



Studies on the Vectors and Pathogens of Scrub Typhus on Murine-like Animals in Kinmen County, Taiwan 【Research report】

金門縣鼠類恙蟲病病媒與病原體調查研究【研究報告】

Hsi-Chieh Wang, Chao-Lin Chung, Ting-Hsiang Lin Chung-Hsiung Wang, Wen-Jer Wu*
王錫杰、鍾兆麟、林鼎翔 王重雄、吳文哲*

*通訊作者E-mail: wuwj@ccms.ntu.edu.tw

Received: 2004/09/09 Accepted: 2004/09/26 Available online: 2004/09/01

Abstract

Five species of murine-like animals were obtained in five towns of Kinmen County, Taiwan from August 1999 to June 2000. Four species were members of the Muridae of the Rodentia, *Rattus flavipectus*, *R. rattus*, *R. norvegicus* and *Mus caroli*, and one species was of the Soricidae of the Insectivora, *Suncus murinus*. The total capture rate of murine-like animals was 28.11%. Among these specimens, *R. flavipectus* was dominant, representing 91.67% of the collected animals, followed by *S. murinus* (3.57%). The percentage of animals infected with chiggers ranged from 55% to a peak of 98%, while the mean number of chiggers per animal ranged from six to 382. Our study showed that the seasonal variation in the mean number of chiggers per animal was slightly correlated with the seasonal incidence of human infection. Except for April 2000, the seropositive rates of these animals against *Orientia tsutsugamushi* exceeded 90% in each survey. Eight species of chiggers were identified, including *Leptotrombidium deliense* (53.40%), *L. scutellare* (33.43%), *Walchia chinensis* (12.06%), *L. yui* (0.70%), *Odontacarus majesticus* (0.28%), *Ascoschoengastia indica* (0.08%), *Helenicula* sp. (0.04%), and *L. imphalum* (0.01%). Our survey showed that *L. deliense* appeared from April to November, with a peak occurring in August, whereas *L. scutellare* appeared from November to April, with a peak occurring in December. *Walchia chinensis* occurred throughout the year, but was more abundant in summer. The state of *O. tsutsugamushi* infection was demonstrated by the minimum infection rate (MIR). The MIRs of *L. deliense* and *L. scutellare* were 12 and 5, respectively. These results indicate that *L. deliense* may be the vector in summer, while *L. scutellare* may transmit disease in winter. *Walchia chinensis* has not been reported to bite humans, but it was found to harbor *O. tsutsugamushi* with an MIR of 8, and it may transmit rickettsia among animal reservoirs. In this study, the nested polymerase chain reaction (nested-PCR) was followed by digestion with the restriction enzymes *Hha*I and *Sfa*NI, to classify serotypes of *O. tsutsugamushi*. We found that Karp and Gilliam were dominant, but that other different local strains already exist.

摘要

從1999年8月至2000年6月間在金門縣金城鎮、金湖鎮、金沙鎮、金寧鄉及烈嶼鄉等五鄉鎮進行定期之捕鼠，並採集鼠身上恙蟲。發現金門縣的鼠類包括齧齒目 (Rodentia) 動物4種：黃胸鼠 (*Rattus flavipectus*)、屋頂鼠 (*R. rattus*)、溝鼠 (*R. norvegicus*) 及月鼠 (*Mus caroli*)；和食蟲目 (Insectivora) 動物1種--臭鼩 (*Suncus murinus*)。鼠類之總捕獲率為28.11%，其中以黃胸鼠數量最多 (91.67%)，臭鼩其次 (3.57%)。鼠類之帶率以2000年4月最低為55%，2000年6月最高98%。金門縣鼠類恙蟲病立克次菌抗體陽性率除2000年4月之檢出率為82.2% 較低外，其餘月份均在90% 以上。恙蟲種類鑑定結果，共發現5屬8種恙蟲，包括已知種類7種，未知種類1種，其種類與所佔比率分別為地里恙蟲 (*Leptotrombidium deliense*)：53.40%、小板恙蟲 (*L. scutellare*)：33.43%、中華無前恙蟲 (*Walchia chinensis*)：12.06%、于氏恙蟲 (*L. yui*)：0.70%、巨螯齒恙蟲 (*Odontacarus majesticus*)：0.28%、印度囊棒恙蟲 (*Ascoschoengastia indica*)：0.08%、合輪恙蟲屬一種 (*Helenicula* sp.)：0.04%以及英帕恙蟲 (*L. imphalum*)：0.01%。地里恙蟲於4月開始出現，至8月達高峰，是為金門縣明顯的夏季優勢種；相對地小板恙蟲僅出現於11月至次年4月，為金門縣冬季優勢種。中華無前恙蟲全年皆可發現，但以夏季密度較高。金門縣之恙蟲帶病原情形以最小感染率 (minimum infection rate, MIR) 表示，地里恙蟲及小板恙蟲的MIR分別為12及5，此結果顯示地里恙蟲為可能夏季恙蟲病病媒，小板恙蟲為冬季自然儲主間恙蟲病病媒；由於中華無前恙蟲亦帶有立克次菌，MIR為8，其雖不叮咬人，但可能在動物間傳播病原有其重要性。經雙階聚合"西每"連鎖反應 (nested-PCR) 產物以限制"西每" *Hha*I及 *Sfa*NI切割，發現金門縣恙蟲之恙蟲病立克次菌血清型別以Karp及Gilliam為主，另發現有許多未定名的種類。

Key words: scrub typhus, chigger mites, nested polymerase chain reaction, *Orientia tsutsugamushi* serotypes, murine-like animal reservoirs

