

計畫編號：DOH96-DC-2020

行政院衛生署疾病管制局九十六年度自行研究計畫

游離恙蟲的採集與分離恙蟲病立克次體方法的建立

## 自行研究成果報告

執行機構：疾病管制局研究檢驗中心

研究主持人：王錫杰、舒佩芸

研究人員：陳俊憲、李沛龍、陳玉玲

執行期間：96年1月1日至96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\*

## Abstract

In the second year of this study, we continuously captured rodents and collected free-living unengorged chiggers in Kinmen County, Lienchiang County and Penghu County. Also, we finished counting chiggers number from rodents, nested-PCR detecting and isolating *Orientia tsutsugamushi*(OT) on chiggers and analyzing phylogeny of our isolated strains based on 56 kDa protein gene. According to field surveillance, chiggers' abundant and harboring *O. tsutsugamushi* were found in grass near a gas station on Jian-guo road, Chian town, Hualien County and Nanlian village, Hushi town, Penghu County. It should alarm residents and tourists to pay attention. Based on four survey index from nine field surveillance, we found significant linear correction between positive rates of antibody against OT on rodents and OT PCR positive rates in chiggers from rodents( $r=0.9015$ ,  $p=0.001$ ), indicated positive rates of antibody against OT on rodents may be an indicator of the scrub typhus infection possibility. Twenty- five *O. tsutsugamushi* strains were found by nested-PCR on chiggers, eight strains were identical with strains on gene bank. Karp was the most abundant strain, except Penghu County, which can find in all survey area. Other strains distributed randomly, including Hualien-12, Hualien-9, Hualien-6 and Taitung-3. In addition, 17 strains were different with gene bank strains, showed they maybe new strains. We have successfully isolated 55 *O. tsutsugamushi* strains from chiggers using shell vial technique. Phylogeny analysis based on 56 kDa protein gene full-length sequence, we found high divergence in chigger's isolates and patient's isolates. On the phylogenic tree,

most of chigger's isolates and patient's isolates co-existence, and sequence of 6 chigger's isolates were identical to 3 patient's isolates, showed epidemiological meaning, *O. tsutsugamushi* transferred from chiggers to patients. Through evaluation, three free-living unengorged chiggers collecting methods: bakelite plate, Suzuki method and Direct method all have merit and drawback. Bakelite plate can collect large number of chiggers; collected from the litter and the soil surface (Direct method) can collect larvae, nymphs and adults; collected using black cloth (Suzuki method) can collect chiggers on tip of grass, so the usage of different methods depended on different habitats. Due to positive results on detecting free-living unengorged chiggers from Taitung County and Penghu County by nested-PCR, indicated *Leptotrombidium deliense* can tran-ovarian transmission with *O. tsutsugamushi*, and proved it was vector of scrub typhus in such areas.

Keywords: unengorged larvae of trombiculid mites, tsutsugamushi disease, *Orientia tsutsugamushi*, phylogeny, PCR

# 目 錄

	頁次
中文摘要.....	i
英文摘要.....	iii
目 錄.....	v
圖 次.....	vi
表 次.....	vii
附錄次.....	viii
壹、前言.....	1
貳、材料與方法.....	7
一、採集地點.....	7
二、採集方法.....	7
三、恙蟎鑑定方法.....	8
四、恙蟲體內立克次體分離培養及檢測.....	9
五、鼠類血清立克次體抗體檢測.....	17
參、結果.....	19
一、野外捕鼠、恙蟲計數與檢測.....	19
二、恙蟲體內恙蟲病立克次體分離培養檢測.....	22
三、游離恙蟲採集與檢測.....	23
肆、討論.....	25
伍、結論與建議.....	36
陸、計畫重要研究成果及具體建議.....	38
柒、參考文獻.....	39
捌、圖.....	48
玖、表.....	52
拾、附錄.....	60

## 圖 次

	頁次
圖一、恙蟲體內恙蟲病立克次體分離培養後增幅 56k Da 蛋白質基因全長序列之 PCR 電泳圖.....	48
圖二、花蓮縣、台東縣及澎湖縣恙蟲病立克次體恙蟲分離株與 gene bank 登錄台灣病人分離株及世界標準株 56kDa 蛋白質基因序列親緣關係圖.....	49
圖三、合輪恙蟎屬 <i>Helenicula</i> sp.....	50
圖四、蒼白恙蟎( <i>Leptotrombidium pallidum</i> ).....	51
圖五、台東縣游離恙蟲體內 DNA 增幅恙蟲病立克次體 56kDa 蛋白質 variable domain 1 之 PCR 電泳圖.....	52

## 表 次

	頁次
表一、95 年 11 月花蓮縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	52
表二、95 年 11 月花蓮縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	52
表三、96 年 1 月金門縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	53
表四、96 年 1 月金門縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	53
表五、96 年 3 月連江縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	53
表六、96 年 3 月連江縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	54
表七、96 年 5 月澎湖縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	54
表八、96 年 5 月澎湖縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	54
表九、96 年 7 月連江縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	55
表十、96 年 7 月連江縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	55
表十一、96 年 9 月澎湖縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	55
表十二、96 年 9 月澎湖縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果.....	56
表十三、2006-2007 年野外調查結果四項調查指數整理.....	56
表十四、四項調查指數線性相關分析.....	57
表十五、老鼠身上恙蟲 PCR 陽性定序結果.....	57
表十六、恙蟲病立克次體分離培養及 56kDa 蛋白質 PCR 檢測結果...	58
表十七、以三種方法採集游離恙蟎結果.....	59
表十八、游離恙蟎 nested-PCR 檢測結果.....	59

## 附 錄 次

	頁次
附錄一、95年11月花蓮縣老鼠及恙蟲檢測結果.....	60
附錄二、96年1月金門縣老鼠及恙蟲檢測結果.....	60
附錄三、96年3月馬祖老鼠及恙蟲檢測結果.....	61
附錄四、96年5月澎湖縣老鼠及恙蟲檢測結果.....	63
附錄五、96年7月連江縣老鼠及恙蟲檢測結果.....	64
附錄六、96年9月澎湖縣老鼠及恙蟲檢測結果.....	65

## 壹、前言

恙蟎的生活史雖分為七個時期：卵(egg)、次卵(deutovum)、幼蟲(larva)、前若蟎(protonymph)、次若蟎(deutonymph)、三若蟎(tritonymph)及成蟲(adult)，但只有幼蟲階段行寄生生活，其餘皆在土壤表面行自由生活，以土中之小型節肢動物之幼蟲及卵為食。恙蟎體型微小採集不易，惟利用恙蟎幼蟲寄生的特性，捕捉野鼠檢查恙蟎可間接獲得恙蟎密度資料，故為最常使用評估恙蟎密度的方法。老鼠身上恙蟎寄生的情形將恙蟎密度分為帶蟎率(被寄生鼠數/全部捕獲鼠數)及恙蟎指數(寄生恙蟎總數/全部捕獲鼠數)，帶蟎率代表恙蟎在採樣地區分佈的均勻性，恙蟎指數則代表恙蟎數量的多寡。不同宿主的帶蟎率及恙蟎指數亦表示某種恙蟎對宿主的選擇性(黎等，1997)。台灣地區許多恙蟎的調查研究即使用捕鼠法，如在澎湖曾進行的一系列調查，包括恙蟎種類、密度及孳生地 (Cooper *et al.*, 1964; Lien *et al.*, 1967)，鼠形動物及恙蟎帶原情形 (Cooper *et al.*, 1964; Olson *et al.*, 1978)，恙蟎密度與病例發生之關係 (Olson *et al.*, 1982)，恙蟎密度與平均溫度及平均降雨量的關係 (Dirk Van Peenen *et al.*, 1976) 等均使用捕鼠法調查恙蟎。除此之外，Gale *et al.* (1974) 及 Lien *et al.* (1974) 分別於花蓮豐濱及台東蘭嶼以捕鼠法進行恙蟎採集；1985年前台灣省傳染病研究所在台東、宜蘭、花蓮、高雄、台南、雲林、嘉義、彰化、台中及南投等10縣36



鄉鎮以捕鼠法進行野鼠恙蟲病調查 (王, 1988); 1986 年至 1987 年在花蓮縣壽豐鄉進行恙蟎季節消長調查 (林, 1999)。Hasegawa *et al.* (1990) 在台北、台東、阿里山、高雄、屏東及澎湖進行恙蟲病病媒調查。王等 (2004) 於金門進行恙蟎的調查與病原體檢測。以上有關恙蟎的調查報告均以捕鼠法採集為主，依國外學者報告，恙蟎幼蟲恙蟲病立克次體的感染情形早先亦由採自野鼠身上之恙蟎測定 (Tamiya, 1962; Asanuma, 1983)，但漸漸許多學者質疑這些幼蟲可能自然攜帶恙蟲病立克次體或經由取食立克次體血症之野生齧齒動物而感染 (Traub *et al.*, 1975; Walker *et al.*, 1975; Takahashi *et al.*, 1994)，因為未食幼蟲是目前所知唯一能傳播疾病給齧齒動物及人的時期，未食幼蟲所攜帶的恙蟲病立克次體被認為源自感染的雌蟎經卵傳播所產下的卵 (Urakami *et al.*, 1994; Takahashi and Tanaka, 1995; Kollars *et al.*, 2000; Frances *et al.*, 2001)，故進行病媒判定應由未食幼蟲檢測進行 (Misumi *et al.*, 2002)。

對於游離的恙蟎可用動物誘捕法、土壤漂浮法或墊木板法 (bakelite plate) 採集恙蟎 (黎等, 1997)，於澎湖的恙蟲調查亦曾使用動物誘捕法及墊木板法 (Cooper *et al.*, 1964; Lien *et al.*, 1967)。Tullgren 漏斗法及黑布法 (Suzuki method) 為 Suzuki 等所開發 (Suzuki, 1973; Suzuki and Tabaru, 1987)，本研究期望探討此二方法及墊木板法是否更易於防疫人員進行恙蟎密度評

估，成為恙蟲病監測及防治成果之指標。

引起恙蟲病之病原體--恙蟲病立克次體 (*Orientia tsutsugamushi*) 原命名為 *Rickettsia tsutsugamushi*，但因其 (1) 細胞壁的形態與化學結構；(2) 種專一性蛋白質；(3) 抗生素的敏感性；(4) 16S rRNA 基因序列等皆與 *Rickettsia* 屬不同而另成立一新屬 *Orientia* (Tamura *et al.*, 1995)。其為一種絕對細胞內寄生之微生物，在細胞內行二分裂法生殖。個體大小約  $0.3 \times 1.0 - 1.2 \mu\text{m}$ ，其基本的形態類似於革藍氏陰性菌 (Gram-negative bacteria)，56 kDa 蛋白質為細胞壁最主要蛋白質，並呈現型別專一抗原 (Type specific antigen, TSA) 之特性 (Ohashi *et al.*, 1988)。早期恙蟲病立克次體的分類是採用補體結合試驗 (Cross-complement fixation, CF)，首先確定分離自新幾內亞的 Karp 型，緬甸的 Gilliam 型及日本的 Kato 型為不同抗原血清型的原型株，並以此為恙蟲病立克次體分類鑑定的國際標準株。1963 年 Bozeman and Elisberg 引進間接免疫螢光法 (Indirect immunofluorescence assay, IFA) 於檢測恙蟲病患血清後，即陸續發現在許多分離株中除三個標準型外，還存在混合型或其他抗原型。Elisberg *et al.* (1978) 報告用幾個高效價免疫血清對分離株進行交叉免疫螢光反應，發現泰國五個分離株 (TA<sub>678</sub>、TA<sub>686</sub>、TA<sub>716</sub>、TA<sub>763</sub> 和 TH<sub>1817</sub>) 抗原性不同於原型株，其後在日本又從病人分離出 Shimokoshi、Kawasaki、Kuroki、Irie 和

Hirano 型，這些立克次體菌株均是經由環磷酰胺 (cyclophosphamide) 處理過的小鼠分離出，有些菌株已被証實對小鼠呈低致病性 (Yamamoto *et al.*, 1986)。

應用單株抗體對恙蟲病立克次體抗原性變異的研究有長足的進展，許多學者製備多種單株抗體，包括株 (strain) 或型 (type) 特異性及群 (group) 特異性。幾乎所有株特異性的單株抗體都針對位於立克次體表面的 56 kDa 蛋白質，這些單株抗體對新分離株可做清楚區分，因沒有分離株可與多種單株抗體交互作用，因此可以解決間接免疫螢光法因各型間有部分交互作用，判定上易於混淆的問題。在韓國經由鼠單株及多株抗體，證實由病人分離出一株新的恙蟲病立克次體 Boryong 型 (Chang *et al.*, 1990; Chang and Kang, 1991)。中國大陸目前發現除 Gilliam、Karp、Kato 3 個基本血清型外，亦在江蘇發現 Kawasaki 型 (郭等, 1995)，湖南發現 TA<sub>763</sub> 型 (俞及陳, 1998)。而在台灣澎湖由病人、老鼠及恙蟎所分離 49 株恙蟲病立克次體菌株中發現對 Karp、TA<sub>686</sub>、TA<sub>716</sub>、TA<sub>763</sub> 及 TH<sub>1817</sub> 型具抗原性 (Shirai *et al.*, 1982)。1995 年陳等自恙蟲病患者分離 33 株恙蟲病立克次體菌株，以間接免疫螢光法測定，發現台東、金門為 Gilliam、Karp 型，馬祖為 Gilliam 型，除此之外尚發現多株為 Gilliam、Karp 及 Kato 多重抗原性。

恙蟲病立克次體的抗原型別取決於其菌體外圍之型別專一性抗原

(TSA) 56 kDa 蛋白質，1990 至 1993 年編碼 Gilliam、Karp、Kato、Shimokoshi、Kawasaki、Kuroki 和 Boryong 等七型之 56 kDa 型別專一性抗原核苷酸及胺基酸序列首先被定出 (Ohashi *et al.*, 1990; Stover *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1993)，由已知 TSA 序列之比對發現有 70 到 90% 相似度，同時有四個變異區 (variable domain) (Ohashi *et al.*, 1992)。根據這些變異區序列，運用聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 及雙階聚合酶連鎖反應 (two-step polymerase chain reaction 或 Nested-PCR) 配合限制酶切割法 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) 進行恙蟲病的診斷及恙蟲病立克次體的分型 (Furuya *et al.*, 1991, 1993; Murai *et al.*, 1992; Kawamori *et al.*, 1993; Takahashi *et al.*, 1994)。由於 PCR 的敏感性，已可由單個恙蟎體內檢測到立克次體 (郭等，1996；嚴等，1996)。Ohashi *et al.* (1996) 由單株抗體及 PCR-RFLP 的檢測發現分離自日本 40 株恙蟲病立克次體，在同一血清型中，尚可分出許多亞型 (subtype)。近年來基因定序技術蓬勃發展，使各新分離株 56 kDa 蛋白質之完整序列更易取得，且目前菌株分離的工作已成為亞洲各國研究者常規的工作 (Frances *et al.*, 1999; Urakami *et al.*, 1999; Takahashi *et al.*, 2002; Misumi *et al.*, 2002; 彭等，2001；王等，2002)，同時藉由亞洲地區越來越多新的恙蟲病立克次體菌株被發現 (Ohashi *et al.*, 1996; Enatsu *et al.*, 1999; Tamura *et al.*, 2001; Qiang

*et al.*, 2003; Tay *et al.*, 2005), 對於這些新的菌株的親緣關係, 以及對人體的抗體表現及致病力, 都將會有更進一步瞭解。國內目前由花蓮慈濟醫院病毒及立克次體合約實驗室自恙蟲病病人分離出幾株恙蟲病立克次體, 可望納入本局病原體基因資料庫, 惟在恙蟎分離恙蟲病立克次體部份, 應積極進行, 除與病人之分離株比對外, 更可探討恙蟲病血清學檢驗的敏感性, 同時做為防疫之基本參考資料。

