCR偵測：

1. 使用nested PCR偵測恙蟲病立克次體之DNA

(1)引子(primers)選用

RTS-6: 5-GTTGGAGGAATGATTACTGG-3

RTS-7: 5-AGCGCTAGGTTTATTAGCAT-3

RTS-8: 5-AGGATTAGAGTGTGGTCCTT-3

RTS-9: 5-ACAGATGCACTATTAGGCAA-3

- (2) 第一層PCR使用primers為RTS-8與RTS-9，加5 ul之恙蟎萃取DNA。
- (3) 反應狀態：94°C作用2分鐘，「94°C作用30秒，55°C作用40秒，72°C作用1分鐘」重複35次，72°C作用10分鐘，反應結束。
- (4) 第二層nested PCR使用primers為RTS-6與RTS-7，使用第一層完成之產物1 ul作為反應模板。
- (5) 反應狀態：94°C作用2分鐘，「94°C作用30秒，55°C作用40秒，72°C作用1分鐘」重複30次，反應結束。
- (6) 電泳跑膠確認：取10 ul欲偵測之PCR產物約700 bp，並以電泳跑膠方法以GelRed染色，照UV光做陽性結果確認。

2. 使用PCR偵測鉤端螺旋體菌之DNA

(1) 引子(primers)選用

A. 第一對引子

LipL32-270F: CGCTGAAATGGGAGTTCGTATGATT

LipL32-692R: CCAACAGATGCAACGAAAGATCCTTT

B. 第二對引子

16S-A: GGCGGCGCGTCTTAAACATG

16S-B: TTCCCCCATTGAGCAAGATT

C. 第三對引子

G1: CTGAATCGCTGTATAAAAAGT

G2: GGAAAACAAATGGTCGGAAG

(2) 取反應液體21 ul，加入各1 ul的第一對引子、第二對引子、第三對引子及鼠尿萃取之DNA。

(3) 反應狀態：94°C作用2分鐘，「94°C作用30秒，50°C作用30秒，72°C作用30秒」重複30次，72°C作用10分鐘，反應結束。

(4) 電泳跑膠確認：取8 ul欲偵測的PCR產物，第一對引子PCR產物425 bp、第二對為331 bp、第三對為285 bp，以電泳跑膠方法GelRed染色，照UV光做陽性結果確認。

3. 使用即時PCR偵測Q熱病原體(*Coxiella burnetii*)之DNA[16]

(1) 引子(primers)選用

從Q熱病原體的transposase gene(IS1111, Accession No:M80806-1)設計引子對及探針序列如下：

Trans Q1: 5'-TGCCAAGCGATTTTATGAAGAG-3'

Trans Q2: 5'-TTCATCCGCGGTGTTAATCC-3'

探針：FAM-TCCCGTTGATTTTAGCGAGCGAAGC-MGB

(2) 反應條件：使用Roche的Lightcycler Nano機器及Lightcycler FastStart DNA Master HybProbe 03515575001的試劑組，5 uM引子和2.5 uM的探針配製成16 ul的Master Mix加上4 ul肝臟或蜱萃取的DNA進行反應。