關鍵詞: 恙蟲病、恙蟲、雙階聚合"西每"連鎖反應、恙蟲病立克次菌之血清型、鼠類儲主

Full Text: [PDF \(0.8 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

金門縣鼠類恙蟲病病媒與病原體調查研究

王錫杰 鍾兆麟 林鼎翔 行政院衛生署疾病管制局 台北市昆陽街 161 號
王重雄 吳文哲* 國立台灣大學昆蟲學系 台北市羅斯福路四段 113 巷 27 號

摘 要

從 1999 年 8 月至 2000 年 6 月間在金門縣金城鎮、金湖鎮、金沙鎮、金寧鄉及烈嶼鄉等五鄉鎮進行定期之捕鼠，並採集鼠身上恙蟲。發現金門縣的鼠類包括嚙齒目 (Rodentia) 動物 4 種：黃胸鼠 (*Rattus flavipectus*)、屋頂鼠 (*R. rattus*)、溝鼠 (*R. norvegicus*) 及月鼠 (*Mus caroli*)；和食蟲目 (Insectivora) 動物 1 種--臭鼩 (*Suncus murinus*)。鼠類之總捕獲率為 28.11%，其中以黃胸鼠數量最多 (91.67%)，臭鼩其次 (3.57%)。鼠類之帶蟲率以 2000 年 4 月最低為 55%，2000 年 6 月最高 98%。金門縣鼠類恙蟲指數，以 1999 年 8 月最高為 382，2000 年 4 月最低為 6。同一時期金門縣恙蟲病確定病例數與恙蟲指數呈現相關關係。鼠類之恙蟲病立克次菌抗體陽性率除 2000 年 4 月之檢出率為 82.2% 較低外，其餘月份均在 90% 以上。恙蟲種類鑑定結果，共發現 5 屬 8 種恙蟲，包括已知種類 7 種，未知種類 1 種，其種類與所佔比率分別為地里恙蟲 (*Leptotrombidium deliense*)：53.40%、小板恙蟲 (*L. scutellare*)：33.43%、中華無前恙蟲 (*Walchia chinensis*)：12.06%、于氏恙蟲 (*L. yui*)：0.70%、巨螯齒恙蟲 (*Odontacarus majesticus*)：0.28%、印度囊棒恙蟲 (*Ascoschoengastia indica*)：0.08%、合輪恙蟲屬一種 (*Helenicula* sp.)：0.04% 以及英帕恙蟲 (*L. imphalum*)：0.01%。地里恙蟲於 4 月開始出現，至 8 月達高峰，是為金門縣明顯的夏季優勢種；相對地小板恙蟲僅出現於 11 月至次年 4 月，為金門縣冬季優勢種。中華無前恙蟲全年皆可發現，但以夏季密度較高。金門縣之恙蟲帶病原情形以最小感染率 (minimum infection rate, MIR) 表示，地里恙蟲及小板恙蟲的 MIR 分別為 12 及 5，此結果顯示地里恙蟲為可能夏季恙蟲病病媒，小板恙蟲為冬季自然儲主間恙蟲病病媒；由於中華無前恙蟲亦帶有立克次菌，MIR 為 8，其雖不叮咬人，但可能在動物間傳播病原有其重要性。經雙階聚合酶連鎖反應 (nested-PCR) 產物以限制酶 *HhaI* 及 *SfaNI* 切割，發現金門縣恙蟲之恙蟲病立克次菌血清型別以 Karp 及 Gilliam 為主，另發現有許多未定名的種類。

關鍵詞：恙蟲病、恙蟲、雙階聚合酶連鎖反應、恙蟲病立克次菌之血清型、鼠類儲主

*論文聯繫人
e-mail: wuwj@ccms.ntu.edu.tw

前 言

恙蟲病 (tsutsugamushi disease) 亦稱叢林型斑疹傷寒 (scrub typhus) 是經由帶恙蟲病立克次菌 (*Orientia tsutsugamushi*) 之恙蟎 (chigger mite) 幼蟲叮咬而感染的急性熱病。該病分佈於亞洲及澳洲沿海地區，東自日本本州北端、韓國、中國大陸沿海省份，西起巴基斯坦、阿富汗，南到東南亞國家至澳洲東北部及沿太平洋西南部分 (Abram, 1990; Barrie, 1990)，台灣亦包括在恙蟲病流行的地區中。據疾病管制局統計，1998~2003 年台灣及金馬地區恙蟲病確定病例每年約有 230~330 例 (Anonymous, 2004)。

恙蟲病患者的主要臨床症狀為 (1) 在 9 至 12 天的潛伏期期間，恙蟲病立克次菌在螫口刺入處增殖，形成洞穿式潰瘍性焦痂 (eschar)；(2) 局部淋巴腺發炎腫大；(3) 發燒至 39°C 至 40.5°C，約可持續 14 天；(4) 病發後 4~5 天，軀幹先出現紅疹，繼而擴大至臉及四肢，約 9~10 日後會逐漸消退；(5) 頭痛、昏迷、大量出汗、結膜充血，末期心衰竭、休克等症狀 (Abram, 1990; Barrie, 1990)。罹病後死亡率在 1~60% 之間，與診斷、用藥有密切關係。中國大陸恙蟲病患者按發生季節可分為夏季型、秋季型和冬季型，夏季型恙蟲病流行範圍在北緯 31° 以南，即浙江以南，以 6~8 月為高峰，臨床表現較重；秋季型恙蟲病，流行範圍在北緯 31° 以北，包括江蘇、山東、天津及東三省，以 10~11 月為高峰，臨床表現較輕；冬季型恙蟲病在福建漳州一帶，以 1~2 月為高峰，臨床表現很輕 (Yu and Wu, 1995)。據疾病管制局 1997~2003 年之統計，台灣及金馬地區恙蟲病發病之月份為自 4 月開始，5~8 月達到高峰，而後下降一直延續到隔年 2 月，屬於夏季型 (Anonymous, 2004)。

傳播恙蟲病之恙蟎係屬蛛形綱 (Arachnida)，蜱蟎亞綱 (Acari)，眞蟎目 (Acari-formes)，前氣孔亞目 (Prostigmata)，絨蟎總科 (Trombidioidea)，恙蟎科 (Trombiculidae)。恙蟎幼蟲微小，長度約 0.2~0.3 mm，肉眼幾乎看不見，因其為寄生性，容易採集，因此本科之分類幾乎完全依據幼蟲之形態。目前全世界有記錄之恙蟎科種類約有 3000 多種 (Li *et al.*, 1997)，但能傳播人類恙蟲病的恙蟎，以 *Leptotrombidium* 屬之 *Leptotrombidium* 亞屬最重要。由於地理分佈、族群大小及傳病效率的差異，各地主要的病媒恙蟎不同。日本恙蟲病由赤蟲恙蟎 (*Leptotrombidium akamushi*)，小板恙蟎 (*L. scutellare*) 及粗毛恙蟎 (*L. pallidum*) 所傳播；在韓國由粗毛恙蟎所傳播；中國大陸為地里恙蟎 (*L. deliense*)、微紅恙蟎 (*L. rubellum*)、高湖恙蟎 (*L. kaohuensis*)、海島恙蟎 (*L. insularae*)、吉首恙蟎 (*L. jishoum*) 和小板恙蟎所傳播 (Yu and Wu, 1995)；在台灣亦為地里恙蟎；其他東南亞國家，菲律賓為地里恙蟎、弗氏恙蟎 (*L. fletcheri*)；泰國為地里恙蟎、住砂恙蟎 (*L. arenicola*)、小板恙蟎；而馬來西亞則為地里恙蟎、弗氏恙蟎、小板恙蟎、住砂恙蟎、棲陰恙蟎 (*L. umbricola*) (Traub and Wisseman, 1974)。

引起恙蟲病之病原體--立克次菌 (*O. tsutsugamushi*)，為一種絕對細胞內寄生之微生物，恙蟲病立克次菌血清型傳統的鑑別方法是使用間接免疫螢光法 (indirect immunofluorescence assay, IFA)，由於各型間有部分交互作用，判定上易於混淆，目前已可由型別專一性抗原 (type-specific antigen, TSA) 區分。Ohashi *et al.* (1990) 及 Stover *et al.* (1990) 已將 Gilliam, Karp, Kato, Shimokoshi, Kawasaki 和 Kuroki 等六型之 56

kDa 型別專一性抗原 (TSA) 核苷酸及胺基酸序列定出。根據此序列 Furuya (1991, 1993) 利用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) 可明確地進行恙蟲病診斷及恙蟲病立克次菌型別區分。

台灣及離島有關於恙蟲病之調查研究，早期是以病例及血清學調查為主。有關恙蟲的報導在澎湖曾進行一系列的調查，包括恙蟲種類及孳生地 (Cooper *et al.*, 1964; Lien *et al.*, 1967)，鼠類及恙蟲帶原情形 (Olson *et al.*, 1978)，及恙蟲密度與病例發生之關係 (Olson *et al.*, 1982)。除此之外，Gale *et al.* (1974) 及 Lien *et al.* (1974) 分別於花蓮豐濱及蘭嶼進行恙蟲種類鑑別，所採集恙蟲絕大部分屬於地里恙蟲。Hasegawa *et al.* (1990) 在台北、台東、阿里山、高雄、屏東及澎湖的恙蟲調查結果，指出超過 90% 是屬地里恙蟲，除此之外尚發現 *Leptotrombidium*, *Garliepia*, *Schoengastia*, *Doloisia* 及 *Walchiella* 等屬之共 11 種恙蟲。目前尚未看到針對金門恙蟲病病媒種類、密度及帶原率進行調查的報告。本研究從台灣地區恙蟲病罹患率較高之金門縣所作的恙蟲調查，nested-PCR 配合 RFLP，56 kDa TSA 的部份定序，鑑定恙蟲體內立克次菌之型別，並與恙蟲病患者之血清學上之結果比較，此結果期能夠用於對台灣本土恙蟲病立克次菌型別之鑑識。