## 貳、材料與方法

### 一、採集地點

恙蟎之採集以恙蟲病高流行區為採集地點，第一年進行金門縣、花蓮縣及台東縣；第二年進行金門縣、澎湖縣及連江縣，選擇病例數較高的鄉鎮。每一縣春夏及秋冬各採集一次，以便採集不同季節偏好性之恙蟎。

### 二、採集方法：以下列 4 種方法採集恙蟎，並收集採集時間採集地點之中央氣象局氣象資料。

1. 黑布法(Suzuki method)：以 50×50 公分黑色絨布，置於採樣點地表鋪平，用手輕壓絨布使其接觸地表植物、落葉或土壤，然後用手指抓住絨布角落輕輕水平拖行，翻面再進行一次。將黑布置於塑膠袋，內置一些新鮮樹葉以保持濕度，帶回實驗室以 Tullgren funnel 烘烤收集游離恙蟎。
2. 墊木板法：工作人員手持 5 片 15×15 cm 墊木板 (bakelite plates)，每隔 1 min 於草地適當地點放置 1 片墊木板，當第 5 片墊木板放置後 1 min，拾起第 1 片墊木板於 1 min 內檢查正反面，若有任何移動的小蟲，均以沾水毛筆挑起置入無菌水之檢體瓶中，再檢查第二片，如此反覆於每個地點至少檢查 100-300 片墊木板，將採獲小蟲以顯微鏡鑑別出恙蟎。
3. Tullgren 漏斗法(Direct method)：在老鼠洞穴或老鼠行走通道上取約 2 公

升(20公分長×20公分寬×5公分深)土壤置於塑膠袋，帶回實驗室以

Tullgren funnel 烘烤收集游離恙蟎。

4. 捕鼠法：在選定地點佈鼠籠40個，以地瓜為誘餌，下午置放隔日早上收籠。捕獲老鼠後，依體型大小以0.1~0.3 ml Zoletil 50 進行腹腔注射迷昏，再將有恙蟎寄生之外耳殼及其他部位如生殖器附近、胸部、後腿之皮膚剪下置於直徑3.7 cm，高5.8 cm有蓋塑膠瓶中，內鋪1 cm石膏碳粉(熟石膏粉：活性碳粉=9：1)保持濕度，靜置1天讓恙蟎脫離鼠體。鼠體外其他外寄生節肢動物如跳蚤、蝨子、蟎類以毛刷刷下置於70%酒精中，蜚類則置於石膏碳粉瓶中。

所有游離恙蟎或自鼠體脫離之恙蟎及蜚類均移入置於4°C冰箱，準備進行鑑定及恙蟲體內立克次體分離檢測。

### 三、恙蟎鑑定方法

將部份恙蟎浸泡於70%酒精殺死，再置於去離子水3~4次，每次30 min。再將恙蟎以Hoyer's 封片液(含有50 ml 去離子水，30 g 阿拉伯膠(Gum Arabic, Sigma)，200 g 含水氯醛(Chloral hydrate, Merck)，20 ml 甘油(Glycerin, Merck) 蓋片。以Olympus BX50顯微鏡鏡檢。恙蟲之分類方法則參考Nadchatram and Dohany (1974)、Vercammen-Grandjean and Langston (1976)、Wang and Yu (1992)及黎等(1997)之報告。鑑定完成之標本以數位

影像系統照相存檔。

#### 四、恙蟲體內立克次體分離培養及檢測

##### (一) L929 細胞繼代培養

1. 以 37°C 水浴 preheat MEM 培養液及 0.25% Trypsin-EDTA。MEM 培養液的組成為 (Minimum Essential Medium 1X+ Earle's salts+ L-Glutamine) 外加 4% FBS (Fetal Bovine Serum) 及 1% Antibiotic (Penicillin 10,000 units/ml, Streptomycin 10 mg/ml, Amphotericin 0.025 mg/ml)
2. 原 75T flask 中細胞培養至八分滿以上，倒乾或吸乾 flask 中的培養液。
3. 加入 2~3cc 之 Trypsin-EDTA，緩緩搖晃 flask 使 Trypsin-EDTA 均勻分布，待 Trypsin-EDTA 顏色開始變黃後，吸去 Trypsin-EDTA 至餘 0.2~0.3cc，蓋上瓶蓋置入 37°C 培養箱 2~3 分鐘。
4. 取出 flask，可先以些許 MEM 輕輕沖洗 L929 細胞再吸起，視細胞生長情形及實驗需求決定稀釋比例，以 1:6 為例，取 12cc MEM 由 flask 底部開始沖洗，反覆吸放，可分四至五個區域將整個 flask 沖洗一次，至底部 L929 細胞均勻分布在 MEM 中為止。
5. 取 2cc 細胞懸浮液置入新 75T flask 中，再加入 13cc MEM，蓋上瓶蓋，但將瓶蓋旋開，置入 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培養箱中培養。



## (二) Shell vial 細胞培養

1. 以 37°C 水浴 preheat MEM 培養液及 Trypsin-EDTA，shell vial 空瓶先置於架上以 UV 燈殺菌半小時以上。
2. 75T flask 中細胞培養至八分滿以上，倒乾或吸乾 flask 中的培養液。
3. 加入 2~3cc 之 Trypsin-EDTA，緩緩搖晃 flask 使 Trypsin-EDTA 均勻分布，待 Trypsin-EDTA 顏色開始變黃後，吸去 Trypsin-EDTA 至餘 0.2~0.3cc，蓋上瓶蓋置入 37°C 培養箱 2~3 分鐘。
4. 取出 flask，可先以些許 MEM 輕輕沖洗 L929 細胞再吸起，視細胞生長情形及實驗需求決定稀釋比例，一般八成以上細胞可先以約 10cc MEM 由 flask 底部開始沖洗，反覆吸放，分四至五個區域將整個 flask 沖洗一次，至底部 L929 細胞均勻分布在 MEM 中為止。
5. 計數細胞：取 0.1cc 細胞懸浮液加入 0.9cc MEM，吸取 0.5cc，加入 0.5cc 之 Trypan blue，即得稀釋 20 倍之細胞稀釋液，取一滴輕滴在血球計數器上，蓋上蓋玻片後在顯微鏡下進行細胞計數。
6. 培養所需濃度約為每 cc 中含  $5 \times 10^8$  個細胞，依此比例以 MEM 稀釋。每個 shell vial 需要 1cc 細胞液。
7. 將細胞液加入 shell vial 中，並略側瓶身輕搖，去除玻片底部氣泡以免玻片傾斜影響細胞的貼附。

8. 蓋上瓶蓋，但瓶蓋旋開，置入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培養箱中培養一日以上。

### (三) 恙蟲研磨液接種 shell vial

1. 挑恙蟲：以針尖將鼠耳及石膏碳粉瓶內之恙蟲挑入裝有 1cc

PBS(Phosphate Buffer Solution)之微量離心管中，100 隻為一個 pool，微量離心管應保持低溫，以免恙蟲活動。

2. 將微量離心管以 13,500 轉離心離下恙蟲，去除 PBS 後，加入數滴優碘溶液(10% Povidone Iodine)消毒恙蟲體表，輕搖微量離心管，使恙蟲與優碘能均勻接觸。

3. 加入約 1cc PBS 稀釋優碘，以 13,500 轉將恙蟲離心下來，吸取 PBS(注意不可將恙蟲吸起)，再加入 PBS 清洗，如是反覆數次，至洗過之 PBS 不帶顏色為止。

4. 每管加入 50~100  $\mu$ l MEM 培養液，以拋棄式研磨棒均勻研磨，磨碎後加入 MEM 補至 1.5cc。

5. 取前一日培養之 shell vial，每管加入 400  $\mu$ l 研磨液進行接種，以剩餘研磨液萃取 DNA 進行 PCR。

6. 將 shell vial 於 32°C，700xg 離心一小時，使立克次體進入 L929 細胞。

7. 丟棄 shell vial 離心後的上清液，加入 1cc MEM 輕搖瓶身，洗去雜質後丟棄上清液，如是清洗三次，最後加入 1cc MEM，旋緊瓶蓋防止污

染，置入 32°C 培養箱中進行培養。

#### (四) *Orientia tsutsugamushi* IFA test

1. 接種後之 L929 細胞株，於 32°C 培養箱中進行培養 8 日後，即可進行 IFA test。
2. 輕搖瓶身並略傾斜，以尖頭鑷取出玻片，細胞著生面朝上，置入甲醛中 10 分鐘進行固定。
3. 取出玻片，細胞著生面朝上置於濾紙或乾淨擦手紙上風乾。
4. 將 anti *Orientia tsutsugamushi* 之 monoclonal antibody 滴在 6 孔培養盤上，將風乾後的玻片反蓋在培養盤上，使 monoclonal antibody 能均勻接觸到細胞著生面，注意各玻片保持距離避免污染。放入濕潤盒中，置於 37°C 處理 30 分鐘。
5. 以尖頭鑷小心取出玻片，細胞著生面朝上，置入 PBS+0.1%Tween 1st wash 七分鐘。
6. 以尖頭鑷小心取出玻片，細胞著生面朝上，置入 PBS+0.1%Tween 2nd wash 七分鐘。
7. 以尖頭鑷小心取出玻片，細胞著生面朝上，置入無菌水 wash 三分鐘。
8. 取出玻片，細胞著生面朝上置於濾紙或乾淨擦手紙上風乾。
9. 將標幟有螢光物質 (Fluorescein Isothiocyanate, FITC) 的山羊抗鼠

IgG+A+M 血清 (FITC-goat anti-mouse IgG+A+M (H+L), Zymed

Labortories Inc., USA)滴在培養盤上，將風乾後的玻片反蓋在容器上，

使二抗能均勻接觸到細胞著生面，注意各玻片保持距離避免污染。放入

濕潤盒中，置於 37°C 處理 30 分鐘

10. 重複 5~8 步驟，盡量在陰暗場所操作。

11. 載玻片上滴少許甘油+PBS，細胞著生面朝下蓋在載玻片上，以螢光顯微鏡檢視。

#### (五)恙蟲病立克次體 nested-PCR 檢測

1. 將恙蟲或蜱之研磨液放入 1.5 ml 之 eppendorf tube，加入 200 $\mu$ l 的 Buffer AL，再加入 20  $\mu$ l proteinaseK，vortex 約 15 sec 後，置於 56°C 10 分鐘。稍微離心後，將附著於管壁上的 sample 集中，加入 200  $\mu$ l 的酒精 (濃度 96-100%)。vortex 約 15 sec 後，稍微離心集中液體。
2. 將處理好的檢體個別置入 QIAamp spin coloum(in a 2 ml collection tube)，蓋上蓋子後以 8000 rpm 離心 1min，取下 QIAamp spin coloum，套入另一 collection tube 中，丟棄原 2 ml collection tube 及其中液體。
3. 小心打開蓋子，加入 500  $\mu$ l buffer AW1，蓋上蓋子後以 8000 rpm 離心 1min，取下 QIAamp spin coloum，套入另一 collection tube 中，丟棄原 2 ml collection tube 及其中液體。

4. 小心打開蓋子，加入 500  $\mu$ l buffer AW2，蓋上蓋子後以 13500 rpm 離心 3 min，取下 QIAamp spin column，套入一 1.5 ml eppendorf tube 中，丟棄原 2 ml collection tube 及其中液體。
5. 小心打開蓋子，加入 50  $\mu$ l H<sub>2</sub>O，於 70°C 中浸潤 5min，以 8000 rpm 離心 1min。此為 DNA 模板。
6. 游離恙蟎則以同一種恙蟎 10 隻一樣本(pool)，以去離子水脫去酒精後，置於 1.5 ml 微量離心管中，加入 0.1 ml SPG buffer (3.0 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck)，7.2 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck)，40 mM L-glutamic acid (Sigma)及 218 mM sucrose (Sigma)，pH 7.0)，以拋棄式研磨棒研磨。離心 11,600x g，5 min。再採沉積物懸浮於含有 0.1 mg proteinase K (Sigma)，0.5% Nonidet P-40 (Meck)，0.5% Tween 20 (Merck) 之 50  $\mu$ l 10 mM Tris-HCl buffer (Merck)，pH 8.3 之萃取液中，於 56°C 下，隔夜處理，以去除蛋白質及脂質；然後於 95°C，處理 10 min，以此處理後之產物為 PCR 反應之模板。
7. 引子為選用 TSA gene 高保守區域，以增幅其間各血清型變異區。第一次 PCR 每一管 0.5 ml 微量離心管依序加入含有 35.5  $\mu$ l 去離子水、5  $\mu$ l 之 10X PCR buffer (50 mM KCl，0.1% Triton X-100 in 10 mM Tris-HCl，pH 9.0) (Promega)、2  $\mu$ l 之 5 mM dNTPs (Promega) (終濃度

為 200  $\mu$ M)、 3  $\mu$ l 之 25 mM MgCl<sub>2</sub> (Promega) (終濃度為 1.5 mM)、 1  $\mu$ l 之 5  $\mu$ M primer A : 5'-AGAATCTGCTCGCTTGGATCCA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 144 bp~165 bp) (購自 Mission Biotech) 及 primer C :

5'-ACCCTATAGTCAATACCAGCACAA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 552 bp~575 bp) (引子之終濃度為 100 nM)、 3  $\mu$ l 之 DNA 模板及 0.5  $\mu$ l 酵素 Taq (Promega) (5 U/ $\mu$ l) (終濃度為 2.5 U) 等之 PCR 反應液。PCR 反應流程為：先於 94°C, 預熱 3 min; 再依序進行 94°C (45 s)/ 50°C (45 s)/ 72°C (45 s) 之循環, 一共 40 循環; 最後, 於 72°C, 7 min 中止反應。第二次 PCR 反應液中引子更改為 1  $\mu$ l 之 20  $\mu$ M primer a :

5'-GAGCAGAGATAGGTGTTATGTA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 260 bp~281 bp) 及 primer b : 5' : TATTCATTATAGTAGGCTGA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 408 bp~427 bp) (引子終濃度為 400 nM), 其餘反應液如同第一次。PCR 的反應流程中之溫度循環條件, 更改為 94°C (45 s)/ 50°C (45 s)/ 72°C (45 s), 一共進行 25 循環; 其餘相同。

8. 取 10  $\mu$ l 第二次 PCR 增幅的產物, 於 3% NuSieve 及 1% agarose gel (BMA, USA) 之 1X TBE buffer (Sigma) 的膠片中進行電泳分析。將 agarose 取出, 用溴化乙錠 (ethidium bromide, aMRESCO) 染色, 以紫外光照射觀察並照相, 並將其二次 PCR 增幅的產物進行 DNA 序列定序,

