

計畫編號: DOH90-DC-1063

衛生署疾病管制局九十年度委辦研究計畫

台灣地區萊姆病標準實驗室及病原檢驗監測計畫
Standard laboratory diagnosis and surveillance for Lyme disease
infection in Taiwan

委託研究成果報告

執行機構: 國防醫學院、寄生蟲及熱帶醫學科

計畫主持人: 師 健 民 教授

研究人員: 趙麗蓮, 陳盈君

執行期限: 90年 1月 1日 至 90年 12月 31日

★本研究報告僅供參考, 不代表衛生署疾病管制局意見★

【誌 謝】

本研究計畫之得以完成，首要感謝衛生署疾病管制局在研究經費上之襄助，使得有關台灣地區萊姆病感染之實驗診斷及偵測工作得以順利建立，並配合疾病管制局新訂之「傳染病通報體系」，以提供醫院及衛生醫療單位有關通報個案檢體之檢驗支援服務，進而藉以掌握國內新興蜚媒介萊姆病之流行和即時監測。

研究期間承蒙疾病管制局各級長官之指導和「檢疫防疫組」王寰峰科長及張秋文小姐在行政工作上之支援，特致謝忱。而本實驗室同仁趙麗蓮、陳盈君和張明澤等在血清分離、病原螺旋體之體外培養、螢光抗原片製備及檢體測試等工作上努力不懈，個人表示由衷敬謝。

【目 錄】

	頁 碼
一. 中文摘要 -----	4
二. 英文摘要 -----	5
三. 前 言 -----	6
四. 材料與方法 -----	8
(一) 萊姆病疏螺旋體菌之菌株來源及繼代培養	
(二) 抗螺旋體單源抗體及螢光抗體之來源	
(三) 萊姆病疏螺旋體菌螢光抗原片之製備	
(四) 人類血液檢體之收集及處理	
(五) 萊姆病感染之血清學診斷及試驗分析	
五. 結 果 -----	11
(一) 萊姆病疑似感染個案之基本資料分析	
(二) 萊姆病疑似感染個案之臨床表癥及診斷結果	
(三) 萊姆病陽性個案之西方墨點試驗分析結果	
(四) 螺旋體分離培養陽性組織之時間統計	
(五) 螺旋體分離培養陽性個案之西方墨點試驗結果	
六. 討 論 -----	14
七. 結論與建議 -----	16
八. 參考文獻 -----	17
九. 附表及附圖 -----	21-34

【中文摘要】

本研究乃利用免疫螢光抗體試驗、西方墨點試驗及病原體分離培養等相關研究技術，針對台灣北部地區城鄉送檢檢體進行萊姆病(Lyme disease)疑似個案之血清學診斷及感染監測服務，並期藉由台灣株疏螺旋體菌抗原之應用，以建立萊姆病感染之本土性診斷標準。研究結果顯示90年度台灣地區疑似萊姆病感染送檢檢體之確定陽性個案數為65例，其送檢檢體陽性率為12.9%(65/505)，季節盛行率則以六月至十月為高峰期，而確定陽性個案之年齡層則以21-60歲居多(76.9%)，但在性別上則無顯著差異。分析結果亦顯示送檢陽性個案若依其臨床表癥區分，則以典型遊走性皮膚紅疹(ECM)之35人為最多，其他皮膚表癥(Morphea & ACA等)之20人居次多，其他依序為皮膚紅疹合併關節炎之7人、神經炎症合併關節炎之1人、神經炎症之1人及皮膚表癥合併發燒之1人。而血清抗體試驗結果則顯示無論螢光抗體試驗效價強弱，皆不影響其西方墨點試驗之陽性診斷，並且呈現出20種不同螺旋體蛋白抗原成份之免疫反應，其中七種主要螺旋體蛋白抗原(30, 39, 41, 45, 58, 63 and 66kDa)之免疫反應可以涵蓋所有不同臨床表癥之90%以上陽性個案，而其IgG反應頻數則以66kDa(17.3%)為最高，其他依次為45kDa(15.4%)、63kDa(14.5%)、58kDa(13.3%)、30kDa & 41kDa(11.8%)及39kDa(5.7%)；IgM反應頻數則以45kDa & 66kDa(22.7%)為最高，其他依次為41kDa(15.3%)、58kDa(10.1%)、63kDa(9.4%)、30kDa(7.4%)及39kDa(4.7%)。綜言之，本研究成果不但驗證台灣地區萊姆病感染個案血清抗體反應之多樣性，更為未來制定萊姆病感染之本土性診斷標準，提供了實際研究之參考數據。

關鍵詞：萊姆病，伯氏疏螺旋體，血清學診斷，台灣。

【英文摘要】

Various serological and cultivating techniques were used to investigate the seroprevalence of Lyme disease infection in the suspected human sera. Results indicate that the seroprevalence of Lyme disease infection in the suspected human sera was 12.9% (65/505) including 65 definite clinical cases. Seasonal prevalence was observed between June to October, 2001. The highest infection was located on the age groups of 21-60 years old (76.9%) and gender-based variation was not significant. Based on the clinical manifestations, the majority of seropositive cases display the main symptom with erythema chronicum migrans (ECM) skin rash (35 persons), 20 persons with other skin manifestations (such as: morphea & ACA), 7 persons have erythema skin rash combined with articular arthritis. Only 1 person has neuropathy, neuropathy combined with arthritis, and skin rash combined with unknown fever, respectively. Moreover, the western blot analysis reveals a significant immunoreactivity with 20 Borrelia antigens by all seropositive sera. Seven main antigens (30, 39, 41, 45, 58, 63, and 66 kDa) were appeared in all patients with various clinical manifestations. The highest frequency of IgG and IgM reactivity was revealed in the 66kDa (17.3%) and 45kDa (22.7%) antigen, respectively. Overall, our results not only verify the variety of seroreactivity with Borrelia antigens in the patient's serum, but also provide the experimental data for the establishment of standard diagnosis for Lyme disease infection in Taiwan.

