

計畫編號：DOH101-DC-1302

行政院衛生署疾病管制局 101 年度科技研究發展計畫

計畫名稱：高風險類鼻疽疫情區域之地理、氣候、感
染源與傳播途徑之相關性

研究報告

執行機構：國立高雄師範大學 生物科技系

計畫主持人：陳亞雷

研究人員：陳培詩、陳堯生

執行期間：民國 101 年 1 月 1 日至 101 年 12 月 31 日

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外研究成果應事先徵求本署同意

*

目錄

中文摘要.....	(3)
英文摘要.....	(4)
前言.....	(5)
材料方法.....	(6)
結果.....	(9)
討論.....	(12)
結論與建議.....	(15)
計畫重要研究成果及具體建議.....	(17)
參考文獻.....	(18)
圖.....	(22)
表.....	(30)

中文摘要

本計畫將類鼻疽個案(2005-2011)之地理資訊系統的空間與時間分析，界定南台灣的二仁溪下游(7.5 km² 範圍)與高雄楠左營、楠梓地區(左楠, 5 km² 範圍)為疾病發生的熱點。並經由氣候因子與疾病發生的相關性分析，二仁溪下游地勢平坦而使得風速與風向成為主要影響疾病發生的氣候因子。相對的，高雄左楠地區因山丘地形而阻擋風力，降雨則成為主要的氣候影響因子。本計畫將縱向追蹤三年，旨在證明類鼻疽熱點(左楠)受地理屏障，在強風豪雨過受，污染 *B. pseudomallei* 的空氣微粒會滯留懸浮於空氣中，進而增加了熱點地區民眾的接觸或吸入的機會，使得類鼻疽疫情浮現。目前已在熱點核心地區(5 km²)的空氣微粒檢測出 *B. pseudomallei* DNA(檢出率, 24.1-35.6%)，核心外圍地區為 0-7.1%。雖然今(2012)年未出現明顯的強風豪雨，以及類鼻疽疫情的發生，但仍有 63% (14/22)發生於高雄地區，並有 50% (7/14)出現在研究的熱點地區。同時熱點的核心地區 *B. pseudomallei* DNA 最高檢出率或檢出濃度出現在 7-8 月間，該期間亦出現 3 件類鼻疽通報病例。本年度使用 random sampling 的策略，在熱點地區進行土壤與水體的篩檢，結果土壤檢出率為 16%、水體檢出率為 25%；土壤活菌分離率為 8%、水體為 3%，並且高檢出率與分離率都集中於楠梓的藍田農地與左營的蓮池潭。該分離地成為假定之污染源。持續計畫將假設特定氣候條件下，*B. pseudomallei* 可由污染源的深層土壤或潭水底泥浮出至地表或水表，並且吸附於空氣微粒中。因此，空氣微粒出現高濃度的 *B. pseudomallei* DNA，將使得熱點地區的類鼻疽疫情出現。類鼻疽疫情應警戒的地理區域與極端氣候之氣候危險因子，將在後續的計畫中被建置。

關鍵字：類鼻疽、極端氣候、熱點、傳染模式、地理分布、空氣微粒

英文摘要

Using spatial and temporal analysis for investigating the clusters of melioidosis (2005-2011), both Er-Ren River Basin (7.5 km²) and Zoynan Region (5 km²) were defined as hot-spots that have been occurred the outbreak in southern Taiwan. Through a correlation between climatic factors and melioidosis, the parameters of wind speed and wind direction were the recognized as mainly climate factors relating to the occurrence of melioidosis in Er-Ren River Basin (a plain). By contrast, the precipitation is the major factor in Zoynan Region (hills). This longitudinal study aims to test the hypothesis that aerosols contaminated with *B. pseudomallei* could be suspended and halted in the hotspot (Zoynan Region) because this region was surrounding the hill barrier. People inhaled these particles and then acquired melioidosis. In current study, approximately 24.1-35.6% of aerosol samples were positivity in specific *B. pseudomallei* DNA in the core region of hot-spot while core outlying areas exhibited to be 0-7.1%. This (2012) year did not occur an outbreak of melioidosis, there is still 63% (14/22) of the patients with melioidosis occurred in the Kaohsiung. Among of them, 50% (7/14) occurred in hotspots. High concentration of *B. pseudomallei* DNA in aerosols has been found on July-August; the cases of melioidosis (n=3) were also notifiable during this period. Using random sampling strategy, 16% and 25% of soil and water samples were respectively found the specific *B. pseudomallei* DNA; the isolation rate was 8% in soil samples and 3% in water samples in studied areas. The positive results of PCR detection and bacterial cultures were commonly seen in Nanting agriculture lands and Lotus ponds. Further, as the assumption, these two locations will be recognized as the contaminated sources. The relationships of episodes that *B. pseudomallei* moves to surface from deep soil or water, aerosols contaminated with *B. pseudomallei* could be generated, people inhale and then acquire melioidosis will be established.

Key words: melioidosis, extreme climate, hot-spot, transmission modes, geographical distribution, aerosols

前言

類鼻疽病(melioidosis)屬第四類法定傳染病，藉由直接接觸或吸入感染源而致病 (Dance, 2000)，盛行於東南亞及澳洲北部(Currie, 2008)。致病菌是 *B. pseudomallei*，列為 risk group (RG) 3 進行管控(Bondi and Glodberg, 2008)。類鼻疽的臨床症狀有多樣性表徵，包括有急性、局部、慢性與不顯性感染等。最嚴重的病徵是急性敗血性休克，病人可於 24-48 h 內死亡(死亡率、40%) (Leelarasame, 2004; Phuong *et al.*, 2008)。自 1984 年起，台灣發現首例的類鼻疽境外感染病例 (Lee *et al.*, 1985)；1993 年起，在台灣的類鼻疽病例數就逐年增加(Hsueh *et al.*, 2001)，特別盛行於南台灣地區。疾病發生集中於每年 7-10 月間，通常是出現極端氣候(颱風、強降豪雨)之後 4-21 日 (Su *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2010)。特別是 2008 年起，類鼻疽病例更集中於高雄(左營、楠梓)地區發生，被視為近年來台灣類鼻疽疫情的熱點(hot-spot)(Dai *et al.*, 2012)。

B. pseudomallei 屬於深層土壤 (30-60 cm) 的腐生菌，不耐乾旱且適合 40 °C 以上生長的特性，使得 *B. pseudomallei* 易於從潮濕溫暖的土壤中分離(Inglis and Sapripanti, 2006)。泰國地區的土壤分離率約為 27.8-62.5% (Vuddhakul *et al.*, 1999)，澳洲北部則約為 10-46% (Kaestli *et al.*, 2009)。南台灣地區的土質溫暖潮濕，適合 *B. pseudomallei* 的生長與長期存活(Kao *et al.*, 2003)，約有 12.6% 菌體分離率(Chen *et al.*, 2010)。流行病學的研究顯示：環境中 *B. pseudomallei* 的分離率與該地區的類鼻疽疾病發生率呈正相關(Trakulsomboon *et al.*, 1999; Vuddhakul *et al.*, 1999; Wuthiekanun *et al.*, 2005; Su *et al.*, 2007；Chen *et al.*, 2010)；東南亞地區之農事工作者或澳洲之原住民，因為長期與土壤接觸而成為是主要曝露的危險族群 (Cheng and Currie, 2005)。但是，在極端氣候或特殊事件(如：颱風、豪雨、海嘯等)後，類鼻疽則可能發生聚集感染，不限於農事或有戶外活動者。病患多屬急性肺性類鼻疽並伴隨著敗血症 (Inglis and Sapripanti, 2006)。其原因可能係洪水使土壤的含水量飽和，居於深層土壤的 *B. pseudomallei* 則有機會漂移至地表，並隨著強風或洪水為載體，使得大量菌體散布並爆發疫情 (Inglis and Sapripanti, 2006)。所以，當極端氣候出現時，地方流行區的類鼻疽發生率就會明顯增加 (Cheng and Currie, 2005; Hassan *et al.*, 2010)。

澳洲發生兩次爆發性感染，經分子檢定追蹤其感染源的結果，顯示 A 地的水塔污染 *B. pseudomallei* 後，沿著輸水管線，造成 B 地的爆發性感染(Currie *et al.*,

2001; Inglis *et al.*, 1999); 亦曾發現地下水滲出，攜有大量的 *B. pseudomallei* 而使得當地居民因此暴露而致病(Baker *et al.*, 2011)。然而，多數極端氣候所呈現的類鼻疽聚集性的感染，卻都無法界定正確的感染源。特別是 *B. pseudomallei* 多分離於鄉村土壤或無法到達的溪畔，而類鼻疽的病患卻出現在人口密集的城鎮。特別是 *B. pseudomallei* 高分離率的地區，該地居民體內的 anti-*B. pseudomallei* 的血清抗體效價，並沒有明顯的增加 (Kanaphun *et al.*, 1993; Cheng and Currie, 2005; Su *et al.* 2007)。顯然類鼻疽的真正傳播途徑，仍需新的假設與證實。

