

計畫編號：DOH99-DC-2021

行政院衛生署疾病管制局九十九年度科技研究發展計畫

臺灣地區弓形蟲診斷系統建置及高危險族群之流行病學應用

Establishment and application of a diagnostic system for the epidemiological survey of *Toxoplasma gondii* in the high risk groups.

研究報告

執行機構：疾病管制局研究檢驗中心

計畫主持人：嵇達德

研究人員：江亭誼、郭明珠、林威辰

執行期間：99年1月1日至99年12月31日

本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見

目錄

	頁碼
封面	
目錄	(2)
摘要	(3)
前言	(5)
材料與方法	(8)
結果	(13)
討論	(16)
結論與建議	(18)
計畫重要研究成果及具體建議	(18)
參考文獻	(20)
圖表	(22)

共 (24)頁

中文摘要

弓形蟲症(toxoplasmosis)是由剛地弓形蟲(*Toxoplasma gondii*)所引起之人畜共通傳染病，分佈於世界各地。弓形蟲可寄生於人體內許多不同部位及病患個體免疫反應差異大，嚴重者可以致死。世界各國弓形蟲血清盛行率不一，在英國約 20-40%，法國 80-90%，美國 50-60%，而台灣尚無詳細的盛行率報告。我們因此應用弓形蟲的血清學及分子生物學診斷檢測方法，與台灣各區捐血中心合作，進行健康捐血人之血清盛行率調查，結果發現已完成的三個捐血中心中健康捐血人的弓形蟲 IgG 抗體陽性率依次為花蓮 14.12%、台北 8.87%、新竹 8.4%，總陽性率為 9.72%。皆未篩檢出弓形蟲 IgM 抗體陽性及 real-time PCR 檢驗陽性個案，目前合格血品沒有弓形蟲感染的疑慮。陽性捐血者之暴露因子分析，則發現鄰居豢養貓，生飲山泉水及生食九孔干貝等貝類是感染弓形蟲的高危險因子，其次為生食豬肉。目前免疫不全病患的弓形蟲檢驗皆為陰性。

關鍵詞：弓形蟲症、盛行率、real-time PCR、IgG、IgM、血清學、暴露因子、捐血者

英文摘要

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by *Toxoplasma gondii* in worldwide. The seroprevalences of toxoplasmosis varied in different countries, about 20-40% in UK, 80-90% in France, 50-60% in USA. However, there is no seroprevalences reported in Taiwan. We therefore used the serological and molecular biological methods for toxoplasmosis diagnosis, and collaborated with all six area blood donor centers for the serological and molecular surveillance of *Toxoplasma gondii* in healthy blood donors. The results indicated that the IgG positive rate in Hwalien, Taipei and Hsinchiu were 14.12%, 8.87% and 8.4%, respectively, and total positive rate was 9.72%. No IgM and real-time PCR positive case was detected and indicated there was no *Toxoplasma gondii* contamination in the blood. The most related exposure of IgG positive blood donors was neighbor cat feeding, directly drinking spring water and eating raw shellfish like scallop and Taiwanese abalone, and then eating raw pork. All of immunocompromised patients were *Toxoplasma gondii* negative.

Keyword: toxoplasmosis, prevalence, real-time PCR, IgG, IgM, serology, exposure, blood donor

前言

弓形蟲症 (Toxoplasmosis) 是由絕對細胞內寄生性原蟲，剛地弓形蟲 (*Toxoplasma gondii*)，感染所引起的一種全球性分佈性的人畜共通傳染病。盛行率與地理分佈、社會經濟的狀況及飲食習性有密切相關。幾乎所有的溫血動物皆可感染，但不同的物種會引起不同的臨床症狀。弓形蟲症無論在人或動物，通常以慢性或不顯性感染為主，然而一旦宿主免疫功能低下時，則極有可能產生嚴重的急性弓形蟲症，甚至造成死亡。孕婦在懷孕期間感染弓形蟲，則有可能經胎盤垂直傳播給胎兒，造成先天性弓形蟲症 (Congenital Toxoplasmosis)，損害胚胎發育，影響胎兒腦部發育，嚴重者導致畸胎甚至死亡。弓形蟲生活史可分為兩個時期，分別為在貓科動物中進行的有性世代，每天產生數百萬個卵囊體隨糞便排放到體外，並可能污染土壤，貓是終宿主；中間宿主為包含人在內的多種哺乳動物，進行無性世代，若宿主可維持其免疫力則弓形蟲會轉成囊體形式終身持續存在於宿主組織中而不發病。人類感染弓形蟲的途徑包括經口感染、先天性感染、輸血感染及器官移植等，一般免疫力正常人感染弓形蟲時，通常沒有特異症狀的產生，使得感染者不易發覺。但若是發生在免疫不全的病患或是孕婦則會造成致死性的影響與胎兒畸胎或腦部發育的影響。流行病學調查顯示，在美國 12 歲以上民眾的感染率約為 22.5%。整個歐美地區估計約有 16% 至 40% 的人口受到弓形

