

計畫編號：DOH101-DC-2301

行政院衛生署疾病管制局 101 年度科技研究發展計畫

蜚媒新興及人畜共通傳染病分子流行病學監測(第二年)

研究報告

執行機構：疾病管制局

計畫主持人：王錫杰

研究人員：舒佩芸、嵇達德、簡嘉豪、姜佩芳

執行期間： 101 年 1 月 1 日至 101 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本局意見，如對外研究成果應事先徵求本局同意

目 錄

一、圖次	3
表次	4
附錄次	5
二、摘要：中文摘要	6
英文摘要	8
三、本文	
(一)、前言	10
(二)、材料與方法	15
(三)、結果	21
(四)、討論	28
(五)、結論與建議	36
(六)、計畫重要研究成果及具體建議	38
(七)、參考文獻	40
(八)、圖	45
表	52
四、附錄	60

圖次

圖一、台灣地區 <i>Babesia microti</i> 18S rRNA gene (BmF2-BmR2 片段)序列親緣關係圖	41
圖二、台灣地區 <i>Babesia microti</i> 18S rRNA gene (Bab2-Bab3 片段)序列親緣關係圖	42
圖三、台灣地區 <i>Babesia</i> spp. 18S rRNA gene (BmF2-BmR2 片段)序列親緣關係圖	43
圖四、台灣地區血紅扇頭蜱 12S rRNA gene 序列親緣關係圖	43
圖五、台灣地區血紅扇頭蜱 16S rRNA gene 序列親緣關係圖	44
圖六、蜱蟲叮咬照片	45
圖七、革蜱若蟲	46

表次

表一、Babesia PCR primers 及反應條件	
表二、鼠類外寄生蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲分子檢測結果	47
表三、鼠類外寄生蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布	48
表四、鼠類脾臟及血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲體分子檢測結果	49
表五、鼠類脾臟端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布	50
表六、鼠類血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布	51
表七、狗蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲分子檢測結果	51
表八、狗蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布	52
表九、96-97 年金門縣及連江縣恙蟲病通報病例血清抗體 <i>Anaplasma phagocytophilum</i> 檢測	52
表十、金門縣及連江縣恙蟲病通報病例血清抗體 <i>Anaplasma phagocytophilum</i> 檢測類別分析	53

附錄、端複胞器門(Apicomplexa)原蟲代碼

摘要

關鍵詞：艾利希氏體感染症、邊蟲症、巴貝氏原蟲病、蜱、分子流行病學

以 Apicomplexa-specific nested PCR 及 *Babesia microti* specific nested PCR 檢測 95 年至 99 年於桃園、台中、高雄、屏東、花蓮、台東、澎湖、金門及連江所採集 638 隻鼠類外寄生蜱，田鼠巴貝氏原蟲(*Babesia microti*) PCR 陽性率為 0.63% (4/638)，檢測之蜱種有 3 種，以粒形硬蜱(*Ixodes granulatus*)陽性率為 0.97% (2/206)最高，其次為板齒鼠血蜱(*Haemaphysalis bandicota*) 0.85% (2/236)。板齒鼠血蜱及鐮形扇頭蜱(*Rhipicephalus haemaphysaloides*)另檢出 *Babesia* sp. BiCM002 感染，陽性率分別為 1.27% (3/236)及 0.51% (1/196)。相同方法檢測鼠類脾臟及血液，*B. microti* PCR 陽性率分別為 0.33% (1/304)及 0.83% (2/240)；*Babesia* sp. BiCM002 感染陽性率分別為 1.32% (4/304)及 5.42% (13/240)。檢測 100-101 年採自台灣北中南東七所動物醫院共 2212 隻狗蜱(血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 2127 隻，豪豬血蜱 *Haemaphysalis hystricis* 85 隻)，血紅扇頭蜱 *B. microti* PCR 陽性率為 0.24% (5/2127)，另發現 *Babesia gibsoni* 感染，陽性率為 0.24% (5/2127)。豪豬血蜱僅感染 *Babesia gibsoni*，感染率為 5.88%(5/58)。台灣地區 *B. microti* 蟲株以 18S rRNA gene 定序與世界其他地區蟲株比較，發現多數屬於 US type，少數屬於 Kobe type，惟可能皆具致病性。利用 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 對血紅扇頭蜱進行分子檢測，經親源關係樹圖分別發現 16S rRNA gene 自成一群；而 12S rRNA gene 分為 2 群。蜱分子檢測所建立的資料庫，有助於形態不明檢體的鑑定，應用於處理馬來西亞境外移入革蜱若蟲(*Dermacentor* sp.)事件。金馬恙蟲病通報病例 *Anaplasma phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 43.26% (61/141)，而對照組血清抗體陽性

率為 16.67% (5/30)，具有顯著性差異($X^2=7.383$, $p=0.007$)，同時在 58 個配對血清中發現 2 個病例兩次採血 *A. phagocytophilum* 血清抗體效價有四倍上升，顯示金馬地區發燒病人確實需要注意是否為 Anaplasmosis，尤其是金門縣。本研究發現巴貝氏蟲已存在於台灣地區鼠類、狗與其外寄生蜱之循環中，醫師與民眾應留意是否有巴貝氏蟲感染的現象。

Abstract

Keywords: Ehrlichiosis, anaplasmosis, babesiosis, ticks, molecular epidemiology

A total of 638 small mammal ectoparasiting ticks collected from 2006 to 2010 in Taoyuan, Taichung, Kaohsiung, Pingtung, Hualien, Taitung, Penghu, Kinmen and Lienchiang were detected by Apicomplexa-specific nested polymerase chain reaction (PCR) and *Babesia microti* specific nested PCR, based on 18S rRNA gene. The infection rate of *B. microti* was 0.63% (4/638). Three species of small mammal ectoparasiting ticks were detected. *Ixodes granulatus* ticks has the highest infection rate was 0.97% (2/206), followed by *Haemaphysalis bandicota* ticks was 0.85% (2/236). Another *Babesia* species (*Babesia* sp. BiCM002) was found in *Haemaphysalis bandicota* ticks and *Rhipicephalus haemaphysaloides* ticks, the infection rate were 1.27% (3/236) and 0.51% (1/196), respectively. To detect the *Babesia* infection in small mammals, spleen and blood of small mammal were examined using the same methods, the infection rate of *B. microti* were 0.33% (1/304) and 5.42% (13/240), respectively. *Babesia* sp. BiCM002 was also found in small mammals with 0.33% (1/304) and 0.83% (2/240) infection rates in spleen and blood. A total of 2212 dog ticks (2127 *Rhipicephalus sanguineus* and 85 *Haemaphysalis hystricis*) collected from 7 animal hospitals in northern, central, southern and eastern part of Taiwan were detected, the infection rate of *B. microti* was 0.24% (5/2127) in *R. sanguineus* and the infection rate of *Babesia gibsoni* was 0.24% (5/2127). Pairwise nucleotide sequence analysis of 18S rRNA gene shows that most of *B. microti* strains discovered in Taiwan were US type, and others was Kobe type, both of them probably pathogenic to human. The phylogenetic analysis of 16S rRNA gene showed *R. sanguineus* which were collected from different areas

could be clearly divided into 2 clusters, whereas their 12S rRNA gene sequences were identical. The molecular method applied in tick identification of a tick biting a traveler from Malaysia last December was identified as *Dermacentor* nymph. The rate of seropositivity for *Anaplasma phagocytophilum* of reported scrub typhus patients from Kinmen and Lienchiang was 43.26% (61/141), and 16.67% (5/30) of the control cases had *A. phagocytophilum*-positive results, showed significant difference ($X^2=7.383$, $p=0.007$). Meanwhile, 2 out of 58 pair serum which antibody titers were found 4-fold increasing, indicated the acute febrile patients of Kinmen and Lienchiang should pay attention to infecting Anaplasmosis, especially Kinmen. These results suggest *B. microti* might therefore be transmitted among small mammals and dogs by ectoparasite ticks, and humans could also be infected.

前言

艾利希氏體感染症(Ehrlichiosis)、邊蟲症(Anaplasmosis)及巴貝氏蟲病(Babesiosis)皆為流行於人與動物間主要經由蜱傳播之人畜共通傳染病。艾利希氏體感染症在動物發現雖已超過 50 年，但自 1987 年才有人類感染病例被發現。感染人類艾利希氏體之病原體皆屬無形體科(Anaplasmataceae)，包括 *Anaplasma phagocytophilum*、*Ehrlichia chaffeensis*、*E. ewingii*、*E. canis* 及 *Neorickettsia sennetsu* 等，其攻擊人類的標的為循環系統中的白血球。*E. chaffeensis* 造成人單核球艾利希氏體症(human monocytic ehrlichiosis, HME)；*A. phagocytophilum* 引起人顆粒球艾利希氏體症(human granulocytic anaplasmosis, HGA；舊稱 human granulocytic ehrlichiosis, HGE)¹⁻³；而造成犬顆粒球艾利希氏體症(canine granulocytic ehrlichiosis, CGE)之病原體 *E. ewingii* 於 1998 年發現亦會感染人類，稱為 human ewingii ehrlichiosis⁴；*Neorickettsia sennetsu* 則造成人腺熱(sennetsu fever)。這些不同病原體所造成的共同病徵包括發燒、白血球減少、血小板減少及血清轉胺酶(transaminase)活性增加等，在臨床上不易區分各個疾病，惟其皆對 doxycycline 敏感^{5,6}。近年來有許多新的艾利希氏體陸續被發現，如 *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* 在 2000 年左右曾報告發現於中國與日本的溝鼠(*Rattus norvegicus*)，日本的卵形硬蜱(*Ixodes ovatus*)及荷蘭的籠豆硬蜱(*Ixodes ricinus*)⁷，而其對人的致病性則在 2010 年由 3 名德國、瑞典及瑞士的患者身上才被發現⁸⁻¹⁰。

人類艾利希氏體感染症在日本、韓國、中國、英國、中歐的斯洛凡尼亞(Slovenia)及美國皆有報告病例^{6,11,12}。在美國多發生於 5 至 8 月，2008 年的報告病例 HME 有 957 例；HGA 有 1009 例，其死亡率並不高 HME 約 3%，HGA 約 0.7% 且多發生在免疫不全病人或合併其他疾病如糖尿病之患者¹³。

HGA 之病媒在美東為 *Ixodes scapularis*，美西為 *I. pacificus*，歐洲及亞洲分別為 *I. ricinus* 及 *I. persulcatus*。一些小型哺乳動物如白足鼠(*Peromyscus leucopus*)、灰足林鼠(*Neotoma fuscipes*)及 *Apodemus*、*Microtus*、*Clethrionomys* 種類鼠種可能為其貯主(reservoir)，而鹿科動物亦有此可能⁶。HME 之病媒為 *Amblyomma americanum*，犬及鹿可能為其貯主。

HME 及 HGA 的診斷可經由血液塗抹片、PCR、細胞培養及血清學檢測。其中發病小於 1 週的患者以 PCR 敏感性最高約 60-90%，發病超過 3 週的患者經由血清抗體陽轉 4 倍上升，敏感性可達 95% 以上¹³。PCR 的標的基因以 16S rRNA gene 為主，其他還有 *gltA* gene、*p44* gene、*ank* gene 及 *groE* gene 等¹⁴⁻¹⁷。

台灣有關艾利希氏體之研究在動物界較多，尚無人類感染之病例報告。其中犬隻會感染 *E. canis*、*E. platys* 及 *E. euqi*，台灣北部犬隻 *E. platys* 感染率在都市犬中盛行率為 8.9%，來自嚴重蜱感染的狗窩為 97.1%；臺灣南部地區犬隻 *E. canis* 感染率為 14.4%¹⁸⁻²⁰。陳(2007)以 *gp36* 基因做為檢測 *E. canis* 之標的，*gltA* 基因做為檢測 *Anaplasma platys*(舊稱 *Ehrlichia platys*)之標的，發現台灣地區家貓血液檢體中，分別有 5.5% 及 2.0% 陽性率²¹。Hsieh *et. al.*(2010)發現經由 16S rRNA、*gp19* 及 *gp36* 三段基因序列分析，台灣的 *E. canis* 至少有 4 種不同株(strain)，在親緣關係上屬同一群，而與其他不同地理群有區別²²。翁等(2010)調查金門地區鼠類寄生蜱發現於小黃腹鼠採集之鐮形扇頭蜱(*Rhipicephalus haemaphysaloides*)與粒形硬蜱(*Ixodes granulatus*)檢測出 *Ehrlichia chaffeensis*，所有蜱之最小感染率為 1.8%²³。

不同艾利希氏體屬病原體雖有其主要病媒蜱種及侵犯宿主，但仍有報告在其他蜱種發現及感染其他宿主，如日本有 *E. canis* 感染人類之報告²⁴。台灣雖曾進行貓犬艾利希氏體症調查研究，但尚未針對病媒蜱種之感染情形進行分

析。雖然目前尚無人感染艾利希氏體症之報告，但應進行此項研究藉以評估民眾感染之危險性。

邊蟲症(Anaplasmosis)或稱邊緣無形體症在人類即為 human granulocytic anaplasmosis，病原體為 *Anaplasma phagocytophilum*，在動物界最常見為牛邊蟲症，病原體為 *Anaplasma marginale*。*A. marginale* 排列於感染紅血球之邊緣，1 個、2 個或以上呈圓或橢圓形，在電子顯微鏡下呈分葉狀，只在紅血球內發現，故稱邊蟲。但另一種 *A. marginale* ssp. *Centrale* (*A. centrale*)則寄生在紅血球細胞質中央，病原性較弱²⁵。*A. marginale* 會破壞紅血球而導致漸進性貧血及黃膽。林(2007)調查台灣 12 個牧場，發現乳牛邊蟲症盛行率為 53.3%，以南部地區較高²⁶

巴貝氏蟲病(Babesiosis)又稱焦蟲病，在 19 世紀末首先由 Babes 於羅馬尼亞牛身上發現²⁷，而 Smith and Kilbone(1893)證實其經由蜱所傳播²⁸。巴貝氏蟲可感染多種動物，包括牛、美洲野牛、馴鹿、山羊、綿羊、馬、驢、騾、豬、狗、貓等，為重要的動物傳染病²⁹，人類感染的病例於 1957 年首先於歐洲被報告³⁰。目前已知能傳播巴貝氏蟲病之原蟲種類已有 100 多種，其中可感染人為 *Babesia microti* 及 *B. divergens*；感染狗為 *B. gibsoni*、*B. canis*、*B. rossi*、*B. vogeli* 及 *B. vitali*²⁷，但亦發現人感染 *B. canis* 之報告³¹。近年來美國有一些人類巴貝氏蟲病，其病原體與已知者不同，巴貝氏蟲暫定為 WA1、MO、CA1-CA4³²⁻³⁵，由其分子的親緣關係，這些寄生蟲可能來自狗或野生動物³¹。在日本的報告則發現在齧齒類中，*B. microti* 以小次單位核糖體 RNA 基因(SSUrDNA)分析，可分為 U.S.型、Kobe 型、Otsu 型及 Otsu related 型，顯示各不相同的原蟲，尚可分為不同基因型(genotype)³⁶。