台灣則於 2005 與 2008-2011 年分別出現颱風或豪雨，南台灣類鼻疽的發生率則分別 10 萬人口有 1.32 (CI, 1.02-1.63, 2005)、0.6 (CI, 0.41-0.79, 2008)、0.65 (CI, 0.45-0.85, 2009) 與 0.66 (CI, 0.46-0.86; 2010) 等人次的發生(Chen *et al.*, 2011)。但就空間分析病例的聚集，2008 年後病患乃聚集於高雄(左營、楠梓)地區，換算疾病發生率為 10.9 人(10 萬人口)，幾乎與泰國北部(1997-2006)類鼻疽的發生率之 7.98-21.3(10 萬人口)(Limmathurotsakul *et al.*, 2010)，澳洲北部(1990-2000)的疾病發生率之 5.4-24.2(10 萬人口)相若(Currie *et al.*, 2004)。特別是 2008-2011 年高雄(楠梓與左營)地區都受颱風侵襲，病患亦聚集發生。綜觀該地區屬於一個袋口的地形地貌，北有彌陀高地、南有半屏山與壽山。藉由山岳之屏障，強風豪雨過境可能會產生一股滯留的氣流。而使得攜有 *B. pseudomallei* 污染的懸浮水氣或顆粒滯留於該區，促使民眾有長時間的暴露而導致類鼻疽疫情的發生。因此，本計劃以特殊氣候發生，對高風險疫情區所爆發的類鼻疽疫情做出危險因素分析。

材料方法

1. 個案、研究區域與資料收集

類鼻疽個案 (n=322) 資料取自於衛生署疾病管制局。研究區域係按 2008-2011 年期間之類鼻疽通報個案集中於高雄(楠梓、左營)的地區而設定(50 Km²)。地區人口資料取自民政單位，氣象相關數據取自中央氣象局與自行設置的測站。

2. 採樣

研究標地(50 km²)的空氣微粒之採樣密度以每 3.3 km² 設置採樣點與監測站 (n=12, S1-S12)，S1-S3 採樣點位於研究標地的上風處，S4-S7 位於類鼻疽通報個

案最密集區，S8-S9 為研究標的下風處，S10-S12 為研究標地的外圍區域。固定採樣時間為 15 日間隔，颱風季節(6 月 19 日至 10 月 2 日)計 8 個颱風侵台(但無實際的風雨出現)，S6 點採每日定時採樣。採樣方法以 air sampler (20 L/min)抽濾大氣中的微粒於鐵氟龍濾紙(3.7 mm x 2.0 μ m)或以 air impinger (15 L/min)衝擊收集瓶內的選擇性培養液(Ashdown's broth)，以及使用衝擊器(20L/min; MERCK MAS-100)直接衝擊選擇性培養基(Ashdown's media)。總計空氣微粒樣品數為 271 (S1, n=14; S2, n=14; S3, n=14; S4, n=14; S5, n=14; S6, n=117; S7, n=14; S8, n=14; S9, n=14; S10, n=14; S11, n=14; S14, n=14)。並取研究標地的陰性對照組(小港地區)樣品 (n=16)比較之。陰性對照組的地點係以 GIS (geographical information system)的 focusing test 檢驗所得之高雄地區最不可能發生類鼻疽病例聚集的地點。衝擊方法所收集之空氣培養液或培養基的樣品各為 66 件。

土壤採樣取 0.5-1 km 範圍沿可到達田間的小徑，使用儘量均勻分配的隨機採樣(random sampling)方式進行。若研究標地內屬住宅區，則放棄該地的土壤樣品收集。每個採樣點以鑿土器取表層(< 5cm)、淺層(6-30cm)與深層(31-60 cm)各 100g 土壤。水樣採集以典寶溪、後徑溪與蓮池潭按 0.5-1 km 岸邊距離取底泥(100g, n=21)或砂石(視河水底部狀況；危險或管制地段、不予收集, n=12)以及水樣(2 L, n=39)為樣品。採檢時間為 5 月至 10 月。

3. 檢體處理

為抽取 DNA 的檢體，水樣(2 L)經粗濾後以 0.45 μ m 濾膜過濾之，所得之濾紙與其他檢體(包括土壤, 1g; 空氣微粒濾紙, 3.7 mm x 2.0 μ m; 溪底砂石, 1g 等)均分別以 3 ml PBS(phosphate buffered saline)覆蓋，並以超音波震盪之。震盪後的液體，經離心後抽取 DNA。

Air impinger 或 MERCK MAS-100(MERCK,USA)依培養基質類別(總菌數以 Trypticase Soy Agar[Difco, Detroit, USA], 37°C, n=66; 真菌以 Malt Extract Agar [MERCK,USA], 25°C, n=66; *B. pseudomallei* 以 Ashdown's media, 42°C, n=72)培養之。總菌量以隔日、真菌以 2 d、*B. pseudomallei* 以 7 d 後觀察並計數之(CFU/m³)。若需滋養土壤的活菌，係將 15g 土壤與 PBS 強烈震盪後，置於 Ashdown's broth，每日進行三區劃線後(至少三片)，連續七日。培養基於 42°C 培養，持續六日。菌株鑑定依 ID32 GN profile (API system; bioMerieux, France)與 *fliC* specific amplicon 確認之(後述)。

4. PCR 定性與定量分析

Total DNA 係使用 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) 萃取之。*B. pseudomallei*-specific amplicons 係以 *fliC* 之 central region (423 bp) 與 TTSS (type III secretion system) *orf2* 之 specific 115-bp region 為 PCR 檢出標靶 (Chen *et al.*, 2010; Baker *et al.*, 2011)。*fliC* primer 為 forward: CTCACGCAAAGCATGTCGGCG; reversed: TTAGTACGCGC CCG ; *orf2* primer 為 forward: CGTCTCTATACTGTCGAG; reversed: CGTGCACA CCGGTCA。反應條件以 ABI PRISM 7500 Sequence Detection System 建置之。約略以 Denature : 94°C、1min. ; Anneal : 55°C、30sec ; Extension : 72°C、1min 為標準。茲為確定濾紙確實收集有 G(-)細菌的 DNA，故使用 G(-)菌之 16S RNA V3 region (200 bp) 的 conserved primer (forward: CCTACGGGAGGCAGCAG; reversed: ATTACCGCGGCTGCTGG) 檢視 DNA 萃取品質之控制。qPCR 的反應條件為 48°C、30 min，95°C、10 min，最後以 95°C、15 sec 與 60°C、1 min，重複 40 個循環(Rotor-Gene 6000 series thermocycler [Corbett life Science, Australia])。所有實驗以二重複實施之。所有陰性樣本以 10 倍與 100 倍稀釋後，再進行 PCR 反應。若有必要則以 purification kit 移除 humic acid (TAKARA, Japan)。qPCR 檢量線的 DNA 標準品(pGemT-easy/orf2)由明欣生技公司合成之，本研究之檢量線 $r^2=0.99$ 、斜率於-3.6 至-3.1(PCR 效率為 90%-110%)。前驅研究顯示使用 Teflon 濾紙、4°C 保存運送，並於 5 d 內完成萃取，可保有最佳的檢測效率，因此本研究遵循之。

5. 懸浮微粒與 LPS 的檢測

空氣懸浮微粒係以直讀式儀器(TSI Model 8760 IAQ-CALCTM Meters [TSI,USA])偵測。LPS 之 3-OH 脂肪酸係將大氣收集之微粒經(1)鹼性水解[皂化]、(2)甲基化、(3)萃取、(4)衍生與(5)清潔(洗滌)處理之(Lin *et al.*, 2006)。處理程序是將定量檢體於 15% methanolic NaOH 內進行加熱 5 min(100°C)後，劇烈振盪 10 sec，繼續加熱 18 h (100°C)。反應後，加入 acid metholic solution (1083 μ l of 6N HCl and 917 μ l of methanol)，再於 80°C 加熱 1 h。作用完成，取 1.25ml hexane 加入試管內，並輕度旋轉作用 10 min 後，加入 3ml methanol 與 3ml 0.24M NaOH 反應之。取有機層(上層)經氮氣吹乾後，溶於 50 μ l TMS 衍生劑衍生，同時加入內標準品，於 80°C 作用 15 min。作用完畢，取 1 μ l 注入氣相層析質譜儀分析。GC-MS

係使用 GC DP-23 (Palo Alto, CA)與 Mass HP 5953N mass selective detector (MSD) 利用適當的介面連接。GC 分離管柱係使用 HP-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film)，條件設定為：splitless injection; helium flow rate: 0.6 ml/min; injection pore: 260°C; interface: 280°C。分離管柱的分離程式設定為：starting: 150°C; holding: 1min; increasing to 280°C at 20°C/min; holding: 3.5 min。

6. 統計分析

類鼻疽在鄉鎮層次(town-level)的顯著群聚，係使用 Local moran's I 方法分析疾病發生率(Crichton et al., 2007)。類鼻疽的群聚空間之 poisson distribution model 係使用 SatScan (www.satscan.org)方法分析。類鼻疽聚集的距離範圍 (multiple different distance)，係使用 Ripley's K function 分析。對氣候因子與類鼻疽發生率的相關分析，分別使用 poisson (zero-inflated)與 negative binomial model (zero-inflated) 分析，因 negative binomial model 可得較好的相關，所以本研究沿用 negative binomial model 分析之。屬單變項分析(univariate analysis)係使用 Fisher's Exact test，多變項分析(multivariable analysis)係使用 multivariable logistic regression analysis。以 $p < 0.05$ 定義其具有顯著性差異。95% CI interval 與各類統計分析係使用軟體(NCSS 2004/PASS 2002)計算之。

結果

定義類鼻疽高風險疫情區 分析類鼻疽病患(2000-2011, $n=322$)的地理分布位置，顯示發生率 >10 人(10萬人口)的鄉鎮，分別位於二仁溪流域下游(包括高雄茄萣、台南南區、中西區與仁德等； $n=80$)與左楠地區(包括高雄梓官、楠梓與左營等； $n=83$)。本研究分別使用 local moran's I(圖 1a)與 SatScan(圖 1b)等空間分析方法，證實這些鄉鎮之類鼻疽發生率顯著高於鄰近區域($p < 0.01$)。若不考慮鄉鎮之行政界線，使用 Ripley's model (poisson distribution)分析類鼻疽病例的聚集，顯示類鼻疽個案是於二仁溪流域的分布，在 7.5 km 距離範圍內有最明顯的聚集，於左楠地區則於 5 km 距離範圍出現最明顯的聚集(測量值背離期望值)(圖 2)。若依據時間序列分析，年度類鼻疽地理分布的中心點迄 2005 年起持續向南移動(圖 3a)，疾病的發生率二仁溪流域已由 2006 年起逐漸減緩(圖 3b)，但左楠地區則於 2008 年起不斷向上攀升(圖 3c)。發生率已經將近 20 人(10萬人口, 2011 年)。因此，二