蟲感染，特別是美國中南部及歐洲大陸感染率可達 50%至 80%之間；法國巴黎則有高達 84%的孕婦抗體檢查為 IgG 陽性，美國紐約則為 32%，英國倫敦則有 22% (Dubey JP and Beattie CP.1988)。台灣目前尚無國人整體性的弓形蟲盛行率報告，只有一些零星懷孕婦女的血清學調查及病例報告，根據陽明大學蔡洪又欽等人未發表結果顯示懷孕婦女的抗體 IgG 陽性的比率約為 10% (疾病管制局研究報告摘要)，但無法提供弓形蟲症防治足夠的參考資料。

依臨床表徵，弓形蟲可區分為五種感染的類型：1. 免疫不全病患的感染及復發。2. 孕婦的感染。3. 胎兒先天性感染。4. 具免疫力病患的感染。5. 眼睛的感染。每一種類型弓形蟲感染的診斷及解釋方法皆有所不同，須選擇適當的診斷方式。目前已有許多診斷方法應用於弓形蟲症的診斷，如抗體血清學檢驗 (Montoya 2002)、特殊基因序列的聚合酶鏈鎖反應(PCR)、弓形蟲抗原組織染色及弓形蟲的蟲體分離等方法。抗體診斷利用 IgG 與 IgM 的表現來偵測弓形蟲症的感染情形，IgG 陽性反應代表弓形蟲感染了一段時間或過去感染；IgM 則代表感染的初期，具有較高的先期診斷價值，但有時 IgM 效價可維持一段較長的時期而難以掌握時效性。所以抗體檢測的缺點是 IgG 的效價高低與宿主本身有關，診斷較具有主觀的因素，及 IgM 的檢驗在人體診斷上，受自身的類風濕因子(Rheumatoid factor, RF)及抗細胞核

抗體(Antinuclear antibodies, ANA)的交叉反應干擾，影響診斷的準確性(Montoya 2002;Wilson et al. 1997)。分子生物學檢測方式主要是聚合酶鏈鎖反應(PCR) (Burg *et al.* 1989; Novati *et al.* 1994)。本實驗已針對弓形蟲的 B1 及 RE 基因建立 PCR 及 real-time PCR 技術，偵測檢體中是否存有弓形蟲，以釐清病患是否為急性期感染，做為後續治療的依據。

國內有關弓形蟲感染的研究並不多，本年度研究採取臺灣地區捐血人及免疫不全患者之血液檢體進行弓形蟲診斷，做盛行率調查，確診為急性期感染者，再做 PCR 確認及基因型別分析。在感染過程中之弓形蟲特異性抗體與抗原出現或消長情形，可供瞭解弓形蟲症在醫學上感染特徵，並同時進行治療及追蹤以評估其癒後情形。此外瞭解捐血者弓形蟲的感染情況，亦可為醫療安全用血提供進一步保障。

材料與方法

1. 檢體來源

逐年蒐集台灣地區不同族群之血液檢體：為了解國人弓形蟲症流行現況，預計二年內收集台灣地區各地區健康捐血人之血清、血液檢體(1600 件)進行篩檢，提供本局疾病診斷與制定相關防治政策之參考。第二及第三年以免疫不全患者，包括 HIV/AIDS 患者、腫瘤病患、器官移植者及慢性病患(如洗腎病患等)之血液或組織檢體，佐以免疫健全者作為對照進行檢測及評估診斷系統。第三年以孕婦為研究對象，探討弓蟲特異性抗體在此族群之陽性率，著重於孕婦懷孕期間遭弓形蟲感染所造成的先天性弓蟲症，經由確診為急性期感染弓形蟲症之患者，予以追蹤分析孕婦血液檢體。