Key word: Lyme disease, Borrelia burgdorferi, serodiagnosis, Taiwan

【前 言】

蜱媒介人畜共通傳染病(tick-borne zoonotic infections)近年來被世界各國列為重要之病媒滋生傳染病 (vector-borne infections)。且由於交通便利及生活型態的改變，人們經常往返於世界各地從事經商、探親及旅遊等活動，加上家飼寵物及流浪動物的盛行，因而使得蜱滋生疾病之預防、診斷及治療事項成為各國防疫工作之重點(1-3)。以美國為例，蜱媒介傳染病成為過去十年來主要之病媒滋生人畜共通傳染病，其中又以萊姆病(Lyme disease)為臨床上首要之經蜱傳播人畜共通傳染病(4)。而在臨近本省之日本(5-7)、韓國(8)及大陸地區(9-11)等皆有蜱媒介萊姆病的病例報告、病原體分離和病媒蜱種類之確認。本研究室近年來之研究成果亦已有台灣地區病原螺旋體之首次分離(12)、首例萊姆病臨床病例之報告(13)、台灣地區分離疏螺旋體菌之蛋白質抗原特性及其基因種株的首次鑑定(14)和台灣地區人群血清盛行率之初步篩檢(15)，而有關於台灣地區媒介傳播之病媒蜱種，則正進行研究確認中。因此，上述研究成果不但闡示了蜱媒介人畜共通萊姆病在台灣地區存在之事實，更顯示積極強化早期診斷及預防工作之重要性。

台灣地區屬於亞熱帶氣候，加上人口稠密及人畜接觸機會之頻繁，非常有利於蜱媒介人畜共通傳染病之散播。國人由於旅遊探親或商務往來之需要，常常無法避免野外踏青及疫區停留之經歷，另外由於特殊職業(農牧及軍事服務人員)或居住地等因素，亦可能長期暴露於病媒蜱滋生環境而不自知，尤其是目前社會上大量野生動物之非法輸入及豢養動物之氾濫，加上遭人們棄養之流浪犬充斥街頭，一旦這些動物帶有病媒蜱或致病螺旋體之感染，將使得國人接觸病媒蜱及遭蜱叮咬而致感染之危險性升高。

因此，新興蜚媒介人畜共通萊姆病之防治工作，愈來愈顯其重要性而成爲大眾關注的焦點。

依據國外研究文獻顯示人類萊姆病感染之診斷主要依據臨床病癥及血清學檢驗，而臨床病癥又依感染時程分別以慢性遊走性皮膚紅疹（erythema chronicum migrans）、膝關節炎（arthritis）、心肌炎（pericarditis）、多發性神經炎、面神經麻痺（Bell's palsy）及腦膜腦炎等爲主。至於血清學檢驗則以具有螺旋體專一性抗原之免疫螢光抗體試驗（IFA）或酵素結合免疫吸附試驗（ELISA）配合上一套以免疫電泳分析爲主之西方墨點試驗（Western blot analysis），以便確實診斷萊姆病感染之臨床個案（16-18），而受感染宿主之皮膚組織切片（skin punch）、腦脊髓液（CSF）及關節滑囊液（synovial fluid）等亦可以螺旋體分離培養（12）及聚合酶鏈反應技術（PCR）（19），以有效提高感染診斷之敏感度及準確性。

由於萊姆病感染之診斷標準在各實驗室（20-22）乃至於不同國度及地區（23,24）間並不完全一致，因而美國疾病管制及預防中心（CDC）特別訂定了一套血清學診斷之參考標準（25），以做爲其全國萊姆病感染診斷之參考依據。因此，本研究使用台灣地區分離之純種疏螺旋體菌株（TWKM 1 & 5）、美國ATCC標準菌株（B31）及其他地區基因種株（K48 & VS461）做爲測試用抗原，並依據美國CDC建議之臨床病癥及血清學診斷原則（表一）進行台灣地區萊姆病疑似病例之檢驗及監測服務，以瞭解台灣地區人群萊姆病感染之免疫反應特性，期能做爲民眾健康維護及國家防疫監測之參考。

【材料與方法】

一. 萊姆病疏螺旋體菌之菌株來源及繼代培養:

本研究分別使用台灣分離獲得之純種萊姆病疏螺旋體菌株 (TWKM 1 & 5)、美國ATCC之標準菌株(B31)及其他已確認基因種之人類致病株 (K48 & VS461) 做為檢驗診斷用抗原 (表二)。實驗室螺旋體菌之體外繼代培養則使用特製之疏螺旋體培養基 (BSK-H, Sigma Co.)，每次並以100 μ L液量繼代接種後置入二氧化碳培養箱內 (34°C, 5% CO₂) 行繼代純種培養 (12)，其培養菌株之生長狀況則使用暗視野顯微鏡 (dark-field microscope) 於接種後每三天吸取5-10 μ L培養液予以檢視，以確認培養螺旋體之最佳生長狀況。

二. 抗螺旋體單源抗體及螢光抗體之來源:

本研究所使用於萊姆病感染診斷之特異性單源抗體 (MAb) 乃分別針對螺旋體菌體表蛋白抗原之OspA (H5332 & H3TS)、OspB (H6831 & H614)、鞭毛抗原 (H9724) 及P39蛋白抗原 (anti-P39) 等產生專一性免疫反應 (26-28)，並分別受贈自美國哈佛大學之Andrew Spielman教授、德州大學之Alan Barbour教授及美國疾病管制中心落磯山研究室之Tom Schwan博士等相關學者。而特異性螢光抗體 (FITC-conjugated goat anti-human Abs) 則自國外專業生物製劑廠商 (Sigma Co., USA) 購入，並依其使用說明之原則進行測試分析。

三. 萊姆病疏螺旋體菌螢光抗原片之製備：

本研究所使用之螺旋體菌株於測定其個別生長曲線(growth curve)後，採取其指數期(exponential phase)生長狀況之菌體做為螺旋體抗原製備之材料，以確保菌體最佳抗原表現。而菌體生長密度則依照既往文獻顯示之 5×10^6 - 10^7 為最適當濃度，培養之菌體經離心及無菌緩衝液潤洗三次後，並將用無菌緩衝液調勻的螺旋體抗原液以每孔(well) $10 \mu\text{L}$ 量製作而成(大約使每一顯微鏡視野觀察具有100-200個螺旋體)，抗原片經丙酮固定十分鐘後氣乾封存於玻片盒內，並置入 -20°C 冰櫃中保存備用。