人類巴貝氏蟲病多發生於溫帶地區，如美國、法國及英國等歐洲國家，其

他有報告病例的國家為中國、埃及、南非、墨西哥、日本及印度^{37,38}，患者多半為脾臟切除之病人，台灣則有一人感染巴貝氏蟲病之疑似病例報告³⁹。

文獻中 *B. microti* 及 *B. divergens* 的病媒蜱種為硬蜱屬(*Ixodes* spp.)，在美國主要為 *I. scapularis*，歐洲為 *I. ricinus*，日本為 *I. ovatus*；*B. gibsoni* 的病媒蜱種為 *Haemaphysalis bispinosa* 及 *Rhipicephalus sanguineus*；*B. canis* 的病媒蜱種為 *R. sanguineus* 及革蜱屬(*Dermacentor* spp.)⁴⁰⁻⁴²。

巴貝氏蟲病的診斷可經由血液薄塗片以 Giemsa 染色、動物接種法、IFA、ELISA 及 PCR。患者直接血液薄塗片可能會因寄生蟲血症太低，而產生偽陰性，因此由倉鼠(golden hamster)腹腔接種 1 ml EDTA 全血，至 2-4 週後進行塗片，始可確診⁴³。不過動物接種法耗費時間長，因此簡便的 IFA 成為例行檢驗最常使用的血清學診斷方法，其敏感性雖高，但由於不同原蟲有交互作用的現象，使其特異性不高，ELISA 如使用專一性的重組蛋白質為抗原，則可改善此問題⁴⁴。PCR 及 nested-PCR 由於其高敏感性及特異性為研究上最常使用的工具，基因標的以小次單位核糖體 RNA 基因(SSUrDNA)或稱 18S rDNA 為最多人使用，其他應用的標的基因還有 β -tubulin gene^{45,46}，P18 gene⁴⁶，P29 gene⁴⁷ 及 Rab gene⁴⁸ 等。定序後的標的基因有相當多的報告進行親緣關係分析，發現 β -tubulin gene 的序列較 SSUrDNA 歧異度大，可獲得較好的解析度⁴⁹。

台灣在文獻記錄上至少有 5 例巴貝氏蟲病例^{42,50-54}，一項來自花蓮、台東、屏東的人體血清學調查，發現巴貝氏蟲病的盛行率為 0.4%⁵⁵。而在鼠類的調查方面，在受檢的 63 隻鼠類血液檢體中，以 PCR 發現 *B. microti* 的陽性率為 17.5%，同時其核酸定序 SSUrDNA 基因片段，台灣的 *B. microti* 和日本神戶的蟲株較相近，相似度為 99 %^{56,57}，鼠種帶有 *B. microti* 主要為刺鼠(*Niviventer coninga*)及小黃腹鼠(*Rattus losea*)⁵⁸。在其他動物方面，林(2007)調查台灣 12 個

牧場，發現乳牛巴貝氏蟲病，病原體 *B. bovis* 及 *B. bigemina* 的盛行率為 3.1%²⁶。相同的台灣尚無對巴貝氏蟲病病媒蜱種進行調查研究。

許多研究顯示，相同的蜱種同時感染不同病原體，如採自美國新紐澤西州北部的 *Ixodes scapularis*，感染 *Borrelia burgdorferi*、*Bartonella* spp.、*Babesia microti* 及 *Anaplasma phagocytophilum*，最多發現 3 種病原體同時感染⁵⁹，而採自波蘭西北部的 *Ixodes ricinus* 發現同時感染 *Borrelia burgdorferi sensu lato*、human granulocytic ehrlichiosis agent 及 *Babesia microti* 2 種或 3 種⁶⁰。

台灣每年有為數眾多的不明熱患者，在例行的 60 種法定傳染病病原外，尚無法確認病原種類。對存在於動物之人畜共通傳染病，且屬於非法定傳染病之艾利希氏體感染症、邊蟲症及巴貝氏蟲病，是否經由其體外寄生蟲傳播給人類，應進行更深入瞭解。

材料與方法

本研究擬以 3 年為期，進行台灣地區犬隻、鼠類及野生動物外寄生蜱艾利希氏體、邊蟲及巴貝氏蟲帶原之檢測，並利用基因序列比對及親緣樹狀圖演化分析 (phylogenetic tree analysis)，以對艾利希氏體、邊蟲及巴貝氏蟲在動物體外寄生蜱之分子流行病學有更清楚認識。第一年將針對艾利希氏體及邊蟲的基因序列 16S rRNA gene，第二年將針對巴貝氏蟲的基因序列 18S rRNA gene 建立聚合酶連鎖反應，先檢驗屬之層次，再檢測分出種。同時進行台灣地區犬隻及野生動物外寄生蜱採集，逐年以建立之分子檢測法檢測動物身上蜱種及鼠類全血、鼠類脾臟，並由基因序列比對及親緣樹狀圖演化分析 (phylogenetic tree analysis) 確定在台灣與世界各地不同品系之關係，期望釐清本地蜱種艾利希氏體、邊蟲及巴貝氏蟲帶原的實際情形，及感染人之可能性。另為瞭解人類族群感染之情況，將針對第一年艾利希氏體、邊蟲及第二年巴貝氏蟲分子檢測結果進行台灣地區可能感染艾利希氏體邊蟲及巴貝氏蟲之人類族群進行血清學檢測。

一、 樣本採集

- (一) 犬蜱：與北、中、南、東之動物醫院或大專院校獸醫系合作，長期收集就診之犬隻或流浪狗身上的蜱樣本，以同一隻動物為單位，保存於 70% 酒精，置於 4°C 或 -20°C 運送至林森實驗室。
- (二) 野生動物外寄生蜱：與台北市立動物園、行政院農業委員會台灣特有生物保育中心、中興大學獸醫系、屏東科技大學野生動物保育研究所等國內相關野生動物保育及救傷單位合作，長期收集救傷野生動物身上的蜱，保存於 70% 酒精，置於 4°C 或 -20°C 運送至林森實驗室。
- (三) 鼠類外寄生蜱、全血及蜱臟：95-99 年已採集連江縣、金門縣、澎湖縣、

宜蘭縣、花蓮縣、台東縣、桃園縣、台中縣、高雄縣及屏東縣約 1400 隻鼠類選取有蟬寄生約 100 隻全血及脾臟，及約 600 隻外寄生蟬。

二、 蟬鑑定方法

(一) 形態鑑定參考鄭和姜(1991)、Yamaguti *et al.*(1971)及 Baker(1999)⁶¹⁻⁶³。

(二) 蟬種分子鑑定

1. 蟬種分子鑑定參考 Beati and Keirans (2001)，以 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 為基因標的⁶⁴。
2. 蟬放入 1.5ml 之大頭 eppendorf tube，加入 80 μ l 的 Buffer PBS，再加入 3mm 鋼珠用 TissueLyser 以每秒 30 下共 2.5 分鐘將組織打散，加入 20 μ l proteinaseK 與 100 μ l 的 Buffer ATL，vortex 約 15sec 後，置於 56 $^{\circ}$ C 隔夜。
3. 加入 200 μ l 的 Buffer AL 置於 70 $^{\circ}$ C 10 分鐘後加入 200 μ l 的酒精。
4. 真空抽氣機上先行處理，預備位置先放入藍色環 tube，再置入 QIAamp spin coloum。
5. 將處理好的檢體個別置入 QIAamp spin coloum，啟動抽氣機，抽取完畢後加入 500 μ l Buffer AW1，加入 500 μ l Buffer AW2。
6. 將抽氣完之檢體 QIAamp spin coloum 取出置於 2 ml collection tube 中，以 14000rpm 離心 10 分鐘。
7. 將 QIAamp spin coloum 放入標示好之 1.5 ml 離心管中，小心打開蓋子，加入 100 μ l 滅菌二次水，室溫下浸潤 5 min，離心 8000 rpm(or 10000 rpm) 1min。
8. 保存於-20 $^{\circ}$ C，此為 DNA 模板。
9. 增幅 12S rRNA gene: PCR 每一管 0.5 ml 微量離心管依序加入含有 13.65 μ l 去離子水、5 μ l 之 5X PCR buffer (Promega)、1 μ l 之 5 mM dNTPs

(Promega)、1.75 μ l 之 25 mM MgCl₂ (Promega)、0.5 μ l 之 5 μ M primer T1B：
5'-AAACTAGGATAGATACCCT-3' 及 primer T2A：
5'-AATGAGAGCGACGGGCGATGT-3'、2.5 μ l 之 DNA 模板及 0.1 μ l 酵素
Taq (Promega) (5 U/ μ l) 等之 PCR 反應液。PCR 反應流程為：先於 94°C，預
熱 5 min；再依序進行 94°C (15 s)/ 51°C (30 s)/ 68°C (30 s) 之循環，一共 5
循環；接著 94°C (15 s)/ 53°C (30 s)/ 70°C (30 s) 之循環，一共 25 循環最
後，於 70°C 5 min 中止反應。

10. 增幅 16S rRNA gene：primer 16S+1：

5'-CTGCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGTGG-3' 及 primer 16S-1：
5'-CCGGTCTGAACTCAGATCAAGTA-3'⁶⁵，其餘條件與增幅 12S rRNA gene
相同。

11. 取 5 μ l PCR 增幅的產物，於 1.5% agarose gel (Promega, 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 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。

三、 艾利希氏體、邊蟲及巴貝氏蟲 PCR 檢測方法

1. 鼠類血液抽 DNA 方法：使用 OIA amp DNA blood Kit (Qiagen)，200 μ l 血
液，以 100 μ l Buffer AE elute，將 DNA 置於-20°C 冰箱保存。
2. 鼠類脾臟抽 DNA 方法：使用 QIA amp DNA mini Kit (Qiagen)，取 10 mg 鼠
類脾臟，以 100 μ l Buffer AE elute，將 DNA 置於-20°C 冰箱保存。

3. 艾利希氏體 PCR：參考 Parola *et al.*(2000)的方法⁶⁶，使用 Ehrlichia genus-specific primer

EHR 16SD 5'- GGT ACC (C/T)AC AGA AGA AGT CC-3'

EHR 16SR 5'-TAG CAC TCA TCG TTT ACA GC-3'

SYBR Green real-time PCR 反應流程為：先於 95°C，預熱 15 min；再依序進行 94°C (30 sec)/ 55°C (30 sec)/ 72°C (90 sec) 之循環，一共 45 循環，於 95°C 1 min 後進行 Melting 65°C 30 sec, 0.5°C/ cycle，一共 45 循環。

將陽性 PCR 產物直接進行定序，再以 NCBI 網站

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 進行 DNA 序列之 BLAST 比對。

4. 巴貝氏蟲 PCR：參考 Simpson *et al.* (2005) 的方法⁶⁷ 使用

Apicomplexa-specific nested PCR，基因標的為 18S rRNA gene。

第一次 PCR primer

BmF1: GCG ATG TAT CAT TCA AGT TTC TG

BmR1: TGT TAT TGC CTT ACA CTT CCT TGC

第二次 PCR primer

BmF2: ACG GCT ACC ACA TCT AAG GAA GGC

BmR2: TCT CTC AAG GTG CTG AAG GA

PCR 反應流程為：先於 95°C，預熱 5 min；再依序進行 96°C (20 sec)/ 55°C (20 sec)/ 72°C (50 sec) 之循環，一共 39 循環，於 72°C 10 min 中止反應。

第二次與第一次相同。

將陽性 PCR 產物直接進行定序，再以 NCBI 網站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 進行 DNA 序列之 BLAST 比對。

Babesia specific PCR (Casati *et al.* 2006)，*Babesia microti* specific nested PCR

(Persing *et al.* 1992)及 *Babesia microti* confirmation nested PCR (Saito-Ito *et al.* 2004)，primers 及反應條件如表一。

四、艾利希氏體(*Ehrlichia*)及邊蟲(*Anaplasma*)之高危險人類族群血清學檢測方法

1. 使用 *Anaplasma phagocytophilum* (HGA) IFA IgG Kit (Focus Technologies, Cypress, California, USA)
2. PBS 與 2 次水從冰箱取出回溫，將 PBS 分裝在 50ml 的離心管中，並且更換玻片槽中的 PBS。
3. 稀釋 PC 與檢體
 - 3.1. 取 32 μ l 的 IgG Detectable Control 置於 96 孔盤中利用 PBS 進行連續的 2 倍稀釋。
 - 3.2. 將檢體的血清稀釋成 1: 64，或依照所需要的稀釋倍率進行稀釋。
4. 從 4°C 冰箱取出玻片，放置於室溫，回溫後，再將玻片打開取出。
5. 將稀釋好的 PC、未稀釋的 NC 與稀釋好的檢體血清，取 25 μ l 滴入玻片的 well 中。
6. 將處理好的玻片放入 35~37 °C (需維持溼度) 烘箱中，培養 30 分鐘。
7. 30 分鐘後，將玻片取出，以 PBS 潤洗後，浸泡於 PBS 中 10 分鐘。
8. 將 PBS 浸泡過的玻片，再浸泡到二次水中一下，在室溫中陰乾。
9. 等到玻片乾了以後，關燈，在每一個 well 中加入 25 μ l 的 IgG Conjugate。
10. 放入 35~37 °C (需維持溼度) 烘箱中，培養 30 分鐘。
11. 關燈，重複步驟 6 與 7 的潤洗步驟。
12. 在關燈的情況下，在玻片上加入 mounting medium，蓋上 24×50 mm 的蓋玻片，去除玻片中的氣泡和多餘的 mounting medium。

13. 在 400X 的螢光顯微鏡下觀察結果。

結果

一、 建立巴貝氏蟲(*Babesia*)分子檢測法

參考 Simpson *et al.* (2005)的方法加以修改，使用 Apicomplexa-specific nested PCR 擴大篩選，基因標的為 18S rRNA gene。將陽性檢體再進行 *Babesia* specific PCR (Casati *et al.* 2006)，*Babesia microti* specific nested PCR (Persing *et al.* 1992)及 *Babesia microti* confirmation nested PCR (Saito-Ito *et al.* 2004)。四種陽性 PCR 產物直接進行定序，以 NCBI 網站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 進行 DNA 序列之 BLAST 比對。

二、 鼠類外寄生蜱巴貝氏蟲(*Babesia*)分子檢測結果

將 96-99 年於桃園、台中、高雄屏東、花蓮、台東、澎湖、金門及連江所採集鼠類外寄生蜱進行巴貝氏蟲分子檢測。採集數量較少的高雄屏東、花蓮、台東、澎湖及連江全部外寄生蜱皆進行檢測，採集數量較多的桃園、台中及金門則平均選取不同地點及不同鼠種的外寄生蜱進行檢測。