仁溪流域與左楠地區為類鼻疽發生的熱點(host-spot)，符合本計畫所設定的研究標地範圍。

322 例類鼻疽案例分析，男女比約 3.2:1，年齡分布於 35 至 85 歲間，總計死亡率約 20%。約有 50% 案例無固定工作，僅有 4% 病例或 6% 病例的職業是從事農事或戶外相關工作，類鼻疽病患無固定工作。但職業調查的偏差較高，可能與患者多為慢性疾病而無進入勞動市場，以及受訪者不願揭露工作別有關。若將二仁溪流域或左楠地區的區域內進行個別案例分析，亦得到全台個案之人口計量學與類鼻疽發生間之相同結論(表 1)。對左楠地區的 22 位個案追蹤結果，顯示 81.8% (18/22) 的類鼻疽病患沒有明顯的外傷，以及發病前 21 日期間沒有接觸污染物(如泥土或汙水)的經驗(疾管局提供)，間接支持空氣微粒傳播可能是類鼻疽感染的重要介質。

氣候條件分析 依據類鼻疽資料庫的疾病發生時間(出現發燒或局部發炎症狀的時間點)與確診時間(依據細菌培養鑑別為 *B. pseudomallei* 的時間點)的分析，顯示二仁溪流域與左楠地區各醫院的診斷時間皆為 4-10 日，並無顯著差別。因此在排除二地區醫療資源有鑑別類鼻疽的能力差異下，以 2005-2001 期間的類鼻疽資料庫與氣候因子資料庫進行分析。結果顯示，當時間參數設定延遲 3-5 日，日降雨量與左楠地區之類鼻疽疾病發生呈現顯著相關。對二仁溪流域而言，則時間參數設定 3-9 日延遲，日降雨量亦與疾病發生呈現相關。台灣地區豪雨主要出現在颱風季節，因此，以單日瞬間最大風速為參數分析，亦得到類似時間延遲設定、而出現單日瞬間最大風速與類鼻疽的發生率呈現相關性的結果(圖 4)。不過，在考慮風速變化與疾病相關性分析時，二仁溪流域可能因為是平原，所以承受較大風力。所以風速與類鼻疽發生率呈現相關。但左楠地區則可能因為山丘的屏障，減緩了風力的影響。因此在月出現的最大瞬間風速與月的疾病的發生率間進行分析，並無呈現相關性(圖 5)。在 2005-2011 年的風向統計，說明了山丘為障礙的影響。左楠地區受北面彌陀高地屏障與西南面之壽山屏障，因此刮北風與西南風的機率均小於二仁溪流域(平原)所承受者(圖 6)。就風向對疾病發生的影響進行分析，當二仁溪流域刮東南風(150°)與西南偏西風(220° 與 270°)時，類鼻疽的發生率明顯增加。但左楠地區的類鼻疽發生率就與風向變化無顯著關聯。

降雨、風速與風向的多變數分析下，風向是影響二仁溪流域發生類鼻疽病例的重要氣候因子。即使將 2005 年出現的特殊事件(海棠颱風)的影響期間予以排除，在 2006-2011 年間的 analysis，風向仍然是重要的氣候因子(表 2)。但是，對左楠地區而言(2008-2011)，雨量變化成為影響疾病發生的重要氣候因子。但不能忽略風速或風向仍有不同程度的影響(表 2)。無論如何，氣候因子的分析支持了本計畫的假設：因為地理環境不同，不同的氣候條件影響著類鼻疽疫情的發展。

環境檢體分析

1. 空氣檢體

雖然 2012 年南台灣未經歷特殊氣候條件，使得類鼻疽病例銳減($n=22$)，但仍有 63% ($n=14$)位於高雄地區，並且 50% ($n=7$)病例仍發生於研究標地。因此，仍支持本年度類鼻疽熱點的位置是高雄左楠地區。同時，研究標地的核心(5 km^2)範圍，空氣微粒的 PCR 檢出率為 21.3-35.7%，核心外圍(50 km^2)的陽性檢出率 0-7.1% (圖 7)，符合本研究使用地形假設而設置樣點的預期結果(當半屏山或壽山阻風時，背風面的 PCR 陽性率為 0%)。所有採檢期間的空氣微粒檢體的 LPS ($0.05\text{-}0.15\text{ }\mu\text{g}/\text{mm}^3$)、總菌數($273\pm 386\text{ cfu}/\text{mm}^3$)與真菌量($400\pm 433\text{ cfu}/\text{mm}^3$)均有波動，並無發現 LPS 與總菌數定量出高濃度，但 G (-) 16S RNA 無法檢測出的現象，顯示檢體 DNA 的萃取與檢出，符合預期標準。不過，無論是使用液態培養基或固態培養基截取空氣而進行菌體活培養，都沒有成功的從空氣微粒培養出 *B. pseudomallei*。此外，GIS 的 focusing test 雖然顯示小港為高雄地區最不可能發生類鼻疽聚集的地點，但研究期間仍出現空氣微粒有 21.4% 的 PCR 陽性率，可能係受另一個與左楠地區無關的污染源所影響，或者高雄地區的背景值即在 0-35.7% 間波動。

就核心地區的 specific DNA 濃度分析，最大濃度($>4\times 10^4\text{ copies}/\text{mm}^3$)與最頻繁監測 PCR 陽性的發生時序為 7 月 3 日-9 月 4 日期間(0.54 次/d)。此地區於 8 月 19 日-25 日出現 3 件類鼻疽病例 (圖 8)。但是彼此間的相關性，仍需完成乾、濕季的季節循環採樣，才能獲得進一步分析的結論。

2. 土壤與水檢體

使用 random sampling 的方式採檢後，土壤(n=125)與水檢體(n=72)的 PCR 陽性檢出率分別為 16%與 25%。土壤主要是由 31-60 cm 深的土壤檢出(29%)，水檢體則主要是水體(30.7%)與底泥(28.5%)中檢出。但是活培養則相對困難，分離率為土壤 8%與水檢體 4.2% (表 3)。不過，活菌分離分別位於楠梓的藍田路與田中路地段與蓮池潭。因此，藍田農地與蓮池潭成為後續使用 fix-interval 研究菌體垂直分布的研究標地，資以連結 *B. pseudomallei* 浮出地表使得空氣微粒中含有 *B. pseudomallei* DNA 濃度增加，並進一步促使類鼻疽疫情發生的假設。

3. 特殊事件

06 月 27 日為了避免颱風所帶來的洪水氾濫，蓮池潭的潭水抽降 8.8 公尺，使得底泥露出。當日為 WSW 轉 SSW 風向，風速 4.5-4.9 m/sec。6 月 29 日蓮池潭東北方之 S7 樣點的空氣微粒呈現 PCR 陽性，6 月 30 日蓮池潭北方 S6 樣點的空氣微粒呈現 PCR 陽性反應。7 月 3 日-4 日風向由 W 轉 WNW，風速 2.2-2.7 m/sec。蓮池潭南岸偵測到本研究期間最大的 DNA 濃度，7 月 15 日蓮池潭活培養出 *B. pseudomallei*。本事件間接說明了風向影響了空氣微粒攜帶 *B. pseudomallei* DNA 的檢出位置。

討論

本計畫首次嘗試以空氣微粒吸附 *B. pseudomallei* 的 specific amplicon 解釋類鼻疽在特定氣候條件下的空氣傳播模式。研究結果在高風險疫情區的研究標地(左楠地區、5 Km²)，檢測出 21.4-35.7%之空氣微粒含有 *B. pseudomallei* 的 DNA。並與周圍(疫情區外)的地區的陽性率(0-7.1%)有明顯的差別。本研究亦藉由 random sampling 的方式篩選研究標地的土壤與水體樣本，並挑選出 2 處(藍田農地與蓮池潭)有最高 PCR 陽性率與活培養的地點，成為後續連結污染源與空氣微粒濃度散布的地點。

雖然就臨床醫師的經驗，類鼻疽的病患有逐年增加的趨勢。但是台灣實際的類鼻疽發生率，約為 0.02-0.19 人(10 萬人口)，並且不是每年都有出現疫情的高峰。如 2007 年與今(2012)年的類鼻疽發生率就明顯低於歷年平均。既使在台灣有類鼻疽高發生率時，類鼻疽的發生率與流行區之澳洲北部的 7.98-21.3 人(10 萬人口)與泰國的 5.4-24.2 人(10 萬人口)之疾病發生率相較(Currie *et al.* 2004; Limmathurotsakul *et al.* 2010)，仍然相當的低。但是，當使用空間與時序的類鼻

