疫情報導 Taiwan EB
2014年4月8日 第30卷 第7期

原著文章

2012年金門地區鼠類感染查菲艾利希氏體之調查

翁明輝、蔡惠坪、林珮如、陳國卿、郭明德、劉文燦

國防醫學院預防醫學研究所

摘要

本野鼠感染查菲艾利希氏體調查於 2012 年 10 月 16 日至 18 日在金門本島進行，分別由 108 隻鼠包括溝鼠(*Rattus norvegicus*)2 隻、小黃腹鼠金門亞種(*Rattus losea exiguus* 以下簡稱小黃腹鼠)73 隻、以及錢鼠(*Suncus murinus*)33 隻，取得肝脾等內臟檢體，萃取 DNA，經巢式聚合酶鏈反應(nested PCR)檢測後結果發現 108 隻野鼠有 16 隻(14.8%)檢出查菲艾利希氏體 DNA，鼠肝臟及脾臟分別有 6 隻及 12 隻呈陽性反應，其中 2 隻兩者皆呈陽性反應。流行地理分布顯示，10 個誘捕地點中有 8 個地點捕獲之野鼠測得此菌之 DNA，由此結果推測查菲艾利希氏體可能普遍分佈於金門野外地區，因此當發現蜱叮咬之不明熱時，本調查結果可以提供該地區蜱媒不明熱流行病診斷之參考。

關鍵字：查菲艾利希氏體、小黃腹鼠金門亞種、巢式聚合酶鏈反應、肝臟、脾臟

前言

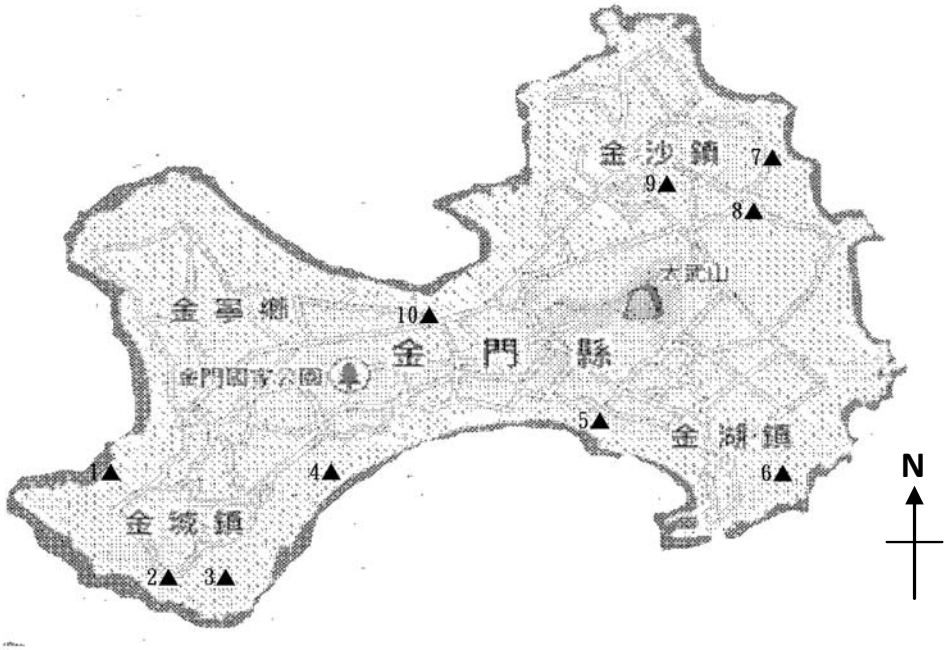
人類單核球艾利希氏體症由查菲艾利希氏體(*Ehrlichia chaffeensis*)所引起，此菌爲蜱媒叮咬感染人畜之細胞內絕對寄生菌，分類上歸屬於立克次體目(Rickettsiales)，無形體科(Anaplasmataceae) [1]。此菌於 1986 年在美國阿肯色州(Arkansas)首次由被蜱叮咬而引起未知病因的病例血液抹片中發現，在美國向來被認爲是家畜病原菌[2]，1991 年經由細胞培養分離出，並命名爲查菲艾利希氏體。查菲艾利希氏體症現已爲一種新興疾病，人類感染症狀可由無病徵之抗體陽轉反應到死亡病例均有[3]。此菌潛伏期 1-2 周，平均 9 天，感染症狀主要爲發燒(>95%)、頭痛(60-75%)、肌肉疼痛(40-60%)、反胃(40-50%)、關節疼痛(30-35%)、不舒服感(30-80%) [4]，其他有腸胃不適、淋巴結腫大，脾臟腫大及少數皮膚出疹。少數有腎衰竭、中樞神經症狀及呼吸衰竭等嚴重症狀[5]。HME 常見之自然帶原者爲犬、鹿和羊，主要病媒在美國爲美洲花蜱(*Amblyomma americanum*)[6]。此菌分佈除美洲、歐洲、泰國、東北亞[7]外，2009 年本所也曾檢測到金門地區有查菲艾利希氏體之帶菌蜱類 [8]。而韓國以及大陸福建地區鼠類脾臟都曾檢出 [9、10、11]。近年來，兩岸全面互通，金門位於大陸來台的要衝，與福建地區有共同的鼠種[12、13]。