(3) 反應狀態：95°C作用10分鐘，「95°C作用10秒，60°C作用30秒」重複45次，40°C作用1分鐘，反應結束。

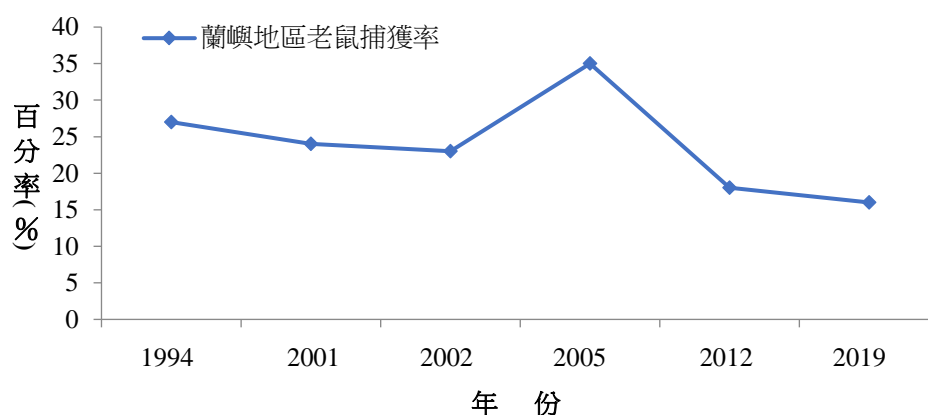
(4) 電泳跑膠確認：取10 ul欲偵測之PCR產物約72 bp，並以電泳跑膠方法GelRed染色，照UV光做陽性結果確認。

結果

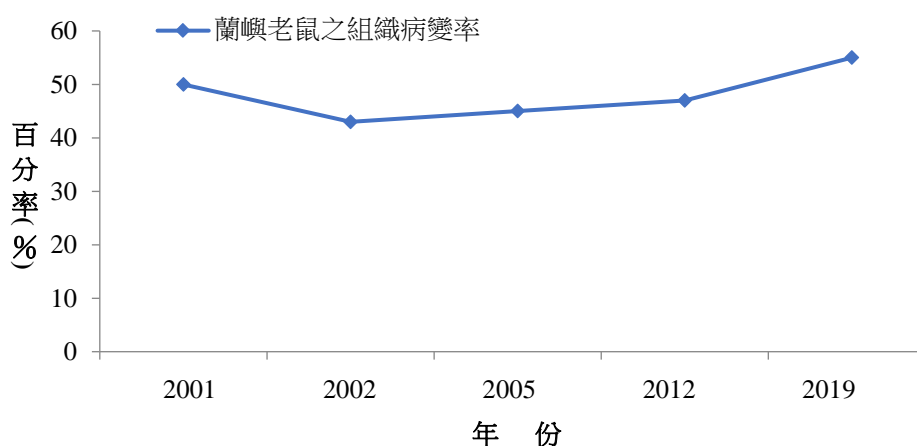
本次(2019年)在蘭嶼地區捕獲老鼠41隻，其中有1隻鬼鼠(*Bandicota indica*)、40隻亞洲家鼠(*R. tanezumi*)，老鼠捕獲率16% (鼠捕獲數/佈鼠籠數) (41/262)。捕捉到的亞洲家鼠，其組織病變率56% (鼠病變數/鼠捕獲數) (23/41)，沒有發現跳蚤。卵形硬蜱(*Ixodes ovatus*)及粒形硬蜱(*Ixodes scapularis*) [18]寄生率53.6%

(帶蜚鼠量/捕獲量) (22/41)、指數 1.05 (蜚總數/鼠捕獲數) (43/41)。地里恙蟎 (*Leptotrombidium deliense*) 寄生率 100% (帶恙蟎鼠量/捕獲量) (41/41)、指數 202 (恙蟎總數/鼠捕獲數) (8,300/41)。老鼠血清測鼠疫 F1 抗體，結果為陰性，測 Q 熱抗體陽性率 3% (1/29)，測恙蟲病立克次體感染陽性率 76% (31/41)。肝病變的老鼠 24 隻，抽取肝臟 DNA，以即時 PCR 檢測 Q 熱病原體基因，陽性率 4% (1/24)。卵形硬蜚及粒形硬蜚 10 隻，抽取其 DNA，以即時 PCR 檢測 Q 熱病原體基因，陽性率 10% (1/10)。收集尿液 10 件，抽取其 DNA，以 PCR 檢測致病性鉤端螺旋體菌基因，陽性率 40% (4/10)，其 PCR 產物經定序和 NCBI 序列分析比對後，結果近似於 *Leptospira interrogans* strain FMAS，相似度為 99.02% (基因序號 CP039256.1)。收集老鼠身上之恙蟎，抽取其 DNA，以 PCR 檢測恙蟲病立克次體基因，陽性率 66% (27/41)。