2. DNA 萃取：

將所收集的200 μ l全血樣本，使用DNA Mini Kit (Qiagen)進行DNA萃取，萃取方式參照其所建議之步驟流程。

3. 弓形蟲(*Toxoplasma gondii*)之標準蟲株培養系統

- 非洲綠猴腎細胞 (VERO) 培養：配製細胞生長液包括90%DMEM培養液、10%的胎牛血清、青鏈黴素各200 U /mL，以5.6%NaHCO₃，調整至pH7.2。於37°C之 CO₂培養箱內培養2日可長成單層，2~3日進行繼代。

- 弓形蟲感染細胞：將RH-88(ATCC 50838)株約 1.7×10^5 個弓形蟲滋養體接種於選擇生長良好的培養2日之猴腎細胞，約5日進行繼代。

4. 弓形蟲之免疫檢測系統

以市售二組Toxoplasma IgG/IgM (BioMerieux Vitek)(ABBOT)血清抗體診斷套組檢測血清抗體，並依廠商說明使用。在血清中檢出特異性IgM較具臨床意義，只檢出IgG 則不能排除過去曾感染但已治療痊癒的情況，需做二次採檢確認。同時搭配IgG-avidity進行檢測。

5. 弓形蟲Nested PCR檢測系統

弓形蟲症為世界性分佈，因血清學檢查不能排除過去曾感染但已治療痊癒的情況，因此巢式Nested PCR可針對弓形蟲的特異基因設計，提供最方便而且敏感的檢驗方法檢測檢體中弓形蟲的存在 (Hurtado 2001; Petersen et al.

2006)。本實驗將針對弓形蟲的B1基因設計引子對，如下：

外引子：5'-CCTTTGAATCCCAAGCAAAACATGAG-3'

5'-GCGAGCCAAGACATCCATTGCTGA-3'

內引子：5'-GTGATAGTATCGAAAGGTAT-3'

5'-ACTCTCTCTCAAATGTTTCCT-3'

反應週期：94°C , 3分鐘; 94°C, 30秒; 65°C, 45秒; 72°C, 1 分鐘– 15週期; 94°C, 20秒; 53°C, 30秒; 72°C, 30秒– 35週期; 72°C, 5分鐘。

6. 弓形蟲Real-time PCR檢測系統

針對弓形蟲的RE基因設計引子 (primer) 與探針及條件如下：

RE基因

5'-AGGCGAGGGTGAGGATGA-3'

5'-TCGTCTCGTCTGGATCGAAT-3'

YAK-GCCGGAAACATCTTCTCCCTCTCC-3'

PCR反應總體積為50 µl，其組成內容物分別為：弓形蟲DNA template (2 µl)；1×聚合酶連鎖反應緩衝液；鎂離子 (1.5 mM)；正股與反股引子 (各0.3 µM)；dNTP (200 µM)；Super-Therm polymerase (1 unit)。PCR增幅條件先予以94°C 10分鐘後，另以94°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。前述引子增幅弓形蟲RE基因產物預期大小分為114 bp之DNA片段。

7. 以弓形蟲之B1及SAG2基因為分型鑑定依據，建立台灣地區弓形蟲基因型

別資料庫

針對弓形蟲B1基因設計nested PCR引子及條件如下：

Pml/S1, 5'-TGTTCTGTCCTATCGCAACG (positions 128 to 147);

Pml/S2, 5'-TCTTCCCAGACGTGGATTTC (positions 152 to 171);

Pml/AS1, 5'-ACGGATGCAGTTCCTTTCTG (positions 707to 688);

Pml/AS2, 5'-CTCGACAATACGCTGCTTGA (positions 682 to 663)。

PCR反應總體積為50 µl，其組成內容物分別為：弓形蟲DNA template (2 µl) 或第一次PCR產物(2µl)；1×聚合酶連鎖反應緩衝液；鎂離子 (1.5

mM)；正股與反股引子各0.3 μ M (第一次PCR使用Pml/S1加Pml/AS1；第二次PCR使用Pml/S2加Pml/AS2)；dNTP (200 μ M)；Super-Therm polymerase (1 unit)。PCR增幅條件先予以94°C 10分鐘後，另以94°C 30秒、60°C 30秒、72°C 60秒，進行30次反應，最後在72°C作用5分鐘，兩次PCR條件皆相同。取第二次PCR產物進行擴增片段長度多態性分析(RFLP, restriction fragment length polymorphism analysis)，以*XhoI* (NEB) 酵素37°C作用B1基因 nested-PCR產物一小時，取作用後產物進行0.8%的洋菜凝膠電泳，經 ethidium 染色後在紫外燈照射下觀察片段大小。

