

計畫編號：DOH92-DC-1002

行政院衛生署疾病管制局九十二年度科技研究發展計畫

計畫名稱：

台灣地區萊姆病之流行病學探討：感染危險因子評估、病媒蜱之生態分布與病原體之檢測、與保菌宿主之調查

研究報告

執行機構：國立中興大學 獸醫公共衛生學研究所

計畫主持人：張照勤 助理教授

研究人員：吳宜瑾

執行期間：92年1月1日至92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提供此項研究經費，使得本研究工作得以順利進行，藉以瞭解並提供國內此新興蜚媒介人畜共通萊姆病之相關資訊與流行現況。

研究期間承蒙疾病管制局之指導與支援，特致謝忱。實驗室同仁吳宜瑾小姐於萊姆病原螺旋體之培養及檢體分子檢測等工作上付出心力，個人表示由衷敬謝。疾病管制局第三分局臺中港檢疫科與麥寮港檢疫科、中山醫學大學王凱淞助理教授與其實驗室研究團隊以及中國醫藥大學公衛系同學協助進行野鼠捕捉，提供本研究之病材，實為本研究進行中最耗心力但最重要的工作項目之一，於此一併致上謝忱。中興大學林荀龍醫師提供檢疫犬隻與收集外島犬隻檢體，個人亦表示由衷感謝。

【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 -----	14
五. 結 果 -----	17
六. 討 論 -----	20
七. 結論與建議 -----	23
八. 參考文獻 -----	24
九. 附表-----	29

中文摘要

萊姆病為一新興傳染病。根據台灣於 1998 年發現第一例萊姆病確診病例後，被學者加以積極地探討研究，以瞭解目前國內流行病學現況，傳播宿主病媒以及病原的種別特性。先前亦藉由疾病管制局委託，於北區及南區設立萊姆病參考實驗室，以利進行疑似臨床個案的診斷工作。而研究結果中，亦顯示出近來病例數目有逐漸增加的趨勢。本研究於本年度研究中進行以下的工作項目：(1) 台灣中部地區伯氏疏螺旋體的標準分離程序及分子診斷法之建立；(2) 台灣中部地區野鼠族群之萊姆病感染流行病學研究；(3) 台灣外來進口犬族群與外島(金門、馬祖、澎湖)犬族群萊姆病感染流行病學研究。本研究中藉由不同地區自平地、至山區、再至外島進行台灣居民最常出入的居家環境附近的公園、樹林、至低海拔的山腳地區，及南投高海拔的山區進行野鼠捕捉(共計 232 隻)，進行萊姆病原的培養分離及組織檢體的 PCR 檢測，結果顯示並未有任何具攜帶病原體之鼠類存在。外島犬隻中(共計 356 隻)亦未有陽性個案發現。但國外進口犬隻中(共計 143 隻)有三隻 PCR 陽性疑似萊姆病感染個案。結合以上動物宿主的調查結果，似乎顯示中台灣地區並非萊姆病的高流行區，尤其是在一般都市區民的生活環境中。然而，我們仍需注意外來動物可能造成的傳染風險。

關鍵字： 萊姆病、流行病學、診斷、動物宿主

Abstract

Lyme disease (LD) is an emerging infectious disease worldwide. In 1998, the first human case with LD identified in Taiwan initiated the researchers to investigate the potential hosts and vectors in the transmission, and to study the speciation of the pathogen in Taiwan. The reference laboratories of LD in northern and southern Taiwan were also set up to diagnose clinically suspected LD patients by the Center for Disease Control. According to the results, more cases were identified in the recent years. Based on these observations, this research project was then conducted to: 1) develop a standardized isolation and molecular diagnostic procedures in central Taiwan; 2) understand the epidemiology of LD in wild rodents in central Taiwan; 3) understand the epidemiology of LD in imported dogs from foreign countries as well as the domestic dogs in Kinmen, Ma-zu and Peng-Hu islands. The 232 rodents collected from various residential areas nearby humans, and from the low-elevation and high-elevation mountainous areas were culture-negative and PCR-negative for LD. A total of 356 domestic dogs collected in Kinmen, Ma-zu and Peng-Hu islands were also LD-negative, based on the results of culture, as well as molecular and serologic testing. However, three out of 143 dogs imported from foreign countries were PCR-positive for LD. The above results indicated that central Taiwan might not be a LD-highly epidemic area, especially in residential areas nearby humans. However, we should be aware of the possible transmission of LD from imported animals.