以作不同型別區分。

(六)恙蟲病立克次體 56kDa 蛋白質全長基因定序

1. 56kDa 蛋白質全長基因定序(參考 Qiang *et al.* (2003) 之方法並略加修改)
2. 將含立克次體之細胞懸浮液於室溫下凍解後取 200  $\mu$ l 置於 1.5 ml 之微量離心管。
3. 再依照 QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN) 所附的說明書之操作步驟萃取 DNA，其步驟如下：首先加入 200  $\mu$ l Buffer AL 以及 20  $\mu$ l Proteinase K，以 Vortex 振盪 15 sec 後，放入 56°C 乾浴處理 10 min。然後加入 200  $\mu$ l 100% ethanol，以 Vortex 振盪 15 sec。將 QIAamp spin column 套入收集管 (2 ml 容量) 中，再將反應溶液加入 QIAamp spin column 中，於室溫下以 8000 rpm 離心 1 min。丟棄濾液及收集管。將先前之 QIAamp spin column 套入新的相同收集管中，加入 500  $\mu$ l Buffer AW1 於 QIAamp spin column 中，於室溫下以 8000 rpm 離心 1 min，丟棄濾液及收集管。再套入新的收集管中，加入 500  $\mu$ l Buffer AW2，於室溫下以 13,500 rpm 離心 3 min。將 QIAamp spin column 套入 1.5 ml 之微量離心管，加入 50  $\mu$ l 之 70°C 去離子水於 QIAamp spin column 中，於 70°C 乾浴處理 5 min 後，以 8,000 rpm 離心 1 min，所獲得之產物即為 PCR 反應之 DNA 模板。

4. 56kDa 蛋白質全長基因約 1.6 kb，進行 PCR 反應，使用 Primer OT-1F, OT-4R。每一管 0.5 ml 微量離心管依序加入含有 23.5  $\mu$ l 去離子水、5  $\mu$ l 之 10X Qiagen PCR buffer (Tris-Cl, KCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 15 mM  $\text{MgCl}_2$ , pH 8.7) (Qiagen)、10  $\mu$ l 之 Q solution (Qiagen)、2  $\mu$ l 之 5 mM dNTPs (Promega) (終濃度為 200  $\mu$ M)、2  $\mu$ l 之 3.3  $\mu$ M primer OT-1F (5'-GTTAGTGTGGCTAAATAATTAG-3') 及 primer OT-4R (5'-CTAGAAGTTATAGCGTACACCTGCACTTGC-3')、5  $\mu$ l 之 DNA 模板及 0.25  $\mu$ l 酵素 Taq (Qiagen) (5 U/ $\mu$ l) (終濃度為 2.5 U) 等之 PCR 反應液。PCR 反應流程為：先於 95 $^{\circ}\text{C}$ ，預熱 3 min；再依序進行 94 $^{\circ}\text{C}$  (1 min)/ 55 $^{\circ}\text{C}$  (1 min)/ 72 $^{\circ}\text{C}$  (1 min 50 sec) 之循環，一共進行 35 循環；最後，於 72 $^{\circ}\text{C}$ ，7 min 中止反應。
5. 將 PCR 產物定序，並以 DNASTAR 軟體將全長序列排出。以 BioEdit 軟體 5.0.9 版將不同菌株序列排列，以 MEGA 軟體 2.1 版採用 Neighbor-joining、UPGMA 及 Maximum Parsimony 方法進行親緣關係分析。

## 五、鼠類血清立克次體抗體檢測

1. 以間接螢光免疫法(IFA)檢測恙蟲病(*Orientia tsutsugamushi*)抗體。
2. 將血清以磷酸鹽緩衝溶液(phosphate buffered saline, PBS)做 40 倍



稀，加在固定有 *Orientia tsutsugamushi* (購自谷元生物科技公司)；  
之去活性化抗原的螢光玻片上，置於潮濕水箱中於 37°C 作用 30 分  
鐘，以 PBS 洗掉多餘血清並浸泡 5 分鐘，蒸餾水沖洗、風乾、加標  
幟有螢光物質 FITC (fluorescein isothiocyanate) 的山羊抗鼠  
IgG+A+M 抗體(Zymed Laboratories Inc., USA)，置於潮濕水箱中於  
37°C 作用 30 分鐘，以 PBS 浸洗風乾後，滴加 PBS:甘油=1:1 的緩衝  
溶液及蓋玻片後於螢光顯微鏡下以 400 倍觀察。

## 參、結果

### 一、 野外捕鼠、恙蟲計數與檢測

今年共計野外捕鼠調查 5 次，分別於 1 月 15 日至 19 日到金門；3 月 5 日至 9 日到馬祖；5 月 7 日至 11 日到澎湖；7 月 23 日至 27 日到馬祖及 9 月 10 日至 14 日到澎湖。連同去(95)年 11 月 6 日至 10 日到花蓮採集，今年完成相關檢測工作，個別老鼠恙蟲寄生情形、恙蟲病立克次體抗體檢測及老鼠之恙蟲 PCR 檢測結果如附錄一至附錄六。

95 年 11 月花蓮縣調查結果如表一，吉安鄉及壽豐鄉帶蝨率及老鼠抗體陽性率都相當高接近 100%，恙蝨指數以吉安鄉較高，老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率則壽豐鄉較高，值得注意的是吉安鄉建國加油站旁草地在四項調查指數(帶蝨率、恙蝨指數、老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率)都是最高，且非常靠近民宅，應加強防治措施。不同鼠種恙蝨寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表二，鬼鼠(*Bandicota indica*)及小黃腹鼠(*Rattus losea*)為主要鼠種，恙蝨指數、老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率小黃腹鼠皆較高，緬甸小鼠(*R. exulans*)雖只有 1 隻，其老鼠抗體及恙蟲 PCR 皆為陽性。

96 年 1 月金門縣調查結果如表三，帶有恙蟲病立克次體的恙蝨普遍存

在於大小金門五鄉鎮，四項指數中大金門除金城鎮泗湖稍低外，其他三鄉鎮互有高低。烈嶼鄉由於大多數土地皆開發，捕獲老鼠最少僅有一隻，但仍帶有大量恙蟲且老鼠抗體陽性，雖恙蟲 PCR 檢測為陰性，仍有感染的危險性。不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表四，野外主要鼠種為小黃腹鼠佔捕獲老鼠之 96.9%，為金門縣恙蟎最主要寄主。

96 年 3 月連江縣調查結果如表五，北竿鄉與南竿鄉有很顯著不同，尤其是北竿鄉坂里村四項指數皆最高，顯示在馬祖有最高的感染危險性。南竿鄉四個調查村落雖亦有高數量恙蟲寄生且老鼠曾感染過恙蟲病立克次體，但老鼠身上恙蟲未檢測出恙蟲病立克次體。不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表六，雖然野外鼠類族群以小黃腹鼠及錢鼠 (*Suncus murinus*) 為主，比例為 2:1，但僅發現小黃腹鼠為唯一恙蟎寄主。

96 年 5 月澎湖縣調查結果如表七，帶有恙蟲病立克次體的恙蟎普遍存在於湖西鄉、馬公市及西嶼鄉，四項指數在調查六村里中互有高低，整體而言湖西鄉較具感染危險性。不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表八，澎湖縣野外有為數相當多的家鼯鼠 (*Mus musculus*)，佔捕獲鼠類總數之 43%，雖然有 76% 曾感染過恙蟲病立克次體，但因其體型小被恙蟲寄生的數量也少。小黃腹鼠仍為澎湖縣恙蟎最主要寄主。

96年7月連江縣調查結果如表九，北竿鄉坂里村仍為恙蟎指數及老鼠抗體陽性率最高的村落，但南北竿全部6村落老鼠身上恙蟲經檢測約1100隻(22 pools)，皆為PCR陰性。不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表十，野外錢鼠有數量大增的趨勢，佔捕獲鼠類之60%，同時恙蟎指數(73)相較於小黃腹鼠(166)也不算低，顯然成為連江縣夏季恙蟎另一主要寄主。

96年9月澎湖縣調查結果如表十一，恙蟎指數、老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟎PCR陽性率皆較5月調查結果增加，尤其是湖西鄉南寮村恙蟎指數高達1042且PCR陽性率100%，是一極度危險之區域。不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果如表十二，野鼠種類有5種呈多樣面貌，但主要仍為小黃腹鼠、家鼯鼠及錢鼠，各佔捕獲鼠類百分比43、36及19，小黃腹鼠之恙蟎指數為538，其中在湖西鄉南寮村6隻小黃腹鼠平均恙蟎指數1560，有一隻高達3651隻恙蟲寄生，著實驚人(附錄六)。

綜合去年及今年9次調查結果，四項調查指數整理如表十三。經由直線相關分析(linear correlation)，僅有老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率及老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體PCR陽性率呈顯著性線性相關( $r=0.9015$ ,  $p=0.001$ )如表十四。

老鼠身上恙蟲PCR陽性之產物經定序結果如表十五，發現25個恙蟲病立克次體菌株，其中以Karp分佈最廣，除澎湖縣尚未發現外，其他地區皆有發現，且為花蓮、金門及馬祖最主要菌株。其他菌株則零星分佈，如Hualien-12在花蓮、金門、澎湖；Hualien-9在花蓮、澎湖；Taitung-3在金門、澎湖；Hualien-6在花蓮等。25個恙蟲病立克次體菌株中有17個菌株與gene bank中所登錄之序列不同，可能為新菌株。

## 二、 恙蟲體內恙蟲病立克次體分離培養檢測

今年及去年9次調查所採獲老鼠身上之恙蟲，經研磨接種入L929細胞，培養一段時間後經IFA及56 kDa蛋白質基因全長PCR增幅，以確認是否分離成功，增幅之PCR產物約1.6 kb如圖一。結果在5個縣已分離出55個分離株，經序列比對花蓮縣的分離株序列最接近gene bank中Taitung-5, Taitung-6, Hualien-11, Hualien-12, Hualien-14及UT336登錄序列；台東縣分離株最接近Taitung-1及Taitung-3登錄序列；金門縣分離株最接近Taitung-5及Hualien-11登錄序列；連江縣分離株最接近Hualien-13登錄序列，澎湖縣分離株最接近Taitung-1, Taitung-3, Hualien-13及Hualien-14登錄序列(如表十六)。將目前已定序之分離株與gene bank中寄存之台灣病人分離株及6株世界標準株(Gilliam, Karp, kato, Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi)進行親緣關係分析，結果由圖二可看出，台灣地區恙蟲病立克

次體菌株歧異性很大，除 Shimokoshi 外與其他標準株皆在親緣關係樹圖中。有一群與 Karp 很接近，如 Taitung-3/human 至 Hualien-12/human；Hualien-1/human 與 Kawasaki 很接近；Hualien-3, Hualien-5, Hualien-6, HL8588/mite 與 Kato 很接近。另有兩群(PH8720-2/mite 至 Hualien-11/human 及 Taitung-2/human 至 Hualien-8/human)顯現較具獨特性。從另一方面看多半有病人分離株出現，伴隨有恙蟲的分離株，顯現流行病學上的意義。相信當恙蟲分離的數據更加完整時，應可涵蓋所有的病人分離株。

### 三、 游離恙蟲採集與檢測

在每一處老鼠捕獲地點，先以墊木板法檢測地表是否有游離恙蟲存在，選擇游離恙蟲較多的地點以黑布法採集，並採集一些地表枯枝落葉及土壤，黑布及土壤皆帶回實驗室經 Tullgren 漏斗烘烤，結果如表十七。在 9 次的調查中，95 年 5 月在花蓮縣及 96 年 3 月在連江縣因遇下雨地表潮濕，無法進行黑布法及墊木板法採集，僅帶回土壤烘烤。結果整體而言，墊木板法由於可反覆置放墊木板調查，調查面積廣，採獲的游離恙蟲較多；黑布法雖採樣面積較採集枯枝落葉及土壤廣，但由於只有表面的接觸，採獲量不及採集枯枝落葉及土壤多，但仍有採集草地草頂之優點；採集枯枝落葉及土壤可不受下雨影響，同時可採獲若蟲及成蟲，但鏡檢挑蟲非常費時。

由鑑定結果顯示，台灣地區恙蟲以地里恙蟲(*Leptotrombidium deliense*)為主，95年9月在台東蘭嶼另發現合輪恙蟲屬一種(如圖三)，96年1月金門縣同時存在地里恙蟲及小板恙蟲(*L. scutellare*)，96年3月在連江縣則僅發現蒼白恙蟲(*L. pallidum*)如圖四。

游離恙蟲以約10隻為1池(pool)進行研磨，萃取DNA及nested-PCR檢測，結果在全部1321隻幼蟲中檢測526隻(54池)，95年9月台東蘭嶼有一池為陽性如圖五，序列比對最接近Hualien-1，另96年9月澎湖縣有3池為陽性，序列比對最接近Hualien-12及Taitung-3(表十八)。

## 肆、討論

恙蟲病為台灣地區蟲媒傳染病中每年確定病例數僅次於登革熱之疾病，自 86 年起每年確定病例數約介於 240 至 370 例之間，前年(94 年)則已突破達到 462 例。這些確定病例數的增加，與近年來國民旅遊的風氣普遍，增加暴露在野外的機會有關，同時衛教宣導增進醫師及一般民眾對恙蟲病的認知增加通報機會也有關係。但再查看確定病例數與通報病例數之比例，近十年來仍維持約 20%，顯示有 80% 通報恙蟲病的發熱疾病可能還不知病因，此顯示檢驗方法的改進或探索其他病原為我們應該努力的方向。

恙蟲病的檢驗以間接免疫螢光法(IFA)為主，其使用之立克次體國際標準株為 Gilliam、Karp、Kato，但除此三株外，亞洲各國尚有許多地方株，如日本的 Shimokoshi、Kawasaki、Kuroki、Irie 和 Hirano，韓國的 Boryong，泰國的 TA<sub>678</sub>、TA<sub>686</sub>、TA<sub>716</sub>、TA<sub>763</sub> 和 TH<sub>1817</sub> 等，這些地方株基本上與國際標準株有抗原上的不同而造成抗體反應的不同，以傳統的 IFA 檢測可能會有遺漏。前預防醫學研究所病毒組自恙蟲病患者分離出 71 株病原體，以 nested-PCR/RFLP 發現有 34 株類似 Kuroki 型，7 株類似 Karp 型及 2 株類似 Gilliam 型，另有 28 株皆與國際標準株不同，可能為本土變異株 (陳等，1999)。王等(2004)在金門縣地里恙蟎 95 池檢體



中經 56kDa 蛋白質基因 variable domain 1 部份定序結果發現有 4 株與國際標準株不同，顯示台灣地區確實有許多地方株存在。這些地方株需經由分離培養及特性分析，以做為將來檢驗上之工具。

恙蟲病是由帶有恙蟲病立克次體的恙蟎幼蟲叮咬而感染，因此人群的感染率與恙蟲的種類與密度有關。本研究在五的地點調查，儘量選擇冬(秋)及夏(春)季各調查一次，比較是否有不同恙蟎種類及恙蟎帶菌情形。花蓮縣 95 年 5 月及 11 月兩次調查結果差異不大，老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率分別為 94.4%, 66.7%及 90.9%, 74.1%，恙蟎種類主要為地里恙蟎，恙蟲體內恙蟲病立克次體菌株主要為 Karp、Hualien-12、Hualien-9、Hualien-6，此種情形與花蓮縣每一月份皆有恙蟲病例符合。

台東縣蘭嶼鄉雖僅調查一次，但由於其年平均溫度較高，為適合地里恙蟎終年生長的环境。而調查結果顯示四項調查指數除老鼠抗體陽性率較 95 年 5 月花蓮縣調查稍低外，皆為 9 次調查中最高。這可能與當地開發程度較低且鮮少進行鼠類及恙蟲防治有關，吳(1993)報告蘭嶼幼稚園兒童恙蟲病抗體陽性率調查，5 歲兒童恙蟲病的感染率約為 60%，6 歲時為 70~80%，而到 7 歲已經全部感染，因此推估當地民眾應多半在幼年時期已感染過恙蟲病，危險性較高的反倒是外來的遊客。

