

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-000108

衛生福利部疾病管制署 107 年委託科技研究計畫

計畫名稱：特殊寄生蟲感染之檢驗及監測

年度研究報告

執行機構：疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：李淑英主任

協同計畫主持人：

研究人員：許世芬、盧欣嶸、林子琦

執行期間： 107 年 01 月 01 日至 107 年 12 月 31 日

\*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意

## 目 錄

目次	頁碼
壹、摘要.....	(5)
貳、本文	
一、前言.....	(7)
二、材料與方法.....	(10)
三、結果.....	(15)
四、討論.....	(19)
五、結論與建議.....	(20)
六、重要研究成果及具體建議.....	(21)
七、參考文獻.....	(21)
八、圖表.....	(22)

圖次	頁碼
圖一、針對福式內格里阿米巴 ( <i>N. fowleri</i> ) 純化其核酸.....	(22)
圖二、福式內格里阿米巴 ( <i>N. fowleri</i> ) 質體製作之酵素作用圖示.....	(23)
圖三、福式內格里阿米巴 ( <i>N. fowleri</i> ) 質體製作之 Colony PCR.....	(23)
圖四、福式內格里阿米巴 ( <i>N. fowleri</i> ) 質體純化後效能驗證.....	(24)
圖五、弓形蟲之 B1 基因進行陽性確認.....	(24)
圖六、以弓形蟲特殊分型基因 SAG-2gene 進行弓形蟲分型結果.....	(25)
圖七、以限制酶 <i>Sau3AI</i> 進行分型實驗結果.....	(25)
圖八、瘧原蟲以 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR) 檢測實驗結果.....	(26)

表次	頁碼
表一、痢疾阿米巴送檢人數百分比.....	(27)
表二、痢疾阿米巴陽性於各族群送檢數百分比.....	(27)
表三、以各分區管制中心轄下送檢之痢疾阿米巴陽性百分比.....	(28)
表四、非痢疾阿米巴鏡檢結果百分比.....	(29)

## 計畫中文摘要

全球性的新興與再浮現傳染性寄生蟲病發生率逐年上升且成長迅速；除此之外，由於人類與動物之間的頻繁接觸與野生環境的開發，人畜共通寄生蟲傳染病也有增加的趨勢。另一方面由於全球暖化之影響，使得許多蟲媒及被忽略之熱帶傳染寄生蟲病的流行加劇，這些資源較缺乏之國家或發展中的國家地區性的流行的寄生蟲傳染病有逐漸蔓延至其他國家之趨勢。例如，許多國家瘧疾的再現和境外移入以及隱孢子蟲病在新興高危族群中的爆發強調了檢測寄生蟲病的重要性。本計畫擬發展高效率且準確的寄生蟲感染病原體方法，之協助監測與防範流行。

本計畫執行重點包括：(一) 建立寄生蟲感染源監測網路：建立良好之傳染病通報網路，以即時監測疾病之流行情況包含法定與非法定寄生蟲傳染病；(二) 未知或新興寄生蟲檢驗技術與檢測平台之開發：包括分子生物學之診斷工具，如：巢式 PCR、即時定量 PCR、恆溫式圈環形核酸增幅法、快篩與病原體之培養等，透過適當地擷取各種技術之優點，建立偵測病原的檢測方法，包括未知病原的檢測；(三) 建立病原體防疫資料庫：進行陽性個案之病原體基因序列分析，以基因演化樹分析法，區別蟲株之間差異性與是否屬於人畜共通傳染病源；(四) 評估新式瘧疾檢驗方法之確效與現行方法差異比較：現行瘧原蟲採取巢式 PCR 作為分子生物檢測方法，本計畫蒐集市售瘧原蟲商業化套組或借鏡他國實驗室之檢測方法與現行方法進行比對，以作為未來精進檢測方法之參考。

透過上述要項之執行，本計畫以即時鑑定法定傳染病原體、發現新興病原體為短期目標，以強化防疫時效並且減少社會衝擊。未來希望擴大國內實驗室檢驗量能並與他國建立共同合作關係，期於未來面對疫病之流行時，可成為主動協助者。

關鍵詞：新興/再浮現傳染病、寄生蟲感染症、被忽略之熱帶疾病

計畫英文摘要：

The global incidence of emerging and re-emerging parasitic diseases has increased year by year at an unprecedented speed. In addition, due to the frequent contact between humans and animals and the development of the wildlife habitats, the zoonotic parasitic diseases have also increased. In addition, due to global warming, the spread of many vector-borne and neglected tropical parasitic diseases has intensified, and these parasitic diseases are gradually spreading from endemic resource poor countries to other countries. For example, the resurgence and importation of malaria in many countries and outbreaks of cryptosporidiosis in targeted high risk groups have underscored the importance of detection of parasitic diseases. The project intends to develop highly efficient and accurate detection methods for clinically important and emerging parasites to assist in monitoring and prevention of epidemics.

The aims of this project include: (1) Establishing a monitoring network for parasitic infections, establishing a good infectious disease notification network to monitor the epidemic situation in a timely manner, including reportable and emerging parasitic infections; (2) Development of an emerging parasite testing technology and detection platform: including diagnostic tools for molecular biology, such as nested PCR, real-time quantitative PCR, Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP), rapid test and pathogen culture, etc., Establish detection algorithm through integrating various technologies; (3) Establish a parasite gene database for epidemic prevention: sequence comparison and phylogenetic analysis of pathogens; (4) Compare the effectiveness of various new malaria test methods and commercially available malaria test kits.

Our short-term goal is to diagnose parasites infection and discover the emerging parasitic infections to assist disease prevention as well as reduce the social impact. In the long run, we hope to promote our techniques to domestic network and cooperate with other countries and play a more constructive role in the global health.

Keywords: emerging/recurring infectious diseases, parasitic infections, neglected tropical diseases

## 一、前言

全球化的過程使國際貿易、海外旅遊與居住者遷徙的頻率顯著增加，而這些因子對於新興與再浮現傳染性疾病的傳播，扮演了一個相當重要的角色。在 21 世紀，這些全球性的傳染性疾病，不僅發生率增加且預料之外地速度迅速成長；除此之外，由於人類與動物之間的頻繁接觸與野生環境的開發，因此與新興與再浮現傳染性疾病中人類與野生動物間傳播的人畜共通傳染病也佔有相當大的比例。新興與再浮現傳染病的流行，可歸因於多種社會的不同的層面，如：公共衛生、醫療體系、外在環境、動物健康、食品安全、公共政策等多個層面，而這些是相當重要且需要受到重視的，其中醫療體系與外在環境則是傳染病預防體系中之著力標的。

根據美國國家衛生研究院其將新興與再浮現傳染病分成三大部分，第一類為近 20 年來被新鑑定之傳染性疾病、第二類則涵蓋再浮現之傳染病，第三大類包含可利用於生物恐怖攻擊潛在威脅之傳染性疾病，而第三大類傳染病中更列出許多被忽略之熱帶疾病 (NTD) 的病原體。被忽略之熱帶疾病在過去一直都被視為防疫上之死角，其在社會中、國際上都是一個被長期忽略的部分，但在一些資源較缺乏之國家或發展中的國家，仍造成地區性的流行；另一方面由於全球化與全球暖化之影響，使得被忽略之熱帶疾病有逐漸蔓延至其他國家之趨勢，因此對於被忽略之熱帶疾病的流行預防，是未來的防疫重要目標之一。以下則以被忽略熱帶疾病之常見寄生蟲感染分別論述之：

由痢疾阿米巴原蟲 (*E. histolytica*) 所引起的疾病，主要寄生於腸道，偶爾會伺機穿過腸道黏膜侵入身體其他器官；主要引發下痢腸炎，嚴重者有肝膿瘍的發生。痢疾阿米巴生活史主要有囊體及活動體 (trophozoite) 兩種階段，其傳染途徑為糞口傳染。全球每年估計有五億人感染過阿米巴痢疾，導致十萬人死亡，世界衛生組織將之列為極重要之熱帶腸道寄生蟲傳染病。雖然有些人感染 *E. histolytica* 沒有症狀，但仍可能侵入黏膜，造成潰瘍或膿瘍，而感染 *E. dispar* 的人則不會，因此 WHO 建議只對 *E. histolytica* 的病人加以治療，因此正確診斷 *E. histolytica* 感染非常重要，影響後續 amoebiasis 的投藥治療策略。