Key words: Lyme disease, epidemiology, diagnosis, animal reservoir

前言

近年來，由於人類對土地需求造成生態環境改變的結果，人類與原始自然森林的接觸機會增加。此外，由於對休閒活動的重視及交通工具更為便捷的情形下，參與國際旅遊的機會更為頻繁，致使過去不常見的傳染病或被忽視的傳染病漸行重要，其中以蜱所傳遞的疾病（tick-borne infections）在近年來受到極大的重視，尤其是經由硬蜱（hard tick）所傳染的萊姆病（Lyme disease）。真正認識萊姆病為在西元 1975 年時，於美國的康乃的克州之 Old Lyme 鎮上，爆發了關節炎患者的流行病，由於患者的年齡屬年幼的孩童，與一般臨床上關節炎患者好發族群為年長者不同，引起了 Dr. Allen Steer 的重視與進一步調查，結果發現患者似乎與硬蜱的叮咬暴露有關[1-2]。此後，Burgdorfer 等人更進一步由傳染此疾病的蟲媒蜱 *Ixodes dammani*（現改名為 *I. scapularis*）中分離出致病菌 *Borrelia burgdorferi* [3]。美國疾病管制局自 1982 年起展開此病的偵測調查，依據美國於近十年來的結果，萊姆病的病例數有顯著增加的趨勢，每年約有 10,000 名新病例[4]，為全美排名第一之病媒性疾病，更顯現了萊姆病對人類健康的威脅。

萊姆病的致病原為長 20~30 μm 、寬 0.2~0.3 μm 、且具鞭毛之伯氏疏螺旋體（*Borrelia burgdorferi sensu lato*, Bb sl）。由於分子微生物學的進步，Bb sl 的種別數也不斷的在增加，然其中有三重要的種別為人類重

要的萊姆病致病原，包括主要分佈於北美洲與歐洲的 *B. burgdorferi sensu stricto*、分佈於歐亞大陸的 *B. garinii* 與 *B. afzelii*。人類在經硬蜱叮咬而感染萊姆病後，初期可產生類似感冒的症狀，如發燒、頭痛、與全身倦怠。因此臨床上不易為醫師察覺而延誤醫療時機。感染後之數天，約有 50%-70% 的患者會於皮膚上出現游走性紅斑 (erythema migran, EM)，為感染萊姆病的典型臨床表徵[5]，如未能適時發現求醫病加以抗生素治療，可能會產生系統性感染 (systematic infection)，約有 50% 病患演變成肌肉骨骼病變 (如多發性關節炎或慢性膝關節炎)，10%-12% 會產生神經系統方面的疾病 (如顏面神經麻痺)，與 8%-10% 病患產生心臟血管系統病變 (如心肌炎、心包囊炎等) [5]。一般而言，此病之致死率不高，然可能因延誤醫療時機所造成之慢性病變，或重複性感染，會造成病患臨床上長期的困擾與生活品質的下降。依據過去的研究顯示，萊姆病患者的臨床表徵似乎呈現地域性的差異。因此，有學者認為致病力的差異可能與不同的伯氏疏螺旋體種別有關[6-8]。最近的資料並指出，*B. garinii* 在歐洲為主要引起人類神經系統疾病的主要病原，而 *B. afzelii* 為與人類萊姆病皮膚型之產生有密切相關[9]。此外，也有學者發現萊姆病原螺旋體之感染力與菌體中之質體(plasmid)有關[10]，值得進一步探討。

為診斷萊姆病之有無，最佳之黃金診斷標準乃是以特殊之培養基

(BSK-H)於 34°C，5% CO₂ 環境下培養數星期之後，觀察是否有伯氏疏螺旋體之生成。然而在真正臨床病患之使用上，常無法成功地分離到此螺旋體的存在，敏感度極低。目前為止，美國疾病管制局的診斷方式係依據血清學之檢測結果判定。若疑似病例以酵素免疫分析法或間接螢光免疫法檢測為陽性之個案後，為提昇結果之特異性，減低偽陽性之結果，還需經由西方墨點法作第二次血清學檢測。若疑似病例之血清抗體與伯氏疏螺旋體抗原(目前使用之菌株為 *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B-31)出現陽性反應，而呈現出至少有 5 條特異帶大小為屬 18、21、28、30、39、41、45、58、66、93 kDa 時判定為 IgG(+)，而出現至少有 2 條特異帶大小為屬 18、21、28、37、41、45、58、66、93 kDa 或 23、39、41 kDa 時則判定為 IgM(+)個案。

然而，根據台灣地區尚未發表之結果顯示，似乎台灣地區之伯氏疏螺旋體病原之抗原特性與 B-31 株並不完全相同，若依美國疾病管制局之準則判定，則有可能導致台灣地區萊姆病個案數之低估。此外，血清學之檢測上也常發現於抗生素治療期間之個案，有可能出現血清學呈現陰性之結果，造成血清學檢測之低敏感度[11, 12]。反觀其他研究在血清學方法的結果評估上，有研究者發現患者在感染之後的六週後，才有可能有血清陽轉的現象，造成在此空窗期間之感染個案並無法在第一時間之內被診斷出而進行有效的治療。因此有學者建議需同

時配合病患之臨床表徵(如 EM)、蟬之暴露史、是否於流行地區內發病之個案共同作為陽性個案判定之參考。此外，血清學之結果並無法得知此個案為新感染個案或過去感染個案，雖有 IgM 之檢測準則來判定新感染個案，但文獻上已有報告指出感染個案在追蹤數十年後仍呈現 IgM 陽性結果[13]。