四. 人類血液檢體之收集及處理：

本研究依據衛生署疾病管制局委託執行計畫之協議，負責接受來自台北市、基隆市、台北縣、宜蘭縣、桃園縣、新竹市、新竹縣、苗栗縣、台中市、台中縣、彰化縣、花蓮縣、金門縣及連江縣等十四個縣市之萊姆病疑似病例送檢血樣，全部血樣皆由各地區衛生所或醫院之醫護人員使用無菌空針採取血樣，並注入符合標準之特製無菌真空採血管內，以保持低溫之國內快捷郵件寄送或由專人親送方式送達本研究室。而本研究室於收到檢體後立即進行血清分離處理，並於 4°C 冰箱內靜置保存，隨後進行後續之血清學試驗分析事項。

五. 萊姆病感染之血清學診斷及試驗分析：

製作之間接免疫螢光抗原片(IFA slides)經丙酮固定十分鐘後氣乾，隨後於每孔內加入已經編號之待測血清，並置入 37°C 溫箱中進行反應40分鐘後，反應後之抗原片則經無菌緩衝液潤洗三

次及氣乾，再於每孔滴加 15-20 μ L 之二次螢光抗體 (FITC-conjugated goat anti-human IgG & IgM antibodies)，並再次置入 37°C 溫箱中進行反應 40 分鐘，隨後再經無菌緩衝液潤洗三次及氣乾，以螢光顯微鏡進行鏡檢。原則上，待測人血清樣本經連續稀釋後，以反應結果 >1:16 之抗體效價做為陽性血清診斷的初步判別標準。

經 IFA 初步篩檢之陽性血清樣本，則進一步運用西方墨點試驗 (western blot) 進行萊姆病感染之確認診斷。原則上，將實驗室繼代培養之不同基因種螺旋體菌 (B31、TWKM1、TWKM5、K48 & VS461) 以水浴煮沸方式萃取菌體蛋白，經離心後收取其上清液，並以定量濃度之萃取液使用蛋白質電泳分析儀 (PhastGel system, Pharmacia Biotech) 進行蛋白質電泳分析 (SDS-PAGE)，隨後並使用醋酸纖維膜 (nitrocellulose membrane) 進行蛋白質轉漬程序 (Phast transfer blotting system)，而初步篩檢陽性之血清則經適量稀釋後以轉漬後之醋酸纖維膜進行人血清抗體與菌體蛋白抗原之免疫反應，隨後再分別以無結合之一次抗體 (rabbit anti-human Ab) 及鹼性磷酸酶結合之二次抗體 (alkaline phosphatase-conjugated goat anti-rabbit Ab) 予以反應，最後再以呈色劑 (BCIP) 予以呈色比對反應結果。由於世界各國有關萊姆病感染之診斷標準略有出入，本研究血清學檢驗之陽性診斷標準乃以美國疾病管制中心 (CDC) 之既定標準為主要依據，並參酌歐洲萊姆病聯盟 (EUCALB) 之診斷標準做為綜合參考 (表三)。

【結 果】

一. 萊姆病疑似感染個案之基本資料分析:

本研究自臺大醫院等三十三個醫療院所及自行就診者總計收到505個送檢檢體(表四),其中六十五名個案經臨床病癥及血清學診斷確定為陽性感染病患,分別為臺大醫院11人、北醫附設醫院5人、馬偕醫院4人、市立和平醫院3人、台北榮總1人、長庚醫院4人、國泰醫院3人、私立中山醫院32人、中山醫學院附設醫院1人及北市大安衛生所1人(表五)。季節盛行率則以六月至十月為高峰期,其中又以九月份最高(29.2%),其他依次為八月份之15.4%、六月份之12.3%、七月及十月份之10.8%、十二月份之9.2%、十一月份之6.2%、三月份之4.6%及一月份之1.5%(表六)。而送檢陽性個案中有男性30人及女性35人(圖一),年齡層分佈則為<10歲(4人)、11-20歲(4人)、21-30歲(11人)、31-40歲(14人)、41-50歲(14人)、51-60歲(11人)、61-70歲(6人)及>70歲(1人)。若依送檢陽性個案之居住地分佈則以台北市(39人)最多,其他依次為台北縣(14人)、台中縣市(2人)和桃園市、彰化縣、台南市及花蓮市各1人(圖二)。

二. 萊姆病疑似感染個案之臨床表癥及診斷結果:

本研究依據疾病管制局委辦研究之協議,分別以北美ATCC標準株(B31)、台灣分離之疏螺旋體菌株(TWKM 1 & 5)及其他基因種株(K48 & VS461)做為抗原,分別進行免疫螢光抗體試驗(IFA)之初步篩檢及西方墨點試驗(Western blot)之確認診斷,其結果顯示65個陽性個案之臨床表癥以典型遊走性皮膚紅疹之35人為最多,其他皮膚病癥(Morphea & ACA)之20人居次多,

其他依序為皮膚紅疹合併關節炎之7人、神經炎症合併關節炎之1人、神經炎症之1人及皮膚表癥合併發燒之1人（表七）。

三. 萊姆病陽性個案之西方墨點試驗分析結果:

本研究血清學陽性個案之西方墨點試驗結果顯示台灣地區萊姆病陽性個案可與致病疏螺旋體之20種主要蛋白質抗原成份產生免疫反應，其中七種主要螺旋體蛋白抗原(30, 39, 41, 45, 58, 63 and 66kDa)之免疫反應可以涵蓋所有不同臨床表癥之90%以上陽性個案，若依據個案血清與個別蛋白質抗原之反應頻率做統計分析，其IgG反應頻數則以蛋白質分子量66kDa(17.3%)為最高，其他依次為 45kDa(15.4%)、63kDa(14.5%)、58kDa(13.3%)、30kDa & 41kDa(11.8%)及 39kDa(5.7%)；IgM反應頻數則以45kDa & 66kDa(22.7%)為最高，其他依次為 41kDa(15.3%)、58kDa(10.1%)、63kDa(9.4%)、30kDa(7.4%)及 39kDa(4.7%)（表八）。

四. 螺旋體分離培養陽性組織之時間統計:

本研究亦針對各種送檢組織進行萊姆病致病疏螺旋體之分離培養試驗，其結果顯示不同臨床病癥組織之陽性分離培養所需時間具有顯著差異。整體而言，陽性分離培養所需時間平均為33.2天，若送檢個案僅有典型皮膚表癥則需34天以上之培養時間，但若合併關節病症或特殊皮膚病癥(Morphea)則僅需25天左右即可分離培養出致病疏螺旋體（表九）。

五. 螺旋體分離培養陽性個案之西方墨點試驗結果:

本研究針對螺旋體分離培養陽性個案之西方墨點試驗結果顯示可與致病疏螺旋體之16種主要蛋白質抗原成份產生免疫反應，其中九種主要螺旋體蛋白抗原(30, 39, 41, 45, 58, 63, 66, 72, and 83kDa)之免疫反應可以涵蓋所有不同臨床表癥之96%以上陽性個案，若依據個案血清與個別蛋白質抗原之反應頻率做統計分析，其IgG反應頻數則以蛋白質分子量45kDa(19.1%)為最高，其他依次為 66kDa (18.4%)、63kDa (15.4%)、41kDa (12.5%)、30kDa (11.0%)、58kDa (9.6%)、39kDa (5.9%)、72kDa (2.9%)及83kDa (1.5%)；IgM反應頻數則以66kDa (25.4%)為最高，其他依次為 45kDa (22.2%)、41kDa (14.3%)、58kDa (9.5%)、63kDa (9.5%)、30kDa (9.5%)、39kDa (3.2%)及83kDa (1.6%) (表十)。

【 討 論 】

本研究工作乃經由衛生署疾病管制局委託進行之全國性萊姆病疑似感染個案之實驗診斷及偵測研究，除了配合新訂之「傳染病通報體系」以提供醫院及衛生醫療單位有關通報疑似個案檢體之檢驗支援服務，更進而藉以有效掌握國內新興蜱媒介萊姆病之流行及即時監測。雖然本實驗室基於執行計畫之協議及分工原則，僅負責接受北台灣、金馬離島及部份中台灣等十四個縣市之檢體送驗工作，但亦支援少數來自台灣南部地區醫療院所及疾病管制局症候通報群之檢體送驗及確認，並藉由台灣分離疏螺旋體菌株及其他致病基因菌株抗原之使用，以建立台灣地區萊姆病感染陽性個案之實驗診斷特性分析，期能瞭解台灣地區陽性感染個案之螺旋體抗原免疫反應差異狀況，以做為日後進一步發展萊姆病感染之本土性血清學診斷標準。

依據國外研究文獻顯示萊姆病感染個案之臨床病症與其獲致感染之致病疏螺旋體菌之基因種間具有顯著相關性，若是感染之致病疏螺旋體菌為 *B. burgdorferi sensu stricto*，則其感染個案以皮膚紅疹及關節炎症為主要臨床表癥（29），而本研究結果亦顯示台灣地區萊姆病陽性感染個案之臨床病症以皮膚紅疹為主，此結果亦印證先前本研究室有關台灣地區分離之萊姆病疏螺旋體菌基因種之鑑定結果（14）。然由於本次研究結果亦顯示有關節炎症、神經炎症及合併感染兩種主要臨床病癥之陽性感染個案，再加上本研究室因責任區域劃分而使得接受之送檢檢體並未完全涵蓋全部台灣地區，因而使得台灣地區是否存在有其他基因種之疏螺旋體菌，目前仍無定論，值得進一步深入探討。無論如何，本研究成果已充份闡示了台灣地區存在有蜱媒介人畜共通萊姆病之事實，若考量本省人口稠密、人畜接觸機會之頻繁及民眾休閒旅

遊之需要，愈加突顯萊姆病篩檢調查工作在流行病學及公共衛生預防上之重要性。

萊姆病感染個案常因個別體質差異、抗生素之使用或其他因素，而在血清學上呈現出不同的抗體反應狀況，依據既往研究文獻顯示人類感染萊姆病初期之血清抗體效價不高，大多數患者皆在獲致感染2-4月後，其血清IgG抗體之效價較為明顯，但是仍有少數感染個案呈現出IgG及IgM抗體皆為陰性狀況（30），因而使得美國CDC制定之萊姆病血清學診斷乃以西方墨點試驗做為確認陽性個案之標準(表一及表三)。而本研究結果亦顯示台灣地區萊姆病陽性個案血清抗體反應之差異性，除了多數感染個案呈現IgG、IgM或兩者抗體陽性外，亦有IgG、IgM或兩者抗體皆呈現陰性情形，但是西方墨點試驗之陽性結果並不受其血清抗體效價強弱（IFA; 1:10-1:80）之影響，然而導致上述血清抗體反應多樣性之因素，亟待進一步擴大研究樣本以深入探究。

本研究結果亦顯示台灣地區萊姆病陽性個案西方墨點試驗免疫反應之多樣性，陽性個案之血清抗體反應結果顯現出20種主要螺旋體蛋白抗原，其中七種主要螺旋體蛋白抗原（30, 39, 41, 45, 58, 63, and 66 kDa）可以同時或分別出現在不同臨床病症（皮膚紅疹、神經炎症、關節炎及不明發燒等）之患者，而其IgG及IgM抗體之反應頻數則可涵蓋90-92%之陽性個案（表八）。另外依據「螺旋體分離陽性個案」之免疫反應結果，亦顯示九種主要螺旋體蛋白抗原之反應頻數則可涵蓋96%之陽性個案（表十）。因此，本研究依據台灣地區萊姆病陽性個案之螺旋體蛋白抗原反應特性，建議一套本土性血清學診斷之參考標準（表十一），而本研究結果不但驗證了台灣地區萊姆病感染存在之事實，亦對未來制定萊姆病感染之本土性診斷標準，提供了實際研究之參考數據。

【結論與建議】

國人由於休閒娛樂及職業上之需要，因而使得暴露在病媒蜚叮咬環境之機率增加，相對的亦提高了蜚媒病原體感染之危險性。而本研究結果所顯示之台灣地區萊姆病感染個案之血清學反應特性，充分闡示建立一套本土性感染標準診斷之重要性，亦為如何有效阻斷及預防蜚媒介人畜共通萊姆病之散播，開展守護把關之工作。茲就疾病診斷及國家防疫之觀點，提供建議如下：