梨形鞭毛蟲症 (Giardiasis) 是由 *G. lamblia* 所引起，分布遍及全世界，是人類腸道最常見的鞭毛蟲，為有四對鞭毛雙側對稱狀似梨形的原蟲。成熟的囊體 (cyst)，會隨糞

便排出體外，可在水中存活數月。人類多飲用受囊體污染的水源及食物而發病，人跟人之間也可能經由糞口接觸而傳播，感染後多無症狀，有些人會出現漸發性腹瀉，症狀可分急性或慢性、持續性或間歇性，亦可出現腹痛、嘔吐、厭食、疲倦及體重減輕等症狀，病人多數會自然痊癒，但有些會演變成慢性感染。由於 *G. lamblia* 有許多型別，在形態學上很難區分，亦缺乏其對疾病重要性的資訊。因此需建立適合的基因分型技術來區分其種類及型別，並用資料庫來分析在我國的盛行率與流行學分佈。

隱孢子蟲症 (Cryptosporidiosis) 主要由小隱孢子蟲 (*Cryptosporidium parvum*) 及人隱孢子蟲 (*Cryptosporidium hominis*) 所引起，孢子蟲經口食入，入侵小腸發育為滋養體，造成慢性腹瀉，屬世界性分佈的人畜共通傳染病。正常人感染多為自限性腹瀉，但 HIV/AIDS 患者表現多為慢性非自限性腹瀉，病程長可達數月，嚴重者可因脫水及營養不良而致病。檢查方法以傳統糞便抗酸染色及 safarin-methylene blue 染色鏡檢卵囊體，亦可以 PCR 診斷糞便中的隱孢子蟲。

弓形蟲感染症為第四類法定傳染病，而人類感染弓形蟲可區分為後天性與先天性感染。於美國有超過 6 千萬名民眾感染該疾病，先天性弓形蟲感染大多是孕婦懷孕過程中第一次感染弓形蟲，弓形蟲經由胎盤傳染給胎兒。曾有報告國外的弓形蟲感染率約是每 1000 名活產兒有 1~5 名發生感染，但受感染的嬰兒只有 20% 會出現臨床症狀。國內健康捐血者調查血液中弓形蟲抗體發現感染率大約是 10% 左右[2]。有關懷孕婦女經調查發現有 30% 的婦女感染該疾病後，產生可以保護胎兒不被感染的抗體，無保護抗體的懷孕婦女可能面對如胎兒死亡和先天畸形的可能性風險發生。是以，弓形蟲感染對於正懷孕之婦女民眾為具有威脅性之疾病之一，本計畫針對弓形蟲感染之高風險族群(如懷孕婦女、免疫缺陷疾患等)持續進行疾病監測要務，以期瞭解可能之感染途徑與族群，作為未來防疫政策擬訂與疾病相關領域之研究參考。

環孢子蟲病 (cyclosporiasis) 由環孢子蟲 (*Cyclospora cayetanensis*) 感染所引起，為人類重要新興致病原之一。於 2015 年 9 月在美國境內計 23 州爆發大規模環孢子蟲感染事件，計有 540 餘人感染造成不適症狀。該病原可經由飲水或食物等途徑傳播給人，於免疫力正常個體造成急性腹瀉，而對免疫缺損患者會引發更嚴重之病症，甚至危及生命，現已成為「旅遊者腹瀉」的重要致病原之一，並造成威脅全球人類健康的一大問題。本



計畫參考國外發表專一且敏感之先進分子生物偵測方法，藉由蒐集可疑檢體進行分析檢測，找尋如環孢子蟲等可能造成國人健康威脅之病原[3]，以降低國民感染該疾病之風險存在。

棘阿米巴感染症由棘阿米巴原蟲 (*Acanthamoeba spp.*) 感染所引起，為一種廣泛存於自然界中之自營性微生物。他們可存在於受污染的土壤、粉塵、空氣或水源等環境[4]，也曾於蔬菜、部分動物(如魚類、兩棲類、狗、猴與鳥類)、人類肺部分泌物與糞便等處發現該病原。棘阿米巴原蟲感染為罕見且嚴重之疾病，感染眼睛將造成角膜炎 (*Acanthamoeba Keratitis*)、感染腦部及脊椎造成肉牙腫性阿米巴腦 (*Acanthamoeba Granulomatous Amebic Encephalitis, AGAE*)，另外也可能經由皮膚上的傷口或鼻孔進入人體，由血流造成肺部與其他部位的感染 (*Disseminated infection*)。AGAE 高危險群為免疫不全或有慢性病，如器官或組織移植、類固醇或大量使用抗生素者、糖尿病、癌症、血球功能異常、肝硬化或狼瘡個案，AGAE 之症狀包含頭痛、頸部僵硬、噁心、嘔吐、意識混亂、喪失平衡感、幻覺、抽搐等，死亡率極高。而棘阿米巴角膜炎個案通常為免疫功能正常者，最常發生於配戴隱形眼鏡者，使用隱形眼鏡衛生習慣不良、配戴隱形眼鏡游泳/淋浴/泡澡、角膜損傷病史及接觸受污染的水為感染高危險群，亦值得深入調查。

瘧疾 (*Malaria*) 為經瘧蚊叮咬而感染瘧原蟲寄生於人體紅血球或經輸入帶瘧原蟲者的血液而感染的蟲媒疾病。臨床以週期性寒顫、發熱、頭痛、出汗和貧血、脾腫大為特徵。該疾病感染之嚴重程度與瘧原蟲破壞紅血球的程度成正相關。臨床症狀發作時，依序出現惡寒、高燒、出汗三個典型階段，疾病發作間隔時間以各種瘧原蟲在人體血液內進行之無性分裂之生殖週期而定，間日瘧及卵形瘧均為 48 小時、三日瘧為 72 小時、惡性瘧則不規則。感染之症狀又以惡性瘧最嚴重，一旦診斷確定後必須馬上治療。至於間日瘧、三日瘧、卵形瘧則較不具致命性，但仍絲毫不能鬆懈。即時檢驗瘧原蟲存在與否提供防疫人員採取必要作為是刻不容緩的任務。

福氏內格里阿米巴原蟲 (*Naegleria fowleri*) 喜好溫暖環境，能生存於溫熱環境中，在高溫下也可短暫存活。淡水湖泊及河川、溫泉水、工廠排出的溫水、飲用溫泉水、含氣量不足的游泳池水、熱水器及土壤中都可發現其蹤跡，而含鹽量較高的海水尚未有檢出案例。在消毒良好的游泳池中不易感染福氏內格里阿米巴原蟲。人類可能在自然水域

活動時，將病原體吸入鼻腔，並沿著嗅覺神經進入腦部而發病 (primary amebic meningoencephalitis, PAM)[5]。該疾病潛伏期約 1 至 7 天，發病後病程進展快速，初期症狀為頭痛、發燒、噁心、嘔吐，之後出現頸部僵硬、抽搐、意識變化、譫妄、昏迷等腦炎症狀，發病後死亡率約 99%。雖然福氏內格里阿米巴原蟲感染是一種罕見的疾病，但感染後病程惡化迅速且死亡率極高，故目前亟需推行該原蟲之監測任務為要。

面對此類之新興傳染病時，除能快速偵測比對病原體、瞭解其可能的感染源、疾病的流行趨勢及協助疫情調查外，還可獲取更多生物資訊以增進對該病原的瞭解及認識，作為未來防疫政策擬訂及相關疾病研究的重要參考。

## 二、材料與方法

### (一) 建立寄生蟲感染源監測網絡：

#### 1、檢體來源：

國內醫院病例通報收集之新鮮糞便檢體、弓形蟲陽性個案之血液檢體或特殊檢體來源。截至本(107)年 10 月 15 日，檢體件數累積為 4,297 件，已達年度規範之 4,200 件。