金門縣恙蟲病之發生月份一直在 5 月至 11 月，88~89 年調查金門縣恙

蟲季節分佈時，發現地里恙蟎分佈在 4~11 月，小板恙蟎分佈在 12~4 月，兩者在秋冬季不重疊，因此地里恙蟎為金門縣恙蟲病病媒。惟當時亦發現小板恙蟎帶有恙蟲病立克次體，可能傳播恙蟲病(王，2004)。95 年 1 月份金門縣烈嶼鄉有一恙蟲病確定病例，原推測應為小板恙蟎叮咬感染，但 96 年 1 月調查卻發現地里恙蟎與小板恙蟎同時存在，此是否由於溫室效應使金門縣年平均溫增加，導致原先在冬季不出現的地里恙蟎延長其在金門活動期間，值得進一步研究。

連江縣的調查呈現一特殊景況，96 年 3 月僅發現蒼白恙蟎(*L. pallidum*)，恙蟎指數為 260，且在北竿鄉採獲者發現帶有恙蟲病立克次體。而 96 年 7 月則僅發現地里恙蟎，恙蟎指數為 107，未發現帶有恙蟲病立克次體。對照至今年 11 月連江縣恙蟲病例有 3 例，2 例的感染地點為北竿鄉，1 例未明，發病日期皆為 7 月，由此結果推估連江縣恙蟲病病媒仍應為地里恙蟎，帶菌的恙蟎比率不高，因此病例數不多，至於蒼白恙蟎在日本為病媒(Takahashi *et al.*, 2004)，因其帶有恙蟲病立克次體在連江縣仍有成為病媒的可能性。

澎湖縣近幾年恙蟲病例幾乎全年發生，僅在 1 月份無確定病例。96 年 5 月及 9 月兩次調查，發現 9 月份在恙蟎指數、老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率皆較 5 月份為高，湖西鄉南寮村小黃腹鼠之恙蟎指數(1560)

也是所有調查地點最高的，此皆顯示澎湖縣存在恙蟲病感染風險不可輕忽，由今年至 11 月澎湖縣恙蟲病確定病例已達 59 例為近幾年最高，可為佐證。澎湖縣為早年台灣地區恙蟲病研究重點區域，因當時金門、馬祖尚屬軍事管制，而澎湖縣駐軍為數眾多，曾發生恙蟲病疫情，故前美國海軍第二醫學研究所曾在此進行恙蟎種類、密度及孳生地 (Cooper *et al.*, 1964; Lien *et al.*, 1967)，鼠形動物及恙蟎帶原情形 (Cooper *et al.*, 1964; Olson *et al.*, 1978)，恙蟎密度與病例發生之關係 (Olson *et al.*, 1982)，恙蟎密度與平均溫度及平均降雨量的關係 (Dirk Van Peenen *et al.*, 1976) 等調查研究，至今澎湖縣雖逐漸開發且駐軍減少，但整體生態環境仍極適合鼠類及恙蟎生長，對居民及遊客仍造成威脅。

在鼠種方面，無疑的小黃腹鼠是所有調查地點恙蟎的主要寄主，其生態習性與恙蟲生活史各時期的需求吻合。自 96 年 5 月起增加使用 Sherman 鼠籠捕鼠，在澎湖縣及連江縣捕獲大量田鼯鼠及錢鼠，但恙蟎指數都不及於小黃腹鼠。中國大陸福建省閩東南沿海丘陵平原區域，田棲鼠亦幾乎為小黃腹鼠占 97% (于等，2000)。

以何種方法評估一個地點的恙蟲病感染風險一直是一個很重要的課題，當然檢測當地帶有恙蟲病立克次體的恙蟎密度是最準確的方法。然而其需經恙蟲研磨、PCR 反應及電泳，耗費時間與金錢，如果能以老鼠帶蟎

率、恙蟎指數或老鼠抗體陽性率代表則更簡捷。分析四項調查指標之直線相關，結果僅有老鼠抗體陽性率與老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率呈顯著性線性關係( $r=0.9015$ ,  $p=0.001$ )，顯示即便是在恙蟲病流行地區，由於恙蟲是點狀分佈，帶菌之恙蟎也是點狀分佈，此分佈的情況不均勻，就會造成恙蟎指數高，恙蟲身上 PCR 陽性率低，或相反。但由 Frances *et al.* (1999) 報告，老鼠之恙蟲病立克次體抗體至少可維持 10 個月，而野鼠的壽命約 2~3 年，因此偵測老鼠血清恙蟲病立克次體抗體陽性率可說是一長期累積感染的結果，只要老鼠被感染或重復感染就會反應抗體陽性，也實際代表帶菌恙蟎的多寡。

比較台灣與中國大陸福建廣東沿海城市及島嶼主要鼠種恙蟲病立克次體感染情形，閩北寧德縣小黃腹鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率只 11.74~15.75% (袁等，2000，2003)，閩南沿海之龍海縣程溪鄉小黃腹鼠 1982 年全年恙蟲病立克次體抗體陽性率為 27.3~70%，以 2~3 月較低，5 月最高 (于等，2000)。廣東省汕頭市南澳島溝鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率為 41.3%，南澎列島溝鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率為 68.1% (Wang *et al.*, 2000; 黃等，2001)。老鼠恙蟲病立克次體高感染情形，亦從這些地區高恙蟲病患反應出來，在福建省閩東南沿海丘陵平原區恙蟲病發病人數佔該省發病人數的 95% 左右 (于等，2000)。對

照台灣花蓮縣、台東縣、金門縣及澎湖縣的老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率為 68.4~94.4%，亦反應出此四縣 95 年恙蟲病例數為全台 24 縣市之 55%，而連江縣老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率為 26.8~54.8%，95 年恙蟲病只有 4 例。

由於 nested-PCR 的敏感性，本研究以 nested-PCR 增幅恙蟲病立克次體 56kDa 蛋白質基因 variable domain 1 部份片段約 126bp，以確認恙蟲體內是否帶有恙蟲病立克次體。PCR 產物定序結果共有 25 個菌株，其中 8 個與 gene bank 中的登錄序列相同，其中以 Karp 分佈最廣，除澎湖縣尚未發現外，其他地區皆有發現，且為花蓮、金門及馬祖最主要菌株，此項結果與王(2004)調查相同。其他菌株則零星分佈，如 Hualien-12 在花蓮、金門、澎湖；Hualien-9 在花蓮、澎湖；Taitung-3 在金門、澎湖；Hualien-6 在花蓮等。25 個恙蟲病立克次體菌株中有 17 個菌株與 gene bank 中所寄存之序列不同，可能為新菌株。

中國大陸福建廣東所發現的恙蟲病立克次體血清型，廣東順德、南海等地區，媒介恙蟎、野鼠宿主及患者所攜帶的恙蟲病立克次體，以 Karp 為優勢型 (張等，1999)；汕頭市南澳縣的南澎列島，由地里恙蟎及鼠形動物宿主發現 Karp、Kato 及 Yonchon 3 種血清型 (彭等，2001)。福建省南日島由地里恙蟎以 PCR-RFLP 檢測出 Karp 型 (黃

等，1998)。于等 (2000) 指出福建省從鼠形動物及恙蟎中分離出的恙蟲病立克次體主要是 Karp 及 Gilliam 型，由病人血液中分離出的恙蟲病立克次體主要是 Gilliam 型及 Karp-Gilliam 混合型；另發現一株 TA<sub>716</sub> 型，顯示 Karp 為此地區分佈最廣的菌株，但仍有個別的地方株存在。

Qiang *et al.* (2003) 在 1990 年蘭嶼的地里恙蟎分離出 Twyu81，溝鼠分離出 TW201、TW261 及 1999 年在金門的小黃腹鼠分離出 TW45R, TW73R，這些菌株在本研究中仍可發現。惟此段恙蟲病立克次體 56kDa 蛋白質 variable domain 1 部份序列太短，即便序列完全與 gene bank 登錄序列相同，也只能標示為類似，唯有將 56kDa 蛋白質基因全長完整定序出，使能做更詳細比較及與已知菌株做親緣關係之分析。

本研究已從恙蟲分離出 55 個恙蟲病立克次體分離株，將已定序 56kDa 蛋白質基因全長序列之分離株與 gene bank 中登錄之台灣病人分離株及 6 株世界標準株(Gilliam, Karp, kato, Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi)進行親緣關係分析，結果由圖二可看出，台灣地區恙蟲病立克次體菌株歧異性很大，除 Shimokoshi 外與其他標準株皆在親緣關係樹圖中。有一群與 Karp 很接近，如 Taitung-3/human 至 Hualien-12/human；而 Hualien-1/human 與 Kawasaki 很接近；Hualien-3, Hualien-5, Hualien-6, HL8588/mite 與 Kato 很接

近。另有兩群(PH8720-2/mite 至 Hualien-11/human 及 Taitung-2/human 至 Hualien-8/human)則顯現較具獨特性。從另一方面看多半有病人分離株出現，伴隨有恙蟲的分離株，且金門縣分離株 KM8457 與 Taitung-5；花蓮縣分離株 HL8570 與 Hualien-14 及澎湖縣分離株 PH8726-2, 連江縣分離株 LC8765, LC8768, LC8782 與 Hualien-13 序列完全相同，顯現流行病學上的意義，恙蟲病立克次體經由恙蟎而感染人。其他親緣接近的病人分離株與恙蟲分離株，是否菌株在轉換寄主中產生突變或分離培養中產生突變，則有待進一步研究，但相信當恙蟲分離株的數據更加完整時，應可涵蓋所有的病人分離株。

Enatsu *et al.* (1999) 利用 56 kDa 蛋白質基因序列分析 31 株分離自日本、南韓、中國大陸及東南亞國家恙蟲病立克次體菌株之親緣關係，發現樹圖大致可分成 JG (Japaneses Gilliam type), JP-1, JP-2(Japaneses Karp 1 and Karp 2 types), Kato, Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi 及 LX-1 八個分枝，同時發現東北亞與東南亞的菌株不同。Qiang *et al.* (2003) 報告在 1986 年至 1999 年自台灣蘭嶼、澎湖、金門、台東成功的老鼠及恙蟲分離出 14 個恙蟲病立克次體菌株，其 56 kDa 蛋白質基因序列親緣關係分析與本研究結果相似，各分離株有很大的歧異度，同時地理分佈很廣，不侷限於某一地區。本研究亦發現台灣分離株與日本、南韓、中國大陸及泰國分離株在 56 kDa

蛋白質基因序不同，為台灣地方株，因此其抗原性及在動物或人體產生之抗體能否由 Gilliam, Karp, Kato 抗原玻片檢測出，有待進一步研究。

不同的恙蟲病立克次體菌株，可能對恙蟎有專一性，如屬於 JG 及 JP2 之菌株僅在 *L. pallidum* 發現；屬 Kawasaki 及 Kuroki 之菌株出現於 *L. scutellare*；屬 JP1 及 Kato 菌株分別只出現於 *L. intermedium* 及 *L. akamushi*。這些恙蟎分佈於日本、南韓及中國大陸，在這些國家的恙蟲病立克次體分離株都有病媒寄主專一性的現象。但東南亞國家包括台灣，其病媒如 *L. fletcheri*, *L. arenicola* 及 *L. deliense* 則無此現象(Qiang *et al.*,2003)，本研究亦觀察到相同情形，地里恙蟎可帶有不同種類菌株之恙蟲病立克次體。

恙蟲在自然界的分布是點狀分布，同時與老鼠的活動有關，通常在老鼠洞穴或行經路線採獲游離恙蟲的機會較高。本研究選擇在每一處老鼠捕獲地點，先以墊木板法檢測地表是否有游離恙蟲存在，選擇游離恙蟲較多的地點以黑布法採集，並採集一些地表枯枝落葉及土壤，黑布及落葉(土壤)皆帶回實驗室經 Tullgren 漏斗烘烤收集恙蟲。由 9 次的調查結果顯示墊木板法由於可反覆置放墊木板調查，調查面積廣，採獲的游離恙蟎較多；黑布法雖採樣面積較採集枯枝落葉及土壤廣，但由於只有表面的接觸，採獲量不及採集枯枝落葉及土壤多，但仍有在大片草地做草頂採集之優點；採



集枯枝落葉及土壤可不受下雨影響，同時可採獲若蟲及成蟲，但鏡檢挑蟲非常費時，因此這三種方法可依不同孳生地使用。

游離恙蟎在地表活動的區域是一值得探討的問題，不同種類恙蟎可能有不同的活動空間。Hubert(1971)觀察到 *Neotrombicula nagayoi* 在日本 Camp Fuji 地區聚集在植被下層，約離地表 1 至 10 公分處，平均高度為 3.6 公分。而 *L. intermedium* 及 *L. pallidum* 較常聚集在地表小洞或裂縫而非植被上(Takahashi *et al.*, 1991; Misumi *et al.*, 2003)，因此相形之下 *N. nagayoi* 較 *L. intermedium* 及 *L. pallidum* 易於攻擊人(Takahashi *et al.*, 2004)。Lien *et al.* (1967) 在澎湖的調查，發現地里恙蟎的孳生環境為茅草、珊瑚礁牆之基部、銀合歡、甘藷田及花生田，但空間高度分佈情形，則尚未見到報告。

恙蟲病是經由帶有恙蟲病立克次體的未食幼蟎叮咬所引起，過往台灣地區許多恙蟲病病媒之調查是以捕捉老鼠採集老鼠身上恙蟎為主，此方法雖易於進行，且從恙蟎體內亦可檢測到恙蟲病立克次體，但究竟此病原體是來自恙蟎親代或藉由叮咬感染老鼠而獲得則無法區分，因此捕鼠法對於確定病媒種類並不適合，必須檢測地表游離的未食恙蟎，始能分辨病媒(Misumi *et al.*, 2002)。本研究自台東蘭嶼及澎湖縣採集之游離恙蟎，經 nested-PCR 檢測呈現陽性，顯示當地地里恙蟎確實經卵傳播恙蟲病立克次

體，為恙蟲病病媒。

## 伍、結論與建議

1. 花蓮縣吉安鄉建國加油站旁草地在四項調查指數(帶蟎率、恙蟎指數、老鼠抗體陽性率及老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率)都是最高，且非常靠近民宅，應提醒民眾小心防範，加強防治措施。
2. 連江縣北竿鄉坂里村在兩次調查中皆顯示四項調查指數皆最高，顯示在馬祖有最高的感染危險性，應加強防治措施。。
3. 澎湖縣湖西鄉南寮村恙蟎指數高達 1042 且 PCR 陽性率 100%，顯示恙蟲數量多又帶有恙蟲病立克次體，是一極度危險之區域。
4. 老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率及老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體 PCR 陽性率呈顯著性線性相關( $r=0.9015$ ,  $p=0.001$ )，顯示老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率可做為當地人群可能感染恙蟲病之指標。
5. Nested-PCR 發現 25 個恙蟲病立克次體菌株，8 個與 gene bank 登錄序列相同，其中以 Karp 分佈最廣，另外 17 個菌株與 gene bank 中所登錄之序列不同，可能為新菌株。
6. 已從恙蟲分離出 55 個分離株，其中 6 個與病人分離株相同，可再進一步加入例行之檢驗用。
7. 游離恙蟲三種採集方法互有優缺點，墊木板法採集數量最多；採集地表