當今金門地區大量裁軍，空營區野地留下大面積未開發或放牧草原區，在野鼠密度高，病媒蜱密度高 [14]等高度感染潛在危險的情形下，此菌在金門鼠類間感染分布狀況仍不明，因此繼 2009 年發現查菲艾利希氏體帶菌蜱之後，擬對此地區相關鼠類之查菲艾利希氏體帶菌狀況進行調查，以提供該地區蜱媒不明熱流行病診斷之參考。

材料與方法

一、採集地點

爲 2012 年 10 月 16 日至 18 日在金門本島捕鼠 3 天，捕鼠採集地點爲山后民俗村、陽翟、瓊林、泗湖、東沙、古崗、水頭、新塘等野地以及沙美紅旗豬場、漁村漁港等 10 個地點(圖一)。



圖一、2012 年金門地區查菲艾利希氏體帶菌鼠調查地點示意圖。

1-水頭，2-古崗，3-東沙，4-泗湖，5-漁村，6-新塘，7-山后民俗村，8-陽翟，9-沙美紅旗豬場，10-瓊林。

二、鼠類誘捕

於午後實施，放置鼠籠，隔天一早即回收，誘捕活鼠之誘餌在野外以帶殼花生，港口或豬舍則以豬肉乾爲誘餌。

三、鼠內臟檢體之採集

將鼠以尼龍網固定，以舒泰 50(Zoleti 50®,Virbac Lab. 06516 Carros France) 動物用非管制品麻醉劑，10 倍稀釋後，依鼠體大小及種類，每隻經由腹腔注射 0.05-1.0ml 麻醉，並編號記錄採集地點、鼠種及性別。然後進行抽血以及解剖，採集鼠臟器包括肝及脾臟。檢體取下後置入 NUNC 2ml 冷凍小管，瓶蓋密閉後，先浸泡於乾冰酒精中 1min，然後急速存於乾冰箱內，以乾冰冷凍保存，以快遞送回實驗室，保存於-70℃冰櫃中，以備後續病原菌之檢測。

四、查菲艾利希氏體之檢測

(一) DNA 之萃取：取約 10mg 鼠肝或脾臟，依照 QIAamp® DNA mini kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) 說明所敘述步驟抽取 DNA。

(二) 引子(primer)：與2009年檢測艾利希氏體相同之引子組[8]，引用已發表期刊之序列，分別為ECC、ECB用以篩選艾利希氏體 (*Ehrlichia* spp.)之16S rRNA基因，HE1、HE-3及ECH16S-17F、ECH16S-97R則用以篩選查菲艾利希氏體之16S rRNA基因，由基龍米克斯生物科技公司合成。ECH16S-38PRO為即時定量聚合酶鏈反應探針(Real Time PCR Probe)，由ABI公司合成，如表一。陽性對照組為*Ehrlichia chaffeensis* strain Arkansas 16S ribosomal RNA gene 479bp，配合引子對ECC、ECB，由基龍米克斯生物科技公司基因合成。

表一、金門地區鼠檢體之查菲艾利希氏體檢測用引子

Primer	Sequence (5’-3’)	Target	Gene	Size(bp)
ECC	AGAACGAACGCTGGCGGCAAGCC	*Ehrlichia.* spp.	16S	479
ECB	CGTATTACCGCGGCTGCTGGC			
HE1	CAATTGCTTATAACCTTTTGGTTATAAAT	*E. chaffeensis*	16S	389
HE-3	TATAGGTACCGTCATTATCTTCCCTAT			
ECH16S-17F	GCGGCAAGCCTAACACATG	*E. chaffeensis*	16S	81
ECH16S-97R	CCCGTCTGCCACTAACAATTATT			
ECH16S-38 PRO	FAM-AGTCGAACGGACAATTGCTTATAACCTTTTGGT -TAMARA			