#### 2、檢體處理及保存：

##### (1) DNA 萃取：

- i. 將檢體與 guanidine thiocyanate (GIT)溶液混合均勻，置於控溫震盪加熱器 95°C 加熱 30 分鐘。
- ii. 冷卻至室溫，置於高速離心機以 13,000 rpm 離心 3 分鐘。
- iii. 移取 250 µl 上清液至檢體槽(Sample Cartridge)。
- iv. 將檢體槽置入核酸萃取器(MagNA Pure LC)進行 DNA 萃取。
- v. 檢體 DNA 最後溶於 100 µl 萃取緩衝液(Elution Buffer)。
- vi. 移取檢體 DNA 至 1.5 mL 離心管，置於 4°C 冰箱冷藏保存。

#### 3、弓形蟲、隱孢子蟲、痢疾阿米巴、梨形鞭毛蟲與環孢子蟲等食媒性寄生蟲之盛行率調查：

(1) Nested PCR 檢測系統：

<i>Giardia spp.</i>	G7	AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC
	G759	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC
	GiarF	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG
	GiarR	CTCGACGAGCTTCGTGTT
<i>Entamoeba spp.</i>	uEnta-1	AGCGAAAGCATTTTACTCA
	uEnta-2	ATTCACCTCTTTATTCAATCG
<i>Cryptosporidium</i>	Crypto_outF	ATA GTC TCC GCT GTA TTC
	Crypto_outR	GCA GAG GAA CCA GCA TC
	Crypto_inF	TCC GCT GTA TTC TCA GCC
	Crypto_inR	GAG ATA TAT CTT GGT GCG
<i>Toxoplasma gondii</i>	Outter-F	CCTTTGAATCCCAAGCAAACATGAG
	Outter-R	GCGAGCCAAGACATCCATTGCTGA
	Inner-F	GTGATAGTATCGAAAGGTAT
	Inner-R	ACTCTCTCTCAAATGTTTCCT
<i>Cyclospora spp.</i>	CCITS2-F	GCAGTCACAGGAGGCATATATCC
	CCITS2-R	ATGAGAGACCTCACAGCCAAAC

分析核酸序列時，用 TopTaq Master Mix Kit 進行 nested PCR 反應：5  $\mu$ l template DNA，12.5  $\mu$ l TopTaq master mix，1  $\mu$ l outer forward primer，1  $\mu$ l outer reverse primer，2.5  $\mu$ l coralload concentrate 及 3  $\mu$ l RNase-free water，最終體積為 25  $\mu$ l，進行第 1 次 PCR 反應。94 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘後，進行 35 個循環，每個循環為 denature 94 $^{\circ}$ C 30 秒；annealing 50 $^{\circ}$ C 30 秒以及 extension 72 $^{\circ}$ C 1 分鐘。第 2 次 PCR 反應：2  $\mu$ l template DNA，12.5  $\mu$ l TopTaq master mix，1  $\mu$ l inner forward primer，1  $\mu$ l inner reverse primer，2.5  $\mu$ l coralload concentrate 及 6  $\mu$ l RNase-free water，最終體積為 25  $\mu$ l。94 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘後，進行 35 個循環，每個循環為 denature 94 $^{\circ}$ C 30 秒；annealing 54 $^{\circ}$ C 30 秒以及 extension 72 $^{\circ}$ C 1 分鐘。

(2) Real-time PCR 檢測系統：

- i. 針對弓形蟲的 B1 及 RE 基因設計引子 (primer) 與探針及條件如下：

<i>Toxoplasma gondii</i> B1 gene	Toxo-B1F	GGAGGACTGGCAACCTGGTGTCTG
	Toxo-B1R	TTGTTTCACCCGGACCGTTTAGCAG
	Toxo-B1 probe	YAK-CGGAAATAGAAAGCCATGAGGCACTCC
<i>Toxoplasma gondii</i> RE gene	Toxo-REF	AGGCGAGGGTGAGGATGA
	Toxo-RER	TCGTCTCGTCTGGATCGAAT
	Toxo-RE probe	FAM-GCCGGAAACATCTTCTCCCTCTCC

ii. *Entamoeba histolytica/dispar* 基因設計引子 (primer) 與探針及條件如下：

<i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> SSU-rDNA	EntaTaq-L	GGACACATTTCAATTGTCCTA
	EntaTaq-R	CATCACAGACCTGTTATTGCTG
<i>E. histolytica/dispar</i> differentiation	EntaTaq1463H	YAK-TGTAGTTATCTAATTTTCGGTTAGACC
	EntaTaq1465D	FAM-TGTTAGTTATCTAATTTTCGATTAGAACTC

Real-time PCR 反應總體積為 25  $\mu$ l，其組成內容物分別為：5  $\mu$ l DNA template，12.5  $\mu$ l KAPA SYBR FAST qPCR master mix，6.5  $\mu$ l PCR-grade water，10mM 0.5  $\mu$ l forward primer 及 10mM 0.5  $\mu$ l reverse primer。PCR 增幅條件，先以 95 $^{\circ}$ C 反應 3 分鐘後，另以 95 $^{\circ}$ C 反應 1 分鐘、55 $^{\circ}$ C 反應 20 秒、72 $^{\circ}$ C 反應 30 秒，進行 40 次循環，並在每次循環結束後偵測螢光訊號。

4、弓形蟲檢測-抗體檢測部分：利用生物梅里埃(BioMerieux)出品之 Vidas® (Toxo IgM、IgG 與 IgG avidity kit 進行測定。檢體前處理：將不含有抗凝劑之血清檢體分裝於冷凍保存管，以冷凍標籤依序標示。

(1) 實驗流程包括弓形蟲抗體檢測部分。實驗步驟如下：

將檢體放入離心機中離心 (3,000 rpm、10 min)。從冰箱試劑盒中取出一個試劑條 (strip) 及一支 SPR。取 100  $\mu$ L 檢體加入試劑條置入 biomerieux 公司出產 miniVIDAS® 機器之第一個檢體置放位置 (IgG 親和力測試需進行稀釋後再測試)；選擇一個測試室狀況為「Available」可進行新檢體分析的測試室 (例如 Section A) 作為測試檢體之用，將測試室灰色門往上打開，小心平緩的沿著凹槽將試劑條推入最底部；打開 SPR 置放管外門，比照先前試劑條放置位置將 SPR 放入 SPR 置放槽內；依所放置檢體之測

試室，按【Start】鍵開始工作鍵；待測試完成後，儀器會自動列印報告，顯示結果；將使用過之試藥條及 SPR 丟棄，並將報告黏貼於檢驗單上後將報告發出。

(二) 未知或新興寄生蟲檢驗技術與檢測平台之開發：

包括即時定量 PCR 檢測系統 (real-time PCR)、multiplex PCR、分生檢測等，建立可同時偵測多種病原與快速且有效率的監測方式，包括未知病原的檢測，以即時、有效達到新興傳染病監測及檢驗研究之目的。

1、建置 Real-time PCR 檢測系統：

針對特定病原進行初步篩檢，本計畫建立 real-time PCR panel，針對造成腹瀉之寄生蟲病原體進行偵測。本實驗收集已發表的報告之引子及探針序列，進行 real-time PCR 偵測。目前可偵測病原包括：*Toxoplasma gondii*、*Entamoeba histolytica*。實驗流程包括樣品核酸萃取與 real-time PCR 反應與結果分析。實驗步驟如下：

(1) 核酸純化：

將已處理之檢體，置於控溫震盪加熱器 95°C 加熱 30 分鐘。冷卻至室溫，置於高速離心機以 13,000 rpm 離心 3 分鐘，移取 250 µl 上清液至檢體槽 (Sample Cartridge)。將檢體槽置入核酸萃取器 (MagNA Pure LC) 進行 DNA 萃取。檢體 DNA 最後回溶於 100 µl 萃取緩衝液 (Elution Buffer)；移取檢體 DNA 至 1.5mL 離心管，置於 4°C 冰箱冷藏保存。

(2) Real-time PCR 反應：

Real-time PCR 反應總體積為 25 µl，其組成內容物分別為：DNA template (5 µl)，KAPA SYBR FAST qPCR master mix (12.5 µl)，PCR-grade water (6.5 µl)，forward primer (0.5 µl) 及 reverse primer (0.5 µl)。PCR 增幅條件先予以 95°C 3 分鐘後，另以 95°C 1 分鐘、55°C 20 秒、72°C 30 秒，進行 40 次反應，最後在 72°C 作用 5 分鐘。