痘熱點(hot-spot)分析後，左楠地區的疾病發生率可達>20 人/10 萬人口，幾與類鼻痘流行區相當，可視為台灣類鼻痘高風險的疫情區。

類鼻痘的發生通常與暴露 *B. pseudomallei* 的污染環境有關 (Dance, 2000)。儘管 *B. pseudomallei* 可由土壤與水源地分離，但是菌體的真实濃度卻基於土壤的非均質性(*B. pseudomallei* 非均勻的分布於土壤顆粒中)而非常難決定。文獻所載，*B. pseudomallei* 可能於土壤中有 10-1200 cfu/g 的濃度(Wuthiekanun *et al.* 2005; Kaestli *et al.* 2007)。其他影響 *B. pseudomallei* 的分布因素，包括有 UV 的照射與乾旱(Chen *et al.* 2003; Inglis and Sagripanti 2006; Palasatien *et al.* 2008)，以及土壤或水源菌之 *B. cenocepacia* 或 *B. multivoran* 可能對 *B. pseudomallei* 產生抑制作用等(Lin *et al.* 2011)。前期研究也證明類鼻痘疫情不顯著時，環境的分離率也相對會降低(Dai *et al.*, 2012)。因此，本年度在類鼻痘不盛行的狀況下，分離率僅有 8%。不過，既使在地方流行區，*B. pseudomallei* 於土壤的分離率也只有 27-28% (Wuthiekanun *et al.* 2009; Limmathurotsakul *et al.* 2010)。若以 PCR 檢測技術，雖可提昇 *B. pseudomallei* 於土壤的陽性檢出率(本研究土壤的 PCR 檢測陽性率也較實際分離率高) (Kaestli *et al.* 2007)。但是採樣的方式也會造成研究偏差。本研究受限於大區域範圍篩選的地形地物限制，而採取儘量均勻的隨機採樣模式。雖然隨機採樣模式仍然在過往的研究中證實了土壤的分離率與該地區疾病發生的相關性 (Vuddhakul *et al.* 1999; Chen *et al.* 2010; Rattanavong *et al.* 2011)，但有可能將高濃度 *B. pseudomallei* 分布的土壤區塊忽略。所以在 random sampling 的採檢方式所篩選的研究標地(藍田農地)，將於後續研究在採檢標地範圍縮小後，採取固定距離分布(fix-interval)的採樣設計，來克服這個偏差。

澳洲北部(Townsville, North Queensland)類鼻痘病例的空間分布分析，顯示類鼻痘病患分布的地理位置是舊有的水道路線 (Corkeron *et al.* 2010)。在 Northern Territory 區，所有的 *B. pseudomallei* 的陽性檢出位置都是在水池或者是備用池(雨季時用來灌溉的水池，目前乾涸) (Kaestli *et al.* 2007)。已被證實澳洲的類鼻痘群聚現象是 *B. pseudomallei* 以水為載體時，藉由水供應系統的傳送路線而散布 (Currie *et al.* 2001; Draper *et al.* 2010)。泰國地區雖然報告類鼻痘的病患多數是農夫，但 86%的農夫病患是居住河邊(Cheng and Currie 2005; Rattanavong *et al.* 2011)。事實上，台灣的 45%類鼻痘病患距離河邊、魚池或潭邊都不超過 2.5 Km (Dai *et al.*, 2012)。因此，本研究在蓮池潭可以分離 *B. pseudomallei*，當蓮池潭底泥暴露(潭水乾涸)時，周圍空氣微粒攜帶 *B. pseudomallei* 的濃度也隨之增加；以

及過往發生病患群聚蓮池潭畔的現象。因此，不可輕忽左楠地區的水池(包括蓮池潭、生態池或魚池)可能為類鼻疽污染源的可能性。

根據類鼻疽的個案分析，>50% 類鼻疽個案無固定的職業工作，只有<4% 病患的職業是農夫或<6%病患從事戶外工作。在二仁溪爆發疫情後的問卷分析，50%的受訪居民沒有實際的淹水以及颱風期間有戶外活動的經驗，但是他們血清內的類鼻疽抗體都有增加(Su *et al.*, 2007)。左楠地區的 22 為病患訪查，81.8% (18/22)的病患沒有明顯的外傷或是於颱風期間有接觸土壤或污水的經驗(疾管局提供)。雖然我們不能完全排除，他們因為赤足或在家用植物栽種時而接觸感染，但他們的症狀多是肺性類鼻疽，並且在該地的空氣微粒檢出 *B. pseudomallei* (21.3-35.7%)。因此，需要慎重考慮台灣類鼻疽是藉由空氣微粒傳播的可能性。

在澳洲西部每年都有颶風發生，一項研究中發現 500 Km 外的環境分離菌與類鼻疽群聚感染的臨床分離據有相同分子分型的圖譜(Inglis *et al.*, 2009)。當颶風登入澳洲西部，當次類鼻疽的病例發生的地理分布是隨著颶風的方向而分布(Inglis *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2006)。我們證實當最大風速>19 m/sec 時，二仁溪流域的病例就隨著風速增加而增加。雖然左楠地區可能受到山丘屏障，而使得風速或風向較雨量的影響低，但仍需注意本研究期間蓮池潭空氣微粒的陽性檢出與檢測期間風向變化的相關性。就泰國的 5 年與澳洲的 12 年追蹤研究，顯示類鼻疽的發生與季節性發生的雨量呈現相關性(Suputtamongkol *et al.*, 1994; Currie and Jacups, 2003)。但是，新加坡或馬來西亞都就短期間研究，無法得到類鼻疽病例與雨量間的相關性(Sam and Puthuchery, 2007; Hassan *et al.*, 2000)。這些可能涉及到污染源是否有隨著氣候條件而被揭露。台灣類鼻疽疫情發生與氣候因素(雨量、風速與風量)間的相關性，仍有賴於設置適當的採樣位置，而以長期的追蹤模式進行，予以進一步的釐清。

雖然類鼻疽的傳播路徑仍有爭論，但人與人間的傳染則公認甚少發生(Dance 2000)。所以疾病不會隨著人的活動而散布全台，就如同現今所觀察到的特定(如左楠地區)地區之聚集現象。這種分布類似環境中的污染源非常固定或是有特定的載體所造成的空間與時序上的群聚 (Kitron and Kazmierczak 1997; Corkeron *et al.* 2010; Ditsuwan *et al.* 2011)。因此，環境採樣可協助解析 *B. pseudomallei* 所存在的地理分布。如果 *B. pseudomallei* 地理分布確定，空氣微粒攜帶 *B. pseudomallei*

DNA 濃度可被正確估算，相關的氣候因子也能穩定的測量，將可藉由是當空飄模型的假設，來推論疾病可能發生的範圍，做為更精確的類鼻疽疫情預測系統。

結論與建議

1. 使用 GIS 的工具檢出類鼻疽疫情的熱點(hot-spot)與熱點範圍。

本研究利用 2005-2011 年之數據，使用 local moran I 與 ScanSat 分析鄉鎮發生率的顯著聚集，以及使用 Ripley's K function 計算聚集的最可能範圍，界定出類鼻疽的熱點是位於高雄左楠地區的 5 km² 範圍。雖然 2012 年類鼻疽疫情明顯減緩，但病例仍有聚集於此熱點的趨勢。這種小區域的疾病聚集模式，顯示污染源可能固定與傳播介質受地域限制的現象，值得注意。

2. 氣候因子隨著不同區域的地形對類鼻疽疫情有不同程度的影響

利用本研究所決定的熱點(二仁溪流域與左楠地區)進行氣候因子與熱點地區疾病發生的影響程度分析，顯示二仁溪流域因為是平原，所以風速與風向成為最主要的影響因子。但左楠地區受山丘屏障，風的影響降低，相對的雨量成為最主要的氣候影響因子。因此，颱風成為二仁溪流域的重要警戒，豪雨成為左楠地區的重要警戒。

3. 熱點核心區的空氣微粒檢出 *B. pseudomallei* DNA

本研究呈現熱點核心區(5 km²)空氣微粒之 *B. pseudomallei* 陽性檢出率為 21.4-35.7%，但核心外地區陽性檢出率為 0-7.1%。如果空氣微粒是重要疾病傳播媒介，更加佐證高雄左楠地區是高風險疫情區的界定。雖然目前因為縱向追蹤期間尚短，無法得到空氣微粒檢出的陽性率與氣候或環境因子相關性的結論。但就蓮池潭底泥可活培養 *B. pseudomallei*，同時底泥暴露與空氣微粒檢出時間相同，並且有風向的連結。此單一事件，仍部分支持了氣候因子影響空氣微粒散布 *B. pseudomallei* 的假設。

4. 隨機採樣篩選出 *B. pseudomallei* 的主要地理分布位置

本研究利用盡量均勻隨機採樣方式，對研究標地核心與外圍地區進行 0.5-1 km 範圍距離的檢測。利用 PCR 的陽性率以及活菌的分離，界定了土壤菌體分布主要在 31-60 cm，水體主要分布在表層水與底泥。藍田農地與蓮池潭為潛藏 *B. pseudomallei* 的區域，這些位置對高雄左楠地區所發生的類鼻疽病例

位置(2008-2011)，不超過 2 km 距離，符合小區域空飄的擴散範圍。因此，可以成為後續進行 *B. pseudomallei* 浮出地表的研究位置。

類鼻疽主要是藉由接觸或吸入感染源而致病。本研究的假設：熱點局部地形限制，使得固定的污染源所產生攜帶 *B. pseudomallei* 的空氣微粒在小範圍發生擴散，使得類鼻疽聚集發生。依目前的研究結論，符合研究假設的預期，但仍需長時間的縱向追蹤，以獲得更具體的結論以及可資利用於預警或防疫的調查資訊。

101 年度計畫重要研究成果及具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：高風險類鼻疽疫情區域之地理、氣候、感染源與傳播途徑之相關性