就已檢測完之 638 隻蜱，端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率為 9.72% (62/638)，檢測之蜱種有 3 種，包括粒形硬蜱(*Ixodes granulatus*)、板齒鼠血蜱(*Haemaphysalis bandicota*)及鐮形扇頭蜱(*Rhipicephalus haemaphysaloides*)，其中以板齒鼠血蜱陽性率為 15.68% (37/236)最高，其次為鐮形扇頭蜱 6.63% (13/196)，粒形硬蜱 5.83% (12/206)最低，以地區別，台中市陽性率為 24.83%(13/149)最高，其次為花蓮縣 13.33%(10/75)及高雄屏東 11.32%(6/53) (表二)。

PCR 產物定序結果以肝簇蟲(*Hepatozoon* spp.)數量最多，佔所有陽性檢體

的 88.71% (55/62)，此外尚有 *Babesia* spp. 4 株，及序列接近 *Paraschneideria metamorphose*、*Cryptosporidium galli* 及 *Theileria* sp. 各 1 株，如表三。

進一步將 Apicomplexa-specific nested PCR 陽性檢體進行 *Babesia* specific PCR，*Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 檢測，結果在粒形硬蜱、板齒鼠血蜱及鐮形扇頭蜱 *B. microti* 的陽性率分別為 0.97% (2/206)、0.85% (2/236) 及 0% (0/196)，陽性檢體位於桃園縣大溪鎮 2 隻粒形硬蜱及桃園縣新屋鄉及台中市龍井區各 1 隻板齒鼠血蜱。板齒鼠血蜱及鐮形扇頭蜱另檢出 *Babesia* sp. BiCM002 感染，陽性率分別為 1.27% (3/236) 及 0.51% (1/196)。

台中市沙鹿區一隻鬼鼠身上有 3 隻花蜱屬 (*Amblyomma* sp.) 幼蟲，檢測結果一隻帶有 *B. microti*。

三、 鼠類脾臟及血液巴貝氏蟲(*Babesia*)分子檢測結果

鼠類脾臟端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率為 16.78% (51/304)，仍以肝簇蟲(*Hepatozoon* spp.)數量最多，佔所有陽性檢體 96.08% (49/51) (表四)，此外尚有序列接近 *Theileria youngi*、*Sarcocystis* sp.各 1 株(表五)。進一步將 Apicomplexa-specific nested PCR 陽性檢體進行 *Babesia* specific PCR，*Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 檢測，結果在屏東縣萬丹鄉一隻小黃腹鼠 *B. microti* 陽性，陽性率為 0.33% (1/304)。另台中市沙鹿區 4 隻鬼鼠有 *Babesia* sp. BiCM002 感染，陽性率為 1.32% (4/304)。

鼠類血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率為 20% (48/240)，仍以肝簇蟲(*Hepatozoon* spp.)數量最多，佔所有陽性檢體 89.58% (43/48) (表四)，此外尚

有序列接近 *Babesia* spp. 4 株及 *Colpodellida* spp. 1 株(表六)。進一步將 Apicomplexa-specific nested PCR 陽性檢體進行 *Babesia* specific PCR, *Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 檢測, 結果 *B. microti* 的陽性率為 0.83% (2/240), 分別為台東縣綠島鄉錢鼠及桃園縣中壢市小黃腹鼠。另檢出 *Babesia* sp. BiCM002 感染, 陽性率為 5.42% (13/240), 分別為台中市沙鹿區、龍井區及高雄市大寮區、屏東縣萬丹區的鬼鼠。

以地區別, 鼠類蜱臟及血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率, 以台中市最高 46.03%(29/63), 其次為高雄屏東 35.38%(23/65)及花蓮縣 31.15%(19/61)。三個高感染地區與鼠外寄生蜱結果相同。

四、 犬外寄生蜱巴貝氏蟲(*Babesia*)分子檢測結果

100-101 年自台大動物醫院、中興大學獸醫系、台中瑞和動物醫院、高雄回生動物醫院、宜蘭德生動物醫院、羅東季廷動物醫院及花蓮動物醫院分別送驗 2212 隻狗蜱(血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 2127 隻, 豪豬血蜱 *Haemaphysalis hystricis* 85 隻)。犬隻分布範圍包括台北市、新北市、桃園縣、新竹縣、苗栗縣、台中市、南投縣、彰化縣、高雄市、基隆市、宜蘭縣及花蓮縣。平均血紅扇頭蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率為 2.3%(49/2127)。陽性率最高的縣市為桃園縣 6.7%(4/60), 其次為台北市 3.6%(5/138)(表七)。平均豪豬血蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲陽性率為 5.9%(5/58), 以台北市陽性率 18.5%(5/27)最高。

於血紅扇頭蜱中仍以肝簇蟲(*Hepatozoon* spp.)數量最多, 皆為犬肝簇蟲 (*Hepatozoon canis*), 佔所有陽性檢體 73.47% (35/49)(表七), 犬肝簇蟲尚無感

染人之報告，此外尚有序列接近 *Colpodellida* spp. 6 株、*Babesia gibsoni* 5 株、*Adelina bambarooniae* 2 株及 *Coccidia* spp.1 株(表八)。進一步將 Apicomplexa-specific nested PCR 陽性檢體進行 *Babesia* specific PCR，*Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 檢測，結果 *B. microti* 的陽性率為 0.24% (5/2127)，分別在台北市中正區、新北市汐止區、土城區、花蓮縣吉安鄉及南投縣。另一種 *Babesia* 為 *Babesia gibsoni*，其陽性率為 0.24% (5/2127)。以台北市陽性率 2.9% (4/138) 最高，其次為桃園縣 1.67% (1/60)，其他地區未檢出。

5 隻陽性的豪豬血蜱皆為 *Babesia gibsoni*。

五、 台灣地區巴貝氏蟲(*Babesia*)18S rRNA gene 定序與世界其他地區蟲株之比較

將 Apicomplexa-specific nested PCR、*Babesia* specific PCR、*Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 之陽性檢體進行定序，定序結果 Blast 為 *Babesia microti* 分別在 Apicomplexa-specific nested PCR(約 669bp)有 3 株：9718M3、9374B 及 9543B。*Babesia microti* confirmation nested PCR(約 275bp) 有 3 株：9718M3、9374B 及 TP117-F3。*Babesia microti* specific nested PCR(約 159bp)有 9 株：9488-4t、9776-9、9718M3、9690-L1、9640S、9374B、TP38-M3、HL106-F4 及 TP75-F2。扣除重疊者合計 13 株。

將自台灣鼠蜱(9488-4t、9776-9、9718M3、9690-L1)、鼠類脾臟(9640S)、鼠類血液(9374B、9543B)及狗蜱(TP38-M3、HL106-F4、TP75-F2、TP117-F3)檢測到的 *Babesia microti* 與全世界重要的參考株進行親緣關係分析，就

Apicomplexa-specific nested PCR 產物(約 669bp, 在 18S rRNA gene 中段), 台灣源自板齒鼠血蜱(*Haemaphysalis bandicota* 9718M3)及小黃腹鼠(*R. losea* 9543B)血液的 *Babesia microti* 屬於 US type, 而源自錢鼠(*S. murinus* 9374B)血液的 *Babesia microti* 屬於 Kobe type(圖一)。就 *Babesia microti* specific nested PCR 產物(約 159bp, 在 18S rRNA gene 前段)分析, 台灣源自鼠類脾臟(*R. losea* 9640B)、狗蜱(*Rhipicephalus sanguineus* HL106-F4, TP38-M3)、板齒鼠血蜱(*Haemaphysalis bandicota* 9776-9, 9718M3)、花蜱(*Amblyomma* sp. 9690-L1)及粒形硬蜱(*Ixodes grsnulatus* 9488-4t)的 *Babesia microti* 序列皆相同, 屬於 US type, 而源自錢鼠(*S. murinus* 9374B)血液及狗蜱(*Rhipicephalus sanguineus* TP75-F6)的 *Babesia microti* 序列相同, 屬於 Kobe type(圖二)。

除 *Babesia microti*, 源自血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 及豪豬血蜱 *Haemaphysalis hystricis* 的 *Babesia gibsoni* 及源自板齒鼠血蜱(*Haemaphysalis bandicota*)、鼠類血液的 *Babesia* sp. BiCM002 與全世界 *Babesia* 參考株的親緣關係如圖三。

六、 採集蜱種之分子生物學鑑定

將採自不同地點之狗蜱(血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus*)進行 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 親緣關係分析, 以鐮形扇頭蜱(*Rhipicephalus haemaphysaloides*)為外群(outgroup)。血紅扇頭蜱計採自台北市、新北市、桃園縣、基隆市、新竹、苗栗縣、台中市、高雄市、宜蘭縣及花蓮縣等 20 鄉鎮。經以 neighbour-joining 法重覆 1000 次建構親緣關係樹, 由圖四可見 12S rRNA gene 分為 2 群, 一群有 13 隻, 另一群有 5 隻, 為混合並未有某一群集

中在同一地區的現象。16S rRNA gene 則來自 18 個地點的 18 隻完全相同(圖五)。

七、 台灣地區可能感染艾利希氏體(*Ehrlichia*)及邊蟲(*Anaplasma*)之高危險人類族群血清學檢測結果

由防疫血清資料庫中取 96-97 年金門縣及連江縣恙蟲病通報病例 141 人(庫存僅有)，其中有 58 人有二次採血，另取研檢中心台北同仁 30 人健康檢查血清為對照組。結果金馬恙蟲病通報病例 *Anaplasma phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 43.26% (61/141)，而對照組血清抗體陽性率為 16.67% (5/30)，具有顯著性差異 ($X^2=7.383$, $p=0.007$)。不論是恙蟲病陽性確定病例(*A. phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 44.33% (43/97))或恙蟲病不明病例(*A. phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 50.00% (8/16))對對照組皆具顯著性差異 ($X^2=7.485$, $p=0.006$; $X^2=5.719$, $p=0.036$)，如表九。但就男女性別、職業別及不同年齡層則無顯著性差異 ($X^2=0.024$, $p=0.877$; $X^2=2.894$, $p=0.408$; $X^2=2.096$, $p=0.836$)，如表十。同時在 58 個配對血清中發現 2 個病例兩次採血 *Anaplasma phagocytophilum* 血清抗體效價有四倍上升(一例一次血陰性，二次血 1:1024; 另一例一次血 1:64，二次血 1:512)，這 2 例都是恙蟲病陽性病例。

八、 協助防疫-馬來西亞境外移入革蜱若蟲(*Dermacentor* sp.)分子檢測結果

2011 年 12 月 30 日台北市立聯合醫院中興院區眼科許醫師送來一蜱檢體請求鑑定，此蜱為一 52 歲馬來西亞籍婦人在 12 月 28 日搭機到台灣後至醫院急診時於右眼上眼瞼取下(圖六)。此婦人家住馬來西亞山區，有狗的接觸史，據其描述可能是在馬來西亞被蜱叮到。此蜱經初步鏡檢為 *Dermacentor* sp.

nymph(革蜱若蟲)，由於應不屬台灣種類，經以不破壞蟲體抽 DNA，以 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 定序分析，12S 片段 88% similarity to sequence of *Dermacentor reticulatus*，16S 片段則為 91% similarity to sequence of *Dermacentor andersoni*。由於相似性都不是非常高，且 *Dermacentor reticulatus* 分布於歐洲；*Dermacentor andersoni* 分布於北美，故應屬馬來西亞種類之革蜱 (*Demacentor* sp.) (圖七)。

檢測該蜱相關蜱媒病原體，經以 nested-PCR 檢測此蜱是否帶有斑點熱 spotted fever rickettsia group，結果 citrate synthase(*glt A*)及 outer membrane protein B(*ompB*)均為陰性，巴貝氏原蟲 *Babesia* 亦為陰性。艾利希氏體及邊蟲 Ehrlichia & Anaplasma real-time PCR 為陽性，PCR 片段定序結果為 *Anaplasma platys* 305/305 (100%)。

Anaplasma platys(片狀邊蟲)主要是侵犯狗的血小板造成傳染性犬週期性血小板減少症(Infectious canine cyclic thrombocytopenia)，病媒蜱主要為血紅扇頭蜱(*Rhipicephalus sanguineus*)及革蜱屬(*Dermacentor* spp.)種類。貓有被感染的報告，但尚無人感染報告。分布地區包括美國南部、澳洲、南歐(靠地中海)、南美、亞洲、中東及非洲。

經電話與中興院區許醫師聯絡，該名婦人為旅台遊客，經醫院拔除蜱再投予抗生素，離院後繼續進行台灣旅遊行程，已返回馬來西亞。本局於 1 月 17 日召開記者會公布此案例，提醒國人出外旅遊注意。

討論

台灣地區每年都有為數眾多的不明熱患者雖經法定傳染病原檢測，卻仍無法診斷出病原體，這些病例中有沒有可能感染 *Ehrlichia*, *Anaplasma* 或 *Babesia* 等蜱媒疾病，是本研究想要探討的問題。繼第一年 *Ehrlichia* & *Anaplasma* 檢測，今年的檢測重點在於 *Babesia*。*Babesia* 在分類上屬 Apicomplexa 門、Aconoidasida 綱、Piroplasmida 目、Babesiidae 科，種類超過 100 種。Apicomplexa 端複胞器門是一群原蟲(protists)，會引起人類致病的除 *Babesia* 外還有 *Plasmodium*(瘧原蟲)、*Cryptosporidium parvum*(小隱孢子蟲)、*Isospora belli*(貝氏等孢球蟲)及 *Toxoplasma gondii*(弓漿蟲)等，因此這次在進行環境檢體檢測時先以 Apicomplexa-specific nested PCR 擴大篩選，將 PCR 陽性檢體再進行 *Babesia* specific PCR 以及 *Babesia microti* specific nested PCR，藉以確認最重要的人類致病原 *Babesia microti*。

本年度所檢測的鼠類外寄生蜱為 95-99 年採集自連江縣、金門縣、澎湖縣、宜蘭縣、花蓮縣、台東縣、桃園縣、台中縣、高雄縣及屏東縣 1375 隻鼠類中有蜱寄生的 92 隻鼠類，共 638 隻鼠外寄生蜱。蜱的種類分為 3 種，板齒鼠血蜱 (*H. bandicota*)、粒形硬蜱 (*I. granulatus*) 及鐮形扇頭蜱 (*R. haemaphysaloides*)，板齒鼠血蜱及粒形硬蜱生活史之 3 個階段(幼蜱、若蜱、成蜱)都可以在鼠類身上發現，鐮形扇頭蜱則僅幼蜱及若蜱寄生於鼠類，成蜱寄生於較大型的動物，如牛、狗、馬、豬、羊及野豬、黑熊、水鹿、野兔等野生動物⁶¹。