為解決血清學檢測判定之困難，近幾年來由於分子生物學之進步，許多研究者也嘗試發展分子診斷方法以進行快速鑑定診斷。其中尤以配合萊姆病原某些特異之基因片段進行聚合酶連鎖反應，以大量增幅方式並配合引子的設計來增加檢測之敏感性與特異性，冀以此新興之微生物檢測方法進行快速正確的診斷。已被使用的基因包括了 16S rRNA、*osp A*、*osp B*、*osp C*、5S-23S intergenic spacer region、*rec C*、*rec A*、flagellin gene、*vls E* 等眾多基因[14-19]。而各研究中也呈現出其檢測法之高敏感度與高特異度。然而在面臨臨床個案之檢測時，我們必須面對的是檢體的採集及處理，以提供有效之檢體進行正確的分析。目前為止 PCR 診斷之使用已被應用於血液檢體、腦脊髓液檢體及尿液檢體之檢測。而在敏感度及特異度之評估結果上，仍有相當大的差異[14]，除了基因的選擇及引子的選擇之外，檢體當中的相關 PCR 抑制因子對於結果之正確呈現也扮演了相當重要的角色。在眾多基因之中，研究也顯示 flagellin gene 似乎是未來可以進一步發展之快速分

子診斷方向，對 *Borrelia spp.* 之種別判定上區辨能力高，未來值得進一步以完整之研究設計來進行評估比較，以瞭解其在真正診斷使用的實用價值。

萊姆病之病原 *B. burgdorferi* 是一種藉由硬蜱傳遞的疾病。而在硬蜱眾多種別中，以 *Ixodes ricinus complex* 為最主要，包括在歐洲之 *Ixodes ricinus ricinus*，亞洲之 *Ixodes persulcatus*，北美洲東部及中部之 *Ixodes scapularis* 及北美洲西海岸地區的 *Ixodes pacificus*。環境中硬蜱分布之密度及感染率之高低決定了一地區是否造成萊姆病的流行 [20]。此硬蜱在環境中主要生活史期包括了卵、幼蜱(larva)、若蜱(nymph)及成蟲(adult)。而在卵發育成為蟲體之後，每一階段的生活史中皆需要找尋一個適當的宿主，進行 2 至 7 天的持續吸血。研究者發現，在某些立克次體類之蜱傳染病可藉卵傳遞(transovarial transmission)之行為，在萊姆病原的伯氏疏螺旋體並無法有效進行，致使環境中發現在幼蜱時期之硬蜱極少數具有感染能力。因此，決定日後環境中硬蜱感染率高低的因素之中，具感染力之勝任宿主(competent reservoir)分布扮演重要的角色，如 white footed mice (*Peromyscus leucopus*)。當幼蜱順利地叮咬吸血一感染之宿主之後，即由宿主的身上掉落地面而孵化成為具感染力之若蜱，此時期的蟲體仍小，叮咬亦無明顯痛覺，因此被認為是人類萊姆病之主要傳播病媒生活史期。流行病學調查的結果亦

顯示，若蜱的高峰期出現與之後人類的病例數增加有明顯的關係[21]。我們在美國加州大學柏克萊分校研究小組在生態學上的調查更顯示了一個相當有趣的現象，即環境之中病媒蜱所喜好之宿主為 western fence lizard 更甚於 white footed mice，而由於此爬蟲類動物經本研究室的進一步探討，發現了在其體內有經由補體防禦機制形成的殺伯氏疏螺旋體因子(Borreliacidal factor) [22]。因此，若環境中此 lizard 的分布密度高的情況下，硬蜱大多數會寄生於此 lizard 身上而不選擇野生鼠為吸血對象，為造成硬蜱中低感染率的主要影響因素之一。至於在成蟲期之硬蜱，其寄生對象主要以中、大型之哺乳動物為主，野生鹿為重要的血庫來源，提供其充足的血液養分以順利產卵進行下一代繁殖，研究亦顯示在萊姆病的傳遞史中，野生鹿並非扮演一保毒宿主(reservoir)的角色，而是生產宿主(reproductive host)。其他的萊姆病保毒宿主中已被學者發現的包括了於地面尋食(ground-foraging)或地面築巢(ground-nesting)的鳥類、狗等[4, 23, 24]。

根據台灣過去的研究調查，於 1998 年發現第一例萊姆病確診病例後[25]，師健民教授等研究[26]指出台灣地區的伯氏疏螺旋體似乎與北美的 *Borrelia burgdorferi sensu stricto* 相近。在過去其他各國於萊姆病的傳遞蟲媒(vector)-硬蜱方面的研究，認為在眾多硬蜱種中，以 *Ixodes ricinus complex* 的硬蜱為最重要的勝任蟲媒(competent vector)，如北