材料與方法

一、恙蟲採集

採集地點之選擇依據 1997~1998 年金門縣五鄉鎮恙蟲病病例數最多之村里，包括金城鎮古城里小古崗、金寧鄉榜林村后湖、金湖鎮

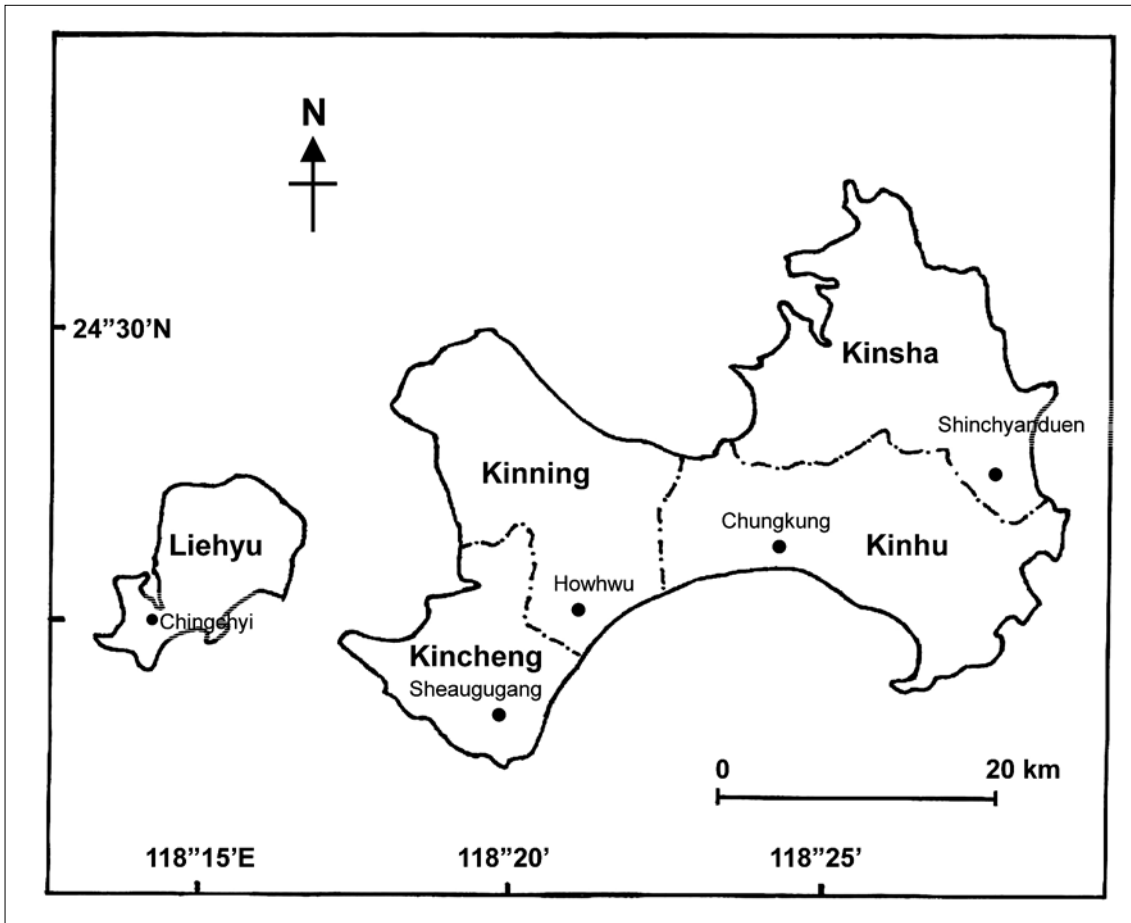
正義村成功、金沙鎮大洋村新前墩及烈嶼鄉上岐村青岐 (圖一)。自 1999 年 8 月至 2000 年 6 月間，每兩個月 1 次，共捕鼠 6 次，於以上選定點各置 100 個鼠籠，室內 20 個而室外 80 個，以甘藷或帶殼花生為誘餌，兩種誘餌數量室內外各半，全部佈籠數為 2988 個，包括室內 598 個，室外 2390 個。捕獲老鼠後，依體型大小以 0.1~0.3 ml Zoletil 50 (Virbac, Carros, France) 進行腹腔注射麻醉，再將有恙蟲寄生之外耳殼及其他部位如生殖器附近、胸部、後腿之皮膚剪下置於 40 ml 塑膠瓶中，放置 1 天後加入 70% 酒精保存。恙蟲寄生的情形以帶蟲率 (percentage of hosts infected with chiggers)：被寄生鼠數/全部捕獲鼠數；及恙蟲指數 (mean number of chiggers per animal)：寄生恙蟲總數/全部捕獲鼠數表示。

二、恙蟲鑑定方法

將浸泡於 70% 酒精之恙蟲幼蟲，置於去離子水 3~4 次，每次 30 min。再將幼蟲以 Gater's 封片液 (含有 35 ml 去離子水，35 g 阿拉伯膠 (gum Arabic, Sigma)，20 g 含水氯醛 (chloral hydrate, Merck)，10 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 Li *et al.* (1997) 之報告。

三、以 nested PCR-RFLP 區分不同地區恙蟲體內立克次菌型別

本試驗以溫度循環控制器 (HYBAID 公司) 進行 PCR 增幅反應，反應條件參考 Kawamori *et al.* (1993) 之方法並略加修改。採同一採集時間及採集地點之恙蟲，以



圖一 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月恙蟲採集地點，金城鎮小古崗 (Sheaugugang, Kincheng town)、金寧鄉后湖 (Howhwu, Kinning town)、金湖鎮成功 (Chungkung, Kinhu town)、金沙鎮新前墩 (Shinchyanduen, Kinsha town) 及烈嶼鄉青岐 (Chingchyi, Liehyu town)

Fig. 1. Collecting localities of chigger mites in Kinmen County from August 1999 to June 2000.

50 隻恙蟲為一樣本，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_2PO_4 (Merck), 7.2 mM K_2HPO_4 (Merck), 40 mM L-glutamic acid (Sigma) 及 218 mM sucrose (Sigma), pH 7.0)，以 0.5 ml 微量離心管研磨。離心 11,600 $\times g$, 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 μl 10 mM Tris-HCl buffer (Merck),

pH 8.3 之萃取液中，於 56°C 下，隔夜處理，以去除蛋白質及酯質；然後於 95°C，處理 10 min，以此處理後之產物為 PCR 反應之模板。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 μl 去離子水、5 μl 之 10X PCR buffer (Promega)、2 μl 之 5 mM dNTPs (Promega) (終濃度為 200 μM)、3 μl 之 25 mM MgCl_2 (Promega) (終濃度為 1.5 mM)、1 μl 之 5