巴貝氏原蟲(*Babesia*)的生活史與瘧原蟲(*Plasmodium*)相似，首先已感染的蜱在叮咬動物時將孢子蟲(sporozoites)注入動物體內，孢子蟲進入紅血球進行

無性生殖循環，有些孢子蟲分化成雄性或雌性配子(gametes)，兩種配子若在另一隻蜱叮咬動物時同時進入蜱體內，則可在蜱的中腸完成有性生殖。人為終端宿主，被已感染蜱叮咬或經由輸血得病。台灣地區 Babesiosis 確定病例不多，由表一至表五環境的檢驗結果也可反應出來。在鼠類外寄生蜱方面只有桃園縣大溪鎮 2 隻粒形硬蜱及桃園縣新屋鄉及台中市龍井區各 1 隻板齒鼠血蜱檢驗出 *B. microti*，粒形硬蜱與板齒鼠血蜱 *B. microti* 的陽性率分別為 0.97% (2/206) 及 0.85% (2/236)。而鼠類脾臟只有在屏東縣萬丹鄉一隻小黃腹鼠 *B. microti* 陽性，陽性率為 0.33% (1/304)，鼠類血液在桃園縣中壢市及台東縣綠島鄉各有一隻小黃腹鼠及錢鼠 *B. microti* 陽性，陽性率為 0.83% (2/240)。

另一種發現於鼠類及鼠蜱的 *Babesia* 為 *Babesia* sp. BiCM002，板齒鼠血蜱及鐮形扇頭蜱的陽性率分別為 1.27% (3/236) 及 0.51% (1/196)，老鼠脾臟的陽性率為 1.32% (4/304)，老鼠血液的陽性率為 5.42% (13/240)，老鼠的陽性檢體皆僅發現於鬼鼠。因此就鬼鼠而言某些地區鬼鼠有極高的陽性率，如台中市沙鹿區及龍井區的鬼鼠 *Babesia* sp. BiCM002 陽性率為 78.57% (11/14)。*Babesia* sp. BiCM002 亦發現於泰國鬼鼠的血液，目前尚無對人致病性報告⁶⁸。

比較台灣過去鼠類調查報告，Manwell and Kuntz (1964) 發現在台灣的鬼鼠中有一種新種 *Babesia*，其形態與在刺鼠(*Niviventer coninga*) 的 *Babesia* 不同，命名為 *Babesia bandicootia*⁶⁹。ven Peenen et al.(1977) 在台北縣三芝鄉的調查經血液抹片 Piroplasms 在刺鼠與鬼鼠的陽性率分別為 74.88%(158/211) 及 39.74%(31/78)，可能的病媒為粒形硬蜱(*I. granulatus*)、卵形硬蜱(*Ixodes ovatus*)、豪豬血蜱(*Haemaphysalis hystricis*) 及台灣革蜱(*Dermacentor taiwanensis*)⁷⁰。Lien et al. (1997) 在台北縣三峽鎮的調查，經血液抹片 *Babesia*

在刺鼠與小黃腹鼠的感染率分別為 80.95%(17/21)及 50%(1/2)，可能的病媒為粒形硬蜱及卵形硬蜱⁵⁸。王(2000)在陽明山、三峽及台東延平調查 63 隻老鼠 *B. microti* PCR 陽性率為 17.5%⁵⁶，Saito-Ito et al. (2008)在台北、南投、嘉義及高雄調查 39 隻鼠類，*B. microti* PCR 陽性率為 5.13%(2/39)⁵⁷。本研究鼠類調查結果 *B. microti* 陽性率相較於前人的調查較低，究其原因，台灣地區 *B. microti* 主要鼠類儲主為刺鼠，其主要分布在低、中海拔山區，若以刺鼠為調查對象則陽性率會較高，本研究為以平地野鼠為調查對象，僅捕獲一隻刺鼠(檢測陰性)，因此 *B. microti* 陽性率較低。值得注意的是本研究經由 *Babesia* 18S rRNA gene 定序，發現在鬼鼠體內僅有 *Babesia* sp. BiCM002 並無 *B. microti*，可能即為 *Babesia bandicootia*，並非如 ven Peenen et al.(1977)所認為鬼鼠體內的 *Babesia* 是 *Babesia microti* 一地理品系，如圖三 *Babesia* 親緣關係分析。同時也首次經由 PCR 證實粒形硬蜱與板齒鼠血蜱在鼠之間傳遞 *B. microti* 扮有重要角色。前人的調查中台灣地區刺鼠、小黃腹鼠及小麝鼯(*Crocidura horsefieldii*)曾發現感染 *B. microti*，本研究則增加錢鼠的感染報告。

Babesia 是經由蜱吸血在動物與蜱之間循環，因此鼠類有無蜱寄生對 *Babesia* 之感染應有重要影響。比較有蜱寄生的鼠類蜱臟 *Babesia* sp. BiCM002 感染，陽性率為 4.35% (4/92)，較無蜱寄生陽性率為 0% (0/212)具有顯著性差異($X^2=6.29$, $p=0.0121$)，有蜱寄生的鼠類血液 *Babesia* sp. BiCM002 感染，陽性率為 13.19% (12/91)，較無蜱寄生陽性率為 0.67% (1/149) 具有顯著性差異($X^2=14.92$, $p=0.0001$)。但若感染率太低如有蜱寄生的鼠類血液 *Babesia microti* 感染，陽性率為 2.2% (2/91)，較無蜱寄生陽性率為 0% (0/149)則無顯著性差異($X^2=1.18$, $p=0.2777$)。在美國羅德島(Rhode Island)的研究，肩板硬蜱(*Ixodes*

scapularis)的分布為預測人類 Babesiosis 發生的一項重要因子，若蜱的密度若超過 20 隻/小時，則可維持動物間的循環並可能引發人類疾病⁷¹。

台灣地區鼠類血液 *Babesia* 的感染率最高為 7.35%(15/240)，其次為鼠類脾臟 1.64%(5/304)，鼠類外寄生蜱最低 1.25%(8/638)，其原因可能是 *Babesia* 為血液寄生蟲，在血液中的濃度最高。國外也有相類似報告，在波蘭以 PCR 檢測，鼠類血液 *B. microti* 的感染率為 18.18%(142/781)，*Ixodes ricinus* 的感染率為 3.54%(15/424)，*Dermacentor reticulatus* 的感染率為 4.33%(18/415)，同時不同鼠種的感染率也不同，以 *Microtus arvalis* 最高 35.35%(35/99)⁷²。而日本在不同地區鼠類以 PCR 檢測 *B. microti* 的感染率為 14.57%-38.1%，同時血液感染率 41.82%(23/55)也高於脾臟之 36.9%(31/84)^{36,39,73}。另在 Hokkaido Island 及 Awaji Island 蜱調查，共有 6 種蜱 4010 隻，結果卵形硬蜱(*Ixodes ovatus*)最小感染率(Minimum infection rate)為 4.82%，全溝硬蜱(*I. persulcatus*) 最小感染率為 0.30%，其他蜱種未檢測出⁷⁴。在中國大陸浙江、福建的調查老鼠血液 PCR *B. microti* 感染率為 44.83%(13/29)，而在內蒙古的調查，蜱 *B. microti* 感染率為 3.35%(44/1315)^{57,75}。因此可以看到雖然蜱的感染率較低，動物的感染率則較高。

日本及中國大陸韓國都有 Babesiosis 的確定病例，其確定的病媒為 *I. ovatus* 及 *I. persulcatus*，台灣地區粒形硬蜱與板齒鼠血蜱尚無叮人報告，但鐮形扇頭蜱(*R. haemaphysaloides*)有可能會侵襲人⁶¹，因此對 *Babesia* 的感染應提高警覺，尤其是桃園縣在老鼠體內及外寄生蜱皆檢測出 *B. microti*，且有一例 Babesiosis 確定病例可能是住在桃園縣⁷⁶。

狗是與人最接近的寵物，透過狗蜱(血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus*；

豪豬血蜱 *Haemaphysalis hystricis*)也是最容易傳遞狗與人之間的蜱媒傳染病⁷⁷。本研究於兩年間採集台灣北中南東十三縣市共 2212 隻狗蜱，血紅扇頭蜱 *B. microti* 的感染率為 0.24% (5/2127)，分別在台北市中正區、新北市汐止區、土城區、花蓮縣吉安鄉及南投縣。另一種 *Babesia* 為 *Babesia gibsoni*，其陽性率為 0.24% (5/2127)。以台北市陽性率 2.9% (4/138)最高。在豪豬血蜱方面僅檢出 *Babesia gibsoni*，陽性率為 5.88%(5/58)。文獻中狗所感染的 *Babesia* 多半是 *B. gibsoni*、*B. canis*、*B. rossi*、*B. vogeli* 及 *B. vitali*，只有很少數報告感染 *B. microti* 或 *B. microti-like*^{78,79}，血紅扇頭蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 也僅有感染 *B. microti-like* 的報告⁸⁰，因此本研究為首次發現血紅扇頭蜱感染 *B. microti*，而成為人類得到 Babesiosis 的病媒之一。

台灣地區從鼠類外寄生蜱、血液、蜱臟及狗蜱中端複胞器門(Apicomplexa)原蟲數量最多者皆為肝簇蟲(*Hepatozoon* spp.)，以鼠類脾臟最多佔所有鼠類脾臟陽性檢體 96.08% (49/51)。肝簇蟲為一群血液寄生原蟲，目前種類已超過 300 種。寄生於脊椎動物及媒介的節肢動物，其生活史與瘧原蟲相似，但較特殊之處在於不會進入到節肢動物的唾液腺，因此動物是因為食入節肢動物而得到肝簇蟲，而節肢動物經由吸動物血獲得肝簇蟲配子(gamonts)完成有性生殖。有些肝簇蟲會造成動物疾病，如 *Hepatozoon canis* 引起犬肝簇蟲症⁶⁷，台灣地區從鼠類全血及蜱臟與外寄生蜱所檢測到的肝簇蟲絕大多數為 *Hepatozoon* sp. HepBiCM001，*Hepatozoon* sp. HepBiCM001 尚無人體致病的報告。

本研究從鼠類外寄生蜱、血液、蜱臟及狗蜱所檢測出 13 株 *B. microti* 是否具有人致病性是一個值得關注的問題，由與已知的人類致病株比較可獲得一些訊息。18S rRNA gene 全長約 1.8Kb，本研究曾嘗試以 primer An1, Bn 進行 PCR，但由於是 18S 通用的 primers，在檢體可能多重感染或有雜菌的情況下，

造成定序困難。而 Apicomplexa-specific nested PCR、*Babesia* specific PCR、*Babesia microti* specific nested PCR 及 *Babesia microti* confirmation nested PCR 所增幅 18S rRNA gene 片段不同，Apicomplexa-specific nested PCR 增幅片段(約 669bp)包含 *Babesia* specific PCR(約 516bp)及 *Babesia microti* confirmation nested PCR(約 250bp)，位於 18S rRNA gene 中段，而 *Babesia microti* specific nested PCR 增幅片段(約 159bp) 位於 18S rRNA gene 前段。交差比對這 4 種 PCR 的結果及圖一、圖二，本研究所檢測出 13 株 *B. microti* 分屬兩群，源自鼠類脾臟(*R. losea* 9640S)、鼠類血液(*R. losea* 9543B)、狗蜱(*R. sanguineus* HL106-F4, TP38-M3, TC40-M4, TP117-F3)、板齒鼠血蜱(*H. bandicota* 9776-9, 9718M3)、花蜱(*Amblyomma* sp. 9690-L1)及粒形硬蜱(*I. grsnulatus* 9488-4t, 9488-5t)的 *B. microti* 屬於 US type，而源自錢鼠(*S. murinus* 9374B)血液及狗蜱(*Rhipicephalus sanguineus* TP75-F6)的 *B. microti* 屬於 Kobe type，這兩種 type 皆有病人株，而以 US type 檢出較多，包括鼠類外寄生蜱、血液、蜱臟及狗蜱，但由於比較的序列較短(約 159bp)，未來仍需設法取較長的片段或其他基因標的來確認。Saito-Ito *et al*(2008)2002-2004 年在台灣的調查，2 隻 *B. microti* 陽性的鼠類皆為 Kobe type，在浙江、福建 13 隻 *B. microti* 陽性的鼠類亦皆為 Kobe type⁵⁷。在日本 *B. microti* 的分布以 Otsu type 為主，幾乎在全日本皆有發現，Kobe type 則僅發現於本州北部及 Awaji Island，US type 則僅發現在北海道³⁶。

利用分子檢測法對於蜱種的鑑定是一種很好的輔助工具，特別是形態相近的若蜱、幼蜱或殘破的成蜱。本研究第一年對於粒形硬蜱、板齒鼠血蜱及鐮形扇頭蜱以 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 進行分子檢測，今年再進行血紅扇頭蜱(*Rhipicephalus sanguineus*)。發現雖採自全台灣 20 鄉鎮，就 16S rRNA

gene 仍自成一群;而 12S rRNA gene 分為 2 群，一群有 13 隻，另一群有 5 隻，為混合並未有某一群集中在同一地區的現象。蜱分子檢測所建立的資料庫，有助於形態不明檢體的鑑定，此次處理馬來西亞境外移入革蜱若蟲(*Dermacentor* sp.)事件即發揮功效。

本研究第一年鼠類外寄生蜱艾利希氏體及邊蟲分子檢測結果，以金門縣及連江縣陽性率最高，特別是人類重要的致病菌 *Anaplasma phagocytophilum* 在金門縣及連江縣檢出率最高。由於蜱在野外的棲息環境與恙蟲相同，同樣需要小型哺乳動物為寄主，因此恙蟲病的通報病例同為可能受蜱叮咬的高危險群。以此推論取金門縣及連江縣鼠類外寄生蜱採集同一時期(96-97 年)恙蟲病通報病例進行 *A. phagocytophilum* 間接免疫螢光檢測(Indirect immunofluorescence assay, IFA)。

檢測結果金馬恙蟲病通報病例 *A. phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 43.26% (61/141)，而對照組血清抗體陽性率為 16.67% (5/30)，具有顯著性差異 ($X^2=7.383$, $p=0.007$)。但就男女性別、職業別及不同年齡層則無顯著性差異 ($X^2=0.024$, $p=0.877$; $X^2=2.894$, $p=0.408$; $X^2=2.096$, $p=0.836$)。同時在 58 個配對血清中發現 2 個病例兩次採血 *A. phagocytophilum* 血清抗體效價有四倍上升，顯示金馬地區發燒病人確實需要注意是否為 Anaplasmosis，尤其是金門縣 ($X^2=6.404$, $p=0.01$)。根據國外不同地區的研究報告，健康者的 *Anaplasma phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 2.0-26.7%⁸¹⁻⁸⁴，因此本研究的對照組血清抗體陽性率尚在合理範圍，但若進行陽性檢體的 Western blot 則可進一步確認。至於恙蟲病與 Anaplasmosis 的抗體檢測是否有 cross reaction 的問題，依 Park et al, (2003)的報告 271 個發燒病人，單獨 *Orientia tsutsugamushi* 抗體陽性