美洲東部與中部的 *I. scapularis*、北美洲西部的 *I. pacificus*、歐洲地區的 *I. ricinus*、亞洲地區的 *I. persulcatus* 與 *I. ovatus* [27]。而在台灣的野生鼠調查中，發現 *Rattus losea*、*Rattus rattus* 與 *Rattus norvegicus* 可能為重要的保毒宿主[28]。在都市化之生活環境之下，台灣居民到底是從何處受到硬蜱的叮咬暴露而得病？或是都會型的公園草地或河濱公園草地為可能的暴露來源？此外，是否家中飼養的寵物或都市鼠為暴露源？國外研究顯示與人關係密切的寵物狗，有可能是人類感染萊姆病的來源之一[29]。由於台灣本島內之生態與國外不同，是否在不同之生態環境下，此生活史中的三個蟲體時期皆喜好寄生於狗身上或狗舍環境之病媒蜱種，演變為台灣本島內之萊姆病主要傳播病媒？而台灣居民經由飼養家犬為家中寵物或流浪犬共同生活之居住環境之下，而有機會藉由 *Rhipicephalus scanguineus* 的叮咬暴露而感染此病，這些都需執行一連串的流行病學研究與調查自然生態環境中硬蜱分布與其感染率與當地動物宿主的動態變化加以了解。這些資訊皆有助於對未來衛生防疫單位有效防治策略的參考方針制定。此外，由於發現居住於人類萊姆病例出現且有病媒蜱分布地區的狗亦有抗體陽轉的現象。因此，除應探討狗是否為萊姆病之保毒宿主而為人類萊姆病感染源之外，利用狗族群的血清流行病學調查亦可有助於找出萊姆病的可能流行區域[29-32]。

因此根據以上所述之研究背景，本研究於本年度研究中進行以下的工作項目

- (1) 台灣中部地區伯氏疏螺旋體的標準分離程序及分子診斷法之建立；
- (2) 台灣中部地區野鼠族群之萊姆病感染流行病學研究；
- (3) 台灣外來進口犬族群與外島犬族群萊姆病感染流行病學研究。

材料與方法

家犬研究對象的選取

本研究犬隻來源一為來自進口檢疫犬隻，藉以評估外來病原侵入的風險。另一來源為本校獸醫教學醫院於今年八月期間至金門、馬祖與澎湖外島義診時所收集的血液檢體。犬隻身上有無蟬的寄生、犬的種別、年齡、性別、犬隻來源等資料也一併加以收集。

野鼠檢體的採集

本研究於野鼠方面以按月捕鼠方式收集台灣中部地區人居住週遭樹林、海岸漁港附近地區鼠檢體、居民常踏青的近內陸山區（大坑與大度山區）、一次南投深山區、與一次外島金門地區檢體採集。將鼠捕捉後予以麻醉抽血，收集耳朵、脾臟等組織加以保存。耳朵、血液、及脾臟檢體皆萃取其 DNA，而鼠耳檢體以萊姆病原特定培養基 BSK-H 加以培養（見下頁流程圖）。

伯氏疏螺旋體的分離培養與分子診斷

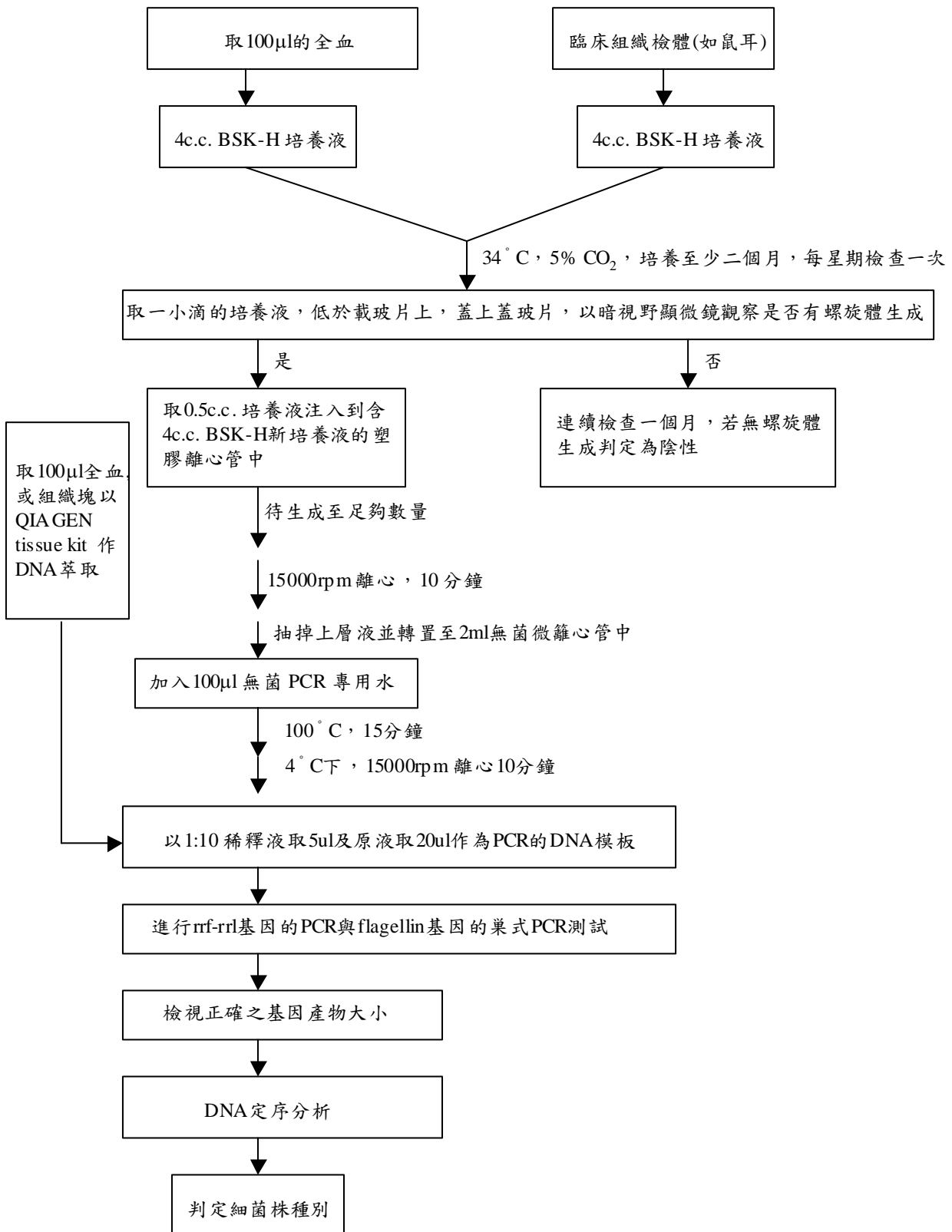
由於在某些無法預知的狀況下（如低程度感染），若只依伯氏疏螺旋體分離培養可能造成偽陰性的結果，本研究以由血液培養為主，並配合以全血與/或組織檢體進行聚合酶鏈鎖反應（polymerase chain reaction, PCR），同時進行診斷與感染菌株的種別鑑定（見下頁流程圖）。研究