針對弓形蟲SAG2基因設計nested PCR引子如下：

SAG2.F4 (5'-GCTACCTCGAACAGGAACAC-3')；

SAG2.R4 (5'-GCATCAACAGTCTTCGTTGC-3')；

SAG2.F (5'-GAAATGTTTCAGGTTGCTGC-3')；

SAG2.R2 (5'-GCAAGAGCGAACTTGAACAC-3')；

PCR反應總體積為50 μ l，其組成內容物分別為：弓形蟲DNA template (2 μ l) 或第一次PCR產物 (2 μ l)；1 \times 聚合酶連鎖反應緩衝液；鎂離子 (1.5 mM)；正股與反股引子各0.3 μ M (第一次PCR使用SAG2.F4加SAG2.R4；第二次PCR使用SAG2.F加SAG2.R2)；dNTP(200 μ M)；Super-Therm polymerase (1 unit)。PCR增幅條件先予以94°C 10分鐘後，另以94°C 30秒、65°C 30秒、72°C 60秒，進行40次反應，最後在72°C作用5分鐘，兩次PCR條件皆相同。取第二次PCR產物進行擴增片段長度多態性分析(RFLP)，以*Sau3AI*

(NEB) 酵素37°C作用SAG2基因nested-PCR產物一小時，取作用後產物進行0.8%的洋菜凝膠電泳，經ethidium染色後在紫外燈照射下觀察片段大小。

8. 建立高危險族群之弓形蟲感染篩檢平台

建立免疫不全者及孕婦之適當的採檢流程，取得適合的檢體並做後續處理，以提供實驗室做適當的弓形蟲檢驗。病患的病例及相關資料需加以彙整，做為未來流行病學研究之參考。

結果

台灣地區健康捐血人弓形蟲症的流行病學調查

我們應用弓形蟲特異性抗體測試以 Toxoplasma IgG/IgM (BioMerieux Vitek)(ABBOT)血清抗體診斷套組檢測健康捐血人血清中抗體 titer。另以弓形蟲 RE 基因的 real-time PCR 檢測捐血人血液中是否存在弓形蟲。目前已收集並篩檢完成台灣台北地區 485 例、新竹地區 250 例以及花蓮 170 例，共計三個區域共 905 例捐血人血液與血清檢體 (如表一)。各地區健康捐血人中弓形蟲 IgG 抗體陽性檢體數分別是：台北 43 例 (8.87%)、新竹 21 例 (8.4%)、花蓮 24 例 (14.12%)，三個區域的 IgG 陽性數共有 88 例，總陽性率為 9.72%。但上述三個區域捐血人的血清檢體中皆未篩檢出弓形蟲 IgM 抗體陽性個案及 real-time PCR 檢驗所有檢體亦呈陰性，這顯示目前所檢測出的弓形蟲 IgG 抗體陽性個案應為過去的弓形蟲感染，但目前血液中已檢測不到蟲的存在，IgM 抗體亦降到 ELISA 檢驗閾值以下。圖一所示為捐血人血液檢體以 real-time PCR 進行篩檢的結果。圖中粗橫線為螢光值閾值，以對數曲線上升漸至接近飽和的是陽性對照組培養蟲株，而其餘檢體及陰性對照組在 45 個 PCR 循環後皆未產生超過閾值的螢光量，故將檢體皆判定為弓形蟲體陰性。以上台北、新竹及花蓮三個捐血中心，以花蓮健康捐血人的血清陽性率最高 14.12%，較台北及新竹高出許多。若針對弓形蟲血清陽性捐血

者之暴露因子分析，則發現鄰居豢養貓，生飲山泉水及生食九孔干貝等貝類是感染弓形蟲的高為危險因子，P 值皆小於 0.05。另外生食豬肉較生食牛羊肉有較高的風險。男性與女性的感染風險無差異。

台灣地區免疫不全病患弓形蟲症的流行病學調查

本計劃與台大醫院及高雄國軍總醫院合作收檢，但目前只有高雄國軍總醫院於 9 月底通過 IRB 後送件，已收集 11 例免疫不全病患的檢體並完成 IgG/IgM ELISA 及 real-time PCR 檢驗，結果皆為陰性。顯示所有病患皆未受過弓形蟲的感染。台大醫院目前 IRB 仍在審核中，預計 11 月下旬會收到審核結果報告。在今年的 37 件弓形蟲通報病例中只有 1 件先天性弓形蟲感染的陽性病例，嬰兒有水腦的現象，12 件為 IgG 陽性的過去感染病例，其他為陰性。