μM primer A: 5'-AGAATCTGCTCGCTTG GATCCA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 144 bp~165 bp) (購自 Mission Biotech) 及 primer C: 5'-ACCCTATAGTCAATACCAG CACAA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 552~575 bp) (引子之終濃度為 100 nM)、3 μl 之 DNA 模板及 0.5 μl 酵素 Taq (Promega) (5 U/ μl) (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 μl 之 20 μM primer a: 5'-GAGCAGAGATAGGTGTTATGTA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 260~281 bp) 及 primer b: 5'-TATTCATTATAGTAGGCTGA-3' (Karp 株之 TSA 基因, 約 408~427 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。取 15 μl 第二次 PCR 增幅的產物, 加入 2 單位限制酶 (*Hha*I 或 *Sfa*NI, Biolabs) 於消化緩衝液 (digestion buffer) 中, 37°C 作用 3 h 後, 再取 10 μl 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, 結果與已知種類 (Gilliam, Karp, Kato, Shimokoshi, Kawasaki 和 Kuroki) 之圖譜比對。選取與已知種類之不同圖譜者, 將其二次 PCR 增幅的產物進行 DNA 序列定序, 再以 NCBI 網站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 進行 DNA 序列之 BLAST 比對。恙蟎帶病原情形以最小感染率 (minimum infection rate, MIR) 表

示, MIR 為 (陽性恙蟎樣本數/檢查恙蟎總數) \times 1000, MIR 值越高代表感染情形越嚴重。

四、金門地區老鼠恙蟲病立克次菌抗體陽性率檢測

將捕獲之老鼠麻醉後, 從心臟採血 3 ml, 於室溫靜置 2 h 後以 3000 rpm 離心 10 min, 取血清並低溫保存攜回實驗室。以間接螢光抗體法 (IFA) 檢測抗體, 方法如下: 將血清以磷酸鹽緩衝溶液 (phosphate-buffered saline, PBS, pH 7.2) 做 40 倍稀釋, 加在固定有 Karp, Gilliam, Kato 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 min, 以 PBS 洗掉多餘血清並浸泡 5 min, 再去離子水沖洗、風乾, 再以標識有螢光物質 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 的山羊抗鼠 IgG+A+M 血清 (FITC-goat anti-mouse IgG+A+M (H+L), Zymed Laboratories, USA) 浸潤, 並置於潮濕水箱中於 37°C 作用 30 min, 以 PBS 浸洗風乾後, 滴上 PBS/甘油等體積之混合溶液, 蓋以蓋玻片後, 於螢光顯微鏡下, 觀察其螢光反應。

結 果

一、金門縣老鼠種類、捕獲率及族群百分比

經 6 次調查, 捕獲鼠類動物共 840 隻, 其結果列於表一, 包括齧齒目動物 4 種: 黃胸鼠 (*Rattus flavipectus*)、屋頂鼠 (*R. rattus*)、溝鼠 (*R. norvegicus*) 及月鼠 (*Mus caroli*) 和食蟲目動物 1 種: 臭鼩 (*Suncus murinus*), 雌雄約各半。總捕獲率為 28.11% (840/2988), 田間與家屋之捕獲率分別為 34.65% (828/2390) 及 2.01% (12/598)。族群以黃胸鼠數量最多佔 91.67% (770/840), 臭鼩其次佔 3.57% (30/840); 田間之族群仍以黃胸

鼠數量最多佔 92.87% (769/828)，臭鼩其次佔 3.02% (25/828)；家屋之族群百分比則以臭鼩數量最多佔 41.67% (5/12)，屋頂鼠與溝鼠次之各佔 25.00% (3/12)。顯見黃胸鼠為金門縣田間優勢種。各鄉鎮捕獲率之差別如表二，烈嶼鄉平均 17.67%，較大金門之四鄉鎮平均 27.33~33.50% 間有極顯著差異 ($t = 4.01, p < 0.01$)。不同月份捕獲率以 1999 年 8 月平均為 37.4% 最高，與其餘 5 次調查平均在 24.8~27.2% 間有極顯著性差異 ($t = 2.99, p < 0.01$) (表二)，顯示金門鼠患在 2000 年有減少趨勢。

二、金門縣田間鼠類之帶蟻率及恙蟻指數

金門縣田間鼠類帶蟻率如表三，以黃胸鼠

(*R. flavipectus*) 最高，全年平均帶蟻率為 89%，臭鼩最低只有 24%。所有鼠類帶蟻率，以 2000 年 4 月最低平均為 55%，其他月份皆高至 82~98%，具有極顯著性差異 ($t = 5.45, p < 0.01$)，尤其 2000 年 6 月為最高 (98%)。除 2000 年 4 月，各鄉鎮鼠類帶蟻率從金沙鎮 32% 到金城鎮 83% 差別較大，顯示大金門西半部的地區如金城鎮及金寧鄉鼠類帶蟻率較高外，其餘採集時間，大小金門之鄉鎮間並無差異。

金門縣田間鼠類之恙蟻指數仍以黃胸鼠最高，全年平均恙蟻指數為 236，月鼠 (*M. caroli*) 最低，指數為 3 (表四)，以直線迴歸分析 (linear regression) 鼠類之帶蟻率與恙蟻指數有顯著正相關性 ($r = 0.97, p =$

表一 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月捕鼠結果及鼠類族群百分比

Table 1. Murine-like animals captured in Kinmen County from August 1999 to June 2000

Mammal species	No. of animals					Capture percentage		Percentage of total animals	
	Female		Male		Total	Field	House	Field	House
	Field	House	Field	House					
<i>Rattus flavipectus</i>	379	0	390	1	770	32.18	0.17	92.87	8.33
<i>Rattus rattus</i>	6	0	9	3	18	0.63	0.50	1.81	25.00
<i>Rattus norvegicus</i>	5	2	8	1	16	0.54	0.50	1.57	25.00
<i>Mus caroli</i>	0	0	6	0	6	0.25	0.00	0.72	0.00
<i>Suncus murinus</i>	16	2	9	3	30	1.05	0.84	3.02	41.67
Total	406	4	422	8	840	34.65	2.01	100.00	100.00

Rattus flavipectus (黃胸鼠), *R. rattus* (屋頂鼠), *R. norvegicus* (溝鼠), *Mus caroli* (月鼠), and *Suncus murinus* (臭鼩).

表二 金門縣各鄉鎮 1999 年 8 月至 2000 年 6 月鼠類捕獲率(%)

Table 2. Capture percentages of murine-like animals in different areas of Kinmen County from August 1999 to June 2000

Locality	Aug. 1999	Nov. 1999	Dec. 1999	Feb. 2000	Apr. 2000	June 2000	Mean ± S.D.
Kincheng	45	27	28	26	24	25	29.17 ± 7.89
Kinhu	46	35	19	29	33	32	32.33 ± 8.76
Kinning	35	44	36	29	27	30	33.50 ± 6.22
Kinsha	37	21	30	29	19	28	27.33 ± 6.53
Liehyu	24	9	18	20	21	14	17.67 ± 5.39
Mean ± S.D.	37.4 ± 8.91	27.2 ± 13.35	26.2 ± 7.63	26.6 ± 3.91	24.8 ± 5.50	25.8 ± 7.09	

Kincheng (金城鎮), Kinhu (金湖鎮), Kinning (金寧鄉), Kinsha (金沙鎮), and Liehyu (烈嶼鄉).