(三) 建立病原體防疫資料庫：

弓形蟲、隱孢子蟲、梨形鞭毛蟲與環孢子蟲等食媒性寄生蟲等蟲株型別分析與流行病學分析，將針對可鑑別以上蟲株型別之基因設計引子對，進行 PCR 及基因定序，分析各種寄生蟲蟲株型別的差異。

1. 弓形蟲 SAG2 locus 實驗步驟：

(1) 針對弓形蟲分型用之 5'端 SAG2 基因採用巢式 PCR(Nested PCR)方式進行檢測，其專一性引子(primer)如下：

5'SAG2 primary PCR	SAG2.F4	5'-GAC CTC GAA CAG GAA CAC-3'
	SAG2.R4	5'-GCA TCA ACA GTC TTC GTT GC-3'
5'SAG2 secondary PCR	SAG2.F	5'-GAA ATG TTT CAG GTT GCT GC-3'
	SAG2R2	5'-GCA AGA GCG AAC TTG AAC AC-3'

(2) 分析核酸序列時，用 TopTaq Master Mix Kit 進行 nested PCR 反應：2 $\mu$ l template DNA，10 $\mu$ l TopTaq master mix，1 $\mu$ l outer forward primer，1 $\mu$ l outer reverse primer，2 $\mu$ l coralload concentrate 及 4 $\mu$ l RNase-free water，最終體積為 20 $\mu$ l。進行第 1 次 PCR 反應：94 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘後，進行 40 個循環，每個循環為 denature 94 $^{\circ}$ C 30 秒；annealing 61 $^{\circ}$ C 30 秒以及 extension 72 $^{\circ}$ C 1 分鐘。第 2 次 PCR 反應：1 $\mu$ l template 第一階段產物，10 $\mu$ l TopTaq master mix，1 $\mu$ l inner forward primer，1  $\mu$ l inner reverse primer，2 $\mu$ l coralload concentrate 及 5 $\mu$ l RNase-free water，最終體積為 20 $\mu$ l。94 $^{\circ}$ C 加熱 5 分鐘後，進行 40 個循環，每個循環為 denature 94 $^{\circ}$ C 30 秒；annealing 61 $^{\circ}$ C 30 秒以及 extension 72 $^{\circ}$ C 1 分鐘。

2. 弓形蟲分型，敘述如下：

(1) 本計畫採取以限制酶 Sau3AI 進行 RFLP 方法進行[6]：nested PCR 之產物 1 $\mu$ l，限制酶 1 $\mu$ l，限制酶專用 buffer 5 $\mu$ l，RNase-free water 3 $\mu$ l，最終體積 10 $\mu$ l，以 37 $^{\circ}$ C 環境下作用 1 小時，進行 agarose gel electrophoresis (2%)。

(四) 評估新式瘧疾檢驗方法之確效與現行方法差異比較：

1. 參考國外學者 Chua et al 於 2016 年發表在 Malaria Journal 之文獻[7]，建立新式瘧原蟲檢測方法。利用 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)之

方法搭配本署建置之機器：POCKIT™.進行瘧原蟲 (*Plasmodium spp*) 檢測。本檢測系統分析之檢體為病人之新鮮血液檢體，並經過核酸純化程序。之後針對瘧原蟲之 18S small subunit rRNA (SSU rRNA)分析特異性序列產物之有無，進而判定 5 種瘧原蟲 (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. knowlesi*, *P. malariae*, *P. ovale*) 之存在與否。

2. 瘧原蟲利用 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)檢測系統使用之引子如下：

Category	Primer pairs
<b>Isoplasmo probe</b>	FAM 5'-TCC TAC TCT TGT CTT AAA CTA-3' MGB-NFQ
<b>Isothermo (F)</b>	5'-CGG AAG GGC ACC ACC AG-3'
<b>Isothermo (R)</b>	5'-TCA CCA TCC AAG AAA TCA AGA AAG-3'

分析核酸序列時，利用 Master Mix Kit 進行 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)反應：1 µl template DNA，25 µl iTaq™ Universal Probes Supermix (廠牌：Bio rad)，5 µl forward primer，5 µl reverse primer，2.5 µl FAM probe 及 11.5 µl RNase-free water，最終體積為 50 µl。之後將待反應物置於 R-tubes™(廠牌：GeneReach)放入本署建置之 POCKIT™機器中，反應完成後即有結果產出。

### 三、結果：

#### (一) 建立寄生蟲感染源監測網絡：

1. 寄生蟲法定傳染病部分，截至本(107)年 10 月 15 日，檢體件數累積為 4,297 件，已達年度規範之 4,200 件，分述如下：

- (1) 弓形蟲感染症：本年度截至 10 月 15 日止，合計檢測 76 人，檢測結果如下：

- i. 弓形蟲即時定量 PCR 檢測：檢體種類包含血液(76 件)、CSF(6 件)、腦組織、羊水各 1 件。4 例陽性檢體，陽性率為 5.2% (4/76)。
- ii. 弓形蟲血清抗體：檢測 76 人中，血清綜合研判陽性 10 人，陽性率為 13.1% (10/76)。

- (2) 痢疾阿米巴部分：

- i. 阿米巴原蟲即時定量 PCR 檢測：至本年 10 月 15 日止，本年合計 682

人接受即時定量 PCR 檢測(如表一)，檢體種類包含糞便、膿瘍等，陽性率 60% (408/682)，包含痢疾阿米巴與迪斯帕阿米巴(*Entamoeba histolytica*/*E. dispar*)。其中痢疾阿米巴之總陽性率為 28.9% (197/682)，非致病性迪斯帕阿米巴為 30.9% (211/682)。

- ii. 外籍勞工檢體共 490 人接受痢疾阿米巴原蟲即時定量 PCR 檢測，佔整體之 71.9% (490/682)，於該族群痢疾阿米巴之陽性率為 29.0% (142/490)。(如表二)
- iii. 國人共 192 人接受痢疾阿米巴原蟲即時定量 PCR 檢測，佔整體之 28.1% (192/682)，於該族群痢疾阿米巴之陽性率為 28.6% (55/192)。(如表二)

(3) 痢疾阿米巴即時定量 PCR 陽性分析：

- i. 分析即時定量 PCR 陽性外籍與國人計 197 名個案(外籍：142 名、國人 55 名)後進行區域性(搭配本署各區管制中心轄區範圍)分析顯示，台北區陽性個案比例為 32 %最多[外籍:29.6%,42/142、國人:38.2%，21/55];以總通報人數換算亦為台北區 9.2%最高[外籍:8.6%,42/490、國人：10.9%，21/192]。
- ii. 若以採取分區與國人、非國人(外籍)所佔之痢疾阿米巴即時定量 PCR 陽性比例分析如下：(如表三)

甲、外籍部分：北區送檢 59 名外籍個案，其中 20 名為痢疾阿米巴陽性率 33.9 %為最高；台北區送檢 136 名，其中 42 名痢疾阿米巴陽性率 30.9%次高。

乙、國人部分：台北區送檢 59 名國人個案，其中 21 名為痢疾阿米巴陽性率 35.6 %為最高；中區送檢 15 名，其中 44 名痢疾阿米巴陽性率 34.1%次高。

2. 非法定傳染病傳染病之特殊寄生蟲感染監測網路：

(1) 特殊非法定傳染病寄生蟲檢測部分：

- i. 截至本年 10 月 15 日止該項目總數計 9 件，分別為：巴貝氏蟲感染 3 件、血絲蟲感染 2 件、隱孢子蟲、錐蟲、利什曼原蟲、肺囊蟲感染各 1 件。其中檢體種類包含血液檢體最多(77.8%)、糞便檢體 (11.1%)與痰液 (11.1%)。檢測結果均為陰性。



ii. 非痢疾阿米巴鏡檢結果：(如表四)