合作醫院及捐血中心研究結果之回饋

由於三個捐血中心皆未檢出急性弓形蟲感染的個案，因此目前無協助陽性感染個案就醫的需求，若有急性弓形蟲感染的患者將以捐血中心作為聯繫窗口，協助陽性感染個案就醫。合作醫院的部分將由本實驗室直接與送檢醫師聯繫，提供診斷結果協助治療及進行後續追蹤。

建立台灣地區弓形蟲基因型別資料庫

由於目前國內仍未有弓形蟲基因型別資料庫的相關資料，我們先取 ATCC 標準蟲株 *Toxoplasma gondii* RH strain (genotype I) 與國人通報的陽性個案 (genotype II) 比對，來建置基因型別鑑定流程。以 B1 基因的 nested PCR-RFLP 來鑑別蟲株，genotype I 蟲株的特異片段不具有 *XhoI* 切位，而 genotype II/III 蟲株則含有 *XhoI* 切位，經酵素切割後可藉由電泳分辨基因片段長度與片段數量加以區分 (如圖二)。將循此分類鑑定流程作型別分析，建立台灣地區弓形蟲基因型別資料庫。

討論

台灣地區健康捐血人弓形蟲症的流行病學調查

目前三個捐血中心健康捐血人的弓形蟲 IgG 抗體陽性率依次為花蓮 14.12%、台北 8.87%、新竹 8.4%，總陽性率為 9.72%。但皆未篩檢出弓形蟲 IgM 抗體陽性個案及 real-time PCR 檢驗所有檢體亦呈陰性，這顯示目前所檢測出的弓形蟲 IgG 抗體陽性個案應為過去的弓形蟲感染，但目前血液中已檢測不到蟲的存在，IgM 抗體亦降到 ELISA 檢驗閾值以下。本次研究是取健康捐血人的血液與血清檢體，有 HIV、HBV 等疾病及生化檢驗異常之檢體已先篩檢出來不用，因此以目前三個捐血中心的結果來看，並無合格血品中帶有弓形蟲的疑慮。以上三個地區捐血中心，以花蓮健康捐血人的血清陽性率最高 14.12%，且較台北及新竹高出許多，是否與花蓮原住民人口比例較高，而原住民因飲食及生活習慣又有較高的感染率有關，還需做進一步的研究。由陽性捐血者之暴露因子分析，則發現鄰居養貓，生飲山泉水及生食九孔干貝等貝類是感染弓形蟲的高為危險因子，P 值皆小於 0.05。此結果符合國外養貓及生飲山泉水是高為危險因子的調查 (Jones, J. *et al*, 2005)，但生食九孔干貝等貝類是高為危險因子則是新的發現。雖然美國已有海獺因食用受感染弓形蟲的貝類而大量死亡的報告 (Miller, M. *et al*, 2008)，我們先前的前導實驗中也曾由牡蠣及文蛤中發現弓形蟲，但國際間卻沒有人類因食用

受感染弓形蟲的貝類而感染的報告，這個發現可提供我們未來研究弓形蟲傳染模式的新方向。另外生食豬肉較生食牛羊肉有較高的風險，也與國外的結果有異，是否與國人喜歡食用溫體豬肉，而溫體豬肉中之弓形蟲囊體有較好的存活率，生食時有較高的感染率，需進一步研究。

台灣地區免疫不全病患弓形蟲症的流行病學調查

本計劃目前只有高雄國軍總醫院於9月底後送件，收檢數量仍須努力，已收到的11例免疫不全病患的檢體IgG/IgM ELISA及real-time PCR檢驗，皆為陰性，顯示所有病患皆未受過弓形蟲的感染。因收檢數量太少無法針對目前結果進行適當的討論。在今年的37件弓形蟲通報病例中只有1件先天性弓形蟲感染的陽性病例，嬰兒有水腦的現象，母親為原住民，可能是因為在懷孕的第二或第三孕期時生食醃製豬肉而感染，也印證生食豬肉是危險因子的調查。