表三 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月田間鼠類帶蟎率 (%)

Table 3. Percentages of murine-like animals collected from the field infected with chiggers in Kinmen County from August 1999 to June 2000

Species	Aug. 1999	Nov. 1999	Dec. 1999	Feb. 2000	Apr. 2000	June 2000	Mean
<i>Rattus flavipectus</i>	92 (157/170)*	98 (120/123)	92 (118/128)	85 (104/122)	62 (66/106)	100 (120/120)	89 (685/769)
<i>Rattus rattus</i>	100 (3/3)	100 (2/2)	0 (0/1)	100 (1/1)	-	75 (6/8)	80 (12/15)
<i>Rattus norvegicus</i>	-	100 (4/4)	100 (1/1)	-	13 (1/8)	-	46 (6/13)
<i>Mus caroli</i>	-	-	-	33 (2/6)	-	-	33 (2/6)
<i>Suncus murinus</i>	11 (1/9)	50 (1/2)	100 (1/1)	33 (1/3)	11 (1/9)	100 (1/1)	24 (6/25)
Mean	89 (161/182)	97 (127/131)	92 (120/131)	82 (108/132)	55 (68/123)	98 (127/129)	86 (711/828)

* Percentage of animals infected with chiggers (mite-positive animals/total animals examined).

表四 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月田間鼠類恙蟎指數

Table 4. Mean number of chiggers per murine-like animal collected from the field in Kinmen County from August 1999 to June 2000

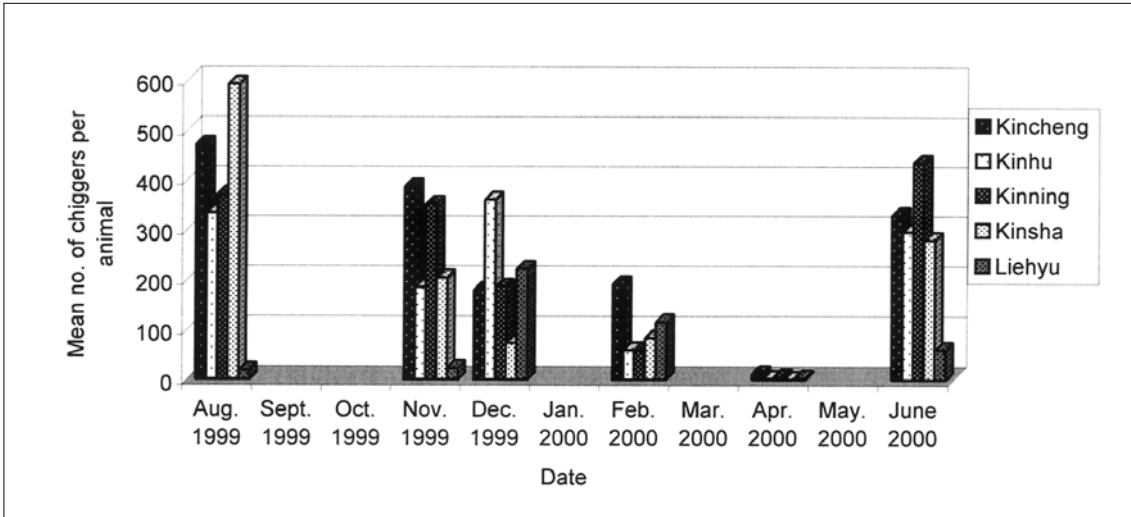
Species	Aug. 1999	Nov. 1999	Dec. 1999	Feb. 2000	Apr. 2000	June 2000	Mean
<i>Rattus flavipectus</i>	412 (70,100/170)*	288 (35,480/123)	192 (24,636/128)	101 (12,378/122)	6 (678/106)	318 (38,168/120)	236 (181,433/769)
<i>Rattus rattus</i>	427 (1,280/3)	262 (523/2)	0 (0/1)	222 (222/1)	-	134 (1,075/8)	207 (3,100/15)
<i>Rattus norvegicus</i>	-	155 (618/4)	17 (17/1)	-	1 (10/8)	-	50 (645/13)
<i>Mus caroli</i>	-	-	-	3 (16/6)	-	-	3 (16/6)
<i>Suncus murinus</i>	4 (33/9)	1 (1/2)	72 (72/1)	167 (500/3)	0 (1/9)	118 (118/1)	29 (725/25)
Mean	392 (71,413/182)	280 (36,622/131)	189 (24,725/131)	99 (13,116/132)	6 (689/123)	305 (39,361/129)	225 (185,926/828)

* Mean no. of chiggers per animal (total number of chiggers/total animals examined).

0.005)，帶蟎率高的鼠種同時有較高的恙蟎指數。調查期間內田間鼠類恙蟎指數以夏季較高(1999 年 8 月及 2000 年 6 月)。大金門四鄉鎮鼠類恙蟎指數之不同月份的趨勢大致相同，8 月最高，但小金門烈嶼鄉 (Lieh-yu) 卻是 8 月及 10 月較低，到 12 月才上昇，顯示恙蟎族群動態與大金門不同 (圖二)。就溫度與恙蟎指數之關係如圖三，顯示恙蟎指數與月平均氣溫有相關性 ($r = 0.73, p = 0.102$)。月降雨量對恙蟎指數則未見明顯影響 (資料未顯示)。在本論文之恙蟎調查的期間金門縣共有 70 個恙蟲病確定病例，病例數與老鼠恙蟎指數亦呈現相關性如圖三 ($r = 0.48, p = 0.33$)。

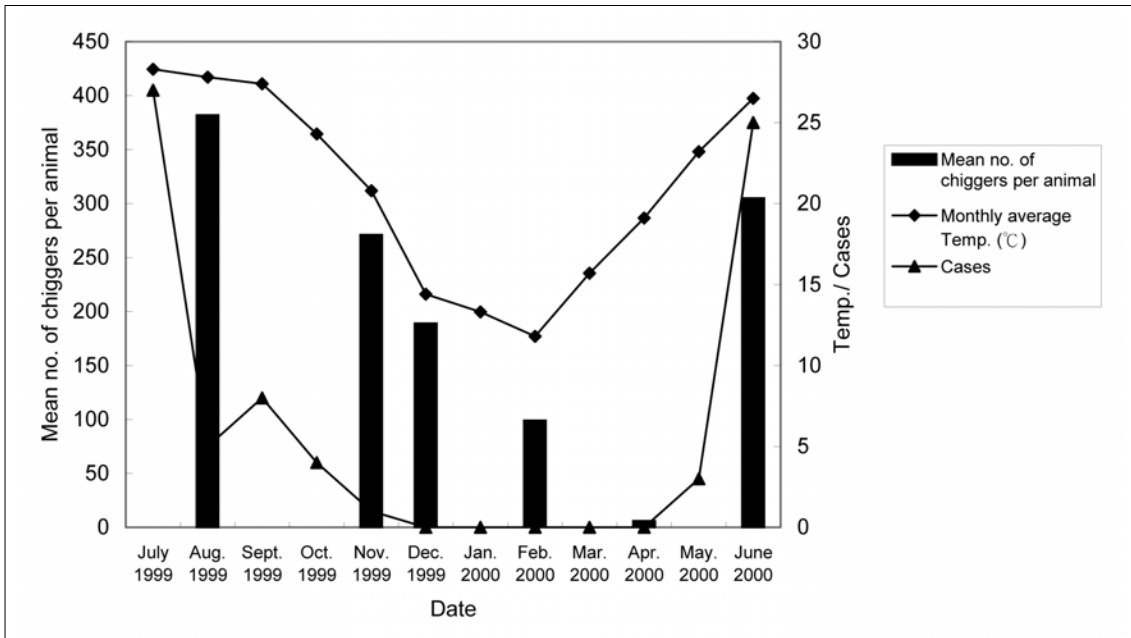
三、金門縣鼠類之恙蟲病立克次菌抗體陽性率

金門縣鼠類血清之恙蟲病立克次菌抗體陽性率如表五，以黃胸鼠最高，全年平均為 96.0%，臭鼩之陽性率偏低只有 7.1%。鼠類之恙蟲病立克次菌抗體陽性率與其帶蟎率 ($r = 0.85, p = 0.071$) 以及恙蟎指數 ($r = 0.71, p = 0.18$) 皆呈現正相關性。調查期間，除 2000 年 4 月陽性率為 82.3% 較低外，其餘月份均在 90% 以上 (表五)。尤其是黃胸鼠的陽性率，在整個調查時間，皆高於 93% 以上，顯示金門地區野鼠中黃胸鼠為恙蟲病立克次菌最主要的自然儲主。小金門野鼠感染率較低與大金門地區有極顯著性差異 ($t = 4.6, p < 0.01$) (資料未顯示)。



圖二 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月各鄉鎮鼠類恙蟎指數

Fig. 2. Mean number of chiggers per murine-like animal in the field collected at different localities in Kinmen County from August 1999 to June 2000.