枯枝落葉及土壤能收集到幼蟲、若蟲及成蟲；黑布法則可使用於採集草頂之恙蟲，因此可依不同孳生地使用。

8. 自台東蘭嶼及澎湖縣採集之游離恙蟎，經nested-PCR檢測呈現陽性，顯示當地地里恙蟎確實經卵傳播恙蟲病立克次體，為恙蟲病病媒。

## 陸、計畫重要研究成果及具體建議

1. 花蓮縣吉安鄉建國加油站旁草地及澎湖縣湖西鄉南寮村 202 縣道往北寮村兩側草地，有大量帶恙蟲病立克次體的恙蟎孳生，恐有感染民眾之虞，應進行殺蟲劑噴灑、除草、翻土、滅鼠等防治工作。
2. 連江縣北竿鄉坂里村由病媒調查及病例資料為連江縣恙蟲病感染之重點地區，應進行除草、滅鼠等防治工作。
3. 老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體 PCR 陽性率雖較能反應民眾感染恙蟲病的危險性，惟測定上較困難，由本研究野外調查的四項指數，老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率與老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體 PCR 陽性率呈顯著性線性相關，顯示以老鼠恙蟲病立克次體抗體陽性率亦可做為當地民眾可能感染恙蟲病之指標。
4. 分離自台灣各地恙蟲體內恙蟲病立克次體分離株將成為研究與檢驗重要資源，各分離株致病性的程度、在不同寄主的演變及成為例行檢驗的菌株，都值得進一步研究。
5. 評估恙蟲密度為防治上很重要的參考指標，尤其在殺蟲劑噴灑的成效分析上。除捕鼠採集恙蟲外，本研究建立 3 種小範圍採集游離恙蟎的方法，可提供地方防疫單位依不同孳生地使用。
6. 確認地里恙蟎在台灣可經卵傳播恙蟲病立克次體，為恙蟲病病媒。

## 柒、參考文獻

- 于恩庶、陳香蕊、吳光華、郭恆彬。2000。中國恙蟲病研究。亞洲醫藥出版社，香港。229頁。
- 王珊珊、詹道成、彭桂福、潘華、黃佳亮、曾年華、王志斌。2002。西沙群島恙蟎所攜恙蟲病東方體的序列分析。中國人獸共患病雜誌 18：66-68。
- 王愷。1988。從台灣地區的恙蟲病談起。台灣醫界 31：79-85。
- 王錫杰、鍾兆麟、林鼎翔、王重雄、吳文哲 (2004) 金門縣鼠類恙蟲病病媒與病原體調查研究。台灣昆蟲 24(4)：257-272。
- 吳炳輝。1993。蘭嶼地區幼稚園兒童恙蟲病流行病學調查。疫情報導 9(2)：25-30。
- 林鼎翔。1999。台灣地區恙蟲病病媒之生態與分布。第二屆蟎蟀學研討會專刊 中華昆蟲特刊 12：171-178。
- 俞樹榮、陳香蕊。1998。立克次體與立克次體病。軍事醫學科學出版社，北京。201頁。
- 袁高林、鄭祖針、陳文錦、李翔鶯、李方平。2000。寧德地區1997~1998年恙蟲病流行病學調查。中國人獸共患病雜誌

16：109。

袁高林、陳文錦、李翔鶯、李方平。2003。寧德市恙蟲病地理流行病學調查。中國媒介生物學及控制雜誌 14：372-374。

郭恆彬、吳光華、唐家琪、李先富、于明明、張 云、潘秀珍、李越希。1995。應用 NPCR 發現我國 Kawasaki 型恙蟲病立克次體。中國人獸共患病雜誌 11：22-24。

郭恆彬、吳光華、潘秀珍、李先富、唐家琪、張 云、李越希。1996。用 PCR 檢測現場單個小盾織恙蟎體內恙蟲病立克次體的研究。中國人獸共患病雜誌 12：10-11。

張海紅、黎家燦、鄭小英。1999。恙蟲病立克次菌 Karp 株及 Sta56 部分基因片段的擴增、克隆與鑑定。中國人獸共患病雜誌 15：3-5。

陳慧玲、謝國珍、陳豪勇、洪其璧。1995。由病人血液中分離台灣地區 *Rickettsia tsutsugamushi* 之探討。台灣醫誌 94：S112-S119。

陳慧玲、邱淑君、陳豪勇、王躬仁。1999。利用限制酶切割片段圖法分析台灣地區的恙蟲病立克次菌。微免與感染雜誌 32：68-72。

黃昭惠、郭恆彬、劉開瀾、王荔華、林輝、劉敏、吳光華。1998。南日島恙蟲病流行病學調查研究。中國人獸共患病

雜誌 14 : 77-78。

黃佳亮、王珊珊、朱少凡、姜普林、曾年華、王志斌。2001。南  
澳、南澎列島鼠形動物與體外寄生蟲群落組成及分布。中  
國媒介生物學及控制雜誌 12 : 177-181。

彭桂福、王珊珊、黃佳亮、姜普林、曾年華、陳香蕊、崔紅、王志斌、朱  
少凡、張永國。2001。南澎列島恙蟲病東方體分離株的基因分型。  
中國人獸共患病雜誌 17 : 43-45。

黎家燦、王敦清、陳興保。1997。中國恙蟎：恙蟲病媒介和病原體。廣東  
科技出版社，廣州。570 頁。

嚴延生、王惠榕、鄭兆雙、何似、于恩庶、廖灝溶、李世清、何培瑞、俞  
云彬、李榕晃、沈桂成。1996。套式 PCR 用于恙蟲病的早期診斷及  
恙蟎幼蟲體內立克次體的檢驗。中國人獸共患病雜誌 12 : 12-14。

Anonymous. 1993. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories.  
U.S. Government printing office, Washington. pp. 124.

Asanuma, K. 1983. Vector trombiculid mites and their infection rates with  
*Rickettsia tsutsugamushi*. Clin. Bacteriol. 10: 174-179.

Bozeman, F. M., and B. L. Elisberg. 1963. Serological diagnosis of scrub typhus  
by indirect immunofluorescence. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112:  
568-573.

Chang, W. H., and J. S. Kang. 1991. Current status of Tsutsugamushi disease in  
Korea. pp. 16-19. In: Abstracts of the 1<sup>st</sup> Korea-Japan Interational  
Congress of Microbiology.

Chang, W. H., J. S. Kang, W. K. Lee, M. S. Choi, and J. H. Lee. 1990.  
Serological classification by monoclonal antibodies of *Rickettsia*  
*tsutsugamushi* isolated in Korea. J. Clin. Microbiol. 28: 685-688.



- Cooper, W. C., J. C. Lien, S. H. Hsu, and W. F. Chen. 1964. Scrub typhus in the Pescadores Islands: an epidemiologic and clinical study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13: 833-838.
- Dirk Van Peenen, P. F., J. C. Lien, F. J. Santana, and R. See. 1976. Correlation of chigger abundance with temperature at a hyperendemic focus of scrub typhus. *J. Parasitol.* 62: 653-654.
- Elisberg, B. L., C. F. Needy, and F. M. Bozeman. 1978. Antigenic inter-relationships among strains of *Rickettsia tsutsugamushi*. pp. 253-262. *In: J. Kazar, R. A. Ormsbee, and I. N. Tarasevich, eds. Rickettsiae and Rickettsial Diseases. VEDA Publ. House Slovak. Acad. Sci., Bratislava.*
- Enatsu, T., H. Urakami, and A. Tamura. 1999. Phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains based on the sequence homologies of 56-kDa type-specific antigen genes. *FEMS Microbiol. Lett.* 180: 163-169.
- Fang, R. and Raoult D. 2003. Antigenic classification of *Rickettsia felis* by using monoclonal and polyclonal antibodies. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:221-228.
- Fournier, P-E., J. S. Dumler, G. Greub, J. Zhang, Y. Wu, and D. Raoult. 2003. Gene sequence-based criteria for identification of new *Rickettsia* isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 41:5456-5465.
- Frances, S. P., P. Watcharapichat, D. Phulsuksombati, and P. Tanskul. 1999. Occurrence of *Orientia tsutsugamushi* in chiggers (Acari: Trombiculidae) and small animals in an orchard near Bangkok, Thailand. *J. Med. Entomol.* 36: 449-453.
- Frances, S. T., P. Watcharapichat, and D. Phulsuksombati. 2001. Vertical transmission of *Orientia tsutsugamushi* in two lines of naturally infected *Leptotrombidium deliense* (Acari: trombiculidae). *J. Med. Entomol.*, 38: 17-21.
- Furuya, Y., Y. Yoshida, T. Katayama, S. Yamamoto, and A. Kawamura, Jr. 1993. Serotype-specific amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA by nested polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 31: 1637-1640.
- Furuya, Y., Y. Yoshida, T. Katayama, F. Kawamori, S. Yamamoto, N. Ohashi, A. Tamura, and A. Kawamura, Jr. 1991. Specific amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA from clinical specimens by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 29: 2628-2630.
- Gale, J. L., G. S. Irving, H. C. Wang, J. C. Lien, W. F. Chen, and J. H. Cross. 1974. Scrub typhus in eastern Taiwan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 23:

679-684.

- Hasegawa, H., M. Otsuru, T. Fuji, H. Toma, and Y. Sato. 1990. Surveys on vector mites of tsutsugamushi disease in Taiwan and the Ryukyu Islands. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 41: 235-246.
- Huber, A. A. Studies on the ecology and vector ability of chigger mites. Annual research progress report. 406<sup>th</sup> Medical laboratory. US Army Medical Department Activity, Japan. 1971: 131-139.
- Kawamori, F., M. Akiyama, M. Sugieda, T. Kanda, S. Akahane, S. Yamamoto, N. Ohashi, and A. Tamura. 1993. Two-step polymerase chain reaction for diagnosis of scrub typhus and identification of antigenic variants of *Rickettsia tsutsugamushi*. *J. Vet. Med. Sci.* 55: 749-755.
- Kim, I. S., S. Y. Seong, S. G. Woo, M. S. Choi, J. S. Kong, and W. H. Chang. 1993. High-level expression of a 56-kilodalton protein gene (*bor 56*) of *Rickettsia tsutsugamushi* Boryong and its application to enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Clin. Microbiol.* 31: 598-605.
- Klietmann, W. F. and K. L. Ruoff. 2001. Bioterrorism: Implications for the clinical microbiologist. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 364-381.
- Kollars, T. M. Jr., B. Tippayachai, D. Phulsuksombati, D. Bodhidatta, K. Lerdthusnee, J. Parrish, and R. Coleman. 2002. Variation in weight loss in *Mus musculus* (Rodentia) fed upon by *Leptotrombidium imphalum* (Acari: Trombiculidae) infected with two strains of *Orientia tsutsugamushi* (Rickettsia) *Int. J. Acarol.*, 26:73-176.
- Lennette, E. H, Halonen, P., Murphy, F. A. 1988. Laboratory diagnosis of infectious diseases. Principles and Practice Vol. II. pp 865-890. Springer-Verlag New York Inc.
- Lien, J. C., C. I. Cheng, and S. C. Lien. 1974. A team approach to a disease survey on an aboriginal island (Orchid Island, Taiwan) IV. Mosquitoes and chiggers on Lan-yu (Orchid Island), Taitung Hsien, Taiwan. *Chinese J. Microbiol.* 7: 36-41.
- Lien, J. C., S. Y. Liu, and H. M. Lin. 1967. Field observation on the bionomics of *Leptotrombidium deliensis*, the vector of scrub typhus in the Pescadores. *Acta Med. Biol.* 15(Suppl): 27-31.
- Marmion, B.P. 1990. Rickettsial diseases of man and animals. Pp 674-689. Edward Arnold, London
- Misumi, H., M. Takahashi, H. Urakami, I. Matsumoto. 2002. Distributions of infective spots composed of unfed larvae infected with *Orientia tsutsugamushi* in *Leptotrombidium* mites and their annual fluctuations on the

- soil surface in an endemic area of tsutsugamushi disease (Acari: trombiculidae). *Med. Entomol. Zool.* 53: 227-247.
- Misumi, H., M. Takahashi, T. Kadosaka, *et al.* 2003. Comparative study of human dermatitis caused by the bites of unfed larval trombiculid mites, *Leptotrombidium pallidum* and *L. scutellare* (Acari: Trombiculidae). *Med. Entomol. Zool.* 54: 293-298.
- Murai, K., N. Tachibana, A. Okayama, E. Shishime, K. Tsuda, and T. Oshikawa. 1992. Sensitivity of polymerase chain reaction assay for *Rickettsia tsutsugamushi* in patients' blood samples. *Microbiol. Immunol.* 36: 1145-1153.
- Nadchatram, M., and A. L. Dohany. 1974. A pictorial key to the subfamilies, genera and subgenera of Southeast Asian chiggers (Acari: Prostigmata, Trombiculidae). *Bull. Inst. Med. Res. Malaysia* 16: 1-67.
- Ohashi, N., Y. Koyama, H. Urakam, M. Fukuhara, A. Tamura, F. Kawamori, S. Yamamoto, S. Kasuya, and K. Yoshimura. 1996. Demonstration of antigenic and genotypic variation in *Orientia tsutsugamushi* which were isolated in Japan, and their classification into type and subtype. *Microbiol. Immunol.* 40: 627-638.
- Ohashi, N., H. Nashimoto, H. Ikeda, and A. Tamura. 1990. Cloning and sequencing of the gene (*tsg 56*) encoding a type-specific antigen from *Rickettsia tsutsugamushi*. *Gene* 91: 119-122.
- Ohashi, N., A. Tamura, and T. Suto. 1988. Immunoblotting analysis of anti-rickettsial antibodies produced in patients of Tsutsugamushi disease. *Microbiol. Immunol.* 32: 1085-1092.
- Ohashi, N., H. Nashimoto, H. Ikeda, and A. Tamura. 1992. Diversity of immunodominant 56-kDa type-specific antigen (TSA) of *Rickettsia tsutsugamushi*: sequence and comparative analyses of the genes encoding TSA homologues from four antigenic varigenic variants. *J. Biol. Chem.* 267: 12728-12735.
- Olson, J. G., A. L. Bourgeois, and R. C. Fang. 1982. Population indices of chiggers (*Leptotrombidium deliense*) and incidence of scrub typhus in Chinese military personnel, Pescadores Islands of Taiwan, 1976-77. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 85-88.
- Olson, J. G., C. M. Ho, P. F. D. Van Peenen, and F. J. Santana. 1978. Isolation of *Rickettsia tsutsugamushi* from mammals and chiggers (Fam. Trombiculidae) in the Pescadores Islands, Taiwan. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 72: 192-194.