一. 加強民眾衛教宣導：

防疫機關應主動的讓民眾瞭解有關萊姆病之醫學常識（諸如：居住環境之蜚滋生源清除、加強對於飼養動物的持續清潔維護、野外活動時之防蜚叮咬藥劑使用及犬隻免疫預防注射），以提供適切的個人安全防護措施。

二. 血清學診斷之篩檢：

個人可依工作環境之蜚暴露狀況及旅遊經商之經常性，考慮是否做不定期的血清學篩檢測試，而有關家飼寵物則建議做定期的血清學篩檢，尤其是自高流行區域（國外或金馬離島地區）輸入之野生或豢養動物則應予以強制性的防疫檢驗，以收早期診斷和及時治療的成效。

三. 血清學標準診斷之建立：

針對台灣地區萊姆病感染個案之血清抗體反應特性，制定一套本土性血清學診斷之標準，以做為各醫療院所、衛生機關及學界之診斷參考，並藉由「疾病診斷研討（研習）會」之舉辦而提升各醫療單位初步篩檢之能力，以維護民眾個人健康及有效擴大檢疫成效。

【參考文獻】

1. Schmid GP. The global distribution of Lyme disease. *Rev. Infect. Dis.* 1985, 7:41-50.
2. Spach DH, Liles WC, Campbell GL, et al. Tick-borne diseases in the United States. *N. Eng. J. Med.* 1993, 329:936-47.
3. Piesman J. Emerging tick-borne diseases in temperate climates. *Parasitol. Today* 1987, 3:197-9.
4. Anonymous. Lyme disease-United States, 1996. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 1997, 46:531-5.
5. Kawabata M, Baba S, Iguchi K, et al. Lyme disease in Japan and its possible incriminated tick vector, Ixodes persulcatus. *J. Infect. Dis.* 1987, 156:854.
6. Nakao M, and Miyamoto K. Susceptibility of Ixodes persulcatus and I. ovatus (Acari: Ixodidae) to Lyme disease spirochetes isolated from humans in Japan. *J. Med. Entomol.* 1994, 31:467-73.
7. Takada N, Ishiguro F, Iida H, et al. Prevalence of Lyme Borrelia in ticks, especially Ixodes persulcatus (Acari: Ixodidae), in central and western Japan. *J. Med. Entomol.* 1994, 31:474-8.
8. Park KH, Chang WH, Schwan TG. Identification and characterization of Lyme disease spirochetes, Borrelia burgdorferi sensu lato, isolated in Korea. *J. Clin. Microbiol.* 1993, 31:1831-7.
9. Ai CX, Wen YX, Zhang YG, et al. Clinical manifestations and epidemiological characteristics of Lyme disease in Hailin county, China. *Ann. NY Acad. Sci.* 1988, 539:302-13.
10. 潘亮, 于恩庶, 張哲夫等。福建省萊姆病的調查研究。中國媒介生物學及控制雜誌：1992；3卷特刊2期, pp. 33-35.

11. 張哲夫, 張金聲, 萬康林等。我國19個省、自治區、直轄市萊姆病的調查。
中國媒介生物學及控制雜誌: 1992; 3卷特刊2期, pp. 1-5.
12. Shih CM, and Chao LL. Lyme disease in Taiwan: primary isolation of Borrelia burgdorferi-like spirochetes from rodents in the Taiwan area. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998, 59:687-92.
13. Shih CM, Wang JC, Chao LL, and Wu TN. Lyme disease in Taiwan: first human patient with characteristic erythema chronicum migrans skin lesion. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36:807-8.
14. Shih CM, Chang HM, Chen SL, and Chao LL. Genospecies identification and characterization of Lyme disease spirochetes of genospecies Borrelia burgdorferi sensu lato isolated from rodents in Taiwan. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36:3127-3132
15. 師健民。台灣地區萊姆病的流行病學調查研究。行政院衛生署八十六年度科技研究計畫報告書, 1997, 台北市。
16. Russell H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkinson HW, Plikaytis B. Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay for Lyme disease. *J. Infect. Dis.* 1984; 149:465-70.
17. Magnarelli LA. Serologic diagnosis of Lyme disease. *Ann. NY Acad. Sci.* 1988; 539:154-61.
18. Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J. Infect. Dis.* 1993; 167:392-400.
19. Rosa PA, Schwan TG. A specific and sensitive assay for the Lyme disease spirochete Borrelia burgdorferi using the polymerase chain reaction. *J. Infect. Dis.* 1989; 160:1018-1029.

20. Hedberg CW, Osterholm MT, MacDonald KL, White KE. An interlaboratory study of antibody to *Borrelia burgdorferi*. J. Infect. Dis. 1987; 155:1325-7.
21. Magnarelli LA. Quality of Lyme disease tests. JAMA 1989; 262: 3464-5.
22. Schwartz BS, Goldstein MD, Ribeiro JMC, Schulze TL, Shahied SI. Antibody testing in Lyme disease: a comparison of results in four laboratories. JAMA 1989; 262:3431-4.
23. Hauser U, Lehnert G, Wilske B. Validity of interpretation criteria for standardized western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. J. Clin. Microbiol. 1999; 37:2241-7.
24. Ryffel K, Peter O, Rutti B, Suard A, Dayer E. Scored antibody reactivity determined by immunoblotting shows an association between clinical manifestations and presence of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. afzelii*, and *B. valaisiana* in humans. J. Clin. Microbiol. 1999; 37:4086-92.
25. CDC. Recommendations for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme disease. M.M.W.R. 1995; 44:590-1.
26. Barbour AG, Tessier SL, Todd WJ. Lyme disease spirochetes and ixodid tick spirochetes share a common surface antigenic determinant defined by a monoclonal antibody. Infect. Immun. 1983, 41:795-804.
27. Barbour AG, Hayes SF, Heiland RA, Schrupf ME, Tessier SL. A *Borrelia*-specific monoclonal antibody binds to a flagellar epitope. Infect. Immun. 1986, 52:549-54.