主持人：陳亞雷 計畫編號：DOH101-DC-1302

1. 計畫之新發現或新發明

本研究利用 GIS 分析類鼻疽於鄉鎮層次的顯著聚集現象，以及界定台灣類鼻疽熱點的位置與範圍，並且藉由 random sampling 的方式所調查 *B. pseudomallei* 的地理分布與類鼻疽病患實際分布的位置，歸納出水源的污染可能較土壤的污染更接近類鼻疽的聚集地而成為污染源的重要位置之研究成果。以及本研究利用 2005-2011 年的二仁溪流域與左楠地區的類鼻疽資料以及期間的氣象數據，進行多種統計分析的嘗試。結果在 negative binomial model (zero-inflated) 中，設下時間延遲的參數，日降雨量或瞬間最大風速分別與類鼻疽的發病日期與診斷日期出現相關性。並且在多變數分析中，證實二仁溪流域(平原地形)風速與風向是主要引起疾病發生的氣候因子，左楠地區(山丘地形)則是雨量為主要的氣候因子等，都已分別投稿於國際期刊。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

本研究對熱點地區的界定結果，可有效界定可能感染類鼻疽的居民對象，而實施必要的宣導。特別是當颱風(>19 m/sec)夾帶豪雨(>1000 mm)的氣象預警發布時，更應注意類鼻疽在熱點地區，可能發生的疫情。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

既然類鼻疽的發生與氣候改變息息相關，儘管藉由過往資料可界定熱點的範圍，以及警戒的氣候臨界值。但是污染源、氣候因子與疾病發生的相關性，仍需要更多的資訊予以澄清。特別是空氣微粒攜帶多少 *B. pseudomallei* DNA 是疫情發生的警戒。以及當污染源固定時，在現有的氣候因素下，類鼻可能擴散的範圍等，仍需要更多的資訊加以佐證與釐清。因此，持續收集空氣微粒的污染以及土壤與水源的垂直分布的相關性，將可更清楚界定類鼻疽的傳播途徑而得到更精確的防疫政策之擬定。

參考文獻

- Baker A, Tahani D, Gardiner C, Bristow KL, Greenhill AR, Warner J.** (2011) Groundwater Seeps Facilitate Exposure to *Burkholderia pseudomallei*. *Appl Environ Microbiol.* 77:7243-7246.
- Bondi SK, Goldberg JB.** (2008) Strategies toward vaccines against *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Expert Rev Vaccines.* 7:1357-1365.
- Chen YS, Chen SC, Kao CM, Chen YL.** (2003). Effects of soil pH, temperature and water contents on the growth of *Burkholderia pseudomallei*. *Folia Microbiol.* 48: 253-256.
- Chen YS, Lin HH, Mu JJ, Chiang CS, Chen CH, Buu LM, Lin Y, Chen YL.** (2010) Distribution of melioidosis cases and viable *Burkholderia pseudomallei* in soil: Evidence for emerging melioidosis in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 48: 1432-1434.
- Chen YL, Lin YC, Chen YS, Chen SC, Liu YM, Tseng IL, Chiang CS, Lin HH, Mu JJ.** (2011) Characterization of predominately molecular patterns of ***Burkholderia pseudomallei*** in Taiwan. *Am Soc Trop Med Hyg* (accepted)
- Cheng AC, Currie B.** (2005) Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Clin Microbiol Rev.* 18:383-416.
- Corkeron ML, Norton R, Nelson PN.** (2010) Spatial analysis of melioidosis distribution in a suburban area. *Epidemiol Infect.* 138:1346-52.
- Currie BJ.** (2008) Advances and remaining uncertainties in the epidemiology of *Burkholderia pseudomallei* and melioidosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102:225-227.
- Currie BJ, Jacups SP.** (2003) Intensity of rainfall and severity of melioidosis, Australia. *Emerg Infect Dis.* 9:1538-1542
- Currie BJ, Jacups SP, Cheng AC, Fisher DA, Anstey NM, Huffam SE, Krause VL.** (2004) Melioidosis epidemiology and risk factors from a prospective whole-population study in northern Australia. *Trop Med Int Health.* 9:1167-1174.
- Currie BJ, Mayo M, Anstey NM, Donohoe P, Haase A, Kemp DJ.** (2001) 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.* 65:177-179.
- Dai D, Chen YS, Chen PS, Chen YL.** (2012) Case cluster shifting and contaminant source as determinants of melioidosis in Taiwan. *Trop Med Int Health.* 17:1005-13
- Dance DA.** (2000) Ecology of *Burkholderia pseudomallei* and the interactions between environmental *Burkholderia spp.* and human-animal hosts. *Acta Trop* 74, 159-168.
- Ditsuwan T, Liabsuetrakul T, Chongsuvivatwong V, Thammapalo S, McNeil E.**

(2011) Assessing the spreading patterns of dengue infection and chikungunya fever outbreaks in lower southern Thailand using a geographic information system. *Ann Epidemiol* 21:253-261.

Draper AD, Mayo M, Harrington G, Karp D, Yinfoo D, Ward L, Haslem A, Currie BJ, Kaestli M. (2010) Association of the melioidosis agent *Burkholderia pseudomallei* with water parameters in rural water supplies in Northern Australia. *Appl Environ Microbiol.* 76:5305-7.

Hassan MR, Pani SP, Peng NP, Voralu K, Vijayalakshmi N, Mehanderkar R, Aziz NA, Michael E. (2010) Incidence, risk factors and clinical epidemiology of melioidosis: a complex socio-ecological emerging infectious disease in the Alor Setar region of Kedah, Malaysia. *BMC Infect Dis.* 21;10:302.

Hsueh PR, Teng LJ, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Ho SW, Luh KT. (2001) Melioidosis: an emerging infection in Taiwan? *Emerg. Infect. Dis.* 7, 428-433.

Inglis TJ, Garrow SC, Adams C, Henderson M, Mayo M, Currie BJ. (1999) Acute melioidosis outbreak in Western Australia. *Epidemiol Infect.* 123(3):437-43.

Inglis TJ, Levy A, Merritt AJ, et al. (2009) Melioidosis risk in a tropical industrial environment. *Am J Trop Med Hyg.* 80:78-84.

Inglis TJ, Sagripanti JL. (2006) Environmental factors that affect the survival and persistence of *Burkholderia pseudomallei*. *Appl Environ Microbiol.* 72:6865-6875.

Kaestli M, Mayo M, Harrington G, Watt F, Hill J, Gal D, Currie BJ. (2007) Sensitive and specific molecular detection of *Burkholderia pseudomallei*, the causative agent of melioidosis, in the soil of tropical northern Australia. *Appl Environ Microbiol.* 73:6891-7.

Kaestli M, Mayo M, Harrington G, Ward L, Watt F, Hill JV, Cheng AC, Currie BJ. (2009) Landscape changes influence the occurrence of the melioidosis bacterium *Burkholderia pseudomallei* in soil in northern Australia. *PLoS Negl Trop Dis.* 3:e364.

Kao CM, Chen SC, Chen YS, Lin HM, Chen YL. (2003) Detection of *Burkholderia pseudomallei* in the paddy soil with PCR-based technique. *Folia Microbiol.* 48: 521-524.

Kanaphun P, Thirawattanasuk N, Suputtamongkol Y, Naigowit P, Dance DA, Smith MD, White NJ. (1993) Serology and carriage of *Pseudomonas pseudomallei*: a prospective study in 1000 hospitalized children in northeast Thailand. *J Infect Dis.* 167(1):230-3.

Kitron U, Kazmierczak JJ. (1997) Spatial analysis of the distribution of Lyme disease in Wisconsin. *Am J Epidemiol* 145:558-566

Lee N, Wu JL, Lee CH, Tsai WC. (1985) *Pseudomonas pseudomallei* infection from drowning: the first reported case in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 22:352-4.

- Leelarasamee A.** (2004) Recent development in melioidosis. *Curr Opin Infect Dis.* 17:131-136.
- Limmathurotsakul D, Wongratanacheewin S, Teerawattanasook N, Wongsuvan G, Chaisuksant S, Chetchotisakd P, Chaowagul W, Day NP, Peacock SJ.** (2010) Increasing incidence of human melioidosis in Northeast Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 82:1113-1117.
- Lin HH, Chen YS, Li YC, Tseng IL, Hsieh TH, Buu LM, Chen YL.** (2011) *Burkholderia multivorans* acts as an antagonist against the growth of *Burkholderia pseudomallei* in soil. *Microbiol Immunol.* 55:616-24.
- Lin HH, Huang SP, Hsieh HC, Chen CS, Chen YL.** (2006) Performance characteristics of the limulus amebocyte lysate assay and gas chromatography-mass spectrum analysis of lipopolysaccharides relative to nitric oxide production by peritoneal exudates of cells. *J Hazard Mater.* 145:431-436.
- Phuong DM, Trung TT, Breitbach K, Tuan NQ, Nübel U, Flunker G, Khang DD, Quang NX, Steinmetz I.** (2008) Clinical and microbiological features of melioidosis in northern Vietnam. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102 Suppl 1:S30-6.
- Palasatien S, Lertsirivorakul R, Royros P, Wongratanacheewin S, Sermswan RW.** (2008) Soil physicochemical properties related to the presence of *Burkholderia pseudomallei*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102 Suppl 1:S5-9.
- Rattanavong S, Wuthiekanun V, Langla S, Amornchai P, Sirisouk J, Phetsouvanh R, Moore CE, Peacock SJ, Buisson Y, Newton PN.** (2011) Randomized soil survey of the distribution of *Burkholderia pseudomallei* in rice fields in Laos. *Appl Environ Microbiol.* 77:532-6.
- Sam IC, Puthuchearry SD.** (2007) Melioidosis and rainfall in Kuala Lumpur, Malaysia. *J Infect.* 54:519-520.
- Su HP, Chan TC, Chang CC.** (2011) Typhoon-related leptospirosis and melioidosis, Taiwan, 2009. *Emerg Infect Dis.* 17:1322-1324
- Su HP, Yang HW, Chen YL, Ferng TL, Chou YL, Chung TC, Chen CH, Chiang CS, Kuan MM, Lin HH, Chen YS.** (2007) Prevalence of melioidosis in the Er-Ren River Basin, Taiwan: implications for transmission. *J Clin Microbiol.* 45:2599-2603
- Suputtamongkol Y, Hall AJ, Dance DA, Chaowagul W, Rajchanuvong A, Smith MD, White NJ.** (1994). The epidemiology of melioidosis in Ubon Ratchatani, Northern Thailand. *Int. J. Epidemiol.* 40: 451-453.
- Trakulsomboon S, Vuddhakul V, Tharavichitkul P, Na-Gnam N, Suputtamongkol Y, Thamlikitkul V.** (1999) Epidemiology of arabinose assimilation in burkholderia pseudomallei isolated from patients and soil in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 30(4):756-9.