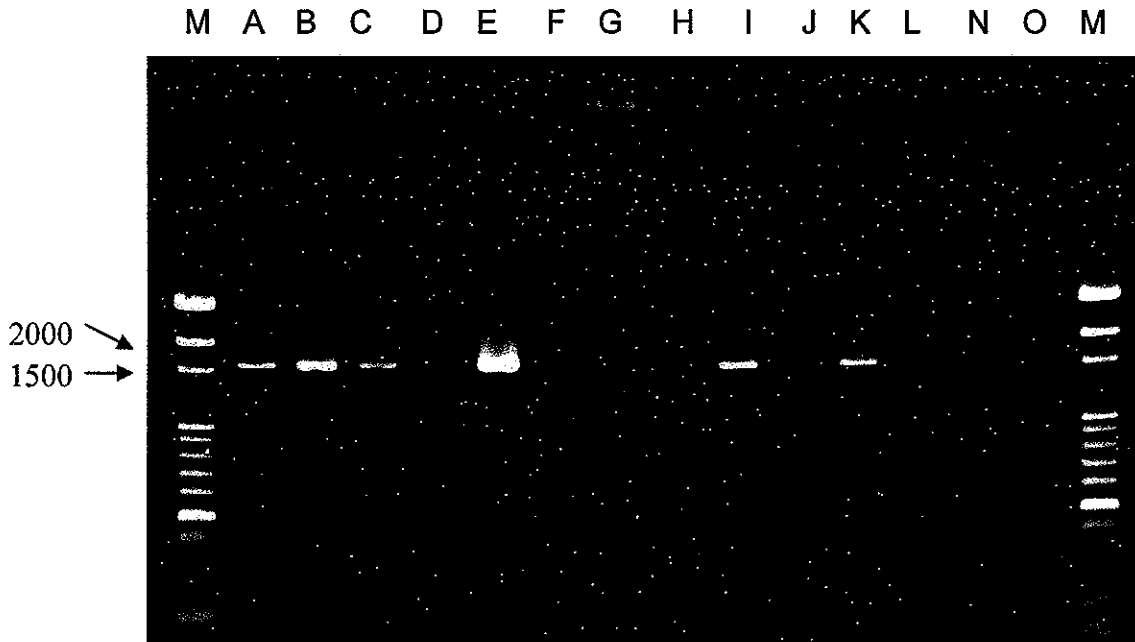
- Qiang, Y., A. Tamura, H. Urakami, Y. Makisaka, S. Koyama, M. Fukuhara, and T. Kadosaka. 2003. Phylogenetic characterization of *Orientia tsutsugamushi* isolated in Taiwan according to the sequence homologies of 56-kDa type-specific antigen genes. *Microbiol. Immunol.* 47: 577-583.
- Shirai, A., J. C. Coolbaugh, E. Gan, T. C. Chan, D. L. Huxsoll, and G. Groves. 1982. Serological analysis of scrub typhus isolates from the Pescadores and Philippine islands. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 35: 255-259.
- Stover, C. K., D. P. Marana, J. M. Carter, B. A. Roe, E. Mardis, and E. V. Oaks. 1990. The 56-kilodalton major protein antigen of *Rickettsia tsutsugamushi*: molecular cloning and sequence analysis of the *sta 56* gene and precise identification of a strain-specific epitope. *Infect. Immun.* 58: 2076-2084.
- Suzuki, H. 1973. Reports of medico-zoological investigations in the Nansei Islands. Part 1. The chigger fauna of southern Amami-Oshima. *Jpn. J. sanit. Zool.* 24: 135-142.
- Suzuki, H. and Y. Tabaru. 1987. Field control test against *Leptotrombidium scutellare* in the western part of Nagasaki Prefecture. *Jpn. J. sanit. Zool.* 38:122.
- Takada, N., Fujita, H., Yano, Y., Tsuboi, Y. and Mahara, F. 1994. First isolation of a rickettsia closely related to Japanese spotted fever pathogen from a tck in japan. *Entomol. Scsi. America* 31:183-185.
- Takahashi, M., H. Misumi, H. Matsuzawa *et al.* 1991. Dermatitis caused by *Leptotrombidium akamushi*. *Ann. Rep. Ohara. Hosp.* 34: 11-14.
- Takahashi, M., M. Murata, H. Misumi, E. Hori, A. Kawamura Jr., and H. Tanaka. 1994. Failed vertical transmission of *Rickettsia tsutsugamushi* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) acquired from rickettsemic mice by *Leptotrombidium pallidum* (Acari: Trombiculidae). *J. Med. Entomol.* 31:212-216.
- Takahashi, M., H. Urakami, H. Misumi, S. Noda, S. Yamamoto. H. Suzuki, and I. Matsumoto. 2002. Detection and serotyping of *Orientia tsutsugamushi* from the unfed larval trombiculid mite *Leptotrombidium scutellare* (Nagayo, Miyagawa, Mitamura, Tamiya et Tenjin, 1921) (Acari: Trombiculidae). *Med. Entomol. Zool.* 53: 65-72.
- Takahashi, M., H. Misumi, H. Urakami, T. Saito, M. Misumi, I. Matsumoto and H. Suzuki. 2004. A new member of the trombiculid mite family *Neotrobicula nagayoi* (Acari: Trombiculidae) in human dermatitis. *Southern Asian J. Trop. Med. Public Health* 35: 113-148.
- Takahashi, M. and H. Tanaka. 1995. Transmission dynamics of *Rickettsia*

- tsutsugamushi* in vector mites. Jpn. J. Sanit. Zool., 46: 319-329.
- Tamiya, T. 1962. Recent advances in studies of tsutsugamushi disease in Japan. 309 pp. Medical Culture Inc., Tokyo.
- Tamura, A., N. Ohashi, H. Urakami, and S. Miyamura. 1995. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a new genus, *Orientia* Gen. Nov. as *Orientia tsutsugamushi* Comb. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 589-591.
- Tamura, A., N. Yamamoto, S. Koyama, Y. Makisaka, M. Takahashi, K. Urabe, M. Takaoka, K. Nakazawa, H. Urakami, and M. Fukuhara. 2001. Epidemiological survey of *Orientia tsutsugamushi* distribution in field rodents in Saitama Prefecture, Japan, and discovery of a new type. Microbiol. Immunol. 45: 439-446.
- Tay, S. T., Y. M. Rohani, T. M. Ho, and D. Shamala. 2005. Sequence analysis of the hypervariable regions of the 56 kDa immunodominant protein genes of *Orientia tsutsugamushi* strains in Malaysia. Microbiol. Immunol. 49: 67-71.
- Traub, R., C. L. Wisseman Jr., M. R. Jones, and J. O'keefe. 1975. The acquisition of *Rickettsia tsutsugamushi* by chiggers (trombiculid mites) during the feeding process. Ann. N. Y. Acad. Sci. 226:91-114.
- Urakami, H., A. Tamura, I. V. Tarasevich, T. Kadosaka, and F. N. Shubin. 1999. Decreased prevalence of *Orientia tsutsugamushi* in trombiculid mites and wild rodents in the Primorye region, Far East Russia. Microbiol. Immunol. 43: 975-978.
- Urakami, H., M. Takahashi, H. Misumi, K. Okubo, T. Enatsu, and A. Tamura. 2000. Detection, isolation and characterization of *Orientia tsutsugamushi* in *Leptotrombidium intermedium*. Med. Entomol. Zool., 51: 169-177.
- Vercammen-Grandjean, P. H., and R. Langston. 1976. The Chigger Mites of the World. Vol. III. *Leptotrombidium* complex. Sect. A-C. George Williams Hooper Foundation, University of California, San Francisco, CA. 1-1061 pp.+ 298 pl.
- Walker, J. S., T. C. Chan, C. Manikumar, and B. L. Elisberg. 1975. Attempts to infect and demonstrate transovarial transmission of *Rickettsia tsutsugamushi* in three species of *Leptotrombidium* mites. Ann. N. Y. Acad. Sci. 266: 80-90.
- Wang, D. Q., and Z. Z. Yu. 1992. Chigger mites of the genus *Leptotrombidium*: key to species and their distribution in China. Med. Vet. Entomol. 6: 389-395.
- Wang, S. S., P. L. Jiang, J. L. Huang, G. F. Peng, N. H. Zeng, J. H. Liu, S. F. Zhu, and Z. B. Wang. 2000. Demonstration of the natural foci of tsutsugamushi disease in Nan Peng Lie Islands in China. Southeast Asian J. Trop. Med.

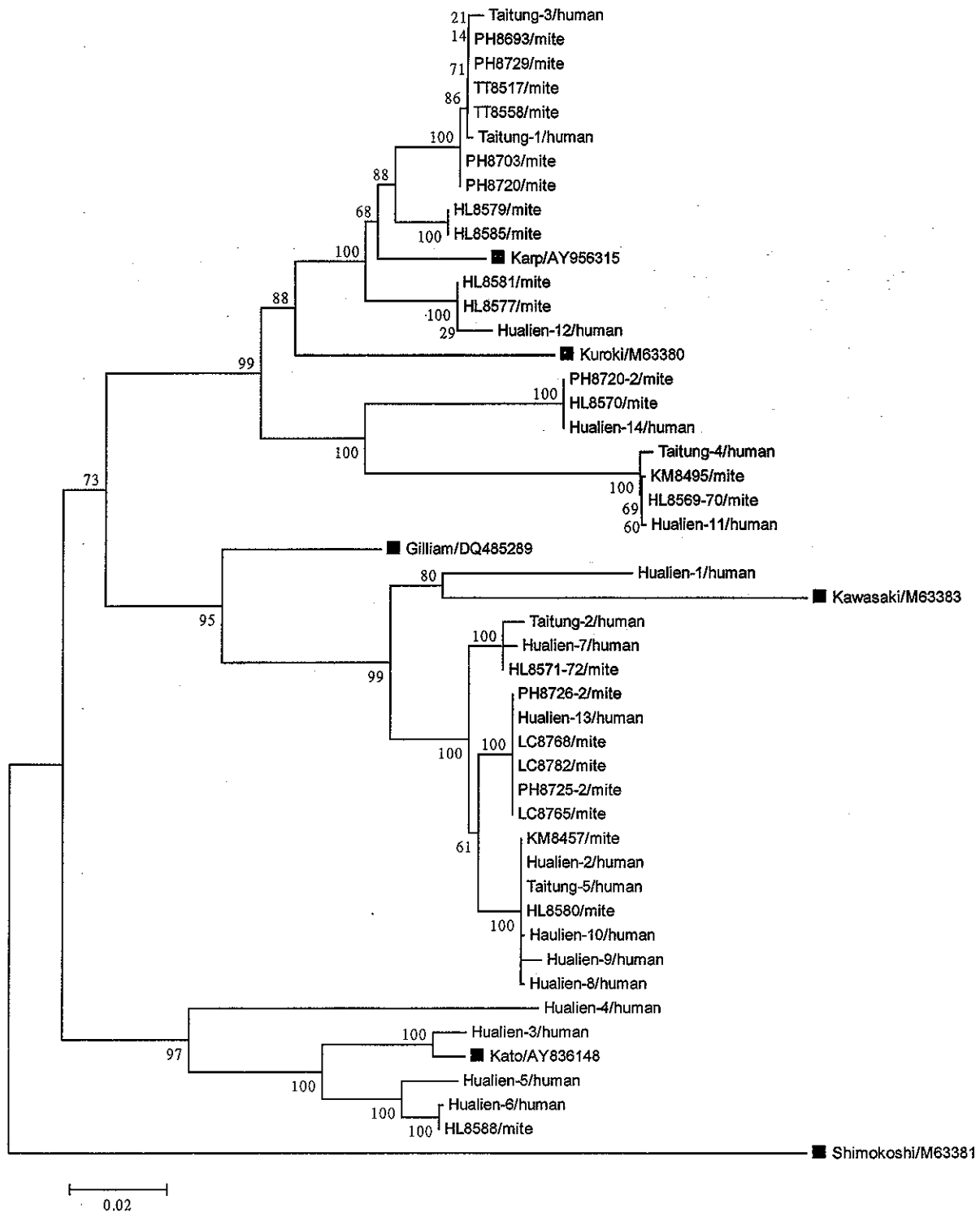
Public Health 32: 541-546.

Yamamoto, S., N. Kawabata, A. Tamura, H. Ohashi, M. Murata, Y. Yoshida, and A. Kawamura, Jr. 1986. Immunological properties of *Rickettsia tsutsugamushi*, Kawasaki strain, isolated from a patient in Kyushu. Microbiol. Immunol 30: 611-620.

# 捌、圖



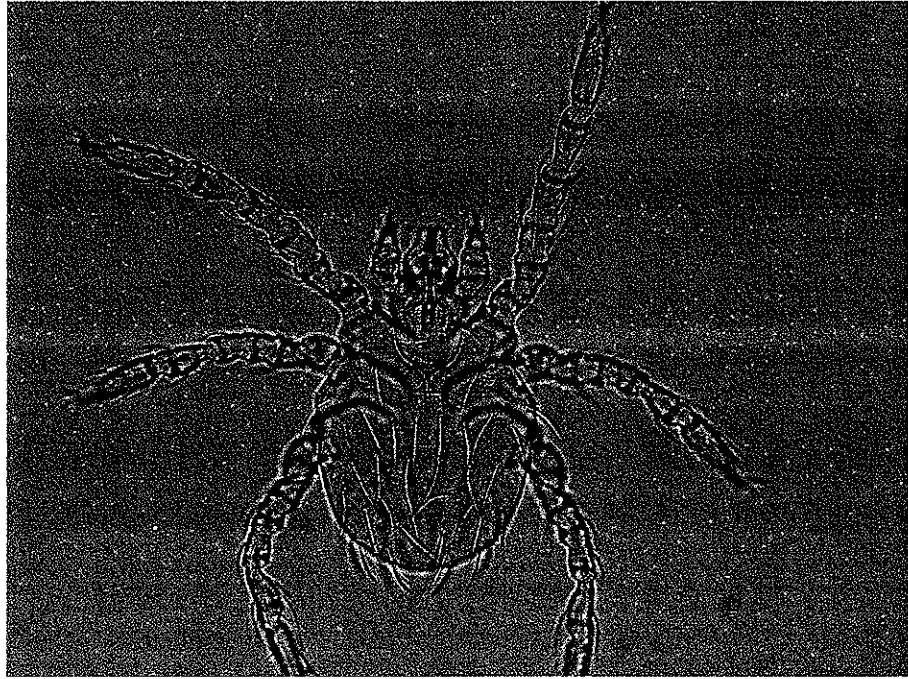
圖一、恙蟲體內恙蟲病立克次體分離培養後增幅 56k Da 蛋白質基因全長序列之 PCR 電泳圖，M: 100 bp DNA ladder; A-L: 恙蟲檢體(8457, 8470, 8478, 8494, 8495, 8574-75, 8746, 8764, 8765-1, 8767, 8768, 8686); N: 陽性對照組(Karp); O: 陰性對照組。



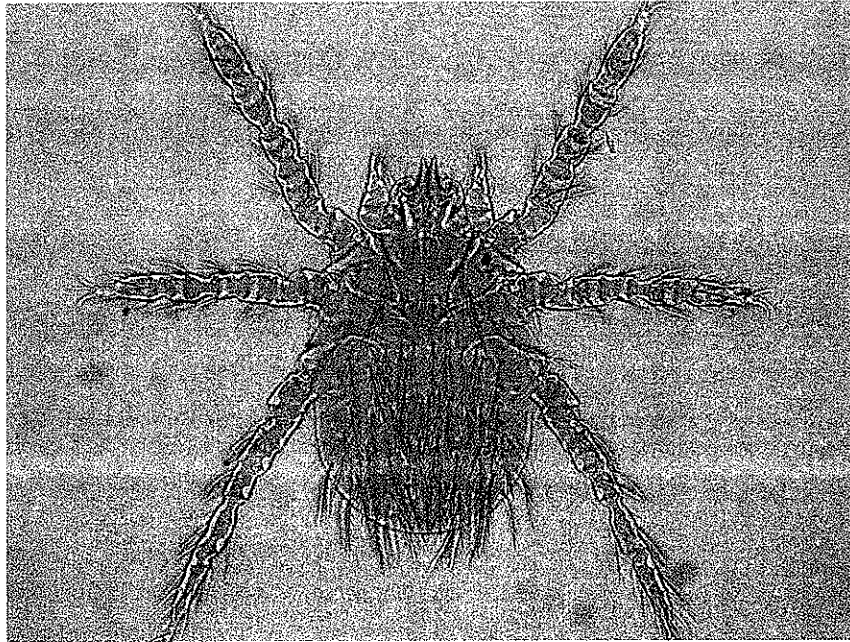
圖二、花蓮縣、台東縣及澎湖縣恙蟲病立克次體恙蟲分離株與 gene bank 登

錄台灣病人分離株及世界標準株 56kDa 蛋白質基因序列親緣關係圖

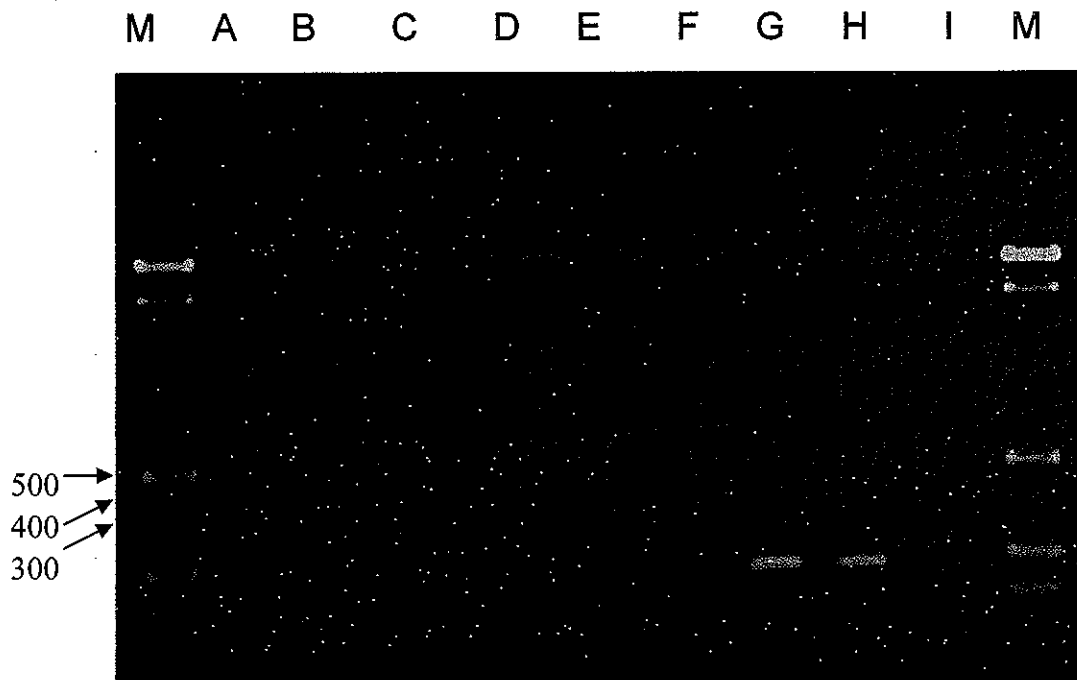




圖三、合輪恙蟎屬 *Helenicula* sp.