比較之基因包括 *rrf-rrl* 基因[18]與 *flagellin* 基因[33]等。於每次檢測過程中皆包含美國標準菌株 B31 的萊姆病原 DNA 陽性檢體以確定反應順利進行，與加入滅菌純水為陰性對照，作為操作時是否有人為污染之考量標準。

統計分析

統計分析以 SAS/PC 6.12 版進行，依不同統計分析的目的需要利用卡方檢定、t-檢定、多變項回歸分析、與配對分析法等進行統計學分析檢定。

萊姆病螺旋體的分離與鑑定



結果

於本年度研究計劃中，主要針對台中及雲林地區的野鼠族群進行按月不同地點的捕捉調查，並進行一次外島金門的野鼠捕捉及南投山區的野鼠捕捉。此外，由於狗於國外研究中一直被認為是萊姆病流行的監測重點，我們也收集了檢疫犬及一次於外島（金門、馬祖、澎湖地區）的犬隻樣本收集並進行檢測。其結果分述如下。

中台灣地區野鼠族群萊姆病流行病學監測結果

中台灣地區平地都市附近的郊區依全年按月採集結果，共計採得野鼠共 218 隻，其中鼠齡、鼠種的分佈請詳見表 1。南投山區一次採集 12 隻(計有 *R. coxinga* 一隻、*R. losea* 兩隻、*M. caroli* 一隻及 *S. murinus* 兩隻)，外島金門於一次採集過程中共採得 2 隻野鼠(皆為 *R. losea*)。

所有採集的鼠樣本中，皆將剪下的耳朵樣本先進行 70%酒精的表面消毒後，剪成小碎片，放入預先被製備好的萊姆病原特定培養基中，於觀察至少二個月後，研究結果顯示皆未發現有任何疑似萊姆病螺旋體之生成。

所有的鼠樣本的耳檢體，血液檢體及脾臟檢體皆進一步進行 DNA 萃取，並進行萊姆病特定基因片段 *rrf-rrl* 基因的 PCR 分析。為避免萃取後之 DNA 中仍有未明的 PCR 抑制物質而導致偽陽性的結果，我們先

以鼠檢體組織加入已知萊姆病原的 DNA 進行萃取，發現萃取後之 DNA 需經 1：10 倍稀釋會顯現出最佳 PCR 偵測效果。因此所有鼠檢體 DNA 萃取產物皆進行原萃取液 20ul 及 1：10 被稀釋後萃取液的 PCR 檢定。利用此 *rrf-rrl* 基因為標的的檢測結果，仍皆未發現有任何陽性個案。

為求結果審慎，我們又選取了另一標的基因，萊姆病原的鞭毛基因（flagellin gene）為標的，進行更敏感的巢式 PCR 檢測分析，結果所有被測檢體亦無任何陽性個案。而陽性與陰性對照組皆正常反應。

犬隻的萊姆病流行病學監測結果

萊姆病於美國及歐洲地區皆為常見的病媒傳染病，因此需要瞭解國外輸入犬隻是否有可能造成國內感染萊姆病的另一重要途徑，本研究中收集了 143 隻國外進口的檢疫犬(見表 2)，利用收集到的全血檢體進行萊姆病原培養及將血液之 DNA 萃取產物進行標的基因為 flagellin 基因的巢式 PCR 檢測。結果於培養病原方面亦未發現任何培養陽性個案。但 PCR 檢測過程中，發現有 3 個檢體呈現萊姆病原特異 PCR 片段，經重複測試後，亦呈陽性個案。此 3 個檢體並進一步進行定序比對。當中有 2 個檢體之 PCR 產物基因片段與陽性對照 B31 病原株為 100% 相似，另一檢體有一個鹼基的差異。為瞭解是否此陽性結果可能為人為操作之污染，我們選擇了 *rrf-rrl* 基因的 PCR 方式再次進行檢測，結