28. Barbour AG, Tessier SL, Hayes SF. Variations in a major surface proteins of Lyme disease spirochetes. *Infect. Immun.* 1984, 45:94-100.
29. Demaerschalck I, Messaouid AB, Kesel MD, Hoyois B, Lobet Y, Hoet P, Bigaignon G, Bollen A, Godfroid E. Simutaneous presence of different Borrelia burgdorferi genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:602-8.
30. Magnarelli LA. Current status of laboratory diagnosis for Lyme disease. *Amer. J. Med.* 1995; 4A:10S-12S.

【附表及附圖】

- 附表一. 萊姆病陽性個案及流行區之標準定義。
- 附表二. 萊姆病疏螺旋體菌株之分離來源及基因種別。
- 附表三. 歐美國家萊姆病感染之血清學陽性診斷標準。
- 附表四. 台灣地區萊姆病疑似個案之送檢醫療院所統計。
- 附表五. 台灣地區萊姆病確定病例之通報醫療院所統計。
- 附表六. 台灣地區萊姆病疑似及確定個案之月份別統計。
- 附表七. 台灣地區萊姆病疑似及確定個案之臨床表癥統計。
- 附表八. 台灣地區萊姆病陽性個案之西方墨點試驗結果。
- 附表九. 螺旋體分離培養陽性組織之培養時間統計表。
- 附表十. 螺旋體分離培養陽性個案之西方墨點試驗結果。
- 附表十一. 台灣地區萊姆病血清學診斷之建議參考標準。
- 附圖一. 萊姆病陽性個案之年齡別及性別特性分佈。
- 附圖二. 萊姆病陽性個案之居住地分佈。

表一. 萊姆病陽性個案及流行區之標準定義

* Clinical definition:

ECM / EM-related skin lesions

OR

At least one late manifestations

* Laboratory criteria:

Isolation of *Borrelia burgdorferi* spirochetes

OR

Diagnostic level of IgG and IgM to *B. burgdorferi*

OR

A two-test serodiagnosis (IFA/ELISA & Western blot analysis)

* Country as endemic area:

At least two confirmed cases are defined by the clinical and laboratory criteria of CDC.

表二. 萊姆病疏螺旋體菌株之分離來源及基因種別

菌株別	分離來源	分離地區	基因種別
B31	Tick (<i>I. dammini</i>)	U.S.A.	B.b.s.s.
TWKM 1	Mouse ear	Taiwan	B.b.s.s.
TWKM 5	Mouse ear	Taiwan	B.b.s.s.
K48	Tick (<i>I. ricinus</i>)	Czechoslovakia	B.g.
VS461	Tick (<i>I. ricinus</i>)	Switzerland	B.a.

Note: B.b.s.s. (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto)

B.g. (*Borrelia garinii*)

B.a. (*Borrelia afzelii*)

表三. 歐美國家萊姆病感染之血清學陽性診斷標準

Country	IFA/ELISA	Western blot test	
		IgG bands	IgM bands
U.S.A.	+(either)	Any five of: 18,21,28,30,39,41, 45,58,66,93kDa	Any two of: 18,21,28,37,41, 45,58,93kDa or 23,39,41kDa
EUROPE	+(either)	Any two of: 14,17,21,23,30,39, 43,58,83/100kDa	Any one of: 17,23,39kDa or a strong 41kDa

Note: At least one clinical symptom was observed in the seropositive case.

表四.台灣地區萊姆病疑似個案之送檢醫療院所統計表

送驗醫療院所	送驗檢體數 (月份)												合計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
臺大醫院	0	0	1	2	7	7	7	14	13	6	7	31	95
馬偕醫院	2	1	1	0	2	2	5	4	7	2	0	3	29
台北榮總	0	1	0	1	1	4	2	2	1	1	0	0	13
私立中山醫院	0	0	4	7	10	5	7	14	36	24	25	48	180
北醫附設醫院	0	0	2	0	0	2	2	3	1	5	4	0	19
市立和平醫院	0	0	0	0	1	2	3	8	2	0	1	2	19
長庚醫院	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	4	32	41
國泰醫院	0	0	0	0	0	0	1	3	4	2	2	0	12
新光醫院	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	4
市立萬芳醫院	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	2	5
市立仁愛醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
三軍總醫院	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	3	11
署立台北醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
北市大安衛生所	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
耕莘醫院	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
桃園敏盛醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	3
署立桃園醫院	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
苗栗造橋衛生所	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	28
中醫藥附設醫院	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	2	0	5
台中榮總	0	0	0	0	1	1	3	0	0	0	0	0	5
台中澄清醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
中山附設醫院	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	3
署立豐原醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
奇美醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
花蓮慈濟醫院	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	4
台東金鋒衛生所	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
花蓮門諾醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
金門花崗石醫院	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
彰化秀傳醫院	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	3
彰化基督教醫院	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
高雄榮總	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2
高醫附設醫院	0	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	4
成大附設醫院	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	4
自行就診	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
總計	3	4	9	41	24	27	41	54	70	51	50	131	505

註：「檢體數」非為「個案數」，因某些個案因診斷需要而採取二次（或以上）之檢體數，以作為確立診斷之依據。

表五.台灣地區萊姆病確定病例之通報醫療院所統計

通報醫療院所	送驗檢體數	陽性個案數
臺大醫院	62	11
台北榮總	13	1
馬偕醫院	26	4
北醫附設醫院	18	5
長庚醫院	41	4
中山醫院	116	32
市立和平醫院	17	3
國泰醫院	10	3
中山醫附設醫院	3	1
北市大安衛生所	1	1

表六.台灣地區萊姆病疑似及確定個案之月份別統計表

月份別	送驗檢體數	陽性個案數(%)
1月份	3	1 (1.5%)
2月份	4	0 (0.0%)
3月份	9	3 (4.6%)
4月份	41	0 (0.0%)
5月份	24	0 (0.0%)
6月份	27	8 (12.3%)
7月份	41	7 (10.8%)
8月份	54	10 (15.4%)
9月份	70	19 (29.2%)
10月份	51	7 (10.8%)
11月份	50	4 (6.2%)
12月份	131	6 (9.2%)
合 計	505	65