37.6%，單獨 *A. phagocytophilum* 抗體陽性 1.8%，兩者皆陽性為 2.6%⁸⁵，因此 cross reaction 的情形應不是很嚴重。

結論與建議

1. 台灣地區 3 種鼠類外寄生蜱，*Babesia microti* PCR 陽性率為 0.63%，以粒形硬蜱陽性率為 0.97% 最高，其次為板齒鼠血蜱 0.85%，另一種巴貝氏原蟲 *Babesia* sp. BiCM002 板齒鼠血蜱陽性率為 1.27%，鑷形扇頭蜱為 0.51%。顯示鼠類外寄生蜱有感染巴貝氏原蟲的現象。
2. 鼠類脾臟及血液，*B. microti* PCR 陽性率分別為 0.33% 及 0.83%。*Babesia* sp. BiCM002 感染陽性率分別為 1.32% 及 5.42%。顯示鼠類亦有感染巴貝氏原蟲的現象。
3. 台灣地區狗蜱(血紅扇頭蜱 *R. sanguineus* 及豪豬血蜱 *H. hystricis*) 中，血紅扇頭蜱 *B. microti* PCR 陽性率為 0.24%，另發現 *Babesia gibsoni* 感染，陽性率為 0.24%。豪豬血蜱僅感染 *Babesia gibsoni*，感染率為 5.88%。
4. 台灣地區 *B. microti* 蟲株以 18S rRNA gene 定序與世界其他地區蟲株比較，發現多數屬於 US type，少數屬於 Kobe type，惟可能皆具致病性。
5. 利用 12S rRNA gene 及 16S rRNA gene 對血紅扇頭蜱進行分子檢測，經親源關係樹圖分別發現 16S rRNA gene 自成一群;而 12S rRNA gene 分為 2 群。蜱分子檢測所建立的資料庫，有助於形態不明檢體的鑑定，應用於處理馬來西亞境外移入革蜱若蟲(*Dermacentor* sp.) 事件。
6. 金馬恙蟲病通報病例 *A. phagocytophilum* 血清抗體陽性率為 43.26%，而對照組血清抗體陽性率為 16.67%，具有顯著性差異($X^2=7.383$, $p=0.007$)，同時在 58 個配對血清中發現 2 個病例兩次採血 *A. phagocytophilum* 血清抗體效價有

四倍上升，顯示金馬地區發燒病人確實需要注意是否為 Anaplasmosis，尤其是金門縣。

計畫重要研究成果及具體建議

1. 本研究發現巴貝氏原蟲已存在於台灣地區鼠類與其外寄生蜱之循環中，特別是經由 *Babesia* 18S rRNA gene 定序，發現在鬼鼠體內僅有 *Babesia* sp. BiCM002 並無 *B. microti*，可能即為 *Babesia bandicootia*。醫師與民眾應留意是否有巴貝氏蟲感染的相關症狀如發燒、畏寒、肌肉疼痛、倦怠、黃膽及溶血性貧血等，以便及早通報，同時實驗室也應開發更敏感的檢測方法，以期偵測此病的發生。
2. 鼠類及其外寄生節肢動物所帶的病原體多，本研究首次經由 PCR 證實粒形硬蜱與板齒鼠血蜱在鼠之間傳遞 *B. microti* 扮有重要角色，同時證實錢鼠亦為自然儲主。民眾應防範鼠類避免與鼠類接觸，同時加強滅鼠，特別是桃園縣，如被蜱、蟎或跳蚤叮咬，應注意叮咬後的反應及早就醫，尤其通常硬蜱叮咬時，會將口器插入皮膚中，應儘速用鑷子夾住硬體前端口器小心拔出，不要將其擠碎，並避免將其口器殘留在皮膚中，同時告訴醫師這些資訊，蜱、蟎或跳蚤若能同時送檢，更有助於疾病診斷。
3. 台灣地區狗蜱感染巴貝氏蟲的情形可見，本研究為首次發現血紅扇頭蜱感染 *B. microti*，而成為人類得到 Babesiosis 的病媒之一，有養狗當寵物的民眾應常常注意清除狗身上的狗蜱及環境狗蜱，以避免被叮咬感染。
4. 本研究所檢測出 13 株 *B. microti* 分屬兩群，US type 及 Kobe type，這兩種 type 皆有病人株，而以 US type 檢出較多，包括鼠類外寄生蜱、血液、蜱臟及狗蜱，但由於比較的序列較短(約 159bp)，未來仍需設法取較長的片段或其他基因標的來確認。
5. 請權責疾病組轉達各分局及衛生局，提醒轄區醫師與民眾注意，落實於衛

教宣導及防治中，尤其是桃園縣及金門縣。

參考文獻

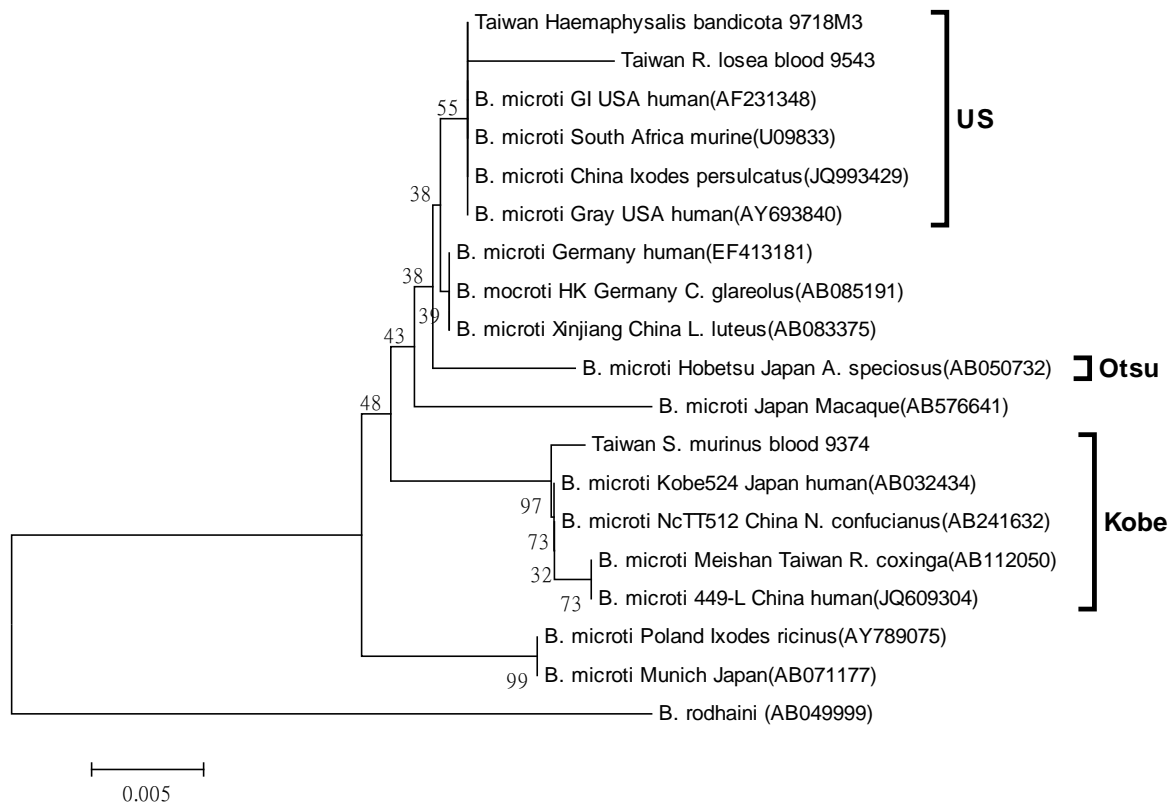
1. Dumler JS. Anaplasma and Ehrlichia infection. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1063:361-73.
2. Bakken JS, Dumler JS. Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2000;31:554-60.
3. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;51:2145-65.
4. Buller RS, Arens M, Hmiel SP, et al. Ehrlichia ewingii, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. *N Engl J Med* 1999;341:148-55.
5. Stone JH, Dierberg K, Aram G, Dumler JS. Human monocytic ehrlichiosis. *JAMA* 2004;292:2263-70.
6. Bakken JS, S. DJ. Antimicrobial therapy and vaccines. 2 ed. New York: Apple Trees Productions; 2002.
7. Kawahara M, Rikihisa Y, Isogai E, et al. Ultrastructure and phylogenetic analysis of 'Candidatus Neoehrlichia mikurensis' in the family Anaplasmataceae, isolated from wild rats and found in Ixodes ovatus ticks. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54:1837-43.
8. von Loewenich FD, Geissdorfer W, Disque C, et al. Detection of "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" in two patients with severe febrile illnesses: evidence for a European sequence variant. *J Clin Microbiol* 2010;48:2630-5.
9. Fehr JS, Bloemberg GV, Ritter C, et al. Septicemia caused by tick-borne bacterial pathogen Candidatus Neoehrlichia mikurensis. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1127-9.
10. Welinder-Olsson C, Kjellin E, Vaht K, Jacobsson S, Wenneras C. First case of human "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" infection in a febrile patient with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Microbiol* 2010;48:1956-9.
11. Lotric-Furlan S, Petrovec M, Avsic-Zupanc T, et al. Human ehrlichiosis in central Europe. *Wien Klin Wochenschr* 1998;110:894-7.
12. Sumption KJ, Wright DJ, Cutler SJ, Dale BA. Human ehrlichiosis in the UK. *Lancet* 1995;346:1487-8.
13. Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken JS. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 2007;45 Suppl 1:S45-51.
14. Zhi N, Ohashi N, Rikihisa Y. Multiple p44 genes encoding major outer membrane proteins are expressed in the human granulocytic ehrlichiosis agent. *J Biol Chem* 1999;274:17828-36.
15. Massung RF, Owens JH, Ross D, et al. Sequence analysis of the ank gene of granulocytic ehrlichiae. *J Clin Microbiol* 2000;38:2917-22.
16. Inokuma H, Oyamada M, Kelly PJ, et al. Molecular detection of a new Anaplasma species closely related to Anaplasma phagocytophilum in canine blood from South Africa. *J Clin Microbiol* 2005;43:2934-7.
17. Alberti A, Zobba R, Chessa B, et al. Equine and canine Anaplasma phagocytophilum strains isolated on the island of Sardinia (Italy) are phylogenetically related to pathogenic strains from the United States. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:6418-22.
18. Chang AC, Chang WL, Lin CT, Pan MJ, Lee SC. Canine infectious cyclic thrombocytopenia found in Taiwan. *J Vet Med Sci* 1996;58:473-6.

- 19.張祖駿. 利用巢式聚合酶連鎖反應調查台北市犬艾利希氏體病 [碩士論文]: 國立台灣大學; 2003.
- 20.黃嘉嘉. 以巢式聚合酶連鎖反應偵測犬隻狗型、血小板型艾利希體症及犬心絲蟲感染症 [碩士論文]: 國立嘉義大學; 2003.
- 21.陳昱憲. 以巢式聚合酶連鎖反應調查台灣家貓血液寄生蟲之感染疫情 [碩士論文]: 國立中興大學; 2007.
- 22.Hsieh YC, Lee CC, Tsang CL, Chung YT. Detection and characterization of four novel genotypes of Ehrlichia canis from dogs. Vet Microbiol 2010;146:70-5.
- 23.翁明輝, 連日清, 蔡惠坪, 林佩如, 郭明德, 劉文燦. 2009 年金門地區鼠類寄生蟬敢染查菲艾利希氏體之調查. 疫情報導 2010;26:134-9.
- 24.Suto Y, Suto A, Inokuma H, Obayashi H, Hayashi T. First confirmed canine case of Ehrlichia canis infection in Japan. Vet Rec 2001;148:809-11.
- 25.潘明正. 牛邊緣無形體症 (Bovine anaplasmosis). In: (編著) 潘劉張, ed. 媒介重要人畜傳染疾病的有害生物—節肢動物篇. 台北市: 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局; 2007:138-9 頁.
- 26.林怡孜. 以 PCR 技術調查台灣乳牛焦蟲症及邊蟲症之流行病學 [碩士論文]: 國立中興大學; 2007.
- 27.Babes V. Sur l'hémoglobinurie bactérienne du bœuf. C R Aca Sci 1888;107:692-4.
- 28.Smith T, Kilborne FL. Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever, 8th and 9th Repts. In: Bur. Anim. Industr., U. S. Dept. agric; 1893:177-304.
- 29.Uilenberg G. Babesia--a historical overview. Vet Parasitol 2006;138:3-10.
- 30.Skrabalo Z, Deanovic Z. Piroplasmosis in man; report of a case. Doc Med Geogr Trop 1957;9:11-6.
- 31.Marsaudon E, Camenen J, Testou D, Bourree P, Samson P, Luneau F. [Babesia canis human babesiosis causing a 40-day anuria]. Ann Med Interne (Paris) 1995;146:451-2.
- 32.Popovsky MA. Transfusion-transmitted babesiosis. Transfusion 1991;31:296-8.
- 33.Herwaldt B, Persing DH, Precigout EA, et al. A fatal case of babesiosis in Missouri: identification of another piroplasm that infects humans. Ann Intern Med 1996;124:643-50.
- 34.Krause PJ, Telford III SR. Babesiosis. In: Gilles HM, ed. Protozoal diseases. London: Arnold; 1999:236-48.
- 35.Kjemtrup AM, Conrad PA. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. Int J Parasitol 2000;30:1323-37.
- 36.Saito-Ito A, Kasahara M, Kasai M, et al. Survey of Babesia microti infection in field rodents in Japan: records of the Kobe-type in new foci and findings of a new type related to the Otsu-type. Microbiol Immunol 2007;51:15-24.
- 37.Telford SA, III, Gorenflot A, Basseur P, Spielman A. Babesial infections in humans and wildlife. In: Kreier JP, ed. Parasitic protozoa. San Diego, U.S.A.: Academic Press, Inc.; 1993:1-47.
- 38.Duh D, Petrovec M, Avsic-Zupanc T. Diversity of Babesia Infecting European sheep ticks (Ixodes ricinus). J Clin Microbiol 2001;39:3395-7.
- 39.Saito-Ito A, Yano Y, Dantrakool A, Hashimoto T, Takada N. Survey of rodents and ticks in human babesiosis emergence area in Japan: first detection of Babesia microti-like parasites in