果此三檢體呈現陰性反應結果。

除檢疫犬外，我們亦收集外島犬隻進行萊姆病原的檢測，本研究中共收集了金門地區犬隻 141 隻，馬祖地區犬隻 67 隻，澎湖地區犬隻 148 隻，其血液檢體利用金門地區犬隻中隨機抽取 30 隻進行全血培養，結果皆無發現任何犬隻血液中有萊姆病原體的存在。於收集的現場並利用 IDEXX 三合一診斷套組（犬心絲蟲、犬愛立西體病、萊姆病）（IDEXX The snap Heartworm Ag/Borrelia Burgdorferi Ab/Ehrlichia Ab test kit）進行萊姆病感染的血清調查，結果皆未發現任何血清陽性犬隻。

討論

台灣萊姆病的相關研究於 1998 年師等[25]於第一例因萊姆病引起的台灣皮膚遊走性紅斑病患中被診斷出後，被學者加以積極地探討研究，以瞭解目前國內流行病學現況，傳播宿主病媒以及病原的種別特性。先前亦藉由疾病管制局委託，於北區及南區設立萊姆病參考實驗室，以利進行疑似臨床個案的診斷工作。而研究結果中，亦顯示出近來病例數目有逐漸增加的趨勢，但由於萊姆病的診斷方式目前為血清學為主，而所用陽性診斷標準及萊姆病抗原性似乎有地域上的差異，致使如何正確地診斷萊姆病個案一直被研究學者廣泛地加以討論。若應用美國疾病管制局的標準診斷程序，根據最近由疾病管制局所做的相關病例診斷結果，似乎顯示萊姆病例數目並非如此頻繁。

台灣為一海島型氣候國家，氣候溫暖潮濕，為病媒滋生的好環境，因此病媒性傳播疾病的確認應加以重視，如蚊、蚤、蝨、蜱等媒介的相關疾病。但蜱媒介疾病由於不同蜱種別其生長條件有很大差別，需要有適當的溫度、濕度之外，由於萊姆病的傳播病媒蜱 *Ixodes ricinus* complex 為三宿主生活形態之硬蜱，因此又牽涉到環境中是否出現蜱各階段適應的宿主，以有效地建立傳播流行。例如學者相信，於幼蜱及若蜱階段可能於小嚙齒類動物身上進行寄生，而當成蜱階段則需有中、大型以上哺乳動物做為一血庫來源，若一項天然環境不利

哺乳動物生存或病媒生存，傳播模式即無法建立。加州地區一項研究顯示，若環境中出現萊姆病之非勝任宿主，如蜥蜴等[22]，而病媒若對其有較高的偏愛性，是無法造成大規模的流行的。由這些觀點來看，台灣從事人類萊姆病流行病學研究之前，首先工作便是要瞭解目前於宿主族群中是否真有萊姆病原感染的流行。

本研究中藉由不同地區自平地、至山區、再至外島進行台灣居民最常出入的居家環境附近的公園、樹林、至低海拔的山腳地區，及南投高海拔的山區進行野鼠捕捉，進行萊姆病原的培養分離及組織檢體的 PCR 檢測，結果顯示並未有任何具攜帶病原體之鼠類存在。過去台灣的相關研究顯示小黃腹鼠 (*Rattus losea*)，家鼯鼠 (*Rattus musculus*) 與溝鼠 (*Rattus norvegicus*) 為萊姆病原感染比例最高的前三名鼠種 (陽性率 19.4%~36.4%) [28]。本研究中包含了相當多溝鼠的調查，皆未有陽性個案。然小黃腹鼠雖限於樣本數，也並未有任何陽性個案。本研究中只捕捉到一隻家鼯鼠的檢體，因此未能進行深入調查。無論如何，根據以上研究結果，似乎支持於中台灣地區，在居民頻繁生活環境的周遭區域，並未有感染萊姆病原的高風險。

另一方面，我們一直認為台灣在萊姆病的流行病學研究上，應著重於外來動物經於當地受感染後，造成國內可能的散發病例的危險性。因此，我們嘗試調查國外輸入的犬隻，以評估此風險。於本年度

輸入的犬隻中，我們發現有三隻分別進口自美國及菲律賓地區的犬隻，經鞭毛基因的高敏感度巢式 PCR 檢測結果為陽性個案，且重複檢測後仍為陽性，並與該 B31 萊姆病原之 DNA 序列有極高的相似度。意外的是，當我們以另一 *rrf-rrl* 基因片段進行 PCR 檢測時，卻未能成功地出現預期的陽性結果。在如此的結果之下，我們並不知道此不同 PCR 檢測方式出現相異的結果，乃造因於人為的污染或是不同診斷工具的敏感度不同。然而，不管如何，我們仍應注意自高感染疫區的國家輸入動物之監測，及遇到人類臨床疑似病例時，應同時詢問其是否曾接觸過外來動物之病史，以有效地進行病歷流行病學資料的收集以利確診。