表七.台灣地區萊姆病疑似及確定個案之臨床表癥統計

主要臨床症狀	疑似檢體數(%)	陽性個案數(%)
Erythema chronicum migrans (ECM)	254 (50.3%)	35 (53.8%)
Other skin manifestations	133 (26.3%)	20 (30.8%)
Arthritis	12 (2.4%)	0 (0.0%)
Meningitis	1 (0.2%)	1 (1.5%)
Meningitis & Arthritis	4 (0.8%)	1 (1.5%)
Arthritis & fever	3 (0.6%)	0 (0.0%)
ECM & Arthritis	37 (7.3%)	7 (10.8%)
Arthritis & Facial palsy	1 (0.2%)	0 (0.0%)
Facial palsy	1 (0.2%)	0 (0.0%)
Skin manifestation & fever	11 (2.2%)	1 (1.5%)
Fever	19 (3.8%)	0 (0.0%)
Others	29 (5.7%)	0 (0.0%)
Total	505	65

註：陽性個案檢驗標準依據美國疾病管制局(CDC)診斷標準。

表八.台灣地區萊姆病陽性個案之西方墨點試驗結果

螺旋體蛋白抗原 (Protein band)	陽性血清之反應頻數 (Frequency of reactivity)	
	IgG (%)	IgM (%)
21 kDa	1 (0.3)	0 (0)
28 kDa	2 (0.6)	1 (0.7)
30 kDa	39 (11.8)	11 (7.4)
33 kDa	1 (0.3)	0 (0)
35 kDa	4 (1.2)	0 (0)
37 kDa	0 (0)	1 (0.7)
39 kDa	19 (5.7)	7 (4.7)
41 kDa	39 (11.8)	23 (15.3)
45 kDa	51 (15.4)	34 (22.7)
58 kDa	44 (13.3)	15 (10.1)
63 kDa	48 (14.5)	14 (9.4)
66 kDa	57 (17.3)	34 (22.7)
68 kDa	0 (0)	1 (0.7)
72 kDa	10 (3.0)	1 (0.7)
76 kDa	1 (0.3)	0 (0)
81 kDa	2 (0.6)	1 (0.7)
83 kDa	8 (2.4)	1 (0.7)
88 kDa	1 (0.3)	0 (0)
93 kDa	4 (1.2)	4 (2.7)
97 kDa	0 (0)	1 (0.7)

表九.螺旋體分離培養陽性組織之培養時間統計表

組織來源	陽性檢體數(%)	陽性培養天數(平均)
E C M	15 (53.6)	20-63 (34.1)
Morphea	4 (14.3)	16-36 (25.3)
E C M & Arthritis	3 (10.7)	14-45 (27.3)
Others (ACA, CSF etc.)	6 (21.4)	10-58 (39.0)
Total	28	10-63 (33.2)

表十.螺旋體分離培養陽性個案之西方墨點試驗結果

螺旋體蛋白抗原 (Protein band)	陽性血清之反應頻數 (Frequency of reactivity)	
	IgG (%)	IgM (%)
28 kDa	1 (0.7)	1 (1.6)
30 kDa	15 (11.0)	6 (9.5)
33 kDa	1 (0.7)	0 (0)
35 kDa	1 (0.7)	0 (0)
37 kDa	0 (0)	1 (1.6)
39 kDa	8 (5.9)	2 (3.2)
41 kDa	17 (12.5)	9 (14.3)
45 kDa	26 (19.1)	14 (22.2)
58 kDa	13 (9.6)	6 (9.5)
63 kDa	21 (15.4)	6 (9.5)
66 kDa	25 (18.4)	16 (25.4)
68 kDa	0 (0)	1 (1.6)
72 kDa	4 (2.9)	0 (0)
76 kDa	1 (0.7)	0 (0)
81 kDa	1 (0.7)	0 (0)
83 kDa	2 (1.5)	1 (1.6)