Vuddhakul V, Tharavichitkul P, Na-Ngam N, Jitsurong S, Kunthawa B, Noimay P, Noimay P, Binla A, Thamlikitkul V. (1999) Epidemiology of *Burkholderia pseudomallei* in Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 60(3):458-61.

Wuthiekanun V, Limmathurotsakul D, Chantratita N, Feil EJ, Day NP, Peacock SJ. (2009) *Burkholderia Pseudomallei* is genetically diverse in agricultural land in Northeast Thailand. *PLoS Negl Trop Dis.* 3:e496.

Wuthiekanun V, Mayxay M, Chierakul W, Phetsouvanh R, Cheng AC, White NJ, Day NP, Peacock SJ. (2005) Detection of *Burkholderia pseudomallei* in soil within the Lao People's Democratic Republic. : *J Clin Microbiol.* 43(2):923-4.

圖、表

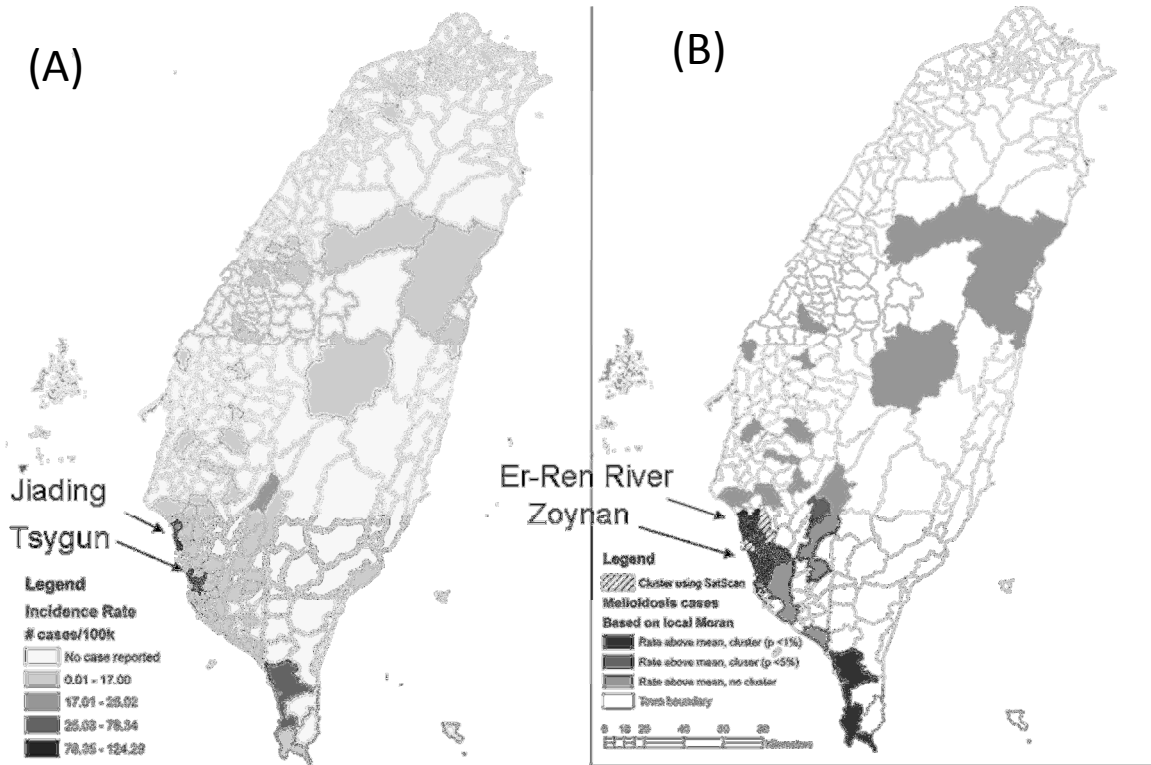


圖 1. 類鼻疽的分布圖。藉由 local Moran's I 空間分析，發生率比相鄰鄉鎮明顯高者，以黑色標示之(A)，若以 SatScan 分析(B)則以斜線標示。

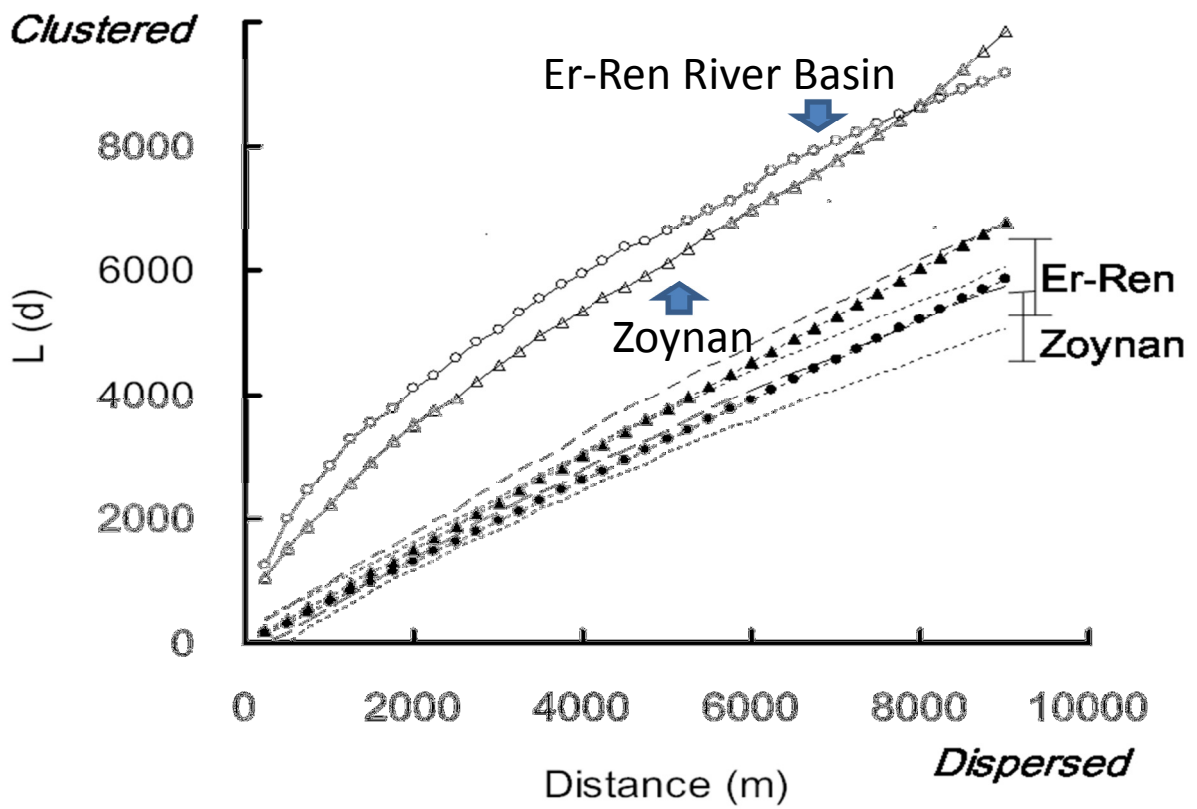
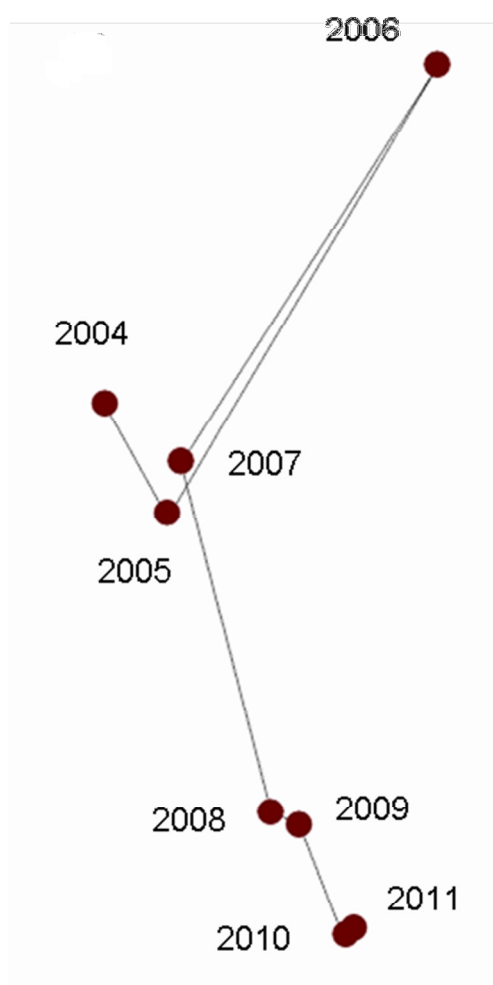
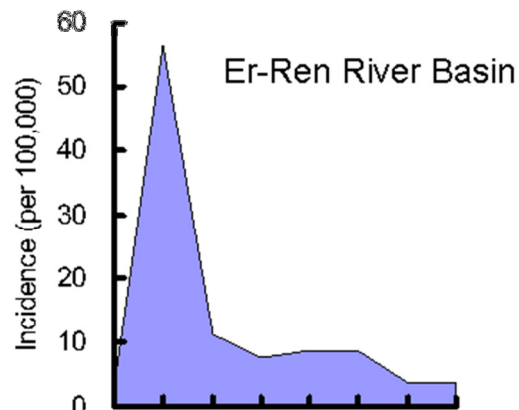