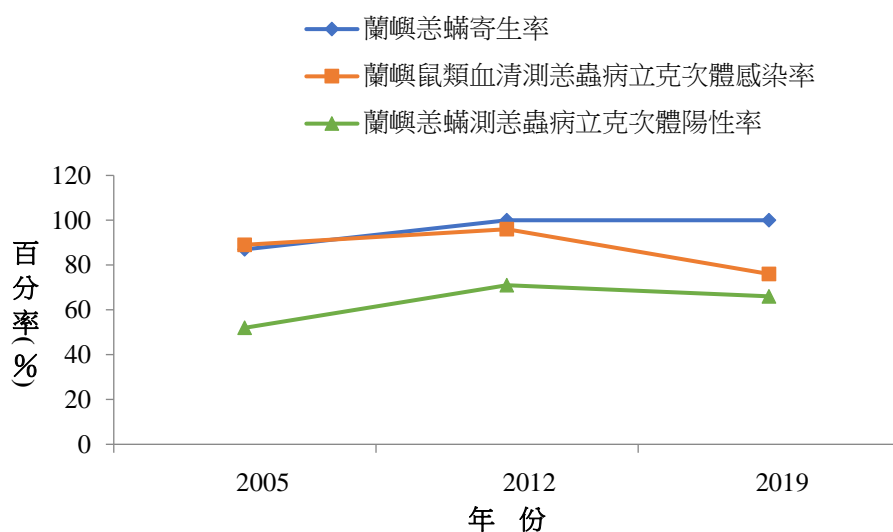
本次監測調查結果：蘭嶼地區老鼠捕獲率 16%，我們把 1994 年至 2019 年間的結果，用圖一顯示出來，作為參考



圖一、1994–2019 年蘭嶼老鼠捕獲率，2005 年老鼠的密度高達 34%，當時曾通知蘭嶼鄉公所全面滅鼠，2012 年後滅鼠見成效，老鼠的密度逐漸減少。



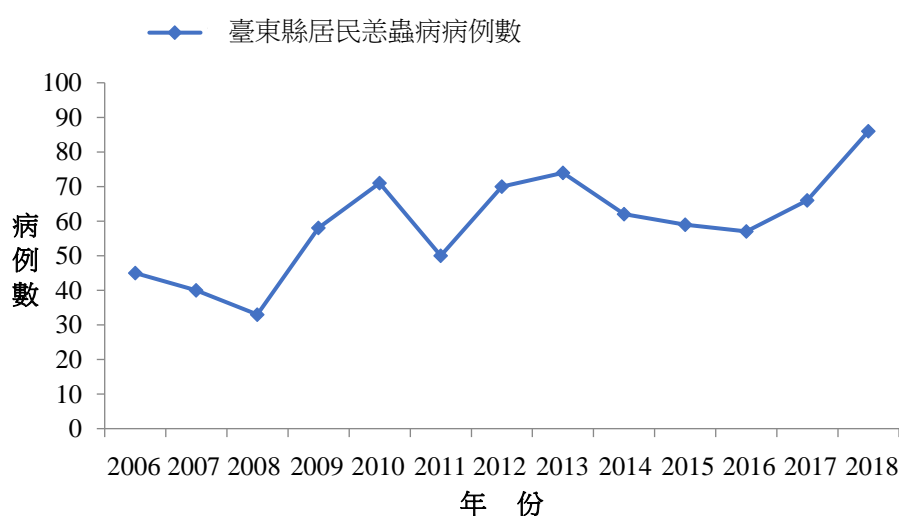
圖二、2001–2019 年蘭嶼老鼠組織病變率，老鼠組織病變率均超過 40%，已知會蘭嶼鄉公所改善環境衛生。