圖三 金門縣鼠類恙蟎指數與同時期月平均氣溫及恙蟲病例數之關係

Fig. 3. Relationships among the mean number of chiggers per murine-like animal, monthly average temperature, and cases of scrub typhus in Kinmen County.

表五 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月捕獲鼠類血清恙蟲病立克次菌抗體陽性率

Table 5. Antibody-positive rates of the antibody against *Orientia tsutsugamushi* in the sera of murine-like animals collected in Kinmen County from August 1999 to June 2000

Species	Aug. 1999	Nov. 1999	Dec. 1999	Feb. 2000	Apr. 2000	June 2000	Mean
<i>Rattus flavipectus</i>	95.2 (159/167) *	98.4 (122/124)	97.4 (114/117)	94.3 (115/122)	93.3 (99/106)	97.5 (113/120)	96.0 (725/755)
<i>Rattus rattus</i>	80 (4/5)	66.7 (2/3)	0 (0/1)	100 (1/1)	-	75 (6/8)	72.2 (13/18)
<i>Rattus norvegicus</i>	100 (2/2)	100 (5/5)	-	-	25 (2/8)	-	60 (9/15)
<i>Mus caroli</i>	-	-	-	60 (3/5)	-	-	60 (3/5)
<i>Suncus murinus</i>	0 (0/9)	25 (1/4)	-	0 (0/4)	10 (1/10)	0 (0/1)	7.1 (2/28)
Mean	90.2 (165/183)	95.6 (130/136)	96.6 (114/118)	90.2 (119/132)	82.3 (102/124)	95.3 (123/129)	

* Antibody positive rate (positive animals/total animals examined).

表六 金門縣 1999 年 8 月至 2000 年 6 月採集恙蟎種類及數目

Table 6. Chigger mites collected in Kinmen County from August 1999 to June 2000

Date	<i>L. deliense</i>	<i>L. scutellare</i>	<i>Walchia chinensis</i>	<i>L. yui</i>	<i>Odontacarus majesticus</i>	<i>Ascoschoengastia indica</i>	<i>Helenicula</i> sp.	<i>L. imphalum</i>	Total
Aug. 1999	4,216	0	813	1	0	0	0	2	5,032
Nov. 1999	3,792	6	518	6	0	11	9	1	4,343
Dec. 1999	0	3,620	186	1	0	0	0	0	3,807
Feb. 2000	0	3,275	204	3	12	0	0	0	3,494
Apr. 2000	45	161	240	137	37	0	0	0	620
June 2000	3,229	0	587	0	10	5	0	0	3,831
Total	11,282 (53.40)*	7,062 (33.43)	2,548 (12.06)	148 (0.7)	59 (0.28)	16 (0.08)	9 (0.04)	3 (0.01)	21,127

* Individuals (percentage).

四、金門縣恙蟎種類

1999 年 8 月至 2000 年 6 月間共鑑定 21,127 隻恙蟎，其結果如表六，分屬於 5 屬 8 種，包括已知種類 7 種，未知種類 1 種，種類之個體數所佔的比率依序分別為地里恙蟎 (*L. deliense*) : 53.40% ; 小板恙蟎 (*L. scutellare*) : 33.43% ; 中華無前恙蟎 (*Walchia chinensis*) : 12.06% ; 于氏恙蟎 (*L. yui*) : 0.70% ; 巨螯齒恙蟎 (*Odontacarus majes-*

ticus) : 0.28% ; 印度囊棒恙蟎 (*Ascoschoengastia indica*) : 0.08% ; 合輪恙蟎屬一種 (*Helenicula* sp.) : 0.04% 以及英帕恙蟎 (*L. imphalum*) : 0.01%。恙蟎種類於每個月之檢出百分比，地里恙蟎於 4 月開始出現，至 8 月達高峰，12 月則消失，是為金門縣夏季的優勢種；相對地，小板恙蟎在 11 月至 2 月最多，是金門縣冬季優勢種；中華無前恙蟎全年皆可發現，但以夏季密度較高。由於我們採集

表七 金門縣恙蟲之恙蟲病立克次菌最小感染率及血清型

Table 7. Minimum infection rates (MIRs) and serotypes of *Orientia tsutsugamushi* in chigger mites from Kinmen County

Date	<i>L. deliense</i>		<i>L. scutellare</i>		<i>W. chinensis</i>	
	MIR [#]	Serotype	MIR	Serotype	MIR	Serotype
Aug. 1999	4	4 Karp, 2 Gilliam, 3 LA-1	-*	-	8	4 Karp
Nov. 1999	19	32 Karp, 8 LA-1, 5 Gilliam, Kuroki, Kato, Sxh951	-	-	9	4 Karp
Dec. 1999	-	-	6	9 Karp, 7 Gilliam, 2 Kato, Boryong	11	Karp, Gilliam
Feb. 2000	-	-	3	7 Karp, Gilliam	-	-
Apr. 2000	29	-	17	2 Karp, Kato	12	2 Karp, Kato
June 2000	14	22 Karp, 8 Gilliam, 4 LA-1, Boryong, Saitama, Kato, Sxh951	-	-	8	3 Karp, Kato
Total	12	58 Karp, 15 Gilliam, 15 LA-1, 2 Kato, 2 Sxh951, Kuroki, Boryong, Saitama	5	18 Karp, 8 Gilliam, 3 Kato, Boryong	8	14 Karp, 2 Kato, Gilliam

MIR = (no. of positive pools/ no. of chiggers examined) × 1000.

* No mites collected at that time.