五、巢式聚合酶鏈反應

反應步驟及方法與2009年檢測艾利希氏體相同 [8]，首先篩檢16S rRNA，配製引子及聚合酶混合液23μl，即 Platinum® PCR SuperMix (invitrogen) 22.5μl、引子ECC及 ECB各0.5μl充分混合，加入上述待測DNA 2μl。然後置入PCR反應器中(MJ Research, PTC 200, Bio-Rad, U.S.A.)，反應程序設定 94℃反應 5min 使DNA變性成單股。接著以 40個循環數增幅，每個循環分別是 94℃、1min先使DNA變性 (denaturation)，接著以60℃的溫度、1min使 DNA 與引子鏈合(annealing)，再以 72℃使 DNA 增幅 (extension) 1min，循環結束後，以 72℃使DNA 繼續增幅 10min，然後置於 4℃保存。接著進入Real Time PCR快速篩檢，先配製引子及聚合酶混合液9.5μl，即無菌Q水 4.0μl、TaqMan® Universal PCR Master Mix 5.0μl (Roche, USA)，10μM primer(ECH16S-17F) 0.2μl、10μM Primer(ECH16S-97R) 0.2μl、Probe ECH16S-38PRO 0.1μl，充分混合後，加入上述PCR 16SrRNA產物0.5μl。然後置入ABI Fast 7500 Real-Time PCR System 反應器 (Applied Biosystems, Foster City, Calif. USA)中，反應程序設定 95℃反應 10min 使DNA變性成單股。接著以 40個循環數增幅，每個循環分別是 95℃、15s先使DNA變性，接著以52℃的溫度、1min使 DNA 與引子鏈合。為了進一步定序確認，將上述PCR 16SrRNA產物1.0μl加入49μl已配製之引子及聚合酶混合液，

即Platinum® PCR SuperMix (invitrogen) 48 μl、引子HE1及 HE3各0.5 μl充分混合。然後置入MJ PCR反應器中，反應程序設定 94℃反應 5min 使DNA變性成單股。接著以 40個循環數增幅，每個循環分別是 94℃、1min先使DNA變性，接著以52℃的溫度、1min使 DNA 與引子鏈合，再以 72℃使 DNA 增幅 1min，循環結束後，以 72℃使 DNA 繼續增幅 10min，然後置於 4℃保存。二次PCR產物以TAE緩衝液進行初步電泳瓊脂凝膠分析，切取389bp位置膠塊，以QIAquick gel extraction kit (QIAGEN GmbH,Hilden,Germany) 將其中的產物分離出，再次以凝膠電泳確定後，送往基龍米克斯生物科技公司定序。定序結果經NCBI網站(http://www.ncbi.nlm.nih.gov) 進行序列比對。

結果

此次在 10 採樣地點分別由 108 隻鼠包括溝鼠 2 隻、小黃腹鼠 73 隻、以及錢鼠 33 隻。108 隻野鼠有 16 隻檢出查菲艾利希氏體 DNA，其中有 2 隻(KM30-52、KM30-111)鼠肝脾臟皆呈陽性反應，盛行率(Prevalent rate)爲 14.8%。經由 Real Time PCR 快速篩檢結果，鼠脾臟陽性檢出率 11.1%，肝臟 5.6%，如表二、三。流行地理分布顯示，10 個誘捕點中有 8 個地點捕獲之野鼠測出查菲艾利希氏體 DNA，即山后民俗村、陽翟、泗湖、東沙、古崗、水頭、新塘等野地草原區、以及漁村漁港，只有沙美豬場(2 溝鼠)以及瓊林(6 小黃腹鼠、2 錢鼠)未檢出。比較各誘捕地點，如表三所示，查菲艾利希氏體盛行率介於 6.7%~66.7% 之間，其中東沙誘捕點之盛行率 66.7%高過於其他地點。依鼠種感染分別統計結果，PCR 陽性帶菌鼠主要爲小黃腹鼠有 13 隻，其次爲錢鼠有 3 隻。