圖三、顯示 2019 年蘭嶼地區：1.老鼠恙蟎寄生率 100%。2.老鼠恙蟲病立克次體感染率 76%。3.寄生老鼠之恙蟎的恙蟲病立克次體陽性率 66%。

檢討與建議

一、根據衛生福利部疾病管制署 2006–2019 年傳染病統計資料顯示[11,13]，蘭嶼地區是我國恙蟲病的好發疫區之一，去年全國恙蟲病病例共 386 例，臺東地區有 86 例，佔全國比率之 22%（如圖四）。到今年 6 月中旬，全國恙蟲病病例共 141 例，臺東病例 24 例高居全國之首，這次蘭嶼監測結果，老鼠身上帶恙蟎率 100%，野外老鼠恙蟎指數更高達 202，帶恙蟎的老鼠，有 76% 被恙蟲病立克次體感染；鼠類身上的恙蟎幼蟲有 66% 帶有恙蟲病立克次體，這些數據顯示應該提高警覺，加強注意恙蟲病的發生。



圖四、2006–2018 年疾管署公布之臺東地區恙蟲病病例數（含蘭嶼）

建議蘭嶼居民注意要點：

- (一) 居民住家周圍的雜草必須維持修剪，以破壞蜚、蟻生態環境，並噴灑亞滅靈或殺蜚、蟻劑，以防範雜草內之蜚、蟻幼蟲攀爬。
- (二) 住家必須妥善管理廚餘，勿隨意傾倒，廚餘桶需確實加蓋密閉，並清除周邊食物殘渣。廚房排水溝需每日清理，不留食物殘渣，廚房、餐廳之室內、外相通孔道可套上鐵絲網，防止鼠類進入室內。
- (三) 加強滅鼠，於鼠類經常出入位置放置毒餌或粘鼠板。
- (四) 民眾和旅客到郊區、野地雜草區活動時，先前必須注意個人之防護，包括穿著長袖、長褲，減少身體暴露，提防恙蟲的叮咬或使用歐護等忌避劑。事後須沖浴，預防蜚、蟻附著，並注意是否有被叮咬痕跡。如事後有不明之發燒，一定要告訴醫生是否為病媒所引起之感染，以能及時對症用藥。
- (五) 避免接觸野生小動物包括嚙齒類動物、野貓及野狗等。對於飼養之貓犬須定時除蟲，防止蜚（壁蝨）、蚤等附著，做好防護措施，防止因病媒叮咬而染病。

二、據疾病管制署傳染病統計資料查詢系統顯示[11]，2018年至2019年6月底Q熱全國病例31例，臺東縣0例。雖然沒有病例通報，但是本次檢驗出Q熱病原體[3,6,9,10]陽性率10%，蘭嶼地區很多野放的羊群，羊群在野地、住家隨處亂跑，其排泄物會增加Q熱病原體的散播與傳染，預防注意如下：

- (一) 勿接觸野放的羊群及其排泄物。
- (二) Q熱危險區域羊場環境要定期消毒。
- (三) 母羊懷孕及分娩時，要特別注意Q熱病原體的污染及感染。
- (四) 飲用消毒過的牛奶及奶製品。
- (五) 治療方面，四環黴素類(doxycycline)，對Q熱的治療有效，需遵從醫囑連續服用。

三、據疾病管制署傳染病統計資料查詢系統顯示[11]，2018年至2019年6月底鉤端螺旋體菌全國病例111例，臺東縣0例。雖然沒有病例通報，但是本次檢驗出鉤端螺旋體菌陽性率40%，以下的預防措施還是要注意：

- (一) 如有皮膚外傷，應避免水溝涉水、接觸或食入污染的水源，傷口必須要確實包紮等適當防護。
- (二) 全島的自來水飲水必須覆蓋完全。
- (三) 對傳染宿主（如嚙齒類動物）要加強控制及隔離，身上傷口避免接觸到，被老鼠排泄物污染的水源，減少鉤端螺旋體菌感染的機會。

四、本次疫情監測調查期間，上校謝所長帶領團隊，拜訪蘭嶼鄉長夏曼·迦拉牧，強調國防醫學院預防醫學研究所為疾病偵檢防治工作盡心盡力，希望能在鼠媒傳染病的篩檢，發展出更快、更好的檢測方法，進一步以病人血清用快篩紙碟的方式，快速判定出致病原，以對症下藥，確保族人與遊客的健康。