之鼠類族群以黃胸鼠為主，不易判斷恙蟲在鼠類寄生之偏好性。至於各鄉鎮之恙蟲族群分析，可見大金門四鄉鎮皆以地里恙蟲數量最多，而小金門烈嶼鄉則是小板恙蟲數量最多。

五、恙蟲感染恙蟲病立克次菌之檢測

表七所示是根據 nested PCR 反應，所得到金門縣各鄉鎮恙蟲之最小感染率 (minimum infection rate, MIR) 及判定其血清型的結果。由恙蟲體內帶恙蟲病立克次菌的情形，明顯表示地里恙蟲為夏季恙蟲病病媒，而小板恙蟲為冬季恙蟲病病媒，中華無前恙蟲雖不叮咬人但仍帶有恙蟲病立克次菌。與恙蟲指數共分析下可見 1999 年 8 月、11 月、12 月及 2000 年 6 月之每隻老鼠身上，至少有一隻恙蟲帶有恙蟲病立克次菌，此結果亦可以用以解釋在這些月份所捕獲老鼠有超過 90% 皆呈

恙蟲病立克次菌抗體陽性反應，以及在 2000 年 4 月份陽性率下降的情況。

地里恙蟲 135 個檢體中，95 個檢體為恙蟲病立克次菌陽性，其血清型類似 Karp, Gilliam 及 Kato 分別為 58、15 及 2 個，而其他 20 個檢體則未能定出型別。後者再經核酸定序，以 NCBI 基因庫做序列比對，有 15 個檢體為類似 LA-1，2 個檢體為類似 Sxh951，分別有 1 個檢體為類似 Kuroki, Boryong 和 Saitama。小板恙蟲 105 個檢體中，30 個檢體為恙蟲病立克次菌陽性，其中類似 Karp, Gilliam 及 Kato 分別為 18、8 及 3 個，1 個檢體為類似 Boryong。中華無前恙蟲 43 個檢體中，17 個檢體為恙蟲病立克次菌陽性，類似 Karp, Kato 及 Gilliam 分別為 14、2 及 1 個。由上述結果可確定金門地區恙蟲所攜帶恙蟲病立克次菌以類似 Karp 最多，

其次為 Gilliam 和 LA-1。至於在月份分佈及恙蟎儲主上並無很大差異 (表七)。

討 論

金門縣為目前台灣地區恙蟲病發病率最高之地區，近幾年確定病例數約佔台灣地區總數之 25~33%，因此五鄉鎮內恙蟎種類、密度及季節消長亟待瞭解，由於金門縣的地理位置與中國福建省接近，所以地形、氣候和環境與福建亦相同，福建亦為恙蟲病的高發病率區域，因此金門縣是研究恙蟎種類的理想地點。雖然金門縣與中國福建省有 50 年隔絕，但小型動物的往返未見得能完全隔絕。根據 Yu *et al.* (2000) 報告福建省有 17 屬 67 種恙蟎，進而再細分閩東南沿海丘陵平原區即有 14 屬 31 種。在本研究所得之 5 屬 8 種恙蟎，即地里恙蟎、小板恙蟎、中華無前恙蟎、于氏恙蟎、巨螯齒恙蟎和印度囊棒恙蟎亦為閩東南沿海丘陵平原所發現的種類。另外在金門縣發現英帕恙蟎只分佈於閩中、閩西南山區，此外在金門採到之合輪恙蟎屬 (*Helenicula*) 一種，其形態雖與 Li *et al.* (1997) 所描述之柯氏合輪恙蟎 (*Helenicula kohlsi*) 接近，但前者之第一足膝節具 3 根剛毛且背剛毛腹剛毛數亦較多，可能為一新種或是亞種。相較於中國大陸東南沿海島嶼之恙蟎種類，鄰近馬祖的平潭島有 3 種 (地里恙蟎、印度囊棒恙蟎和巨螯齒恙蟎)，福建省中部沿海莆田市的南日島有 2 種 (地里恙蟎和巨螯齒恙蟎)，屬廣東省與福建省交界的汕頭市南澳島及南澎列島有 5 種恙蟎 (地里恙蟎、中華無前恙蟎、似太平洋無前恙蟎 (*W. parapacifica*)、太平洋無前恙蟎 (*W. pacifica*) 和巨螯齒恙蟎) (Huang *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000)。以島內之恙蟎種類而言，金門縣的恙

蟎種類相對較多，可能是由於金門島面積較中國大陸東南沿海島嶼大，地形複雜，植被豐富，人口較多之故。

本研究顯示金門縣田間之恙蟎儲主以黃胸鼠為優勢種，其恙蟲病立克次菌抗體陽性率高達 96.0%，且帶蟎率與恙蟎指數亦高。與金門縣鄰近的福建省平潭島，小黃腹鼠為主要鼠種 (64.3%)，其次依序為黃胸鼠、溝鼠及臭鼩，小黃腹鼠之平均帶蟎率為 81.9%，地里恙蟎指數為 43.6 (Wu *et al.*, 2000)，比我們所調查結果為低。廣東省南澎列島面積較小不足 1 km²，溝鼠為優勢鼠種 (95.28%)，次為黃胸鼠，溝鼠帶蟎率及恙蟎指數分別為 91.04% 及 99.03，恙蟲病立克次菌抗體陽性率為 68.1% (Wang *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2001)。這些調查顯示沿海之島嶼，如終年高溫潮溼，鼠患猖獗，形成極佳之恙蟎孳生地，致使其鼠類都帶有極高的帶蟎率及恙蟲病感染率，所有數據皆可見以金門縣為最高。金門縣恙蟲病例發生之月份 (5~11 月) 完全與地里恙蟎出現的月份同步，因此地里恙蟎應為金門縣恙蟲病最主要病媒，此現象與福建省調查結果相同 (Yu *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2000)。

恙蟎體內帶病原之情形的研究上，由於其他恙蟎種類之檢體數太少，本研究僅以三種主要恙蟎進行檢測，結果全年平均值以地里恙蟎最高 (MIR = 12)，與福建省的調查結果 (7) 相似，但中華無前恙蟎 (8) 高於小板恙蟎 (5)，則有異於福建省的調查結果 (分別為 1 及 3) (Yan *et al.*, 1999)。目前雖然尚未能證實中華無前恙蟎可叮咬人，由於它在金門縣高帶原率及分布時期較長，所以在維持恙蟲病的疫源地方面，可能扮演一定的角色。

人之恙蟲病的發生，是由被野外帶病原的恙蟎叮咬，然而就金門縣鼠類恙蟎指數及恙蟎體內恙蟲病立克次菌檢測結果，與同一時期金

門縣恙蟲病確定病例數相比較時，可以發現恙蟲指數與 MIR 之乘積並沒有與病例數呈絕對正相關，顯示有其他影響因子存在，如民眾及軍人的暴露情況、就醫狀況及恙蟲病立克次菌對恙蟲的影響等。雖然金門縣 12 月至 4 月病例很少，但在此期間仍有帶病原之小板恙蟲存在，因此應為該地區黃胸鼠在全年有高感染率的原因之一。

台灣地區恙蟲病立克次菌血清型的型別，早年是藉由恙蟲病患者之血清經免疫學檢測而得，包括 Gilliam, Karp, TA₆₈₆, TA₇₁₆, TA₇₆₃ 及 TH₁₈₁₇ 型 (Shirai *et al.*, 1982; Chen *et al.*, 1995)。Tamura *et al.* (1997) 在 1986 至 1990 年間從蘭嶼、台東成功及澎湖西嶼等地之野外齧齒類及恙蟲中分離出 10 株恙蟲病立克次菌，經由單株抗體間接免疫螢光法及 PCR-RFLP 檢測，發現其中 9 株與日本 Karp 標準株相近但並不相同，可區分為 5 群，相同地有 1 株與日本 Gilliam 標準株相近也不相同。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 (Chen *et al.*, 1999)。本研究發現在金門縣地里恙蟲 95 個檢體結果與早期金門縣恙蟲病患者的血清學檢測多數為 Karp 或 Gilliam 相符 (Chen *et al.*, 1995)。而 Chen *et al.* (1999) 在金門縣恙蟲病患者所分離最多之 TAIWAN-F 型，比較其 DNA 電泳圖譜可能屬於本研究中從地里恙蟲分離之 LA-1。小板恙蟲中，30 個檢體為帶恙蟲病立克次菌，有類似 Karp, Gilliam, Kato 及 Boryong，中華無前恙蟲有帶原者 17 個檢體，檢出率為 39.53%，有類似 Karp, Kato 及 Gilliam。本研究首次報告在台灣地區除地里恙蟲以外之恙蟲亦帶有恙蟲病立克次菌可