痢疾阿米巴通報檢體中，本年度計有 490 人進行鏡檢檢查，除 2 人未鏡檢出腸道寄生蟲外，其餘均檢出腸道寄生蟲，經分析其中以人芽囊原蟲 (*Blastocystis hominis*) 為最多，佔 37.3% (183/490)，尚有大腸阿米巴 (*Entamoeba coli*) 佔 4.3% (21/490)、哈門氏阿米巴 (*Entamoeba hartmani*) 佔 5.7% (28/490)、微小阿米巴 (*Endolimax nana*) 佔 4.7% (23/490)、嗜碘阿米巴 (*Iodamoeba butschlii*) 佔 1.2% (6/490) 與梨形鞭毛蟲 (*Giardia lamblia*) 佔 1.2% (3/490)。

(二) 未知或新興寄生蟲檢驗技術與檢測平台之開發：

1. 建置福氏內格里阿米巴 (*N. fowleri*) 之 PCR 檢測系統：

- (1) 本計畫參考 Rebecca C. Maclean 等人於 2004 年發表在 *Parasitol Res* 之文獻，以建立福氏內格里阿米巴 (*N. fowleri*) 之 Nested PCR 檢測系統。本檢測系統檢體類別為新鮮血液或腦脊液等，收到檢體後進行核酸純化萃取，再以聚合酶連鎖反應增幅目標片段，分析特異性序列產物之有無，進而判定上述原蟲之存在與否。

- (2) 福氏內格里阿米巴原蟲之 PCR 檢測系統使用之引子序列如下：

Category	Primer pair (forward+reverse)
Mp2Cl5.for	5'-TCTAGAGATCCAACCAATGG-3'
Mp2Cl5.rev	5'-ATTCTATTCACTCCACAATCC-3'
Mp2Cl5.for-in	5'-GTACATTGTTTTTATTAATTTCC-3'
Mp2Cl5.rev-in	5'-GTCTTTGTGAAAACATCACC-3'

- (3) 福氏內格里阿米巴之 Nested PCR 檢測系統試劑成分與反應條件：

- i. 利用 TopTaq Master Mix Kit 進行 PCR 反應：5  $\mu$ l template DNA，12.5  $\mu$ l TopTaq master mix，1  $\mu$ l forward primer，1  $\mu$ l reverse primer，2.5  $\mu$ l coralload concentrate，及 3  $\mu$ l RNase-free water，最終體積為 25  $\mu$ l。
- ii. 進行 PCR 反應如下：95°C 加熱 1 分鐘後，進行 35 個循環，每個循環為 denature 95°C，1 分鐘；annealing 65°C，1 分鐘以及 extension 72

°C，2 分鐘。

- iii. 第 2 次 PCR 反應: 2  $\mu$ l template DNA, 12.5  $\mu$ l TopTaq master mix, 1  $\mu$ l inner forward primer, 1  $\mu$ l inner reverse primer, 2.5  $\mu$ l coralload concentrate, 及 6  $\mu$ l RNase-free water, 最終體積為 25  $\mu$ l。95°C 加熱 1 分鐘後, 進行 35 個循環, 每個循環為 denature 95°C, 1 分鐘; annealing 65°C, 1 分鐘以及 extension 72°C, 1 分鐘。預期最終目標產物為 111bp。(如圖一)

### (三) 建立病原體防疫資料庫:

#### 1. 陽性對照質體製作:

- (1) 製作陽性對照質體之前處理步驟: 使用福氏內格里阿米巴蟲株並純化其核酸。
- (2) 設計含有 XbaI 切位(TCTAGA) 和 SmaI (CCCGGG)切位之專一性序列 primer, 該些 primer 分別稱之 N3FXbaI (5-TTCTTCTCTAGAGATCCAACCAATGGAATGTAC)和 N3RSmaI (5-ATCGCCCGGGATTCTATTCACTCCACAATC)
- (3) 依開發檢測平台之條件進行聚合酶連鎖反應, 預期產出目標產物預期為 166bp。
- (4) 以限制酶 XbaI、SmaI 將產物之限制酶特殊位進行專一性裁切。(如圖二)
- (5) 將限制酶裁切後之產物以 T4 連接酶連接至帶有 Ampicillin 抗藥性基因之質體後種菌, 透過用抗生素-Ampicillin 將其篩選出成功質體後, 經確認後作為陽性對照。(如圖三、圖四)
- (6) 送定序後, 確實和引用文獻序列相符。

#### 2. 弓形蟲蟲株型別區分方法結果:

- (1) 本計畫弓形蟲部分計針對弓形蟲陽性個案之檢體進行檢測, 本(107)年度蒐集計 4 名陽性檢體個案。
- (2) 針對 B1gene 以 nested PCR 方法進行檢測, 其中 3 個檢體均有目標產物產生, 與資料庫比對工具(BLAST, Basic Local Alignment Search Tool) *T. gondii* 相似度為 99%以上。(如圖五)

(3) 針對 SAG2 gene 以 nested PCR 方法進行檢測結果：其中 3 個檢體產出預期產物，經定序與 *T.gondii* 相似度為 99% 以上。(如圖六)

(4) 以限制酶 *Sau3AI* 進行 RFLP 方法檢測，弓形蟲 genotype 為 Type I 或 Type II，並非 Type III。(如圖七)

(四) 評估新式瘧疾檢驗方法之確效與現行方法差異比較：

1. 瘧原蟲檢測之 ii PCR 反應結果：截至本(107)年 11 月 15 日，瘧疾通報陽性檢體計 6 件，分別為：熱帶瘧 3 件，間日瘧、三日瘧與混合瘧(惡性瘧與間日瘧混合感染)各 1 件，該建置之方法測出結果與現行傳統巢式 PCR 檢測結果檢出率相符。(如圖八)

四、討論：

寄生蟲感染源監測網路之法定傳染病監測結果：因弓形蟲為貓科動物寄生蟲，人類並非主要宿主，主要食入受汙染的食物所感染。故當蟲體進入體內後，較不容易第一時間引起宿主臨床症狀且大部分感染者無明顯臨床症狀，導致患者無就醫之意願，推測可能為弓形蟲蟲株抗原陽性率較低之因素。然而弓形蟲抗體陽性率(急性期)較歷年稍高。有關阿米巴部分，因台北區管制中心轄區內之人口數最多，陽性個案數最高是可以預期的，分析各區管制中心之送檢數統計陽性率，外籍部分北區管制中心轄區陽性率為最高，與去(106)年度陽性率最高之中區管制中心不同，其原因仍待探討。然而國人部分台北區管制中心最高，與去(106)年高屏區最高之情況不同，推測去年因高屏區有違法精神收療機構造成群聚感染導致該區陽性個案數暴增之公衛事件發生，而今年該違法機構之病患已妥善安置，故今年陽性率符合預期。

本年度開發之特殊寄生蟲檢驗方法與預期結果符合。弓形蟲檢體陽性後進行分型部分，本年之陽性檢體基因型為 type I 或 II(非 type III)，因人類感染弓形蟲較常見為 type II，亦符合本年度預期的結果。然而今年弓形蟲陽性目標基因與確認方法為 RE gene-real time PCR、B1 gene-Nested PCR，均確認今年 4 例檢體陽性，其中 1 例以分型 gene-SAGE2 無法產出目標產物，該例陽性檢體為腦脊髓液(CSF)，可能專一引子對於該病患檢體 SAGE2 gene 區間無法黏合，導致目標產物無法產出。而新式瘧疾檢驗方法之確效與現行方法經陽性檢體進行比較後得知兩方法結果符合預期。

## 五、結論與建議：

藉由本研究計畫結論與建議如下：

### (一) 寄生蟲感染源監測網路：法定傳染病監測結果：

1. 弓形蟲部分：弓形蟲蟲株檢驗結果陽性率為 5.2%；弓形蟲血清綜合研判陽性率為 13.1%。
2. 痢疾阿米巴部分：
  - (1) 痢疾阿米巴檢驗結果總陽性率為 28.9%，若區分族群(國人與外籍)，陽性率分別為 28.6%與 29.0%(國人與外籍)。
  - (2) 痢疾阿米巴陽性分區比例：台北區陽性個案數最多，所佔之陽性比例最高(32.0%)，如採計算總通報人數之陽性比例亦為台北區最高(9.2%)
  - (3) 採計分區送檢與族群類別(國人、非國人-外籍)進行分析，有關外籍送檢陽性比率北區為最高(33.9%)，台北區次之(30.9%)；國人送檢陽性為台北區最高(35.6%)，中區次之(34.1%)。