圖四、蒼白恙蟎(*Leptotrombidium pallidum*)



圖五、台東縣游離恙蟲體內 DNA 增幅恙蟲病立克次體 56kDa 蛋白質 variable domain 1 之 PCR 電泳圖，M: 100 bp DNA ladder; A-F: 恙蟲檢體 (LY4, LY5, LY6, LY7, LY9, LY10); G: 陽性對照組(Karp); H: 陽性對照組 (Gilliam); I: 陰性對照組。

## 玖、表

表一、95年11月花蓮縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕獲數	恙蟲總數	帶蟎率(%)	恙蟎指數	老鼠抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率(%)
壽豐鄉東華大學後草地	2	227	100	114	100	100(2/2)
壽豐鄉東華大學前草地	8	87	75	11	87.5	100(2/2)
壽豐鄉東華大學前苗圃	2	287	100	144	100	100(2/2)
吉安鄉建國二路 210 號旁草地	9	1682	100	187	100	66.7(6/9)
吉安鄉建國二路 42 號旁草地	9	2544	100	283	77.8	55.6(5/9)
吉安鄉建國加油站旁草地	3	1209	100	403	100	100(3/3)
合計	33	6036	93.9	183	90.9	74.1(20/27)

表二、95年11月花蓮縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體 PCR 陽性率
<i>R. losea</i>	91.7(11/12)	269(3231/12)	91.7(11/12)	81.8(9/11)
<i>B. indica</i>	95(19/20)	138(2750/20)	90(18/20)	66.7(10/15)
<i>R. exulans</i>	100(1/1)	55(55/1)	100(1/1)	100(1/1)
合計	93.9(31/33)	183(6036/33)	90.9(30/33)	74.1(20/27)

表三、96年1月金門縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕獲數	恙蟲總數	帶蟎率(%)	恙蟎指數	老鼠抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲PCR陽性率(%)
烈嶼鄉青岐	1	743	100	743	100	0(0/1)
金沙鎮英坑	7	270	85.7	39	71.4	100(5/5)
金湖鎮小徑	9	379	77.8	42	66.7	85.7(6/7)
金寧鄉西山	6	527	83.3	88	100	75(3/4)
金城鎮泗湖	9	152	88.9	17	66.7	71.4(5/7)
合計	32	2071	84.3	65	74.2	79.2(19/24)

表四、96年1月金門縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體PCR陽性率
<i>R. losea</i>	87(27/31)	67(2071/31)	76.7(23/30)	79.2(19/24)
<i>Mus caroli</i>	0(0/1)	0	0(0/1)	N.D*
合計	84.3(27/32)	65(2071/32)	74.2(23/31)	79.2(19/24)

\*N.D: No done

表五、96年3月連江縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕獲數	恙蟲總數	帶蟎率(%)	恙蟎指數	老鼠抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲PCR陽性率(%)
北竿鄉塘岐	14	637	50	46	50	33.3(2/6)
北竿鄉坂里	10	4309	100	431	88.9	33.3(2/6)
南竿鄉四維	6	1321	50	220	40	0(0/3)
南竿鄉珠螺	10	3423	70	342	25	0(0/5)
南竿鄉仁愛	8	2363	50	295	75	0(0/4)
南竿鄉津沙	13	3784	62	291	50	0(0/8)
合計	61	15837	64	260	54.8	12.5(4/32)

表六、96年3月連江縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲 次體 PCR 陽性率
<i>R. losea</i>	95.1(39/41)	386(15837/41)	59.0(23/39)	25.0(4/32)
<i>Suncus murinus</i>	0(0/19)	0(0/19)	0(0/3)	N.D*
<i>Mus caroli</i>	0(0/1)	0(0/1)	N.D	N.D
合計	64 (39/61)	260	54.8(23/42)	25.0(4/32)

\*N.D: No done

表七、96年5月澎湖縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕 獲數	恙蟲 總數	帶蟎率 (%)	恙蟎指 數	老鼠抗體陽性 率(%)	老鼠身上恙蟲 PCR 陽性 率(%)
湖西鄉湖西村	9	4212	77.8	468	62.5	40(2/5)
湖西鄉南寮村	8	1384	100	173	100	33.3(1/3)
馬公市五德里	6	51	50	9	50	N.D*
馬公市石泉里	14	1595	92.9	114	78.6	33.3(1/3)
西嶼鄉大池村	13	3102	76.9	239	61.5	0(0/5)
西嶼鄉池東村	8	1570	100	196	50	75(3/4)
合計	58	11914	84.5	205	68.4	35(7/20)

\*N.D: No done

表八、96年5月澎湖縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲 次體 PCR 陽性率
<i>R. losea</i>	100(21/21)	535(11235/21)	85.7(18/21)	35(7/20)
<i>M. musculus</i>	92(24/25)	9(225/25)	76.0(19/25)	N.D*
<i>S. murinus</i>	33.3(4/12)	37(444/12)	18.2(2/11)	N.D
合計	84.5(49/58)	205(11914/58)	68.4(39/57)	35(7/20)

\*N.D: No done

表九、96年7月連江縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕獲數	恙蟲總數	帶蟎率(%)	恙蟎指數	老鼠抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率(%)
北竿鄉塘岐	5	8	100	1.6	20	N.D*
北竿鄉坂里	4	860	40	215	100	0(0/3)
南竿鄉珠螺	6	456	83	76	33.3	0(0/4)
南竿鄉四維	9	939	100	104	25	0(0/8)
南竿鄉仁愛	7	273	57	39	0	0(0/4)
南竿鄉津沙	11	1945	91	177	18.2	0(0/15)
合計	42	4481	81	107	26.8	0(0/34)

\*N.D: No done

表十、96年7月連江縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙蟲病立克次體 PCR 陽性率
<i>R. losea</i>	93.8(15/16)	166(2661/16)	58.8(10/17)	0(0/10)
<i>Mus musculus</i>	0(0/1)	0(0/1)	100(1/1)	N.D*
<i>S. murinus</i>	76(19/25)	73(1820/25)	0(0/23)	0(0/12)
合計	81 (34/42)	107(4481/42)	26.8(11/41)	0(0/22)

\*N.D: No done

表十一、96年9月澎湖縣老鼠恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

採集地點	老鼠捕獲數	恙蟲總數	帶蟎率(%)	恙蟎指數	老鼠抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲 PCR 陽性率(%)
西嶼鄉大池村	17	5074	64.7(11/17)	299	94.1(16/17)	100(6/6)
西嶼鄉赤馬村	19	2755	73.7(14/19)	145	89.5(16/19)	20(1/5)
馬公市西衛里	12	1396	66.7(8/12)	116	41.7(5/12)	25(1/4)
馬公市前寮里	8	992	50(4/8)	124	50(4/8)	100(3/3)
湖西鄉南寮村	9	9382	77.8(7/9)	1042	100(9/9)	100(6/6)
湖西鄉龍門村	16	1500	50(8/16)	94	75(12/16)	50(3/6)
合計	81	21099	64.2(52/81)	261	76.5(62/81)	66.7(20/30)

表十二、96年9月澎湖縣不同鼠種恙蟎寄生情形及恙蟲病立克次體檢測結果

果

鼠種	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙蟲病立克 次體 PCR 陽性率
<i>R. losea</i>	100(35/35)	538(18844/35)	100(35/35)	81.8(18/22)
<i>M. musculus</i>	13.7(4/29)	4(108/29)	86.2(25/29)	N.D*
<i>S. murinus</i>	73.3(11/15)	84(1258/15)	0(0/15)	2.9(2/7)
<i>R. norvegicus</i>	100(1/1)	872(872/1)	100(1/1)	0(0/1)
<i>M. caroli</i>	100(1/1)	17(17/1)	100(1/1)	N.D
合計	64.2(52/81)	261(21099/81)	76.5(62/81)	66.7(20/30)

\*N.D: No done

表十三、2006-2007年野外調查結果四項調查指數整理

時間及地區	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙蟲病 立克次體 PCR 陽性率
2006.05 花蓮縣	83.3	143	94.4	66.7
2006.06 金門縣	96.9	282	80.3	60
2006.09 台東縣	100	394	91.7	95.8
2006.11 花蓮縣	93.9	183	90.9	74.1
2007.01 金門縣	84.3	65	77.4	79.2
2007.03 連江縣	64	260	54.8	12.5
2007.05 澎湖縣	84.5	205	68.4	35
2007.07 連江縣	81	107	26.8	0
2007.09 澎湖縣	64.2	261	76.5	50

表十四、四項調查指數線性相關分析

	帶蟎率(%)	恙蟎指數	恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)	老鼠身上恙蟲恙 蟲病立克次體 PCR 陽性率
帶蟎率(%)		R=0.1847 p=0.634	R=0.4479 p=0.227	R=0.6161 p=0.077
恙蟎指數			R=0.3153 p=0.409	R=0.2544 p=0.509
恙蟲病立克次體 抗體陽性率(%)				R=0.9015 p=0.001
老鼠身上恙蟲恙 蟲病立克次體 PCR 陽性率				

表十五、老鼠身上恙蟲 PCR 陽性定序結果

採集時間及地區	恙蟲病立克次體陽性率*	恙蟲病立克次體菌株(佔百分比)	
2006.05 花蓮縣	73% (19/26)	Karp	27%
		Hualien-12	27%
		Hualien-6	21%
		ISS-2(99%)	13%
		Hualien-9	13%
		LF-1(99%)	7%
2006.11 花蓮縣	76%(19/25)	Karp	42%
		Hualien-9	33%
		Hualien-12	8%
		Hualien-6	8%
		Hualien-5(99%)	8%
2006.06 金門縣	50%(12/24)	Karp	45%
		Taitung-3	27%
		Hualien 12(99%)	9%
		Karp(99%)-1	9%
		Karp(99%)-2	9%
2007.01 金門縣	65%(13/20)	Karp	69%
		Hualien-12	15%
		Karp(99%)-5	8%



2006.09 台東縣	97%(35/36)	Karp(98%)	8%
		TW261	29%
		TW261(92%)	14%
		TW261(99%)	7%
		TW261(97%)	7%
		Karp	7%
		Karp(93%)	7%
		Taitung-3(92%)	7%
		Taitung-3(90%)	7%
		Neimeng-65	7%
2007.03 連江縣	10%(3/30)	Hualien-12(98%)	7%
		Karp	100%
2007.07 連江縣	0(0/34)		
2007.05 澎湖縣	32%(9/28)	Taitung-3	50%
		Hualien-9	50%
2007.09 澎湖縣	73%(24/33)	Hualien-13	37.5%
		Taitung-3	31.3%
		LF-1(95%)	18.8%
		Hualien-12	6.3%
		TW121(99%)	6.3%

\*( )數字為陽性數/檢測數

表十六、恙蟲病立克次體分離培養及 56kDa 蛋白質 PCR 檢測結果

地區	分離數	56kDa 蛋白質基因序列分析
花蓮縣	10	Taitung-5
		Hualien-6
		Hualien-11
		Hualien-12
		Hualien-14
		UT336
台東縣	13	Taitung-1
		Taitung-3
金門縣	5	Taitung-5
		Hualien-11
連江縣	5	Hualien-13
澎湖縣	22	Taitung-1
		Taitung-3
		Hualien-13
		Hualien-14

表十七、以三種方法採集游離恙蟎結果

採集時間及地區	土壤及枯枝落葉	黑布法	墊木板法	鑑定結果
2006.05 花蓮縣	8	N.D*	N.D	<i>L. deliense</i>
2006.06 金門縣	30(4 隻成蟲)	27	43	<i>L. deliense</i>
	47	27	108	<i>L. deliense</i>
2006.09 台東縣				<i>Helenicula</i> sp.
2006.11 花蓮縣	59(2 隻成蟲)	29	64	<i>L. deliense</i>
2007.01 金門縣	32(3 隻成蟲)	2	204	<i>L. deliense</i>
				<i>L. scutellare</i>
2007.03 連江縣	59	N.D	N.D	<i>L. pallidum</i>
2007.05 澎湖縣	4	2	7	<i>L. deliense</i>
2007.07 連江縣	11	0	10	<i>L. deliense</i>
2007.09 澎湖縣	123(1 隻成蟲)	43	392	<i>L. deliense</i>

\*N.D:因下雨未進行黑布法及墊木板法採集

表十八、游離恙蟎 nested-PCR 檢測結果

採集時間及地區	採集幼蟲數	檢測幼蟲數(池)	陽性池數(恙蟲隻數)
2006.05 花蓮縣	8	N.D*	ND
2006.06 金門縣	96	47(5)	0
2006.09 台東縣	182	158(16)	1(9)
			Hualien-1
2006.11 花蓮縣	150	78(8)	0
2007.01 金門縣	235	73(8)	0
2007.03 連江縣	59	20(2)	0
2007.05 澎湖縣	13	10(1)	0
2007.07 連江縣	21	10(1)	0
2007.09 澎湖縣	557	130(13)	3(30)
			Hualien-12
			Taitung-3

\*ND: No done

## 拾、附錄

附錄一、95年11月花蓮縣老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8561	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	20	+++	+
8562	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	0	+	ND***
8563	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	19	+	ND
8564	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	21	+	ND
8565	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	1	+	ND
8566	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	5	-	ND
8567	<i>R. losea</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	21	+	+
8568	<i>R. losea</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前草地	0	+	ND
8569	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前苗圃	48	+	+
8570	<i>R. losea</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學前苗圃	239	+	+
8571	<i>B. indica</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學後草地	172	+	+
8572	<i>R. exulans</i>	花蓮縣壽豐鄉東華大學後草地	55	+	+
8573	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路210號旁草地	380	+	+
8574	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路210號旁草地	54	+	-
8575	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路210號旁草地	58	+	-
8576	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路210號旁草地	102	+	+
8577	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路210號旁草地	163	+	-