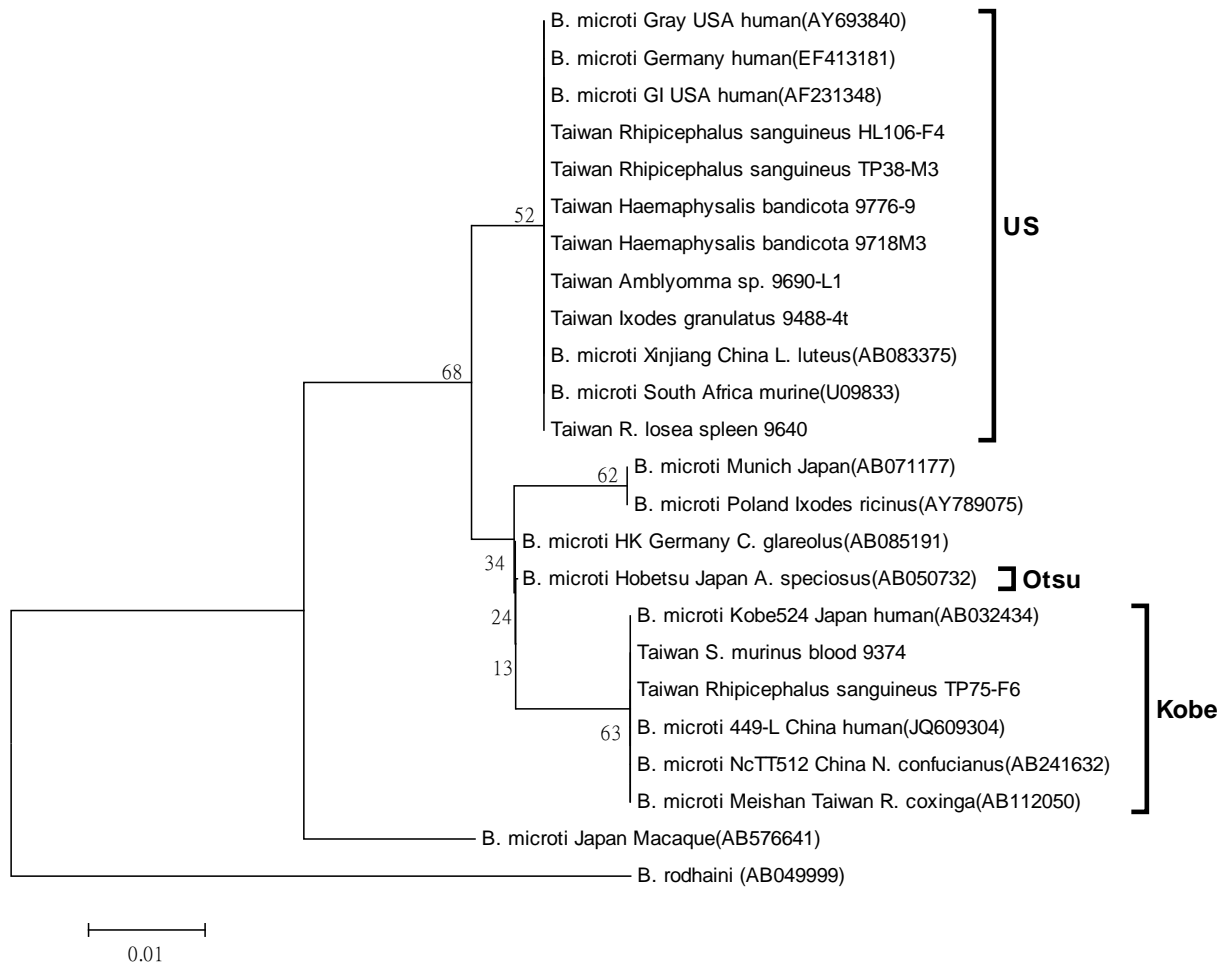
- Ixodes ovatus*. J Clin Microbiol 2004;42:2268-70.
40. Marathe A, Tripathi J, Handa V, Date V. Human babesiosis--a case report. Indian J Med Microbiol 2005;23:267-9.
 41. Saito A, Rai SK, He S, Kohsaki M, Tsuji M, Ishihara C. [First demonstration of *Babesia* parasitizing in human in Japan]. Kansenshogaku Zasshi 1999;73:1163-4.
 42. Shih CM, Liu LP, Chung WC, Ong SJ, Wang CC. Human babesiosis in Taiwan: asymptomatic infection with a *Babesia microti*-like organism in a Taiwanese woman. J Clin Microbiol 1997;35:450-4.
 43. Hunfeld KP, Brade V. Zoonotic *Babesia*: possibly emerging pathogens to be considered for tick-infested humans in Central Europe. Int J Med Microbiol 2004;293 Suppl 37:93-103.
 44. Miyama T, Sakata Y, Shimada Y, et al. Epidemiological survey of *Babesia gibsoni* infection in dogs in eastern Japan. J Vet Med Sci 2005;67:467-71.
 45. Tsuji M, Zamoto A, Kawabuchi T, et al. *Babesia microti*-like parasites detected in Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris orientis*) in Hokkaido, Japan. J Vet Med Sci 2006;68:643-6.
 46. Fukumoto S, Xuan X, Shigeno S, et al. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosing *Babesia gibsoni* infection in dogs. J Vet Med Sci 2001;63:977-81.
 47. Fukumoto S, Xuan X, Inoue N, et al. Molecular characterization of a gene encoding a 29-kDa cytoplasmic protein of *Babesia gibsoni* and evaluation of its diagnostic potentiality. Mol Biochem Parasitol 2003;131:129-36.
 48. Zhou J, Mulenga A, Yamasaki M, Ohashi K, Maede Y, Onuma M. *Babesia gibsoni*: molecular cloning and characterization of Rab6 and Rab11 homologues. Exp Parasitol 2002;101:210-4.
 49. Zamoto A, Tsuji M, Wei Q, et al. Epizootiologic survey for *Babesia microti* among small wild mammals in northeastern Eurasia and a geographic diversity in the beta-tubulin gene sequences. J Vet Med Sci 2004;66:785-92.
 50. Shih CM, Wang CC. Ability of azithromycin in combination with quinine for the elimination of babesial infection in humans. Am J Trop Med Hyg 1998;59:509-12.
 51. Shaio MF, Lin PR. A case study of cytokine profiles in acute human babesiosis. Am J Trop Med Hyg 1998;58:335-7.
 52. Shaio MF, Yang KD. Response of babesiosis to a combined regimen of quinine and azithromycin. Trans R Soc Trop Med Hyg 1997;91:214-5.
 53. Hsieh HC. Human parasites in Taiwan. Chin J Parasitol 1994;7:1-10.
 54. Chung WC, Lien GS, Pan S, Lu JL, Chen SH, Lin YS. The first case of human babesiosis in Taiwan preliminary report. Chin J Parasitol 1994;7:22-3.
 55. Hsu NH, Cross JH. Serologic survey for human babesiosis on Taiwan. Taiwan Yi Xue Hui Za Zhi 1977;76:950-4.
 56. 王美嘉. 人鼠互通性寄生蟲之調查 [碩士論文]: 國立台灣大學; 2000.
 57. Saito-Ito A, Takada N, Ishiguro F, et al. Detection of Kobe-type *Babesia microti* associated with Japanese human babesiosis in field rodents in central Taiwan and southeastern mainland China. Parasitology 2008;135:691-9.
 58. Lien JC, Weng MH, Lin CC. *Babesia* infections in the rodents of northern Taiwan. Chin J Parasitol 1997;10:61-7.
 59. Adelson ME, Rao RV, Tilton RC, et al. Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* spp., *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes scapularis* ticks collected in Northern New Jersey. J Clin Microbiol 2004;42:2799-801.

60. Skotarczak B, Rymaszewska A, Wodecka B, Sawczuk M. Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *J Parasitol* 2003;89:194-6.
61. 鄭國藩, 姜在階. 中國經濟昆蟲志第三十九冊蜱蟎亞綱硬蜱科. 北京: 科學出版社; 1991.
62. Yamaguti N, V., Tipton J, Keegan HL, Toshioka S. Ticks of Japan, Korea, and the Ryukyu islands.: Brigham Young Univ.; 1971.
63. Baker AS. Mites and ticks of domestic animals. London: The Stationery Office; 1999.
64. Beati L, Keirans JE. Analysis of the systemic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol* 2001;87:32-48.
65. Black WC, Piesman J. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:10034-8.
66. Parola P, Roux V, Camicas JL, Baradji I, Brouqui P, Raoult D. Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000;94:707-8.
67. Simpson VR, Panciera RJ, Hargreaves J, et al. Myocarditis and myositis due to infection with Hepatozoon species in pine martens (*Martes martes*) in Scotland. *Vet Rec* 2005;156:442-6.
68. Dantrakool A, Somboon P, Hashimoto T, Saito-Ito A. Identification of a new type of *Babesia* species in wild rats (*Bandicota indica*) in Chiang Mai Province, Thailand. *J Clin Microbiol* 2004;42:850-4.
69. Manwell RD, Kuntz RE. A New *Babesia* from the Indian Bandicoot. *J Parasitol* 1964;50:390-3.
70. van Peenen PF, Chang SJ, Banknieder AR, Santana FJ. Piroplasms from Taiwanese rodents. *J Protozool* 1977;24:310-2.
71. Rodgers SE, Mather TN. Human *Babesia microti* incidence and *Ixodes scapularis* distribution, Rhode Island, 1998-2004. *Emerg Infect Dis* 2007;13:633-5.
72. Welc-Faleciak R, Bajer A, Behnke JM, Sinski E. Effects of host diversity and the community composition of hard ticks (Ixodidae) on *Babesia microti* infection. *Int J Med Microbiol* 2008;298:235-42.
73. Tsuji M, Wei Q, Zamoto A, et al. Human babesiosis in Japan: epizootiologic survey of rodent reservoir and isolation of new type of *Babesia microti*-like parasite. *J Clin Microbiol* 2001;39:4316-22.
74. Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Oiang W, Nakao M, Hirata H, Ishihara C. Detection of Two Zoonotic *Babesia microti* Lineages, the Hobetsu and U.S. Lineages, in Two Sympatric Tick Species, *Ixodes ovatus* and *Ixodes persulcatus*, Respectively, in Japan. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:3424-30.
75. Hao GF, Li H, Sun Y, et al. Detection of tick and tick-borne pathogen in some parts of Inner Mongolia. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2009;30:365-7.
76. Peng HW. Hematologic manifestation in a patient with *Babesia* spp. and propionibacterium spp. infections: evidence of *Babesia* infection in erythroid precursors. *Chinese J Parasitol* 1994;7:22.
77. Nicholson WL, Allen KE, McQuiston JH, Breitschwerdt EB, Little SE. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitol* 2010;26:205-12.
78. Cassini R, Zanutto S, Frangipane di Regalbano A, et al. Canine piroplasmiasis in Italy: epidemiological aspects in vertebrate and invertebrate hosts. *Vet Parasitol* 2009;165:30-5.

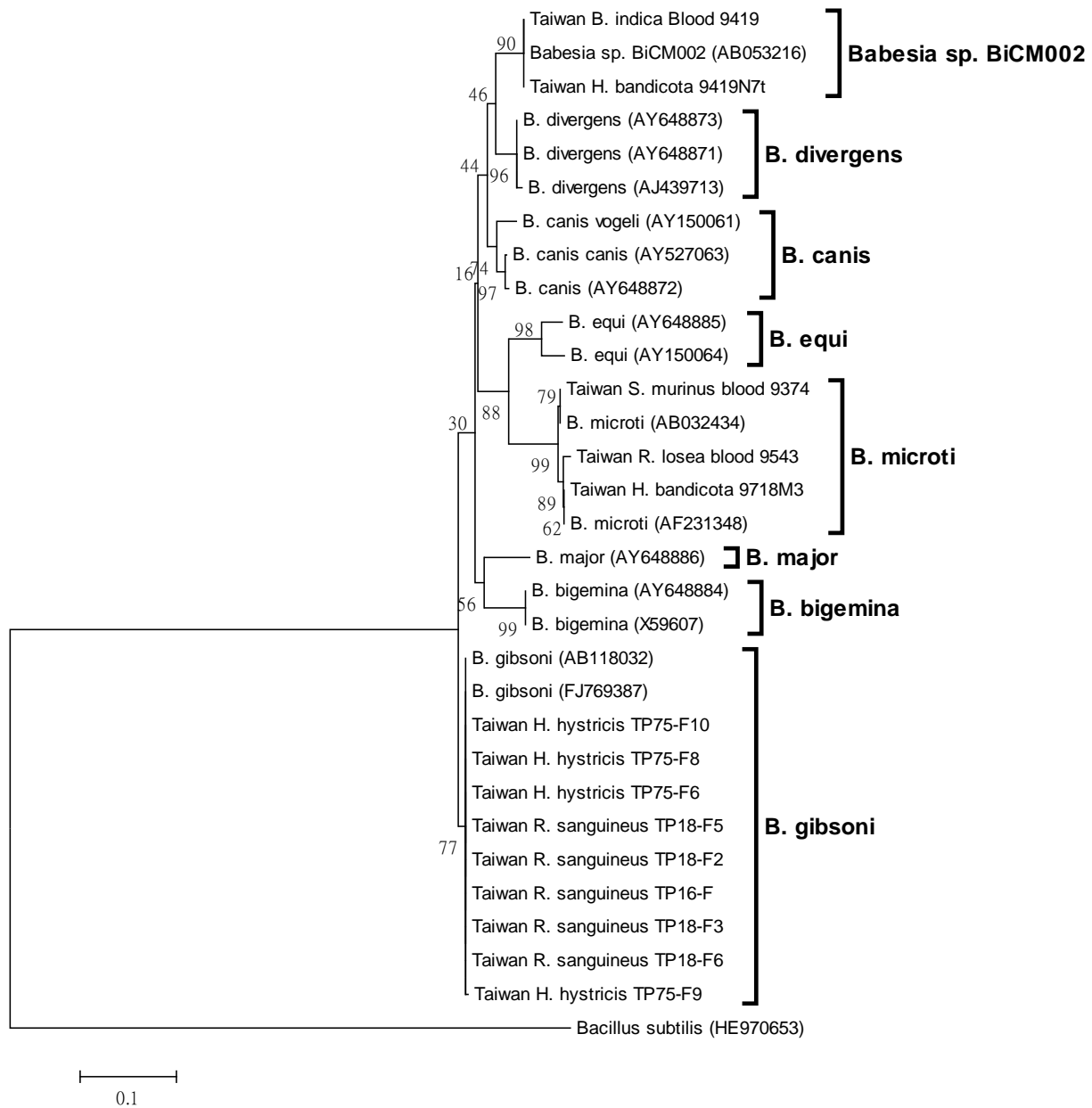
79. Loretto AP, Barros SS. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. *Vet Parasitol* 2005;134:193-213.
80. Iori A, Gabrielli S, Calderini P, et al. Tick reservoirs for piroplasms in central and northern Italy. *Vet Parasitol* 2010;170:291-6.
81. Grzeszczuk A, Stanczak J, Kubica-Biernat B, Racewicz M, Kruminis-Lozowska W, Prokopowicz D. Human anaplasmosis in north-eastern Poland: seroprevalence in humans and prevalence in *Ixodes ricinus* ticks. *Ann Agric Environ Med* 2004;11:99-103.
82. Chmielewska-Badora J, Zwolinski J, Cisak E, Wojcik-Fatla A, Buczek A, Dutkiewicz J. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks determined by polymerase chain reaction with two pairs of primers detecting 16S rRNA and ankA genes. *Ann Agric Environ Med* 2007;14:281-5.
83. Aguero-Rosenfeld ME, Donnarumma L, Zentmaier L, et al. Seroprevalence of antibodies that react with *Anaplasma phagocytophila*, the agent of human granulocytic ehrlichiosis, in different populations in Westchester County, New York. *J Clin Microbiol* 2002;40:2612-5.
84. Zhang L, Cui F, Wang L, Zhang J, Wang S, Yang S. Investigation of anaplasmosis in Yiyuan County, Shandong Province, China. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 2011;4:568-72.
85. Park JH, Heo EJ, Choi KS, Dumler JS, Chae JS. Detection of antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* antigens in sera of Korean patients by western immunoblotting and indirect immunofluorescence assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:1059-64.