包含 2009 年調查發現，所有 25 個陽性檢體核酸序列與查菲艾利希氏體 *Ehrlichia chaffeensis* str. Arkansas, complete genome 以及鄰近國家如中國大陸 GQ49971 序列比對結果，其中 20 個陽性檢體爲 100%相似度，5 個陽性檢體與韓國 EU111841 及中國大陸 AF414399 爲 99%相似度，序列差異爲 1-2 個核酸，但差異位置均不同，如表四。

表二、金門地區鼠型小動物肝脾臟查菲艾利希氏體陽性檢體分佈一覽表

編號	檢體編號	來源鼠型小動物	檢體種類	採集地	盛行率**(%)
1*	KM30LI52	錢鼠	肝臟	新塘	6.7
2	KM30LI 96	小黃腹鼠金門亞種	肝臟	泗湖	5.6
3	KM30LI 101 KM30LI 102	小黃腹鼠金門亞種	肝臟	東沙	33.3
4					
5*	KM30LI 111	小黃腹鼠金門亞種	肝臟	古崗	5.9
6	KM30LI 126	小黃腹鼠金門亞種	肝臟	水頭	7.1
7	KM30SP36	錢鼠	脾臟	漁村漁港	14.3
8*	KM30SP 52	錢鼠	脾臟	新塘	6.7
9	KM30SP 57 KM30SP 63	小黃腹鼠金門亞種	脾臟	陽翟	20
10					
11	KM30SP 71	小黃腹鼠金門亞種	脾臟	山后民俗村	10
12	KM30SP 87	小黃腹鼠金門亞種	脾臟	泗湖	11.1
13	KM30SP 93				
14	KM30SP 97	錢鼠	脾臟	東沙	33.3
15	KM30SP 98	小黃腹鼠金門亞種			
16	KM30SP 109	小黃腹鼠金門亞種	脾臟	古崗	11.8
17*	KM30SP 111				
18	KM30SP 123	小黃腹鼠金門亞種	脾臟	水頭	7.1

* KM30-52、KM30-111 同一鼠體之肝臟以及脾臟檢體均爲陽性
**盛行率(Prevalent rate)= 肝臟或脾臟爲 PCR 陽性鼠數/該地區捕獲鼠數

表三、2012年金門地區查菲艾利希氏體帶菌鼠以及外寄生蜱類之調查

野外鼠類採樣地點	鼠類捕獲率*(%)	查菲艾利希氏體盛行率**(%)	蜱寄生率***(%)
東沙	50	66.7	33
陽翟	42	20	10
古崗	53	11.8	53
泗湖	44	16.7	25
山后民俗村	37	10	30
水頭	58	14.3	36
新塘	43	6.7	40
漁村漁港	39	14.3	0
瓊林	24	0	0
沙美紅旗豬場	33	0	0
平　均	42	14.8	30

*鼠類捕獲率=捕獲鼠數/佈放捕鼠籠數
**查菲艾利希氏體盛行率=地區捕獲鼠 PCR 陽性鼠數/該區捕獲鼠數
***蜱寄生率=地區捕獲鼠有蜱寄生鼠數/該區捕獲鼠數

表四、金門地區鼠型小動物及外寄生蟲查菲艾利希氏體 16S rRNA 核酸序列差異表

分 離 株	核酸序列差異位置									*相似度(%)
	78	81	87	95	160	213	215	218	326	
E.chaffeensis Arkansas	A	C	C	C	T	A	T	G	A	-
China(GQ499971)	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30F58HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30F88HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM29T35HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30T104HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30T114HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30Li52HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30Li101HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30Li102HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30Li111HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30Li126HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP36HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP57HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP63HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM 30SP71HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP93HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP97HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP98HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP109HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP111HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30SP123HME	A	C	C	C	T	A	T	G	A	100
KM30F85HME	A	C	C	C	T	A	C	G	A	99
KM30Li96HME	A	T	C	C	T	A	T	A	A	99
KM30SP52HME	A	C	C	C	T	G	T	G	A	99
KM30SP87HME	A	C	C	G	T	A	T	G	A	99
KM29T40HME	G	C	C	C	T	A	T	G	A	99
Korea(EU181141)	A	C	T	C	T	A	T	G	A	99
China(AF414399)	A	C	C	C	T	A	T	G	G	99