### (二) 未知或新興寄生蟲檢驗技術與平台之開發結論：

1. 建立福氏內格里阿米巴檢驗技術：採用之方法為巢式 PCR(Nested PCR)，已初步開發完成，目前持續提供醫療院所檢驗需求且驗證中。

### (三) 建立病原體防疫資料庫：

1. 完成製作福氏內格里阿米巴陽性對照質體。
2. 弓形蟲分型部分：本年度 4 例檢體經由弓形蟲蟲株特異 B1 基因確認為陽性，經分型之 SAG2 基因有 1 例產物無法產出，另 3 例區分出為第 I 或 II 型。

### (四) 評估新式瘧疾檢驗方法確效與現行方法差異結果比較：

1. 今年度送檢之 6 例瘧原蟲陽性個案(含 1 例混合感染)經實驗室例行之檢驗方法(巢式 PCR)與本年度建置之 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)方法均可完成陽性檢出，但 iiPCR 之總檢驗時間(含抽 DNA)可縮短為 60 分鐘內，相較於巢式 PCR 之檢出時間為 6~8 小時。

### (五) 建議：寄生蟲感染症目前仍為被忽略熱帶疾病(NTD)之其中一部分，極有可能成為

防疫上之死角。藉由執行本計畫可持續監測法定傳染病與針對特殊寄生蟲病原檢驗方法進行開發，建議日後持續進行長期監測，發掘潛在感染風險地區與感染源，以利即時提供公共衛生防疫手段導入與日後防疫政策制定參考。

#### 六、重要研究成果及具體建議：

藉由本計畫執行，可獲得：

- (一) 法定傳染病之陽性率與地區分布情形，弓形蟲部分血清綜合研判陽性率與歷年相近；有關痢疾阿米巴部分：外籍送檢陽性率最高落於北區管制中心轄區內，其原因值得探討；然而，國人送檢陽性率最高則在台北區管制中心轄區內，符合預期。整體而言，因台北區管制中心轄區因陽性個案最多，如以送檢總數來觀察後陽性率最高。
- (二) 持續驗證與開發特殊寄生蟲檢驗方法，以符合未來醫療院所或公衛防治需求。
- (三) 持續蒐集隱孢子蟲後進行分型，另一方面弓形蟲以 SAG2 gene 進行分型可得檢體可能是第 I、II 型(非第 III 型)；有一個檢體無法產出目標產物，推測可能為引子無法專一接合檢體序列或是檢體品質不良導致，將持續蒐集檢體進行分析後統計。
- (四) 本年度建置之 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR) 方法均可完成陽性檢出，並可以縮短檢驗時間提前得知結果，爭取病患投藥治療時間有所助益。

綜合本年度研究成果，可探究有關罹病人口之地區分布，惟外籍移工之國籍統計囿於無法從送驗單獲得相關資訊，須跨組室蒐集資料始能完成，建議來年如執行監測計畫時，可嘗試與相關組室進行洽詢，以獲得更加完整之資料進行分析。

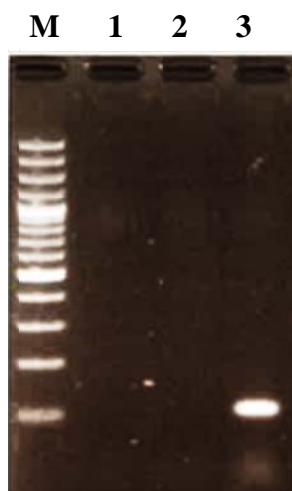
#### 七、參考文獻

1. Mackey TK and Liang BA. Lessons from SARS and H1N1/A: employing a WHO-WTO forum to promote optimal economic-public health pandemic response. *Journal of public health policy* 2012;33:119-30.
2. Domingos A, Ito LS, Coelho E, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* IgG antibody in HIV/AIDS-infected individuals in Maputo, Mozambique. *Revista de saude publica* 2013;47:890-6.
3. Stehr-Green JK, Bailey TM, and Visvesvara GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *American journal of ophthalmology* 1989;107:331-6.

4. Reveiller FL, Cabanes PA, and Marciano-Cabral F. Development of a nested PCR assay to detect the pathogenic free-living amoeba *Naegleria fowleri*. *Parasitol. Res* 2003;88:443-450.
5. Budge PJ, Lazensky B, Van Zile KW, et al. Primary amebic meningoencephalitis in Florida: a case report and epidemiological review of Florida cases. *Journal of environmental health* 2013;75:26-31.
6. Armand, B., Solhjoo, K., Kordshooli, M. S., Davami, M. H., Pourahmad, M., & Orfaee, V. (2017). *Toxoplasma gondii* Type I, predominant genotype isolated from sheep in South of Iran. *Vet World*, 10(4), 386-392.  
doi:10.14202/vetworld.2017.386-392
7. Chua, K. H., Lee, P. C., & Chai, H. C. (2016). Development of insulated isothermal PCR for rapid on-site malaria detection. *Malaria journal*, 15, 134.  
doi:10.1186/s12936-016-1183-z