合作醫院及捐血中心研究結果之回饋

目前與醫院及捐血中心的合作尚無協助陽性感染個案就醫的需求，但已與醫師及捐血中心有良好聯繫，隨時可協助陽性感染個案就醫及進行後續追蹤。自弓形蟲列為第四類法定傳染病後，每年約只有30-40例通報病例，遠低於預測值。這是因為台灣病患弓形蟲致病力較差或是醫師沒有加以注意而送檢率偏低，未來需再加以了解篩。

結論與建議

- 持續與捐血中心及醫療院所合作收集台灣捐血人及免疫不全病患之血清及血液檢體，進行弓形蟲診斷篩檢的合作模式與管道，以了解國人弓形蟲症的流行病學現況。
- 為能確實弓形蟲防治，建議未來將加強疑似病患的再採檢率以提昇檢驗的準確性及強化疫調以提供更多流病資料，提供後續疾病診斷或制定相關防治政策之參考。
- 加強對醫師宣導，提升各專科醫師對弓形蟲的認知，增加疑似感染病例正確診斷通報的機會。

計畫重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

本年度與捐血中心合作進行台灣捐血人弓形蟲診斷篩檢，已完成三個區域共 905 例捐血人血液與血清檢體，IgG 總陽性率為 9.72%，未發現陽性案例。建立以弓形蟲 B1 及 SAG2 基因的分型鑑定流程，未來將收集感染病例進行分析，建構台灣地區弓形蟲基因型別資料庫。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

本計畫可提供民眾弓形蟲症的流行資訊及如何預防，防止弓形蟲症的傳播，特別是懷孕孕婦的宣導。

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

建議未來將加強疑似病患的再採檢率以提昇檢驗的準確性及強化疫調以提供更多流病資料，提供後續疾病診斷或制定相關防治政策之參考。另一方面應加強對醫師宣導，提升各專科醫師對弓形蟲的認知，增加疑似感染病例正確診斷通報的機會。

重要參考文獻

1. Burg JL, Grover CM, Pouletty P, & Boothroyd JC (1989) Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 27, p 1787-1792
2. Couvreur G, Sadak A, Fortier B, and Dubremetz JF (1988) Surface antigens of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology* 97 (Pt 1), p 1-10
3. Daniel H, Stephanie H, Francis D and Daivid S (1997) Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with Toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 35, p1411-1414.
4. Desmots G & Couvreur J (1974) Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *N. Engl. J. Med.* 290, p 1110-1116
5. Dubey JP, and Beattie CP. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988
6. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B et al. (1999) Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 180, p 410-415.
7. Hurtado A, Aduriz G, Moreno B, Barandika J, Garcia-Perez AL (2001) Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. *Veterinary Parasitology*, 102, p17-27.
8. Jamshaid L and Nabila K (2007) Detection of acute *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by IgG avidity and PCR analysis. *J. Med. Microbiol.* 56, p1495-1499.
9. Jones J, Lopez B, Mury M et al. (2005) *Toxoplasma gondii* infection in Rural Ruatemalan children. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72, p295-300.
10. Lunden A (1995) Immune responses in sheep after immunization with *Toxoplasma gondii* antigens incorporated into iscoms. *Vet. Parasitol.* 56, p 23-35.
11. Montoya JG (2002) Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.* 185 Suppl 1, p S73-S82.
12. Michael G and John B (2001) Rapid identification of virulent type I strains of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis at the *B1* gene. *J. Clin. Microbiol.* 39, p398-400.
13. Miller M, Miller W, Conrad P, et al. (2008) Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: New linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. *Int. J. parasitol.* 38, p1319-1328.
14. Novati R, Castagna A, Morsica G et al. (1994) Polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* DNA in the cerebrospinal fluid of AIDS patients with focal brain lesions. *AIDS* 8, p 1691-1694.
15. Petersen F, Edvinsson B, Lundgren B, Benfield T, and Evengard B (2006) Diagnosis of

pulmonary infection with *Toxoplasma gondii* in immune- compromised HIV-positive patients by real-time PCR. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 25, 401-404.

16. Remington JS, McLeod R, and Desmonts G. (1995) Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, eds. Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p140–267
17. Wilson M, Remington JS, Clavet C et al. (1997) Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. J. Clin. Microbiol. **35**, p 3112-3115.