為媒介，如小板恙蟲。目前在亞洲地區已有越來越多新的恙蟲病立克次菌被發現 (Ohashi *et al.*, 1996; Enatsu *et al.*, 1999; Tamura *et al.*, 2001; Qiang *et al.*, 2003)，這些新的菌株對人體的抗體表現及致病力影響到疾病診斷，都有待進一步研究。

誌 謝

本研究承行政院衛生署計畫 (計畫編號: DOH90-DC-2016) 補助經費，調查研究期間承行政院衛生署疾病管制局同仁邱鴻英科長、曾丑、高長風、王秀端與金門縣衛生局陳水湖前局長、薛德成科長、陳世和科長及同仁陳存仁、何朝鑫、許珊瑋、李綺敏等協助共同完成，特申謝意。又本稿承蒙兩位審稿委員費心指正及提供寶貴的意見，謹此一併致謝。

引用文獻

- Abram, S. B. 1990. Typhus fever. pp. 479-480. *In*: S. B. Abram, ed. Control of Communicable Diseases in Man. 15th ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Anonymous. 2004. Scrub typhus. pp. 89-93. *In*: Statistics of communicable diseases and surveillance report in Taiwan area, 2002. Center for Disease Control, Department of Health, Taipei (in Chinese).
- Barrie, P. M. 1990. Rickettsial diseases of man and animals. pp. 678-681. *In*: R. S. Geoffrey, and S. F. E. Charles, eds. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. Vol. 3. Edward Ar-

- nold, London.
- Chen, H. L., S. C. Chiu, H. Y. Chen, and G. R. Wang.** 1999. Molecular typing of Taiwanese *Orientia tsutsugamushi* isolates by restriction fragment profile. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 32: 68-72 (in Chinese).
- Chen, H. L., G. J. Shieh, H. Y. Chen, and C. B. Horng.** 1995. Isolation of *Rickettsia tsutsugamushi* from the blood samples of patients in Taiwan. *J. Formos. Med. Assoc.* 94: S112-S119 (in Chinese).
- 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.
- 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.
- 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.
- Huang, J., S. Wang, and S. Zhu.** 2001. The community composition and distribution of murine-like animals and their ectoparasites on Nanao and Nanpenglie islands. *Chinese J. Vector Biol. Control* 12: 177-181 (in Chinese).
- Huang, Z. S., H. B. Guo, K. L. Liu, L. H. Wang, H. Lin, M. Liu, and G. H. Wu.** 1998. Studies on epidemiology of tsutsugamushi disease in Nanryh islands. *Chinese J. Zoonoses* 14: 77-78 (in Chinese).
- 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.
- Li, J. C., D. Q. Wang, and X. B. Chen.** 1997. Trombiculid Mites of China: Studies on Vector and Pathogen of

- Tsutsugamushi Disease. Guangdong Science and Technology Publishing Company, Guangzhou, China. 570 pp (in Chinese).
- 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 deliense*, the vector of scrub typhus in the Pescadores. Acta Med. Biol. 15(Suppl): 27-31.
- 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. Urakami, 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.
- 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.
- 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.
- 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 epi-

- tope. *Infect. Immun.* 58: 2076-2084.
- Tamura, A., N. Ohashi, Y. Koyama, M. Fukuhara, F. Kawamori, M. Otsuru, P. F. Wu, and S. Y. Lin.** 1997. Characterization of *Orientia tsutsugamushi* isolated in Taiwan by immunofluorescence and restriction fragment length polymorphism analyses. *FEMS Microbiol. Lett.* 150: 225-231.
- 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.
- Traub, R., and C. L. Wisseman, Jr.** 1974. The ecology of chigger-borne rickettsiosis (scrub typhus). *J. Med. Entomol.* 11: 237-303.
- 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.
- 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.
- Wu, G. H., H. B. Guo, and M. M. Yu.** 2000. Studies on three types of natural foci of tsutsugamushi disease in eastern part of China. *Chinese J. Epidemiol.* 21: 34-36 (in Chinese).
- Yan, Y. S., J. Zheng, L. Cheng, H. R. Liao, and E. S. Yu.** 1999. Detection of *Orientia tsutsugamushi* in chigger mites collected in Fujian coastal and mountain areas in recent years. *Chinese J. Zoonoses* 15: 46-48 (in Chinese).
- Yu, E. S., X. R. Chen, G. H. Wu, and H. B. Guo.** 2000. Studies on Tsutsugamushi Disease in China. Asian Medical Publishing Company, Hong Kong. 229 pp (in Chinese).
- Yu, E. S., and G. H. Wu.** 1995. Epidemiological types of tsutsugamushi disease in China. *Chinese J. Zoonoses* 11: 16-19 (in Chinese).

收件日期：2004年09月09日

接受日期：2004年09月26日

Studies on the Vectors and Pathogens of Scrub Typhus on Murine-like Animals in Kinmen County, Taiwan

Hsi-Chieh Wang, Chao-Lin Chung, Ting-Hsiang Lin Center for Disease Control, Department of Health, Nankang, Taipei 115, Taiwan

Chung-Hsiung Wang, Wen-Jer Wu* Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan

ABSTRACT

Five species of murine-like animals were obtained in five towns of Kinmen County, Taiwan from August 1999 to June 2000. Four species were members of the Muridae of the Rodentia, *Rattus flavipectus*, *R. rattus*, *R. norvegicus* and *Mus caroli*, and one species was of the Soricidae of the Insectivora, *Suncus murinus*. The total capture rate of murine-like animals was 28.11%. Among these specimens, *R. flavipectus* was dominant, representing 91.67% of the collected animals, followed by *S. murinus* (3.57%). The percentage of animals infected with chiggers ranged from 55% to a peak of 98%, while the mean number of chiggers per animal ranged from six to 382. Our study showed that the seasonal variation in the mean number of chiggers per animal was slightly correlated with the seasonal incidence of human infection. Except for April 2000, the seropositive rates of these animals against *Orientia tsutsugamushi* exceeded 90% in each survey. Eight species of chiggers were identified, including *Leptotrombidium deliense* (53.40%), *L. scutellare* (33.43%), *Walchia chinensis* (12.06%), *L. yui* (0.70%), *Odontacarus majesticus* (0.28%), *Ascospoengastia indica* (0.08%), *Helenicula* sp. (0.04%), and *L. imphalum* (0.01%). Our survey showed that *L. deliense* appeared from April to November, with a peak occurring in August, whereas *L. scutellare* appeared from November to April, with a peak occurring in December. *Walchia chinensis* occurred throughout the year, but was more abundant in summer. The state of *O. tsutsugamushi* infection was demonstrated by the minimum infection rate (MIR). The MIRs of *L. deliense* and *L. scutellare* were 12 and 5, respectively. These results indicate that *L. deliense* may be the vector in summer, while *L. scutellare* may transmit disease in winter. *Walchia chinensis* has not been reported to bite humans, but it was found to harbor *O. tsutsugamushi* with an MIR of 8, and it may transmit rickettsia among animal reservoirs. In this study, the nested polymerase chain reaction (nested-PCR) was followed by digestion with the restriction enzymes *HhaI* and *SfaNI*, to classify serotypes of *O. tsutsugamushi*. We found that Karp and Gilliam were dominant, but that other different local strains already exist.

Key words: scrub typhus, chigger mites, nested polymerase chain reaction, *Orientia tsutsugamushi* serotypes, murine-like animal reservoirs