#### 八、圖表：

圖一：針對福式內格里阿米巴(*N. fowleri*)純化其核酸



說明：

Lane1: 樣本 1

Lane2: Negative control

Lane3: Positive control

圖二：福式內格里阿米巴(*N. fowleri*)質體製作之酵素作用圖示



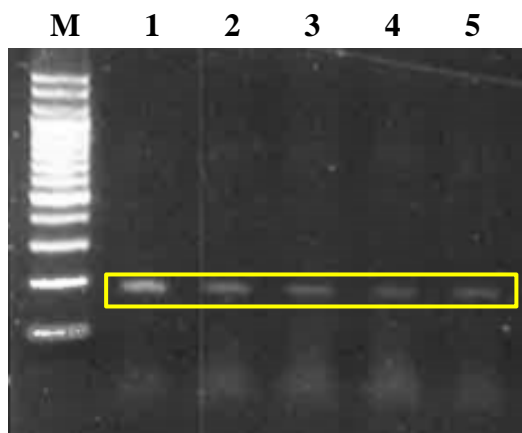
說明：

Lane1:含有 Ampicillin 的抗藥性質體

Lane2:利用 Xba1( TCTAGA ) 和 SmaI( CCCGGG )酵素將其含有 Ampicillin 的抗藥性質體作用

結果顯示經由酵素切割後，Lane 2 之 target genomic DNA (黃圈處)已顯示出，代表質體的形狀已從圓形打開成線形。

圖三：福式內格里阿米巴(*N. fowleri*)質體製作之 Colony PCR



說明：Lane M：100 b.p. Marker；

Lane 1、2、3、4、5 是挑選菌叢後直接 Colony PCR 所得結果，顯示均有目標物產出(黃圈處)。

圖四：福式內格里阿米巴 (*N. fowleri*) 質體純化後效能驗證

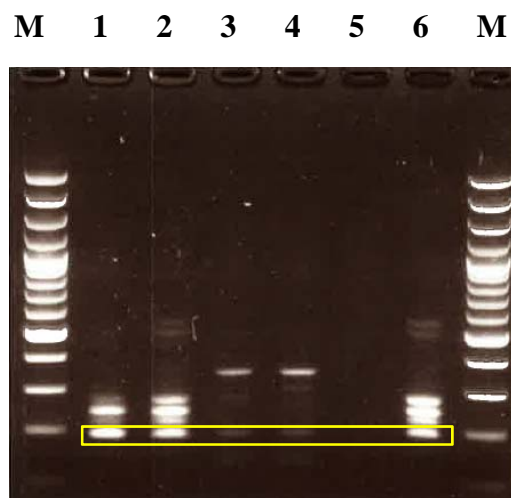


說明：Lane M：100 b.p. Marker

Lane 1、2 為挑選菌叢 1 後純化質體 PCR 所得結果。

結果顯示：本次製作之 *N. fowleri* 質體可作為實驗之陽性對照。

圖五：弓形蟲之 B1 gene 進行陽性確認



說明：Lane M：100 b. p. Marker

Lane 1~4：為臨床偵測弓形蟲陽性檢體

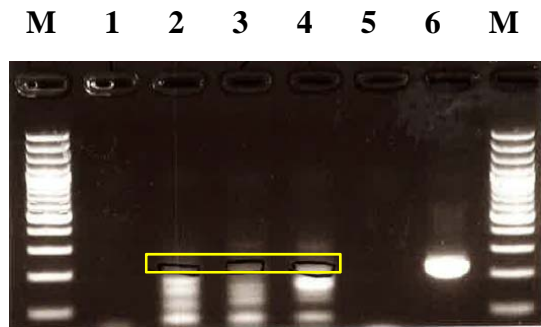
Lane 5：陰性對照

Lane 6：陽性對照

結果顯示：臨床陽性檢體檢測弓形蟲特定之 B1 gene 進行確認，均產生目標產物落於 194 bp(黃圈處)。



圖六：以弓形蟲特殊分型基因(SAG-2 gene)進行分型結果



說明：Lane M：100 b. p. Marker

Lane 1~4：為臨床偵測弓形蟲陽性檢體

Lane 5：陰性對照

Lane 6：陽性對照

結果顯示：弓形蟲特殊分型 SAG-2 gene 進行確認，除 Lane1(病患檢體類別為 CSF)外，其餘臨床檢體產生目標產物落於 241 bp(黃圈處)。

圖七：以限制酶 Sau3AI 進行分型實驗結果



說明：Lane M：100 b. p. Marker

Lane 1~4：為臨床偵測弓形蟲陽性檢體

Lane 5：陰性對照

Lane 6：陽性對照

結果顯示：弓形蟲 genotype I、II 經限制酶切割後，產物落於約 241bp(黃圈處)，而 genotype III 之產物落於約 210bp，故推知臨床檢體 Lane2~4 為 genotype I、

II。

圖八：瘧原蟲以 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR) 檢測實驗結果

圖左

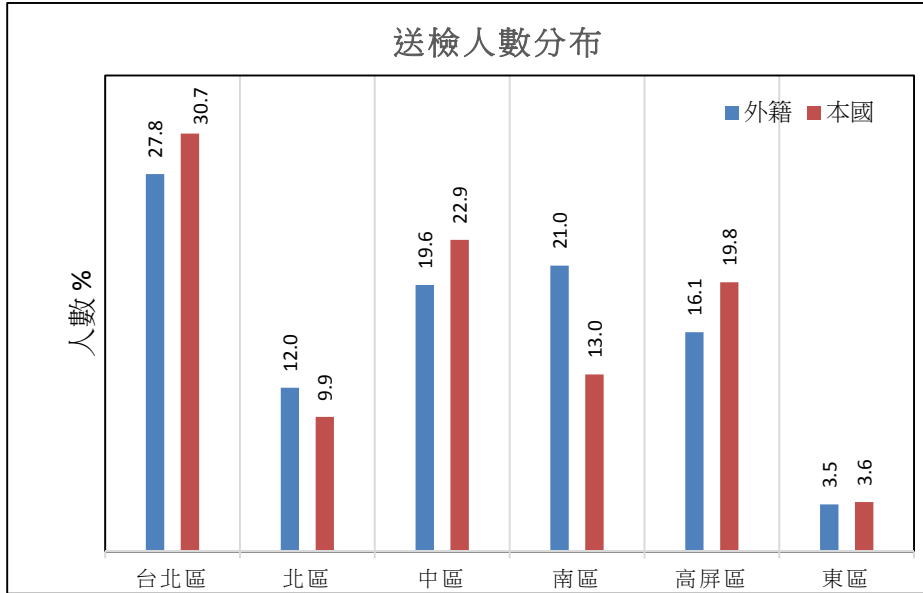
圖右



說明：圖左編號 1~4：為臨床檢測瘧疾陽性檢體，包含間日瘧、熱帶瘧，其中編號 3 為混合瘧。

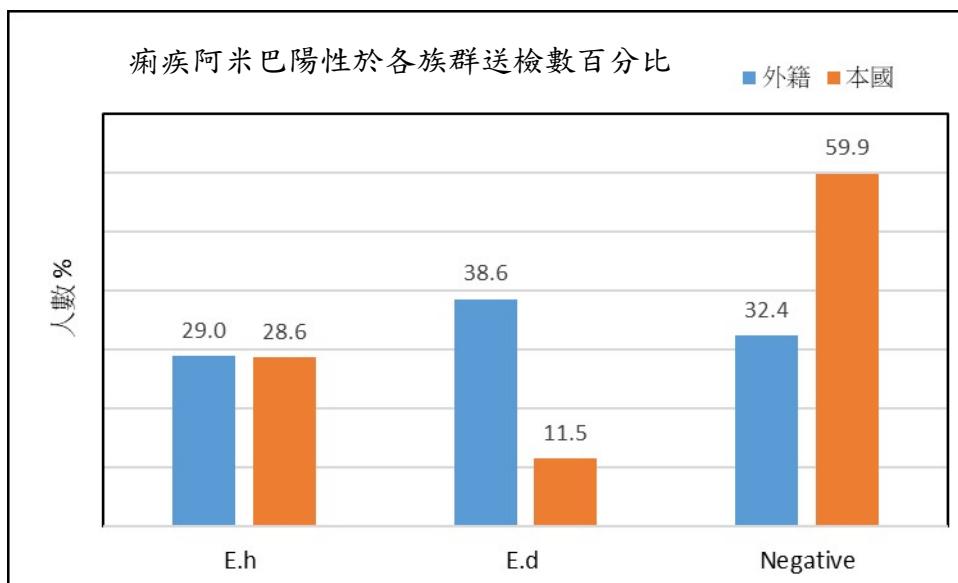
圖右編號 1~3：編號 1~2 為臨床瘧疾陽性檢體，包含熱帶瘧與三日瘧。編號 3 為陰性對照。

表一：痢疾阿米巴送檢人數百分比



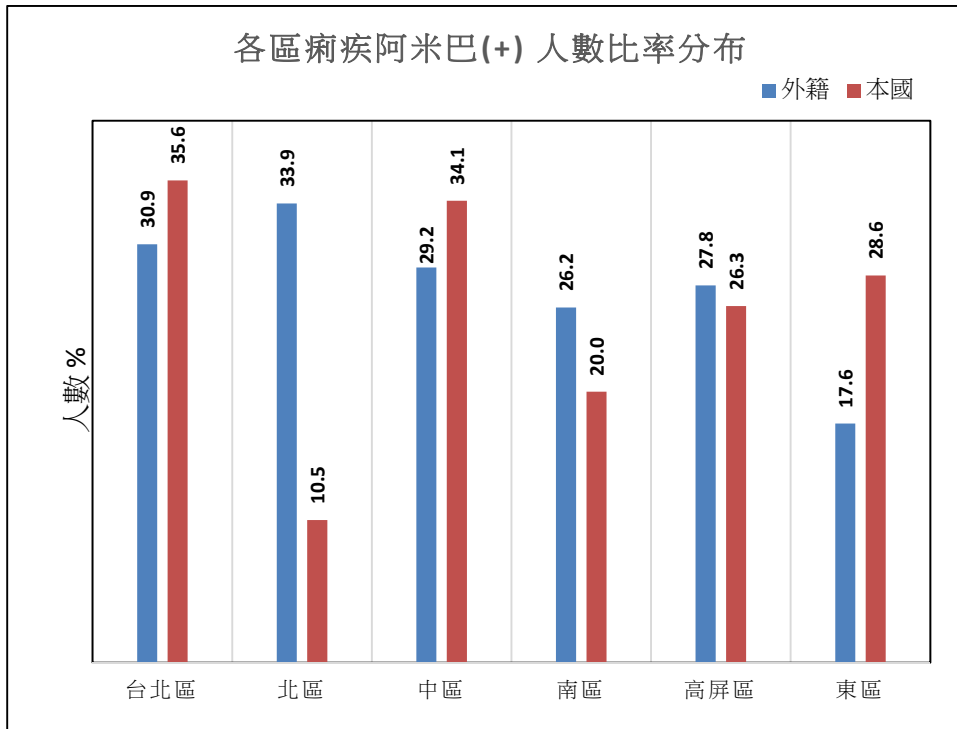
說明：由送檢人數百分比可知，台北區管制中心轄區內不論為外籍或本國送檢數量比例最多(外籍 27.8%、本國 30.7%)