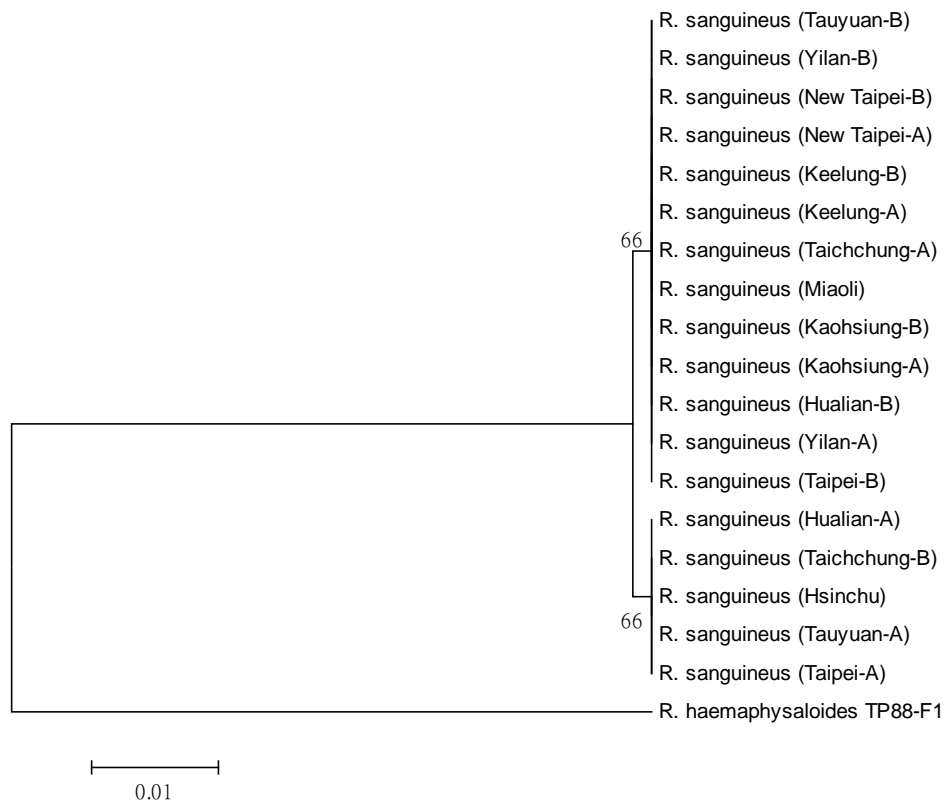
圖一、台灣地區 *Babesia microti* 18S rRNA gene (BmF2-BmR2 片段) 序列親緣關係圖。



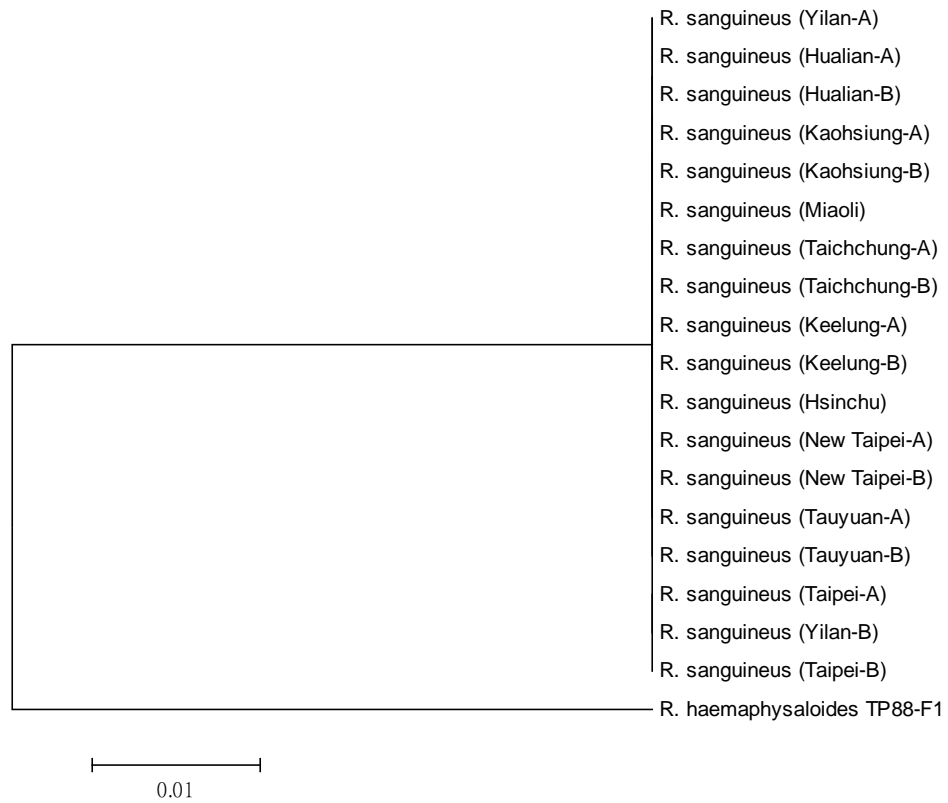
圖二、台灣地區 *Babesia microti* 18S rRNA gene (Bab2-Bab3 片段) 序列親緣關係圖。



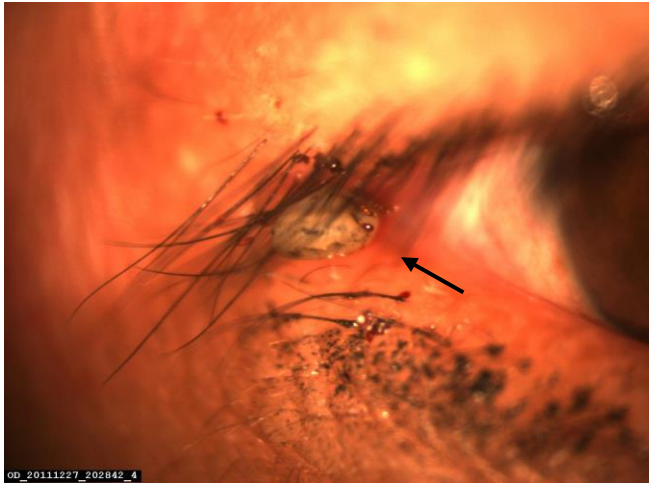
圖三、台灣地區 *Babesia* spp. 18S rRNA gene (BmF2-BmR2 片段) 序列親緣關係圖。



圖四、台灣地區血紅扇頭蜱 12S rRNA gene 序列親緣關係圖。



圖五、台灣地區血紅扇頭蜱 16S rRNA gene 序列親緣關係圖。



圖六、蟬蟲叮咬照片(台北市立聯合醫院中興院區提供，箭頭指引處為蟬蟲)



圖七、革蟬若蟲(硬蟬生活史分為卵、幼蟲、若蟲、成蟲四個階段)

表一、Babesia PCR primers 及反應條件

	primer		Denaturation temp (°C)	Annealing temp(°C)	Extension temp(°C)	Cycle no.
<i>Babesia</i> specific PCR	BJ1: GTCCTTAATTGGAATGATGG		94	51	72	35
	BN2: TAGTTTATGGTTAGGACTACG					
<i>Babesia microti</i> specific nested PCR	1st	Bab1: CTTAGTATAAGATTTTATACAGC	94	55	72	35
		Bab4: ATAGGTCAGAACTTGAATGATACA				
	2nd	Bab2: GTTATAGTTTATTTGATGTTTCGTTT	94	55		50
		Bab3: AAGCCATGCGATTCGCTAAT				
<i>Babesia microti</i> confirmation nested PCR	1st	CF1: GACGGTAGGGTATTGGCCT	95	55	72	35
		BabD: TCAAGGTGCTGAAGGAGTCG				
	2nd	BabA: GCTCGTAGTTGAATTTCTGCCT	95	50		40
		BabB: AGTAGTTCGTCTTTAACAAATC				

表二、鼠類外寄生蟬端複胞器門(Apicomplexa)原蟲分子檢測結果

	桃園	台中	高屏	花蓮	台東	澎湖	金門	連江	Total
<i>H. bandicota</i>	0/107*	31/76 (40.7) Ba-3(1) Bm(1) Hh-1(20) Hh-2(5) Hh-3(1) Hh-4(1) Hh-5(1) Hh-6(1)	6/53(11) Hh-1(3), Hh-2(1), Ba-2(2)	-	-	-	-	-	37/236 (15.68) Hh-1#(23),Hh-2(6) Hh-3(1),Hh-4(1) Hh-5(1),Hh-6(1) Ba-2(2),Ba-3(1) Bm(1)
<i>I. granulatus</i>	5/43 (12) Hh-9(4) Pa-1(1)	0/21	-	4/24 (17) Hh-8(4)	2/22(9) Hp-1(2)	0/3	1/52 (1.9) Hh-12(1)	0/41	12/206(5.83) Hh-8(4),Hh-9(4) Hh-12(1),Hp-1(2)
<i>R. haemaphysaloides</i>	0/41 (0)	6/52 (8.1) Hh-1(3) Hh-2(2) Hf-1(1)	-	6/51 (3.9) Cg-1(1) Th-1(1) Hp-1(1) Hh-10(1) Hh-11(1) Hh-15(1)	-	-	1/52 (1.9) Hh-14(1)	-	13/196 (6.63) Cg-1(1),Hp-1(1) Hh-10(1),Hh-11(1) Hh-14(1),Hh-15(1) Hf-1(1),Hh-1(3) Hh-2(2),Th-1(1),
Total	5/191 (2.6)	37/149 (24.8)	6/53 (11.3)	10/75 (13.3)	2/22(9.1)	0/3	2/104 (1.9)	0/41	62/638 (9.72)

*陽性數/檢測數(陽性率%)

#端複胞器門(Apicomplexa)原蟲代碼請見附錄

表三、鼠類外寄生蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布

Name: species	數量	分布(Number)	蜱種(Number)
<i>Hepatozoon</i> sp. HepBiCM001	51	桃園(4), 台中(34), 高屏(4), 花蓮(7), 金門(2)	<i>H. bandicota</i> (33), <i>I. granulatus</i> (9), <i>R. haemaphysaloides</i> (9)
<i>Hepatozoon</i> sp. pty01po	3	台東(2), 花蓮(1)	<i>I. granulatus</i> (2), <i>R. haemaphysaloides</i> (1)
<i>Babesia</i> sp. BiCM002	3	台中(1), 高屏(2)	<i>H. bandicota</i> (3)
<i>Hepatozoon felis</i>	1	台中(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
<i>Babesia microti</i>	1	台中(1),	<i>I. granulatus</i> (1)
<i>Cryptosporidium galli</i>	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
<i>Theileria</i> sp. ex Damaliscus	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
<i>Paraschneideria metamorphosa</i>	1	桃園(1)	<i>I. granulatus</i> (1)
Total	62		

表四、鼠類脾臟及血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲體分子檢測結果

	宜蘭	桃園	台中	高屏	花蓮	台東	澎湖	金門	連江	Total
spleen	0/38	7/35 (24) Hh-9(1) Hh-1(3) Hh-2(2) Hh-7(1)	15/33 (45) Hh-1(14) Ty-1(1)	12/32 (38) Ha-7(10) Hp-1(1) Sm-1(1)	10/34 (29.4) Ha-1(1) Ha-2(1) Ha-3(1) Ha-4(2) Ha-5(1) Ha-6(2) Hh-8(1) Hp-1(1)	6/32(18.8) Hp-1(2) Ha-6(4)	1/34(2.9) Hp-1(1)	0/34	0/32	51/304 (16.78) Ha-1#(1),Ha-2(1) Ha-3(1),Ha-4(2) Ha-5(1),Ha-6(6) Ha-7(10),Hh-9(1) Hh-1(17),Hh-2(2) Hh-7(1),Hh-8(1) Hp-1(5),Sm-1(1) Ty-1(1)
blood	0/34	3/30 (10) Hh-9(1) Hh-11(1) Bm-2(1)	14/30 (47) Hh-1(12) Hh-2(1) Co-10(1)	11/33 (33) Ha-7(9) Ba-4(1) Ba-2(1)	9/27 (33) Ha-2(1) Ha-3(2) Ha-4(1) Ha-5(2) Ha-7(1) Hh-9(1) Hp-1(1)	7/31(22.6) Ha-6(5) Hh-13(1) Bm-1(1)		4/50 (12.5) Ha-6(1) Hh-9(1) Hh-12(1) Hh-13(1)	0/5	48/240 (20) Ha-2(1),Ha-3(2) Ha-4(1),Ha-5(2) Ha-6(6),Ha-7(10) Hh-1(12),Hh-2(1) Hh-9(3),Hh-11(1) Hh-12(1),Hh-13(2) Hp-1(1),Ba-2(1) Ba-4(1),Bm-1(1) Bm-2(1),Co-10(1)
Total	0/72(0)	10/65 (15.38)	29/63 (46.03)	23/65(35.38)	19/61(31.15)	13/63 (20.63)	1/34(2.94)	4/84(4.76)	0/37(0)	99/544 (18.20)

*陽性數/檢測數(陽性率%)

#端複胞器門(Apicomplexa)原蟲代碼請見附錄

表五、鼠類脾臟端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布

Name: species	Number	分布(Number)	鼠種(Number)
Hepatozoon sp. AO5	22	高屏(10), 花蓮(8), 台東(4)	<i>R. losea</i> (22)
Hepatozoon sp. HepBiCM001	22	桃園(7), 台中(14), 花蓮(1)	<i>B. indica</i> (14), <i>R. losea</i> (8)
Hepatozoon sp. pty01po	5	高屏(1), 花蓮(1), 台東(2), 澎湖(1)	<i>R. losea</i> (5)
Sarcocystis sp. MA#347	1	高屏(1)	<i>R. losea</i> (1)
Theileria youngi	1	台中(1)	<i>A. agrarius</i> (1)
Total	51		