五、蘭嶼的鼠種只有亞洲家鼠(*R. tanezumi*)，2009年發現鬼鼠(*B. indica*)入侵，我們2012年在蘭嶼椰油村野外捕捉到鬼鼠，今年在同一地區也抓到鬼鼠，證實蘭嶼地區已有鬼鼠入侵，鬼鼠對於鼠媒疾病的散播，是否不同於亞洲家鼠？未來將持續監控。

誌謝

本計畫承蒙國防部經費支持，臺東縣衛生局、蘭嶼鄉公所、蘭嶼民間友人協助及國防醫學院預防醫學研究所參與本計畫的同仁，使工作得以順利進行，謹此致謝。

參考文獻

1. 連日清：恙蟲病之感染防治及恙蟎之生活。台灣醫界 1973；36：74–82。
2. 周欽賢、連日清、王正雄：醫用昆蟲學。第二版。臺北：南山堂出版社，1992：536。
3. 衛生福利部疾病管制署：傳染病統計資料查詢系統恙蟲病資料。取自：<https://nidss.cdc.gov.tw/ch/>。
4. 陳慧玲、石玲如、陳豪勇等：近四年來台灣地區Q熱之發生概況。台灣醫學 1997；1(5)：632–7。
5. 陳柏齡、李南瑤、柯文謙。Q熱-台灣地區值得重視的新興感染症。內科學誌 2008；19(1)：44–9。
6. 李貴昌、栗冬梅、李炎等：2006~2016我國恙蟲病流行特徵分析。病媒生物監測 2018；2：129–38。
7. 王錫杰。金門縣恙蟲病病媒恙蟎(trombiculid mites)防治田野報告。疫情報導 2005；21(1)：36–43。
8. 金遠凡、郭明德、翁明輝等：2003至2015年澎湖縣恙蟲病病媒採樣調查結果與恙蟲病年病例數之相關性分析。疫情報導 2016；32(19)：409–17。
9. 王錫杰、鍾兆麟、林鼎翔等：金門縣鼠類恙蟲病病媒與病原體調查研究。台灣昆蟲 2004；24：257–72。
10. 王錫杰。台灣地區鼠種與鼠類傳播之疾病。疫情報導 1995；11(10)：266–72。
11. 林宏基、林昌棋、郭明德等：鼠源性人畜共通傳染病田野調查手冊。國防醫學院預防醫學研究所，2013。
12. Chu M, Wilmoth BA, Leon G, et al. Latex Agglutination (LA) Test for Detecting Anti-*Yersinia pestis* F1 Antigen Antibodies. Laboratory Manual of Plague Diagnostic Tests. 1997; 42–3.
13. Lin PR, Tsai HP, Weng MH, et al. Field assessment of *Orientia tsutsugamushi* infection in small mammals and its association with the occurrence of human scrub typhus in Taiwan. Acta Trop 2014; 131: 117–23.

14. Huang HH, Hsu HL, Liang CC, et al. A quantitative real-time PCR assay for the quantification of *Coxiella burnetii*. The 11th International Symposium on Protection against Chemical and Biological Warfare Agents. Stockholm, Sweden. 2013; 6. 3.
15. Horinouchi H, Murai K, Okayama A, et al. Genotypic identification of *Rickettsia tsutsugamushi* by restriction fragment length polymorphism analysis of DNA amplified by the polymerase chain reaction. Am J Trop Med Hyg 1996; 54: 647–51.
16. Paul NL. Leptospirosis, Clinical Microbiology Reviews. 2001; 14(2): 296–326.
17. Mérien F, Amouriaux P, Perolat P, et al. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Leptospira* spp. in Clinical Sample. 1992; 30(9): 2219–24.
18. 鄧國藩。中國經濟昆蟲誌第39冊蜱亞綱硬蜱科。北京：中國科學出版社，1991。