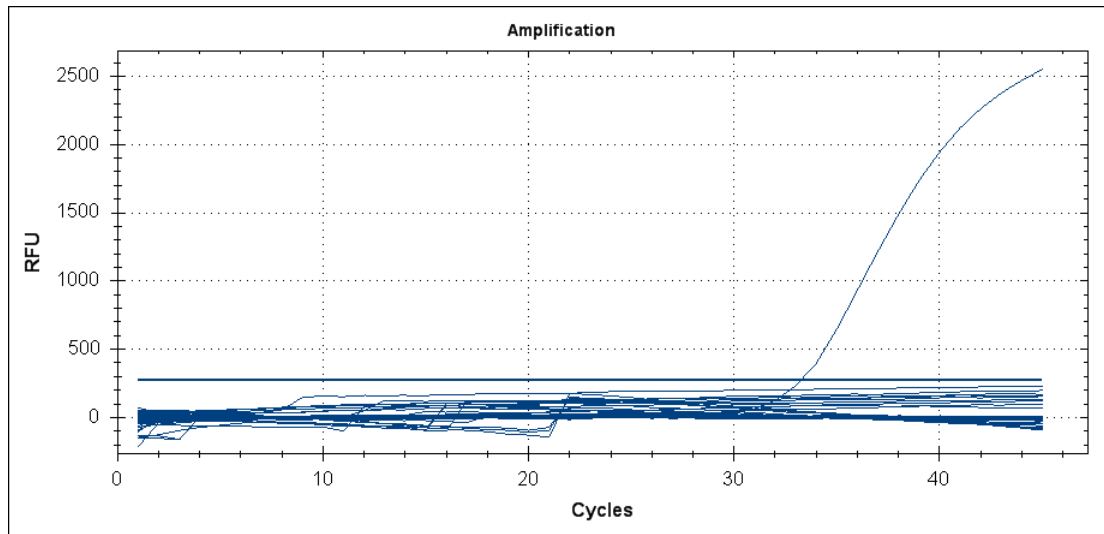
圖表

表一、台灣地區捐血人弓形蟲篩檢結果

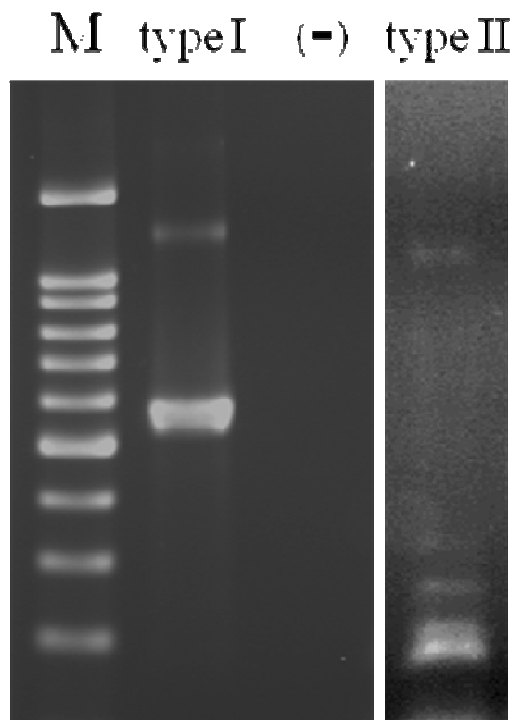
	台北	新竹	花蓮	總數
總樣品數	485	250	170	905
免疫檢測				
IgG (+)	43 (8.87%)	21 (8.4%)	24 (14.12%)	88 (9.72%)
IgM (+)	0	0	0	0
Real-time PCR	0	0	0	0

表二、弓形蟲血清陽性捐血者之暴露因子分析

變項	危險對比值	P 值
性別(男/女)	1.69	0.143
鄰居豢養貓	2.41	0.008***
飲用水		
自來水	0.83	0.692
山泉水	4.08	0.002 ***
地下水	0.91	0.931
生食肉類		
牛肉	1.23	0.564
羊肉	2.61	0.152
豬肉	2.72	0.053
生食貝類		
牡蠣	1.45	0.433
文蛤	0.97	0.951
生蠔	1.31	0.464
其他(干貝或九孔等)	20.76	0.014 **



圖一、弓形蟲針對 RE 基因 Real-time PCR 結果。圖中粗橫水平線為螢光值閾值，X 軸表示 PCR 循環數，Y 軸為螢光量強度。



圖二、以弓形蟲之 B12 基因分型鑑定。M 表示 100bp marker，(-)為陰性對照組，type I 為 genotype I 的培養蟲株，type II 為 genotype II 的檢體。