表六、鼠類血液端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布

Name: species	Number	分布(Number)	鼠種(Number)
Hepatozoon sp. AO5	22	高屏(9), 花蓮(7), 台東(5), 金門(1)	<i>R. losea</i> (22)
Hepatozoon sp. HepBiCM001	20	桃園(2), 台中(13), 花蓮(1), 台東(1), 金門(3)	<i>B. indica</i> (13), <i>R. losea</i> (7)
Hepatozoon sp. pty01po	1	花蓮(1)	<i>R. losea</i> (1)
Babesia sp. BiCM002	2	高屏(2)	<i>B. indica</i> (2)
Babesia microti	2	桃園(1), 台東(1)	<i>R. losea</i> (1), <i>S. murinus</i> (1)
Colpodella sp. ATCC50594	1	台中(1)	<i>R. losea</i> (1)
Total	48		

表七、狗蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲分子檢測結果

	台北	新北	基隆	桃園	新竹	苗栗	台中	彰化	南投	高雄	宜蘭	花蓮	Total
R. sanguineus	5/138(3.6) Bg(4), Ab-1(1)	13/298(4.3) Hc(1), Hc-1(1), Hc-3(2), Hc-4(2), Hc-5(1), Hc-8(5), Hc-9(1)	0/27(0)	4/60(6.7) Hc-1(1), Hc-2(1), Bg(1), Co-3(1)	0/13(0)	0/5(0)	13/527(2.4) Hc-1(4), Hc-4(4), Hc-7(1), Hc-8(1), Ab-1(1), Co-2(1), Coc-1(1)	0/2(0)	0/7(0)	3/241(1.2) Hc (1), Hc-4 (1), Co-9 (1)	2/366(0.5) Hc-2 (1), Ct-1(1)	9/435(2.0) Hc(1), Hc-1(5), Hc-6(1), Co-3(1), Co-4(1)	49/2127(2.3) Ab-1(2) Bg(5), Co-2(1), Co-3(2), Co-4(1) Co-9 (1) Coc-1(1) Ct-1(1) Hc(3), Hc-1(11), Hc-2(2), Hc-3(2), Hc-4(7), Hc-5(1), Hc-6(1), Hc-7(1), Hc-8(6), Hc-9(1)
H. hystricis	5/27(18.5) Bg (3) Bg-1 (1) Bg-2 (1)	0/32(0)	-	-	-	-	-	-	-	-	0/26(0)	-	5/85(5.9) Bg (3) Bg-1 (1) Bg-2 (1)
Total	10/165(6)	13/330(3.9)	0/27(0)	4/60(6.7)	0/13(0)	0/5(0)	13/527(2.4)	0/2(0)	0/7(0)	3/241(1.2)	2/392(0.5)	9/435(2.0)	54/2212(2.4)

*陽性蜱數/檢測蜱數(陽性率：%)

表八、狗蜱端複胞器門(Apicomplexa)原蟲檢出種類及分布

Name: species	數量	分布
<i>R. sanguineus</i>	49	
<i>Hepatozoon canis</i>	35	新北(13), 桃園(2), 台中(10), 高雄(2), 宜蘭(1), 花蓮(7)
<i>Babesia gibsoni</i>	5	台北(4), 桃園(1)
<i>Colpodella sp.</i>	5	桃園(1), 台中(1) 高雄(1), 花蓮(2)
<i>Adelina bambarooniae</i>	2	台北(1), 台中(1)
<i>Colpodella tetrahymenae</i>	1	宜蘭(1)
<i>Coccidia sp.</i>	1	台中(1)
<i>H. hystricis</i>	5	
<i>Babesia gibsoni</i>	5	台北(5)
Total	54	

表九、96-97 年金門縣及連江縣恙蟲病通報病例血清抗體 *Anaplasma phagocytophilum* 檢測

類別	數量	陽性數	陽性率(%)	X ^{2*}	p*
恙蟲病全部通報病例	141	61	43.26	7.383	0.007
台北研檢中心同仁	30	5	16.67		
恙蟲病陽性確定病例	97	43	44.33	7.485	0.006
恙蟲病陰性確定病例	28	10	35.71	2.740	0.136
恙蟲病不明	16	8	50.00	5.719	0.036
金門縣通報病例	130	59	45.38	6.404	0.010
連江縣通報病例	11	2	18.18	0.013	0.909

*與對照組(台北研檢中心同仁)比較

表十、金門縣及連江縣恙蟲病通報病例血清抗體 *Anaplasma phagocytophilum* 檢測類別分析

類別	數量	陽性數	陽性率	X ^{2*}	p*
性別					
男性	95	40	42.11%	0.024	0.877
女性	46	20	43.48%		
職業別					
軍人	41	15	36.6%	2.894	0.408
農林漁牧	13	5	38.5%		
家庭類(含學生)	62	30	48.4%		
服務業	25	14	56.0%		
年齡層					
15-25	42	17	40.5%	2.096	0.836
26-35	11	6	54.5%		
36-45	20	9	45.0%		
46-55	20	8	40.0%		
56-65	23	12	52.2%		
66~	25	9	36.0%		
Total	141				

*類別間相互比較

附錄、端複胞器門(Apicomplexa)原蟲代碼

Name: species	number	分布	檢體來源
Ha-1: Hepatozoon sp. AO5 651/659 (99%)	1	花蓮	spleen
Ha-2: Hepatozoon sp. AO5 649/659 (98%)	2	花蓮(2)	Spleen(1), Blood(1)
Ha-3: Hepatozoon sp. AO5 648/659 (98%)	3	花蓮(3)	Spleen(1), Blood(2)
Ha-4: Hepatozoon sp. AO5 647/659 (98%)	3	花蓮	Spleen(2), Blood(1)
Ha-5: Hepatozoon sp. AO5 646/659 (98%)	3	花蓮(3)	Spleen(1), Blood(2)
Ha-6: Hepatozoon sp. AO5 645/659 (98%)	12	花蓮(2), 台東(9), 金門(1)	Spleen(6), Blood(6)
Ha-7: Hepatozoon sp. AO5 652/659 (98%)	20	高雄(10), 屏東(9), 花蓮(1)	Spleen(10), Blood(10)
Hc: Hepatozoon canis isolate TWN1 656/656 (100%)	3	花蓮, 高雄, 新北	<i>R. sanguineus</i> (3)
Hc-1: Hepatozoon canis isolate TWN1 655/656 (99%) 368T	11	桃園(1), 台中(4), 新北(1), 花蓮(5)	<i>R. sanguineus</i> (11)
Hc-2: Hepatozoon canis isolate TWN1 654/656 (99%)	2	宜蘭, 桃園(1)	<i>R. sanguineus</i> (2)
Hc-3: Hepatozoon canis isolate TWN1 633/633 (100%)	2	新北市(2)	<i>R. sanguineus</i> (2)
Hc-4: Hepatozoon canis isolate TWN1 655/656 (99%) 80(T→C)	7	新北市(2) 高雄(1) 台中(4)	<i>R. sanguineus</i> (7)
Hc-5: Hepatozoon canis isolate TWN1 637/638 (99%) 633(--→T)	1	新北市(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
Hc-6: Hepatozoon canis isolate TWN1 642/658 (98%)	1	花蓮	<i>R. sanguineus</i> (1)
Hc-7: Hepatozoon canis isolate TWN1 654/656 (99%) 405(A→G(ncbi)) 458(G→A(ncbi))	1	台中	<i>R. sanguineus</i> (1)
Hc-8: Hepatozoon canis isolate TWN1 654/656 (99%) 80((T(seq)→C(ncbi)) 368(T(seq)→C(ncbi))	6	新北(5), 台中(1)	<i>R. sanguineus</i> (6)
Hc-9: Hepatozoon canis isolate TWN1 655/656 (99%) 112(C(seq)→T(ncbi))	1	新北(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
Hd-1: Hepatozoon sp. DG1 644/660 (98%)	5	台中	<i>A. geoemydae</i>
Hd-2: Hepatozoon sp. DG1 647/659 (98%)	2	台中	<i>A. geoemydae</i>
Hd-3: Hepatozoon sp. DG1 643/660 (97%)	1	台中	<i>A. geoemydae</i>
Hh-1: Hepatozoon sp. HepBiCM001 659/659 (100%)	55	台中(49), 高屏(3), 桃園(3)	<i>H. bandicota</i> (23) 、 <i>R. haemaphysaloides</i> (3) 、 Spleen(17) 、 Blood(12)
Hh-2: Hepatozoon sp. HepBiCM001 658/659 (99%), 221G	11	台中(8), 屏東(1), 桃園(2)	<i>H. bandicota</i> (6) 、 <i>R. haemaphysaloides</i> (2) 、 Spleen(2) 、 Blood(1)
Hh-3: Hepatozoon sp. HepBiCM001 658/659 (99%), 506A	1	台中	<i>H. bandicota</i> (1)
Hh-4: Hepatozoon sp. HepBiCM001 658/659 (99%), 95A	1	台中	<i>H. bandicota</i> (1)
Hh-5: Hepatozoon sp. HepBiCM001 658/659 (99%), 626T	1	台中	<i>H. bandicota</i> (1)

Hh-6: Hepatozoon sp. HepBiCM001 658/659 (99%), 5A	1	台中	<i>H. bandicota</i> (1)
Hh-7: Hepatozoon sp. HepBiCM001 657/659 (99%), 221G, 409A	1	桃園(1)	Spleen(1)
Hh-8: Hepatozoon sp. HepBiCM001 653/659 (99%)	5	花蓮(4)	Spleen(1), <i>I. granulatus</i> (4)
Hh-9: Hepatozoon sp. HepBiCM001 652/659	8	桃園(6), 金門(1), 花蓮(1)	<i>I. granulatus</i> (4), spleen(1), blood(3)
Hh-10: Hepatozoon sp. HepBiCM001 651/659 (99%)	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Hh-11: Hepatozoon sp. HepBiCM001 650/659 (99%)	2	花蓮(1)、桃園(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1) 、Blood(1)
Hh-12: Hepatozoon sp. HepBiCM001 645/659 (98%)	2	金門(2)	<i>I. granulatus</i> (1) 、Blood(1)
Hh-13: Hepatozoon sp. HepBiCM001 644/659 (98%)	3	金門(2)、綠島(1)	<i>H. doenitzi</i> (1) 、Blood(2)
Hh-14: Hepatozoon sp. HepBiCM001 643/659 (98%)	1	金門(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Hh-15: Hepatozoon sp. HepBiCM001 628/635 (99%)	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Hp-1: Hepatozoon sp. pty01po 18S 655/659 (99%)	9	綠島(1), 蘭嶼(2), 花蓮(3), 台東(1) 屏東(1), 澎湖(1)	Spleen(5), <i>I. granulatus</i> (2), <i>R. haemaphysaloides</i> (1), Blood(1)
Hf-1: Hepatozoon felis 643/657 (98%)	1	台中(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Bm: Babesia microti isolate Kh-1026 623/623 (100%)	1	台中(1)	<i>H. bandicota</i> (1)
Bm-1: Babesia microti genes for 18S rRNA 624/625 (99%) 223G	1	綠島(1)	Blood(1)
Bm-2: Babesia microti isolate Kh-1026 622/623 (99%) 612C	1	桃園(1)	Blood(1)
Bb-1: Babesia bigemina 575/579 (99%)	1	台中	<i>B. microplus</i>
Bg: Babesia gibsoni 591/591 (100%)	8	桃園(1), 台北(7)	<i>R. sanguineus</i> (5), <i>H. hystricis</i> (3)
Bg-1: Babesia gibsoni 590/591 (99%) 401 (A→G)	1	台北	<i>H. hystricis</i> (1)
Bg-2: Babesia gibsoni 585/591(85%)	1	台北	<i>H. hystricis</i> (1)
Ba-1: Babesia sp. MA#230 584/593 (98%)	2	台北(2)	<i>I. ovatus</i> (2)
Ba-2: Babesia sp. BiCM002 589/589 (100%)	3	高屏(3)	<i>H. bandicota</i> (2) 、Blood(1)
Ba-3: Babesia sp. BiCM002 無法合併	1	台中(1)	<i>H. bandicota</i> (1)
Ba-4: Babesia sp. BiCM002 370/370	1	屏東	Blood(1)
Cg-1: Cryptosporidium galli 525/616 (85%)	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Th-1: Theileria sp. ex Damaliscus 510/616 (83%)	1	花蓮(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Ty-1: Theileria youngi 18S 583/629 (93%)	1	台中(1)	Spleen(1)
Co-1: Colpodellidae sp. HEP 578/615 (94%)	1	台中(1)	<i>A. geoemydae</i> (1)
Co-2: Colpodella sp. ATCC50594 598/607 (99%)	1	台中(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
Co-3: Colpodella sp. ATCC50594 541/606 (89%)	2	花蓮(1), 桃園(1)	<i>R. sanguineus</i> (2)
Co-4: Colpodella sp. ATCC50594 539/603 (89%)	1	花蓮(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
Co-5: Colpodella sp. ATCC50594 542/606 (89%)	2	台中	<i>B. microplus</i> (2)
Co-6: Colpodella sp. ATCC50594 553/617 (90%)	1	台中	<i>B. microplus</i> (1)

Co-7: Colpodella sp. ATCC50594 555/623 (89%)	2	台中	<i>B. microplus</i> (2)
Co-8: Colpodella sp. ATCC50594 554/623 (89%)	1	非洲	<i>Amblyomma sp.</i>
Co-9: Colpodella sp. ATCC50594 547/615 (89%)	1	高雄	<i>R. sanguineus</i> (1)
Co-10: Colpodella sp. ATCC50594 538/603 (89%)	1	台中	Blood(1)
Ce: Colpodella edax 640/640 (100%)	1	台中(1)	<i>B. microplus</i> (1)
Ct-1: Colpodella tetrahymenae small subunit ribosomal 583/627 (93%)	1	宜蘭(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
Ab-1: Adelina bambarooniae isolate Ba3 637/650 (98%)	2	台北(1)、台中(1)	<i>R. sanguineus</i> (2)
Pa-1: Parascneideria metamorphosa 627/634 (99%)	1	桃園(1)	<i>R. haemaphysaloides</i> (1)
Sm-1: Sarcocystis sp. MA#347 gene for 18S 647/673 (96%)	1	高屏(1)	Spleen(1)
Coc-1: Coccidia sp. 550/631 (87%)	1	台中(1)	<i>R. sanguineus</i> (1)
	235		