8578	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	137	+	-
8579	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	194	+	+
8580	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國加油站旁草地	266	+	+
8581	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國加油站旁草地	307	+	+
8582	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國加油站旁草地	636	+	+
8583	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	278	+	+
8584	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	287	-	-
8585	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	496	+	+
8586	<i>R. losea</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	520	+	+
8587	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	253	+	-
8588	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	101	-	+
8589	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 42 號旁草地	278	+	-
8590	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 210 號旁草地	322	+	+
8591	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 210 號旁草地	187	+	+
8592	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 210 號旁草地	162	+	+
8593	<i>B. indica</i>	花蓮縣吉安鄉建國二路 210 號旁草地	254	+	+

6036

\*以個別老鼠為單位，同一隻老鼠採約 100 隻恙蟲進行檢測，不足 100 隻則全採

\*\*+為 PCR 或 IFA 陽性；-為 PCR 或 IFA 陰性

\*\*\*N.D:No done

附錄二、96年1月金門縣老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8594	<i>R. losea</i>	烈嶼鄉青岐	743	+	-
8596-97	<i>R. losea</i>	金沙鎮英坑	63	+	++**
8598-99	<i>R. losea</i>	金沙鎮英坑	64	8598(+),8599(-)	++
8601	<i>R. losea</i>	金沙鎮英坑	102	+	++
8602	<i>R. losea</i>	金湖鎮小徑	42	-	-
8603-04	<i>R. losea</i>	金湖鎮小徑	55	+	+
8605	<i>R. losea</i>	金湖鎮小徑	71	+	++
8606	<i>R. losea</i>	金湖鎮小徑	179	+	++
8607-10	<i>R. losea</i>	金湖鎮小徑	32	8607(-),8608(+), 8609(+),8610(-)	+
8611	<i>R. losea</i>	金寧鄉西山	20	ND***	++
8613	<i>R. losea</i>	金寧鄉西山	271	+	+
8614	<i>R. losea</i>	金寧鄉西山	138	+	-
8616	<i>R. losea</i>	金寧鄉西山	83	+	++
8617-19	<i>R. losea</i>	金城鎮泗湖	29	8617(+),8618(-), 8619(+)	++
8620	<i>R. losea</i>	金城鎮泗湖	30	+	++
8621-22	<i>R. losea</i>	金城鎮泗湖	25	8621(+),8622(-)	++
8623	<i>R. losea</i>	金城鎮泗湖	37	-	-
8524-25	<i>R. losea</i>	金城鎮泗湖	31	+	-

\*以1到4隻老鼠為單位，同群老鼠採約100隻恙蟲進行檢測，不足100隻則全採

\*\*+為PCR或IFA陽性；-為PCR或IFA陰性

\*\*\*N.D:No done

附錄三、96年3月馬祖老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8626	<i>Suncus murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	Died **	N.D
8627	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	0	Died	N.D
8628	<i>Suncus murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	Died	N.D
8629	<i>Suncus murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	Died	N.D
8630	<i>Suncus murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	Died	N.D
8631	<i>Suncus murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	Died	N.D
8632	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	0	-***	N.D
8633	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	232	+	-
8634	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	130	+	-
8635	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	56	+	+

8636	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	12	-	N.D****
8637	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	60	-	-
8638	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	44	-	-
8639	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	103	+	+
8640	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	613	Died	-
8641	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	228	-	+
8642	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	286	+	+
8643	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	349	+	-
8644	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	460	+	N.D
8645	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	639	+	N.D
8646	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	62	+	N.D
8647	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	442	+	-
8648	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	921	+	-
8649	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	309	+	N.D
8650	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉四維	0	Died	N.D
8651	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉四維	0	-	N.D
8652	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉四維	0	-	N.D
8653	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	458	-	-
8654	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	413	+	-
8655	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	450	-	-
8656	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉珠螺	0	-	N.D
8657	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉珠螺	0	Died	N.D
8658	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	543	+	-
8659	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉珠螺	0	Died	N.D
8660	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	866	-	-
8661	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	160	-	N.D
8662	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	625	-	-
8663	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	438	+	-
8664	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	615	+	-
8665	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	176	-	N.D
8666	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	Died	N.D
8667	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	Died	N.D
8668	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	Died	N.D
8669	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	Died	N.D
8670	<i>R. losea</i>	南竿鄉仁愛	436	+	-
8671	<i>R. losea</i>	南竿鄉仁愛	313	+	-
8672	<i>R. losea</i>	南竿鄉仁愛	831	-	-
8673	<i>R. losea</i>	南竿鄉仁愛	783	+	-
8674	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉津沙	0	Died	N.D
8675	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉津沙	0	Died	N.D
8676	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉津沙	0	Died	N.D
8677	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	482	-	-

8678	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	487	-	-
8679	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	658	+	-
8680	<i>Suncus murinus</i>	南竿鄉津沙	0	Died	N.D
8681	<i>Mus caroli</i>	南竿鄉津沙	0	Died	N.D
8682	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	652	-	-
8683	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	178	+	-
8684	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	557	+	-
8685	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	349	-	-
8586	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	421	+	-
			15837		

\*以個別老鼠為單位，同一隻老鼠採約 100 隻恙蟲進行檢測，不足 100 隻則全採

\*\* Died:老鼠凍死未測

\*\*\*+為 PCR 或 IFA 陽性；-為 PCR 或 IFA 陰性

\*\*\*\*N.D: No done

#### 附錄四、96 年 5 月澎湖縣老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8687	<i>S. murinus</i>	湖西鄉湖西村	0	Died**	N.D****
8688	<i>S. murinus</i>	湖西鄉湖西村	35	-***	N.D
8689	<i>S. murinus</i>	湖西鄉湖西村	0	-	N.D
8690	<i>S. murinus</i>	湖西鄉湖西村	386	-	N.D
8691	<i>R. losea</i>	湖西鄉湖西村	605	+	-
8692	<i>R. losea</i>	湖西鄉湖西村	777	+	-, -
8693	<i>R. losea</i>	湖西鄉湖西村	714	+	+
8694	<i>R. losea</i>	湖西鄉湖西村	1413	+	+, +
8695	<i>R. losea</i>	湖西鄉湖西村	282	+	-
8696	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	16	+	N.D
8697	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	54	+	N.D
8698	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	16	+	N.D
8699	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	16	+	N.D
8700	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	1	+	N.D
8701	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	513	+	-, -
8702	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	404	+	-, +
8703	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	364	+	-
8704	<i>M. musculus</i>	馬公市五德里	0	+	N.D
8705	<i>S. murinus</i>	馬公市五德里	4	-	N.D
8706	<i>S. murinus</i>	馬公市五德里	0	-	N.D
8707	<i>S. murinus</i>	馬公市五德里	0	-	N.D
8708	<i>M. musculus</i>	馬公市五德里	5	+	N.D
8709	<i>R. losea</i>	馬公市五德里	42	+	N.D

8710	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	5	+	N.D
8711	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	4	+	N.D
8712	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	2	+	N.D
8713	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	3	+	N.D
8714	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	8	+	N.D
8715	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	3	+	N.D
8716	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	2	+	N.D
8717	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	6	+	N.D
8718	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	6	+	N.D
8719	<i>M. musculus</i>	馬公市石泉里	8	-	N.D
8720	<i>R. losea</i>	馬公市石泉里	727	-	-, -
8721	<i>R. losea</i>	馬公市石泉里	625	+	-, +
8722	<i>R. losea</i>	馬公市石泉里	196	-	-
8723	<i>S. murinus</i>	馬公市石泉里	0	+	N.D
8724	<i>R. losea</i>	西嶼鄉池東村	231	+	-
8725	<i>R. losea</i>	西嶼鄉池東村	654	+	-, +
8726	<i>R. losea</i>	西嶼鄉池東村	361	+	+, +
8727	<i>R. losea</i>	西嶼鄉池東村	279	-	+
8728	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	351	+	-
8729	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	420	+	-
8730	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	1035	+	-
8731	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	697	+	-
8732	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	545	+	-
8733	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉池東村	18	-	N.D
8734	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉池東村	6	-	N.D
8735	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉池東村	6	-	N.D
8736	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉池東村	15	+	N.D
8737	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	5	+	N.D
8738	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	12	+	N.D
8739	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	14	+	N.D
8740	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	10	-	N.D
8741	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	13	-	N.D
8742	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉大池村	0	-	N.D
8743	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉大池村	0	-	N.D
8744	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉大池村	0	-	N.D

\*以個別老鼠為單位，同一隻老鼠採約 100 隻恙蟲進行檢測，不足 100 隻則全採

\*\* Died: 老鼠凍死未測

\*\*\*+為 PCR 或 IFA 陽性；-為 PCR 或 IFA 陰性

\*\*\*\*N.D: No done



附錄五、96年7月連江縣老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病 抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8745	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	10	+++	
8746	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	775	+	-, -
8747	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	68	+	-
8748	<i>R. losea</i>	北竿鄉坂里	7	+	N,D***
8749	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	6	-	N,D
8750	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	2	+	N,D
8751	<i>R. losea</i>	北竿鄉塘岐	0	-	N,D
8752	<i>S. murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	-	N,D
8753	<i>S. murinus</i>	北竿鄉塘岐	0	-	N,D
8754	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	106	Died****	-, -
8755	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	14	-	N,D
8756	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	104	-	-, -
8757	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	41	-	-
8758	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	38	-	-
8759	<i>S. murinus</i>	南竿鄉四維	8	-	N,D
8760	<i>S. murinus</i>	南竿鄉珠螺	41	-	N,D
8761	<i>S. murinus</i>	南竿鄉珠螺	82	-	-
8762	<i>S. murinus</i>	南竿鄉珠螺	7	-	N,D
8763	<i>Mus musculus</i>	南竿鄉珠螺	0	+	N,D
8764	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	78	-	-
8765	<i>R. losea</i>	南竿鄉珠螺	248	+	-, -
8766	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	90	+	-
8767	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	168	+	-
8768	<i>R. losea</i>	南竿鄉四維	370	-	-, -
8769	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	-	N,D
8770	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	-	N,D
8771	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	140	-	-, -
8772	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	122	-	-, -
8773	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	0	-	N,D
8774	<i>S. murinus</i>	南竿鄉仁愛	3	-	N,D
8775	<i>R. losea</i>	南竿鄉仁愛	8	-	N,D
8776	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	13	-	N,D
8777	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	25	-	N,D
8778	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	53	-	-
8779	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	0	-	N,D
8780	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	67	-	-
8781	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	681	-	-, -
8782	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	205	-	-, -

8783	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	143	-	-,-
8784	<i>S. murinus</i>	南竿鄉津沙	132	-	-,-
8785	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	389	+	-,-
8786	<i>R. losea</i>	南竿鄉津沙	237	+	-,-

\*以個別老鼠為單位，同一隻老鼠採約 50 隻恙蟲進行檢測

\*\*+ 為 PCR 或 IFA 陽性；- 為 PCR 或 IFA 陰性

\*\*\*N.D:No done

\*\*\*\*Died:老鼠曬死未測

### 附錄六、96 年 9 月澎湖縣老鼠及恙蟲檢測結果

老鼠編號	鼠種	採集地點	恙蟲總數	老鼠恙蟲病 抗體	老鼠身上恙蟲 PCR*
8812	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	760	+**	N.D***
8813	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	323	+	-,+
8814	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	519	+	+
8815	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	131	+	N.D
8816	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	167	+	N.D
8817	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	832	+	+
8818	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	231	+	N.D
8819	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	716	+	+
8820	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	549	+	+
8821	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	433	+	+
8822	<i>R. losea</i>	西嶼鄉大池村	413	+	N.D
8823	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	81	+	N.D
8824	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	35	+	N.D
8825	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	53	+	N.D
8826	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	362	+	-
8827	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	68	+	N.D
8828	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	165	+	-
8829	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	175	+	-
8830	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	409	+	-
8831	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	114	+	N.D
8832	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	1158	+	-,+
8833	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	0	+	N.D
8834	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	39	+	N.D
8835	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	29	-	N.D
8836	<i>R. losea</i>	西嶼鄉赤馬村	39	+	N.D
8837	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	28	-	N.D
8838	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	0	+	N.D
8839	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	0	+	N.D

8840	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉赤馬村	0	+	N.D
8841	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	0	+	N.D
8842	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	0	+	N.D
8843	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	0	+	N.D
8844	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	0	+	N.D
8845	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉大池村	0	-	N.D
8846	<i>S. murinus</i>	西嶼鄉赤馬村	0	-	N.D
8847	<i>M. musculus</i>	西嶼鄉大池村	0	+	N.D
8848	<i>R. norvegicus</i>	馬公市西衛里	872	+	-
8849	<i>M. musculus</i>	馬公市西衛里	0	-	N.D
8850	<i>M. musculus</i>	馬公市西衛里	0	-	N.D
8851	<i>R. losea</i>	馬公市西衛里	142	+	+
8852	<i>M. musculus</i>	馬公市西衛里	9	+	N.D
8853	<i>M. musculus</i>	馬公市西衛里	3	+	N.D
8854	<i>M. musculus</i>	馬公市西衛里	8	+	N.D
8855	<i>S. murinus</i>	馬公市西衛里	0	-	N.D
8856	<i>S. murinus</i>	馬公市西衛里	122	-	N.D
8857	<i>S. murinus</i>	馬公市西衛里	0	-	N.D
8858	<i>S. murinus</i>	馬公市西衛里	125	-	-
8859	<i>S. murinus</i>	馬公市西衛里	115	-	-
8860	<i>R. losea</i>	馬公市前寮里	803	+	+,+
8861	<i>M. musculus</i>	馬公市前寮里	0	+	N.D
8862	<i>M. musculus</i>	馬公市前寮里	0	+	N.D
8863	<i>M. musculus</i>	馬公市前寮里	0	+	N.D
8864	<i>S. murinus</i>	馬公市前寮里	86	-	+
8865	<i>S. murinus</i>	馬公市前寮里	90	-	+
8866	<i>S. murinus</i>	馬公市前寮里	13	-	N.D
8867	<i>S. murinus</i>	馬公市前寮里	0	-	N.D
8868	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	1444	+	+
8869	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	1459	+	+
8870	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	768	+	+,+
8871	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	1200	+	+,+
8872	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	3651	+	+,+
8873	<i>R. losea</i>	湖西鄉南寮村	843	+	+,+
8874	<i>M. caroli</i>	湖西鄉南寮村	17	+	N.D
8875	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	0	+	N.D
8876	<i>M. musculus</i>	湖西鄉南寮村	0	+	N.D
8877	<i>R. losea</i>	湖西鄉龍門村	748	+	+
8878	<i>R. losea</i>	湖西鄉龍門村	114	+	+
8879	<i>R. losea</i>	湖西鄉龍門村	376	+	+
8880	<i>R. losea</i>	湖西鄉龍門村	153	+	N.D
8881	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D

8882	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	31	+	N.D
8883	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8884	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8885	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8886	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8887	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8888	<i>M. musculus</i>	湖西鄉龍門村	0	+	N.D
8889	<i>S. murinus</i>	湖西鄉龍門村	0	-	N.D
8890	<i>S. murinus</i>	湖西鄉龍門村	21	-	-
8891	<i>S. murinus</i>	湖西鄉龍門村	18	-	-
8892	<i>S. murinus</i>	湖西鄉龍門村	39	-	-

\*以個別老鼠為單位，同一隻老鼠採約 100 隻恙蟲進行檢測，不足 100 隻則全採

\*\*+為 PCR 或 IFA 陽性；-為 PCR 或 IFA 陰性

\*\*\*N.D:No done