由於在台灣外島區域曾有學者針對野鼠調查結果報告為萊姆病原感染的高盛行區域。我們在利用一次於金門、馬祖、澎湖的義診行動中，進行當地犬隻的調查工作，於血液的培養方面，經選取的犬隻，其培養結果皆為陰性。而同時利用 IDEXX 公司所發展的快速萊姆病血清診斷試劑，也未有任何血清陽性的個案。我們並同時觀察到這些犬隻的身上大部分皆有蟬的寄生。因此，結合以上的觀察結果，似乎也無法支持在這些區域中，萊姆病原的暴露是相當常見的。

結論與建議

結合以上動物宿主的調查結果及本年度與疾病管制局人類萊姆病例的診斷結果，似乎顯示國內並非萊姆病的高流行區，尤其是在中台灣地區一般都市區民的生活環境中。但仍應值得注意的是，本研究一年調查結果，是否因本年度的調查過程有選樣偏差，或是氣候因素不利病媒與宿主之間的互動傳播仍須考慮。但不可否認的是，萊姆病的確在歐美為常見的病媒傳染病，國內對此病的防疫重點應加強醫師的詢問過去的旅遊史及國外輸入動物的暴露史，此乃國內生態環境中，最有可能導致人類萊姆病的因素。

參考文獻

1. Steer AC, Malawista SE, Snyderman DR, Shope RE, Andiman WA, Ross MR, and Steele FM. Lyme arthritis; an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum* 1977;20:7.
2. Steere AC, Broderick TF, and Malawista SE. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: epidemiologic evidence for a tick vector. *Am J Epidemiol* 1978;108:312.
3. Burgdorfer W., Barbour A.G., Hayes S.F., Benach J.L., Grunwaldt E., and Davis J.P.. Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? *Science* 1982;216:1317.
4. Center for Disease Control. Lyme disease-United States, 1995. *MMWR* 1996;45: 481-484.
5. Sigal L.H.. Lyme disease: a review of aspects of its immunology and immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol* 1997;15:63-92.
6. Boerlin P., Bretz A.G., Postic D., Baranton G., Piffaretti J.C.. Population genetic analysis of *Borrelia burgdorferi* isolates by multilocus enzyme electrophoresis. *Infect Immunol* 1992;60:1677-1683.
7. van Dam A., Kuiper H., Vos K., Widjojokusumo A., de Jongh B.M., Spanjaard L., Ramselaar A.C.P., Kramer M.D., Dankert J.. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis* 1993;17:708-717.
8. Wienecke R., Zochling N., Schlupen E.M., Neubert U., Meurer M., Volkenandt M.. Molecular subtyping of *Borrelia burgdorferi* in erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. *J Invest*

- Dermatol 103:19-23.
9. Lebech AM. Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification. APMIS Supplementum 2002; 105:1-40.
 10. Labandeira-Rey M, Skare JT. Decreased infectivity in *Borrelia burgdorferi* strain B31 is associated with loss of linear plasmid 25 or 28-1. Infection & Immunity 2001; 69(1): 446-455.
 11. Dattwyler RJ, Volkman DJ, Luft BJ, Halperin JJ, Thomas J, Golightly MG. Seronegative Lyme disease: dissociation of the specific T- and B-lymphocyte responses to *Borrelia burgdorferi*. N Engl J Med 1988;319:1441-1446.
 12. Dressler F, Yoshinari NH, Steere AC. The T cell proliferative assay in the diagnosis of Lyme disease. Ann Intern Med 1991;115:533-539.
 13. Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active Lyme disease. Clin Infect Dis 2001;33(6):780-785.
 14. Schmidt B.L.. PCR in laboratory diagnosis of human *Borrelia burgdorferi* infections. Clin Microbiol Rev 1997;10:185-201.
 15. Liebisch G, Sohns B, Bautsch W. Detection and typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks attached to human skin by PCR. J Clin Microbiol 1998; 36: 3355-3358.
 16. Liveris D, Wormser GP, Nowakowski J, Nadelman R, Bittker S, Cooper D, Varde S, Moy FH, Forseter G, Pavia CS, Schwartz I. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* from Lyme disease patients by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin

- Microbiol 1996; 34: 1306-1309.
17. Marconi RT, Garon CF. Development of polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. J Clin Microbiol 1992; 30: 2830-2834.
 18. Postic D, Assous MV, Grimont PAD, Baranton G. Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf(5S)-rrl(23S) intergenic spacer amplicons. Int J Syst Bacteriol 1994; 44: 743-752.
 19. Pietila J, He Q, Oksi J, Viljanen MK. Rapid differentiation of *Borrelia garinii* from *Borrelia afzelii* and *Borrelia burgdorferi* sensu stricto by lightcycler fluorescence melting curve analysis of a PCR product of the *recA* gene. J Clin Microbiol 2000;38(7):2756-2759.
 20. Barbour AG, Fish D. The biological and social phenomenon of Lyme disease. Science (Washington, D.C.) 1993; 260: 1610-1616.
 21. Clover JR, Lane RS. Evidence implicating nymphal *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of Lyme disease in California. Am J Trop Med Hyg 1995; 53(3): 237-240.
 22. Lane RS, Quistad GB. Borreliacidal factor in the blood of the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*). J Parasitol 1998; 84(1): 29-34.
 23. Giardina AR, Schmidt KA, Schaubert EM, Ostfeld RS. Modeling the role of songbirds and rodents in the ecology of Lyme disease. Can J Zool 2000; 78: 2184-2197.
 24. Anderson JF. Epizootiology of *Borrelia* in tick vectors and reservoir hosts. Rev Infect Dis 1989;11(suppl 6): S1451-1459.
 25. Shih C.M., Wang J.C., Chao L.L., Wu T.N.. Lyme disease in Taiwan:

- first human patient with characteristic erythema chronicum migrans skin lesion. J Clin Microbiol 1998;36:807-808.
26. Shih C.M., Chang H.M., Chen S.L., Chao L.L.. Genospecies identification and characterization of Lyme disease spirochetes of genospecies *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated from rodents in Taiwan. J Clin Microbiol 1998;36:3127-32.
27. Lane R.S., Piesman J., Burgdorfer W.. Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. Annu Rev Entomol 1991;36:587-609.
28. Shih C.M., Chao L.L.. Lyme disease in Taiwan: primary isolation of *Borrelia burgdorferi*-like spirochetes from rodents in the Taiwan area. Am J Trop Med Hyg 1998; 59:687-692.
29. Lindermayer J.M., Marshall D., Onderdonk A.B.. Dogs as sentinels for Lyme disease in Massachusetts. Am J Publ Health 1991;81:1448-1455.
30. Walker ED, Stobierski MG, Poplar ML, Smith TW, Murphy AJ, Smith PC, Schmitt SM, Cooley TM, Kramer CM. Geographic distribution of ticks (Acari: Ixodidae) in Michigan, with emphasis on *Ixodes scapularis* and *Borrelia burgdorferi*. J Med Entomol 1998; 35: 872-882.
31. Eng TR, Wilson ML, Spielman A, Lastavica. Greater risk of *Borrelia burgdorferi* infection in dogs than in people. J Infect Dis 1988; 158: 1410-1411.
32. Guerra MA, Walker ED, Kitron U. Canine surveillance system for Lyme borreliosis in Wisconsin and northern Illinois: geographic distribution and risk factor analysis. Am J Trop Med Hyg 2001;65(5):546-552.

33. Jaulhac B, Heller R, Limbach FX, Hansmann Y, Lipsker D, Monteil H, Sibia J, Piemont Y. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in synovial samples from patients with Lyme arthritis. *J Clin Microbiol* 2000;38(5):1895-1900. Giardina AR, Schmidt KA, Schaub EM, Ostfeld RS. Modeling the role of songbirds and rodents in the ecology of Lyme disease. *Can J Zool* 2000; 78: 2184-2197.

表 1. 按月收集野鼠檢體資料

月份別	地區別	各鼠種收集數目 (成鼠所佔%)				總計
		<i>R. norvegicus</i>	<i>M. Musculus</i>	<i>S. murinus</i>	<i>R. losea</i>	
1 月	台中	1(100%)	0(0%)	4(100%)	0(0%)	5
	雲林	1(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1
2 月	台中	0(0%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)	2
	雲林	7(100%)	0(0%)	4(100%)	0(0%)	11
3 月	台中	17(65%)	0(0%)	10(90%)	1(100%)	28
	雲林	3(33%)	0(0%)	3(67%)	0(0%)	6
4 月	台中	6(33%)	0(0%)	16(88%)	1(100%)	23
	雲林	6(100%)	0(0%)	4(100%)	0(0%)	10
5 月	台中	1(100%)	0(0%)	5(100%)	0(0%)	6
	雲林	7(100%)	0(0%)	3(100%)	0(0%)	10
6 月	台中	0(0%)	0(0%)	3(100%)	0(0%)	3
	雲林	6(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	6
7 月	台中	0(0%)	0(0%)	3(100%)	1(100%)	4
	雲林	3(67%)	0(0%)	1(100%)	0(0%)	4
8 月	台中	5(100%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)	7
	雲林	6(33%)	1(0%)	10(80%)	0(0%)	17
9 月	台中	3(100%)	0(0%)	10(100%)	0(0%)	13
	雲林	2(100%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)	4
10 月	台中	4(100%)	0(0%)	15(100%)	0(0%)	19
	雲林	4(100%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)	6
11 月	台中	0(0%)	0(0%)	10(100%)	0(0%)	10
	雲林	2(100%)	0(0%)	3(100%)	0(0%)	5
12 月	台中	7(100%)	0(0%)	11(100%)	0(0%)	18
	雲林	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0
合計		91	1	123	3	218

表 2. 國外輸入犬隻數目

國別	犬隻數
美國	87
加拿大	25
哥斯大黎加	1
德國	2
法國	2
瑞士	1
匈牙利	3
荷蘭	1
貝里斯	1
菲律賓	3
印尼	1
香港	10
泰國	1
日本	1
韓國	4
合計	143