*與 *E.chaffeensis* Arkansas16S rRNA 核酸序列比對

討論

金門近年來大力發展觀光，但野外地區仍有大面積未開發或放牧草原地，野鼠密度偏高，小黃腹鼠爲優勢鼠種。繼2009年首次經由PCR檢測出山后民俗村小黃腹鼠體寄生蜱(粒形硬蜱若蜱KM29T40HME、鐮形扇頭蜱若蜱KM29T35HME)有查菲艾利希氏體反應後[8]，此次調查中在古崗草原區仍發現2隻小黃腹鼠之寄生蜱(鐮形扇頭蜱若蜱KM30T104HME、鐮形扇頭蜱若蜱KM30T114HME)呈帶菌陽性反應，另在陽翟及泗湖草原區發現3隻優勝病蚤(*Nosopsyllus nicanus*，分別爲 KM30F58HME、KM30F88HME以及KM30F85HME)均有PCR陽性帶菌反應。而蜱類感染菌經序列比對後，發現2009年山后民俗村鐮形扇頭蜱若蜱KM29T35HME之查菲艾利希氏體核酸序列與2012年此地點唯一PCR陽性鼠檢體(KM30SP71) 查菲艾利希氏體核酸序列相似度100%，另一個蜱則爲99%。古崗地區之2隻小黃腹鼠之寄生蜱之查菲艾利希氏體核酸序列與所有2個鼠類檢體之核酸序列相似度均爲100%，顯示此區有蜱鼠間查菲艾利希氏體傳播之關聯性。而泗湖地區核酸序列變異較大，3個鼠類陽性檢體中，只有KM30SP93與對照組核酸序列相似度100%，而KM30SP87、KM30LI96等2個檢體均爲99%，且此2檢體間亦有3個核酸差異，甚至此區2個帶菌蚤檢體，KM30F88HME與對照組核酸序列相似度100%，而KM30F85HME之核酸序列相似度爲99%，如表二、四，至於蚤類在此病原體感染傳遞圈中的地位因缺乏文獻記載，目前仍不詳。而查菲艾利希氏體在鼠類間盛行狀況調查中，發現查菲艾利希氏體感染金門鼠類，廣泛分布於野外地區，尤其金門島南方近海草原，其中主要帶菌鼠類爲小黃腹鼠，其次爲錢鼠。根據文獻記載，查菲艾利希氏體依靠蜱(壁蝨)傳佈，病原菌經由蜱親代垂直傳遞至下一代的機率甚低，若蜱需吸取帶原鼠血後才具有感染力[15]。顯然帶有查菲艾利希氏體的小黃腹鼠，在自然界蜱—鼠病原菌的傳遞中，對於病原體的保存明顯佔有很重要地位。

根據文獻報告，野外囓齒類感染查菲艾利希氏體的調查，多採取脾臟檢體檢測[7、16]。在實驗室內，以鼠類動物感染模式，接種9天後，經免疫化學方法分析查菲艾利希氏體感染的器官部位，主要爲脾臟，其次分別爲肝、肺以及骨髓[17]，與此次金門地區脾臟感染率遠大於肝臟的調查結果符合，脾臟及肝臟感染率分別爲11.1%及5.6%。此次調查中發現，大部分爲單一器官感染，同一隻鼠體也有肝脾臟同時感染的現象，但比例甚低，在16隻陽性感染鼠中，只有2隻(KM30-52、KM30-111)爲肝脾臟同時感染，將肝脾臟檢體一併檢測，則可以得到較確切的地理分布狀況。

由於此地區之鼠類爲查菲艾利希氏體之保存寄主，由蜱吸取帶菌鼠血傳播。因此地區帶菌鼠類盛行率，以及鼠體蜱寄率，對疾病傳播力影響甚大。在此次調查中，鼠體寄生蜱類均未發現成蜱，雖然只在古崗草原區檢出 2 隻鼠體寄生之若蜱有帶菌反應。但如表三，此帶菌鼠分佈已遍及大部分金門野外地區，此次所有調查野地鼠類除瓊林外均有蜱類寄生，其中以東沙地區(原東沙醫院周圍野地)捕獲鼠帶菌率最高 66.7%，其中 33%鼠體有蜱類寄生。雖然，金門的蜱類不同於文獻上所描述查菲艾利希氏體的典型病媒美洲花蜱(*Amblyomma americanum*) [6]，因此，金門的蜱類對查菲艾利希氏體的感受性(subceptibility)以及病菌傳播能力(competence)仍未知。但目前已知金門普遍地區已有鼠類帶菌，極可能爲鼠-蜱傳遞機制所造成，顯然，此菌在金門地區流行病學上仍具有潛在感染的危險性。