圖 2. Ripley's K function 分析。實心符號表示分析之期望值；Er-Ren River Basin (●) and Zoynan Region (▲)。空心符號表是觀察值；Er-Ren River Basin, ○; Zoynan Region, △。箭頭所指是表期望值背離觀察值的最大距離。95% confidence intervals 則以虛線表示之。

(A)



(B)



(C)

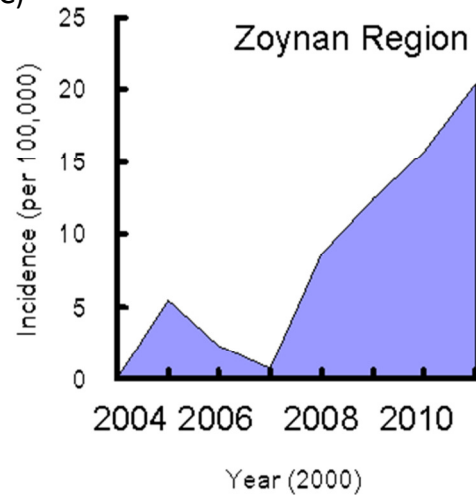


圖 3. 類鼻疽分布的中心點與熱點地區的發生率的變化

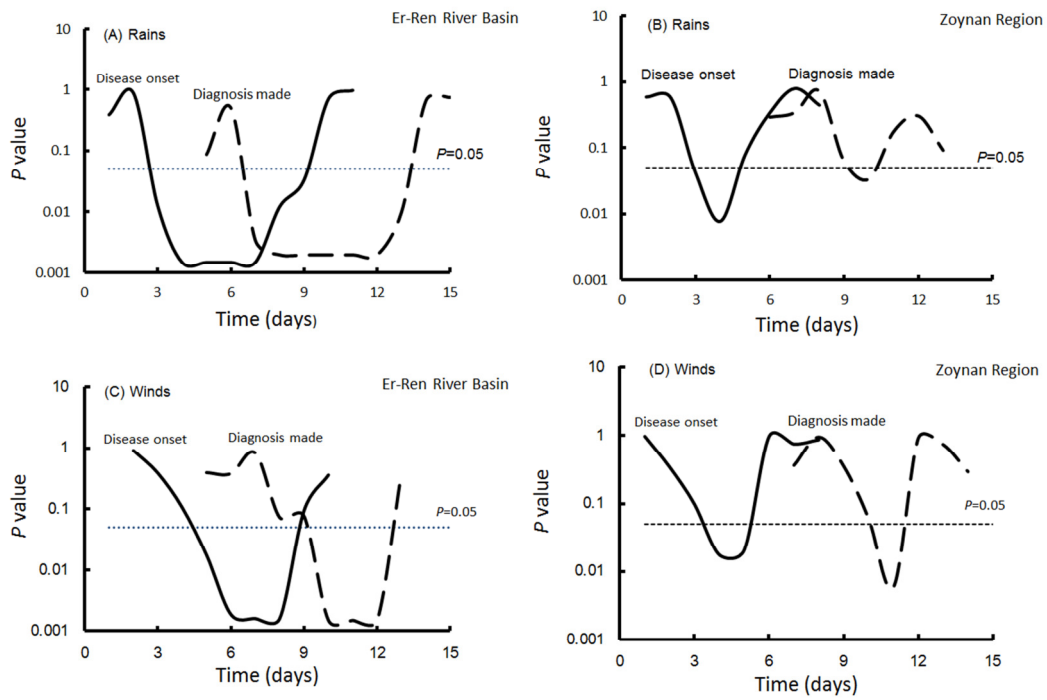


圖 4. 日降雨量、風速與疾病發生的相關性。相關性係以 negative binomial regression model 在不同的 lag time 設定條件下進行。

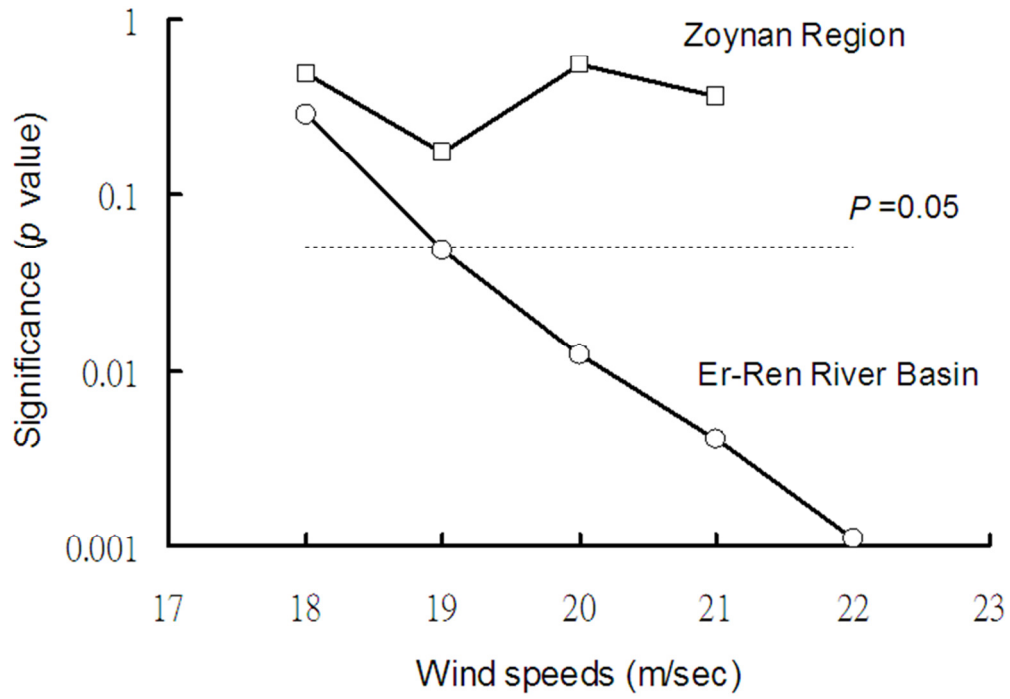


圖 5. 風速與類鼻疽發生的相關性。氣象與類鼻疽資料係以單月的最大瞬間風速 (m/sec) 與單月類鼻疽個案數為基準。

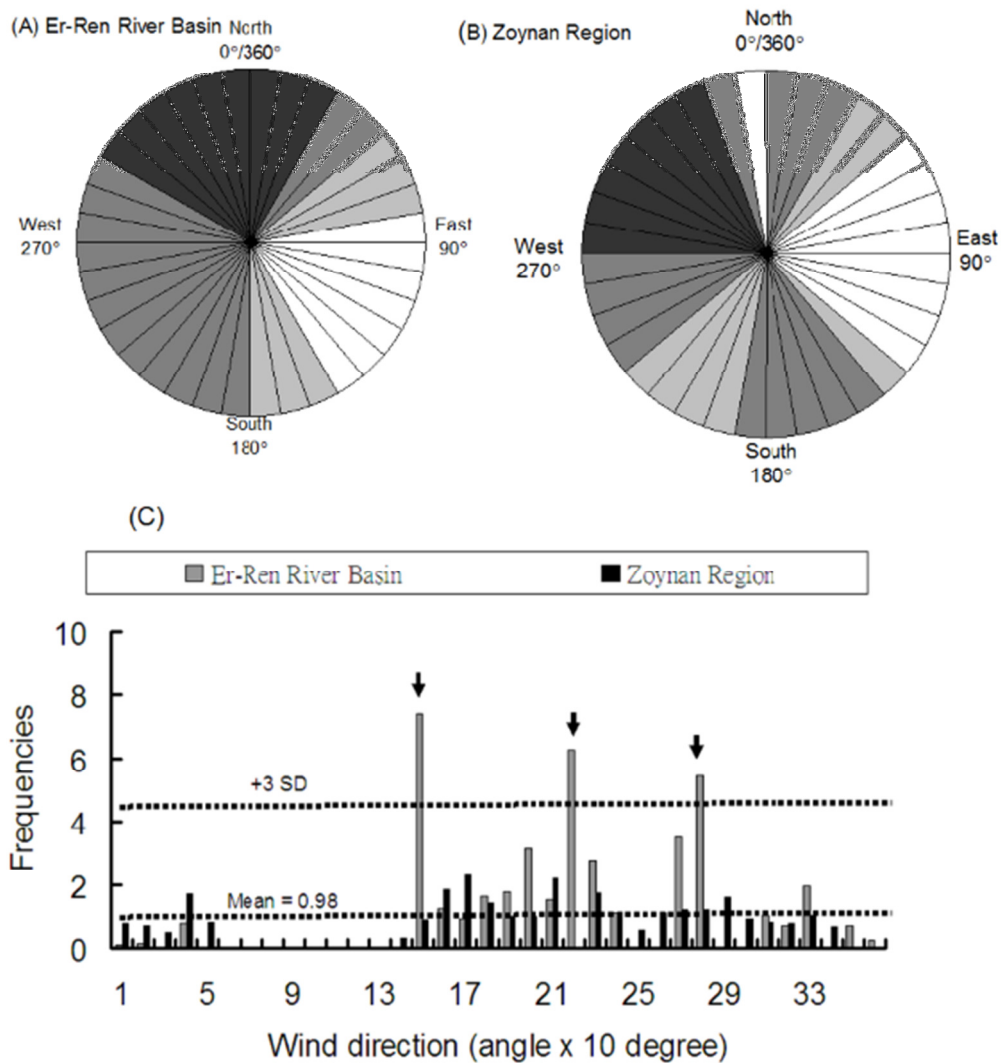


圖 6. 風向與類鼻疽的相關分布。(A) 二仁溪流域與(B) 左楠地區的風向分布
 black (>100 times), deep grey (51-100 times), light grey (11-50 times) and white
 (0-10 times). (C) 類鼻疽的發生率經過風向發生頻率的標準化，箭頭所指的是類鼻
 疽發生時所出現的風向頻率平均值>3 SD (standard deviation).