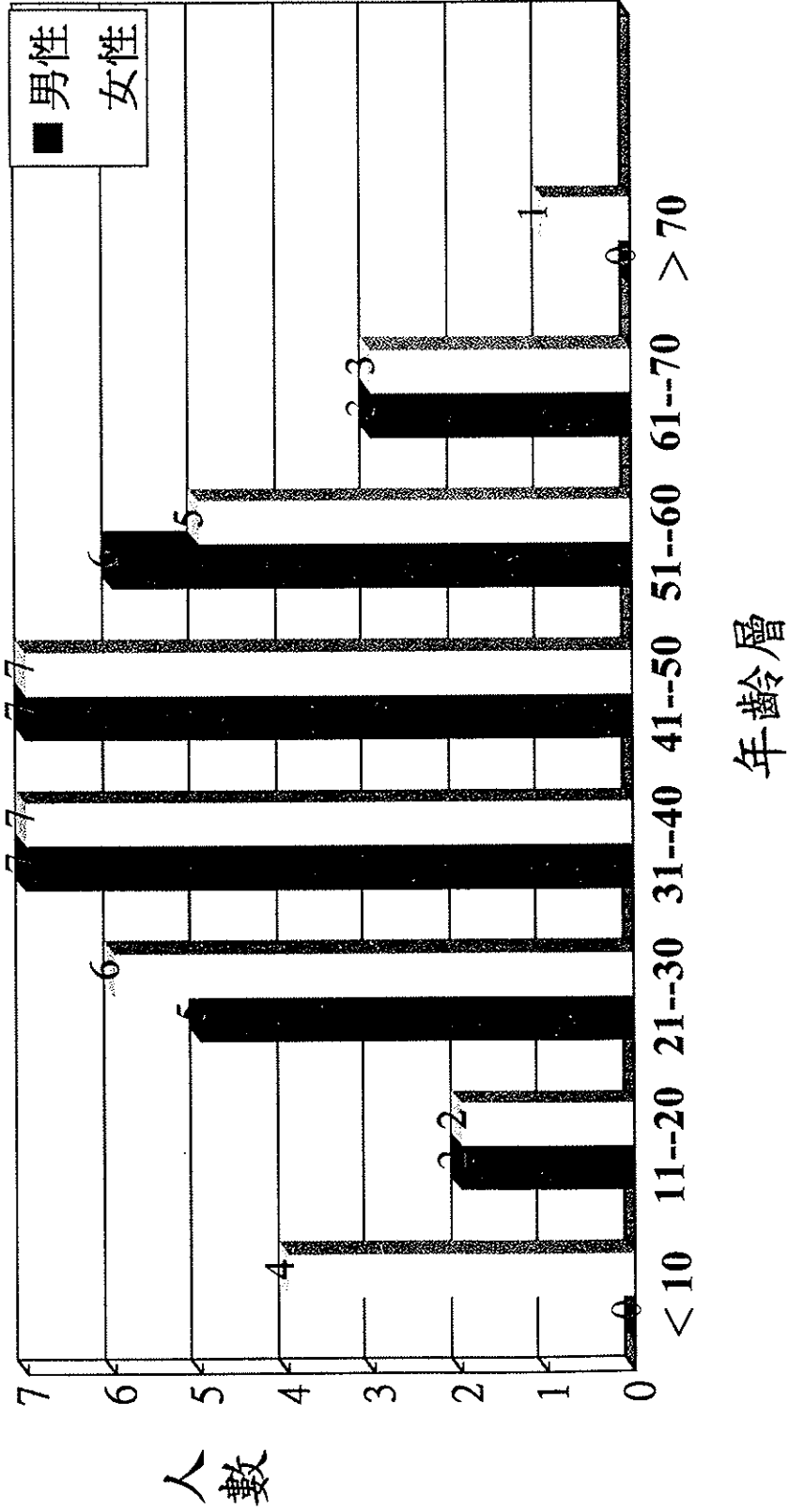
表十一.台灣地區萊姆病血清學診斷之建議參考標準

西方墨點試驗之主要螺旋體蛋白抗原		
血清抗體反應	IgG bands	IgM bands
IFA/ELISA (either)	Any three of: 30, 39, 41, 45, 58, 63, 66 kDa	Any two of: 21,23,28,30,39, 41,45,58,63,66, 83/93 kDa
	OR Any four of: 18, 21, 23, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 63, 66, 72, 83/93 kDa	

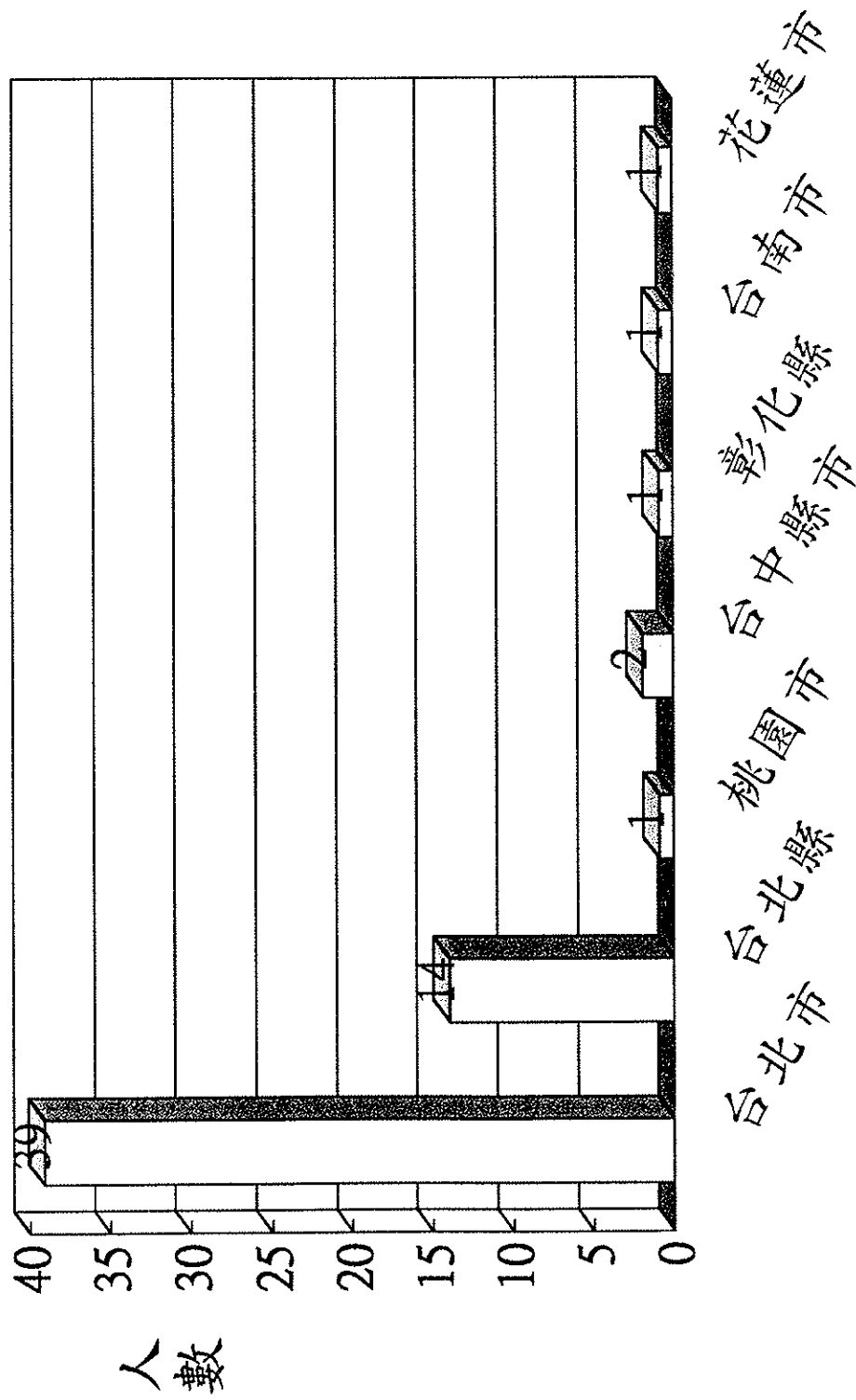
附註:(1)送驗血清必需具備皮膚、關節或神經等一種(含)以上之萊姆病臨床表癥。

(2)若皮膚切片(skin punch)或組織液(腦脊椎液或關節滑囊液之螺旋體培養試驗呈現陽性,即可直接判別為陽性個案。

(3)未達確診之邊緣陽性血清,則需與其他疾病(如:梅毒、恙蟲病、風濕免疫系統疾病及系統性紅斑狼瘡等)做鑑別診斷。



圖一. 萊姆病陽性個案之年齡別及性別特性分佈



圖二. 萊姆病陽性個案之居住地分佈圖