表二：痢疾阿米巴陽性於各族群送檢數百分比



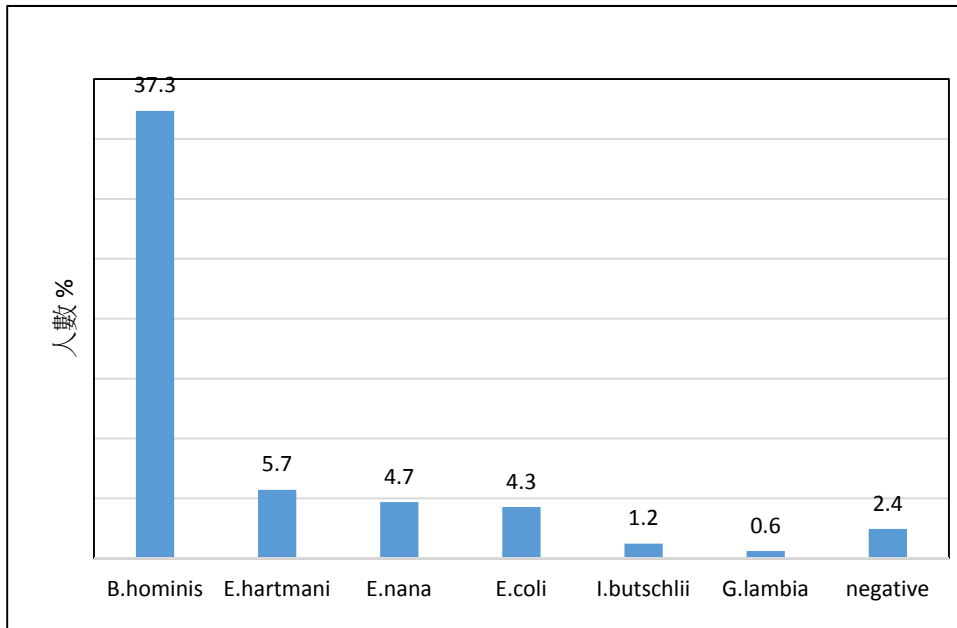
說明：由各族群(本國、外籍)送檢數之痢疾阿米巴陽性可知：外籍陽性比率 29%、本國陽性比率為 28.6%

表三：以各分區管制中心轄下送檢之痢疾阿米巴陽性百分比



說明：以各分區管制中心轄下送檢人數之痢疾阿米巴陽性百分比可知：外籍部分北區送檢陽性率最高(33.9%)，台北區次之(30.9%)。本國部分台北區送檢陽性率最高(35.6%)，中區(34.1%)次高，第三高為東區管制中心(28.6%)。

表四：非痢疾阿米巴鏡檢結果百分比



說明：非痢疾阿米巴鏡檢結果百分比顯示人芽囊原蟲(*B.hominis*)鏡檢檢出率最多，哈式阿米巴(*E.hartmani*)次之。

代號備註：

*Blastocystis hominis*：人芽囊原蟲

*Entamoeba hartmani*：哈門氏阿米巴

*Endolimax nana*：微小阿米巴

*Entamoeba coli*：大腸阿米巴

*Iodamoeba butschlii*：嗜碘阿米巴

*Giardia lamblia*：梨形鞭毛蟲

# 衛生福利部疾病管制署 107 年科技研究計畫

## 期末審查意見回復

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-000108

計畫名稱：特殊寄生蟲感染之檢驗及監測

計畫主持人：李淑英

\*修正處在報告中加底線標示

序號	審查意見	主持人回復說明	修正處頁碼
1	對 Neglected 疾病檢測及技術建立，已有初步成果。	感謝委員意見。	無
2	我國與東南亞及鄰近國家交流日益頻繁，寄生蟲疾病檢測及監測對公共衛生施政具重要性。	感謝委員意見。	無
3	建議應加入 Internal Control 在 PCR 已確定整個實驗過程的完整性。	感謝委員意見，將設計相關 Internal control 序列嘗試於明年度研究計畫中加入。	無
4	可多著墨新式瘧疾檢驗方式的優勢與缺點。	感謝委員意見。	無
5	是否可以與腹瀉群聚合作，檢驗陰性的個案可進行寄生蟲檢驗。	感謝委員意見，將於明年度研究計畫納入評估。	無
6	阿米巴的風險在 MSM 族群也上升，所以會顯得難已分析國人或非國人，也許下次寫報告前，可以找權責組甚至預醫辦協助，比較不會被委員批評。	感謝委員意見，將於明年度研究計畫納入評估。	無
7	國人痢疾阿米巴檢出率與外籍勞工健檢檢出率接近之結論，需搭配特殊族群(國人)之說明。	感謝委員意見，本年度研究計畫係採衛生機構痢疾阿米巴通報送檢之結果進行統計，明年度研究計畫將評估採計相關參數進行分析。	無

衛生福利部疾病管制署委託科技研究計畫  
107 年度計畫重要研究成果及具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：特殊寄生蟲感染之檢驗及監測

主持人：李淑英

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-000108

1.計畫之新發現或新發明

(1) 寄生蟲感染源監測網路：法定傳染病監測結果：

弓形蟲部分：弓形蟲蟲株檢驗結果陽性率為 5.2%；弓形蟲血清綜合研判陽性率為 13.1%。

(2) 痢疾阿米巴部分：

痢疾阿米巴檢驗結果總陽性率為 28.9%，若區分族群(國人與外籍)，陽性率分別為 28.6%與 29.0%(國人與外籍)。

i. 痢疾阿米巴陽性分區比例：台北區陽性個案數最多，所佔之陽性比例最高(32.0%)，如採計算總通報人數之陽性比例亦為台北區最高(9.2%)。

ii. 採計分區送檢與族群類別(國人、非國人-外籍)進行分析，有關外籍送檢陽性比率北區為最高(33.9%)，台北區次之(30.9%)；國人送檢陽性為台北區最高(35.6%)，中區次之(34.1%)。

(3) 未知或新興寄生蟲檢驗技術與平台之開發結論：

建立福氏內格里阿米巴檢驗技術：採用之方法為巢式 PCR(Nested PCR)，已初步開發完成。

(4) 建立病原體防疫資料庫：

i. 完成製作福氏內格里阿米巴陽性對照質體。

ii. 已完成弓形蟲分型。

(5) 評估新式瘧疾檢驗方法織確效與現行方法差異結果比較：

今年度送檢之 6 例瘧原蟲陽性個案與本年度建置之 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)方法均可完成陽性檢出，iiPCR 之總檢驗時間(含抽 DNA)可縮短為 60 分鐘內。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

藉由本計畫之執行，可使民眾獲得對於法定寄生蟲感染症之流行趨勢與地

區分布，避免疾病感染的風險。

### 3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

- (1) 法定傳染病之陽性率與地區分布情形，弓形蟲部分血清綜合研判陽性率與歷年相近；有關痢疾阿米巴部分：外籍送檢陽性率最高落於北區管制中心轄區內，其原因值得探討；然而，國人送檢陽性率最高則在台北區管制中心轄區內，符合預期。整體而言，因台北區管制中心轄區因陽性個案最多，如以送檢總數來觀察後陽性率最高。
- (2) 持續驗證與開發特殊寄生蟲檢驗方法，以符合未來醫療院所或公衛防治需求。
- (3) 本年度建置之 isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)方法均可完成陽性檢出，並可以縮短檢驗時間提前得知結果，爭取病患投藥治療時間有所助益。
- (4) 綜合本年度研究成果，可探究有關罹病人口之地區分布，惟外籍移工之國籍統計囿於無法從送驗單獲得相關資訊，須跨組室蒐集資料始能完成，建議來年如執行監測計畫時，可嘗試與相關組室進行洽詢，以獲得更加完整之資料進行分析。