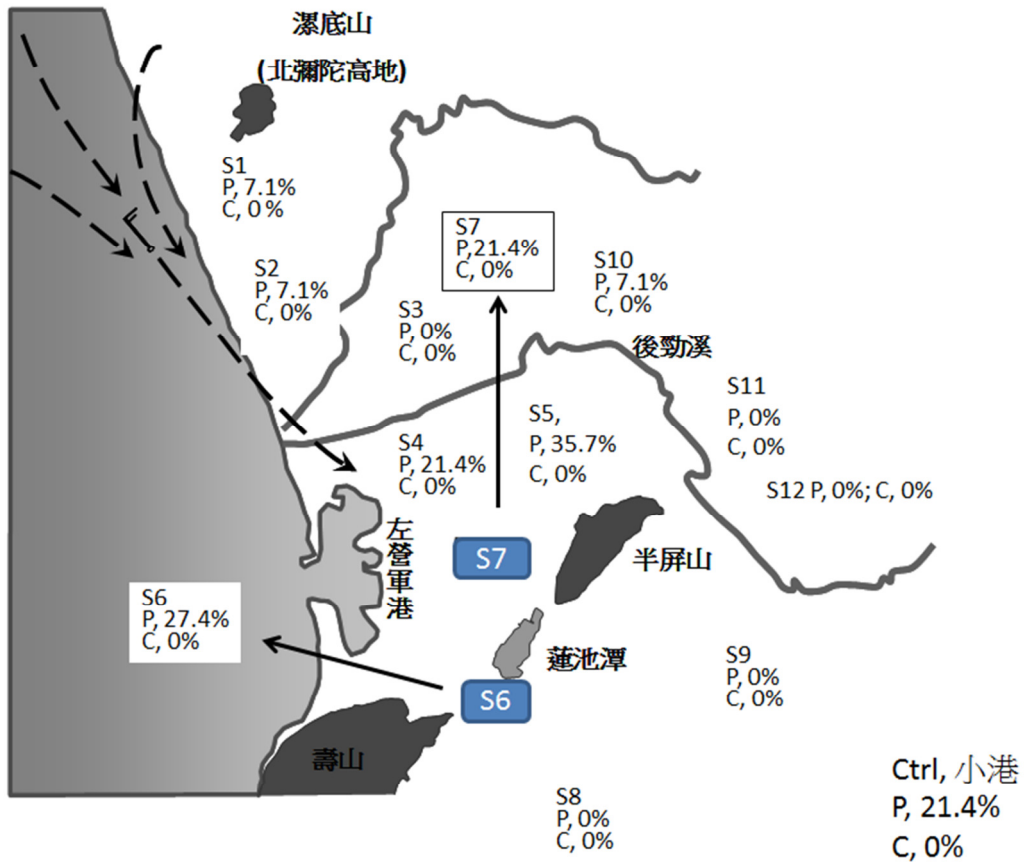


圖 7. 空氣微粒之 PCR 陽性檢出分布圖。

S1-S12: 表採樣點。P: 表 PCR 陽性檢出率。C: 表 *B. pseudomallei* 的分離率。

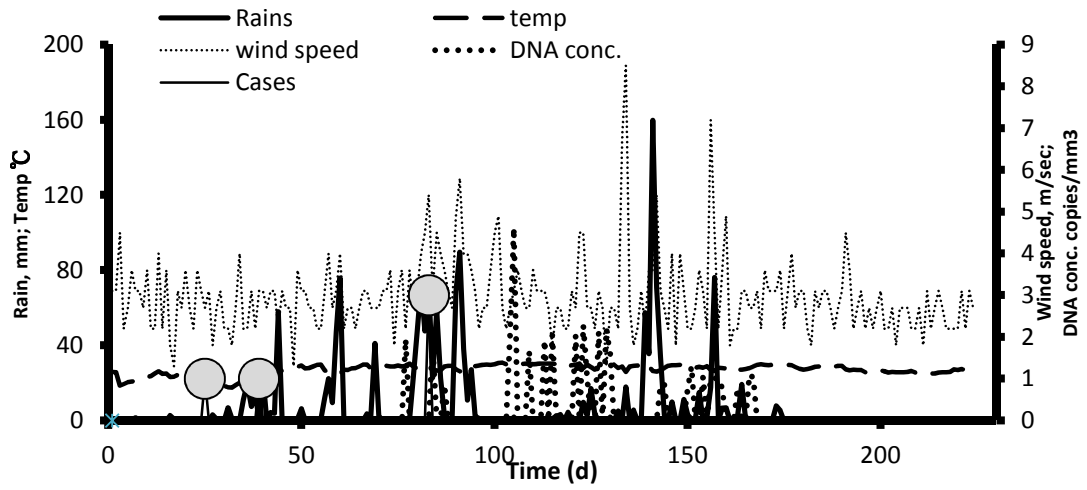


圖 8. *B. pseudomallei* DNA 濃度、類鼻疽個案與氣候因子的相關性。氣候因子包括氣溫、雨量與風速(圖示在上方)，類鼻疽個案以圓形表示，並以黑實線連接。DNA 濃度以 $\text{copies}/\text{mm}^3$ 紀錄之。

Table 1 類鼻疽個案人口計量與特性分析

		Study areas		
		Taiwan	Er-Ren River	Zoynan
2000-2004		20	4	
2005-2011		302	80	83
Gender				
	M	230	54	65
	F	72	26	18
Age				
	>85	13	2	5
	75-84	46	15	20
	65-74	59	21	15
	55-64	72	19	21
	45-54	70	11	15
	35-44	31	10	3
	<35	11	2	4
Fatal cases				
		69	17	14
Occupation				
	Unemployed	156	50	54
	Agriculture	13	4	0
	Indoor	19	5	2
	Outdoor	32	7	5
	No information	82	14	22

表 2 氣候因子與類鼻疽發生之多變數分析

Region	Melicoidosis cases (according to)	Lag time (d)	Dominate climate factors * for			
			Rain, WS (wind speed) and WD (wind direction, degree)			
Er-Ren River Basin	the date of disease onset	3	2005-2011 WD(280°-320°), $p=0.028$	2005 WD(190°-230°), $p=0.017$	2006-2011 WD(190°-230°), $p=0.017$	
		4	WD(280°-320°), $p=0.026$	WD(280°-320°), $p=0.004^B$		
		5	WD(190°-230°), $p=0.041$	WD(280°-320°), $p=0.041$		
		6	WD(240°-270°), $p=0.078$	WD(240°-270°), $p=0.016$	Rain, $p=0.009$	
		7	WD(240°-270°), $p=0.004^B$	WD(240°-270°), $p=0.008$		
		8	WD(280°-320°), $p=0.004^B$	WD(280°-320°), $p=0.05$	WD(190°-230°), $p=0.05$	
		9	WD(280°-320°), $p<0.001^B$	WD(280°-320°), $p<0.001^B$	WD(190°-230°), $p=0.038$	
		the date of diagnosis made	7	WD(190°-230°), $p=0.004^B$	WD(190°-230°), $p=0.001^B$	WD(280°-320°), $p=0.07$
		8	WD(140°-180°), $p=0.009$	Rain, $p=0.034$	WD(140°-180°), $p=0.02$	
	9	WD(280°-320°), $p=0.027$	Rain, $p<0.001^B$	WS, $p=0.049$		
	10	WD(280°-320°), $p=0.061$	WD(280°-320°), $p=0.002^B$			
	11	WD(240°-270°), $p=0.006$	WD(240°-270°), $p=0.004^B$	WD(190°-230°), $p=0.093$		
	12	WS, $p<0.001^B$	WS, $p<0.001^B$			
13	WD(280°-320°), $p<0.001^B$	WD(280°-320°), $p<0.001^B$				
Zoynan Region	the date of disease onset	3	2005-2011 Rain, $p=0.016$	2005-2008	2009-2011 Rain, $p<0.001^B$	
		4			Rain, $p<0.001^B$	
		5		WS, $p=0.022$		
	the date of diagnosis made	10	WD(240°-270°), $p=0.076$	WS, $p=0.023$	WD(240°-270°), $p=0.049$	
11	WS, $p=0.004^B$	WS, $p=0.058$	WS, $p=0.046$			

* $p \geq 0.1$ not shown

B, Significant after Bonferroni-correction ($p=0.1$)

表 3. 土壤與水樣檢體的 PCR 檢出率與分離率

Samples	Size (n)	Positivity, n (%)	Cultures, n (%)
soil	125	20 (16%)	10 (8%)
0-5 cm	25	1 (4%)	0 (0%)
6-30 cm	45	3 (6%)	0 (0%)
31-60 cm	55	16 (29%)	10 (18%)
Water	72	18 (25%)	3 (4.2%)
surface water	39	12 (30.7%)	1 (2.6%)
底泥	21	6 (28.5%)	2 (9.5%)
溪石	12	0 (0%)	0 (0%)