此外，金門地區檢出之蜱類可能傳佈的疾病除人類單核球艾利希氏體症外，較重要的有萊姆病(Lyme disease)，主要病原為伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorfei*) [18]，以及斑點熱群症，主要為斑點熱群立克次體感染(Spotted fever group) [19]。而國外有人類單核球艾利希氏體與斑點熱立克次體群雙重感染病例報告[20]。這些都可以提供金門地區對於蜱媒不明熱流行病診斷之參考。

誌謝

本調查承國防部經費補助，國防醫學院預防醫學研究所 101 年金門地區鼠類相關調查團隊成員協助，謹此致謝。

參考文獻

1. Anderson BE, Dawson JE, Jone DC, et al. *Ehrlichia chaffeensis,* A new species associated with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol 1991;29:2838-42.
2. Maeda K, Markowitz RC, Hawley M, et al. Human infection with *Ehrlichia canis* , leukocytic rickettsia. N Engl J Med 1987;316:853-6.
3. Dawson JE, Anderson BE, Fishbein DB, et al. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol 1991;29:2741-5.
4. Everett ED, Evans KA, Henry RB, et al. Human ehrlichiosis in adults after tick exposure: diagnosis using polymerase chain reaction. Ann Intern Med 1994;120:730-5.
5. Pan MC, Hsu CS, Huang TY, et al. Ehrlichiosis, in: A clinical guide to zoonoses, 2nd ed. Center for Disease Control R.O.C. (Taiwan). 2009;105－6.(in Chinese)
6. Anderson BE, Sims KG, Olson JG, et al. *Amblyomma americanum* － a potential vector of human ehrlichiosis. Am J Trop Med Hyg 1993;49:239-44.
7. Kim CM, Yi YH, DH Yu, et al. Tick-borne rickettsial pathogens in ticks and small mammals in Korea. Appl Environ Microbiol 2006;72:5766-76.
8. Weng MH, Lien JC, HP Tsai, et al. *Ehrlichia chaffeensis* Infection in Rodent Ticks -Kinmen, 2009. Taiwan. EB 2010;9:134-40.(in Chinese)
9. Cao WC, Gao YM, Zhang PH, et al. Identification of *Ehrlichia chaffeensis* by nested PCR in ticks from southern China. J Clin Microbiol 2000;38:2778-80.
10. Wen B, Cao W, Pan H. *Ehrlichiae* and ehrlichial Diseases in China. *Ann N Y Acad Sci* 2003;990:45-53.
11. Chae JS, Yu DH, Shringi S, et al. Microbial pathogens in ticks, rodents and a shrew in northern Gyeonggi-do near the DMZ, Korea. J Vet Sci 2008;9:285-93.
12. Gao Y, Zhang X, Cao W, et al. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in ticks and rodents using semi-nested PCR. Chin J Zoonoses 2000;6:25-8.
13. Wang HC, Chung CL, Lin TH, et al. Studies on the vectors and pathogens of scrub typhus on murine-like animals in Kinmen County, Taiwan. Formosan Entomol 2004;24:257-72. (in Chinese)

14. Shih JM. Identification and molecular typing of vector ticks in Taiwan. DOH91-DC-1003. Available at: http://www.cdc.gov.tw/ct.asp?xItem=12321&ctNode=1679&mp=1
15. Paddock CD , Childs JE. *Ehrlichia chaffeensis*: A prototypical emerging pathogen. Clin Microbiol Rev 2003;16:37-64.
16. Kawahara M, Ito T, Suto C, et al. Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic survey of humans and animals with *E. muris* as antigen. J Clin Microbiol 1999; 37: 1123-9.
17. Sotomayor EA, Popov VL, Feng HM, et al. Animal model of fatal human monocytic ehrlichiosis. Am J Pathol 2001;158:757- 69.
18. Chao LL, Li LL, Shih CM. Prevalence and molecular identification of *Borrelia spirochetes* in *Ixodes granulatus* ticks collected from *Rattus losea* on Kinmen Island of Taiwan. Parasites & Vectors 2012; 5:167.
19. Tsui PY, Tsai KH, Weng MH. et al. Molecular detection and characterization of spotted fever group rickettsiae in Taiwan, Am J Trop Med Hyg 2007; 77: 883-90.
20. Sexton DJ, Corey GR, Christopher C. Dual Infection *Ehrlichia chaffeensis* and a spotted fever group rickettsia: A case report. *Emerging Infectious Diseases* 1998; 2: 311-6.