

# 不同分子检测技术对艾滋病患者合并寄生虫感染在真实世界的应用效果比较

江华 朱银银 朱红艳 胡志亮 殷位刚 张洪英

作者单位: 210012 江苏南京, 南京市雨花台区疾病预防控制中心 (江华)  
200241 上海, 上海市闵行区吴泾社区卫生服务中心预防保健科 (朱银银)  
210003 江苏南京, 南京医科大学附属南京疾病预防控制中心 (殷位刚、张洪英)  
210003 江苏南京, 南京中医药大学附属南京市第二医院感染科 (朱红艳、胡志亮)

通信作者: 张洪英, Email: xiao99now@aliyun.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2024.03.011

**【摘要】** 目的 对住院艾滋病患者进行合并寄生虫感染的初步检验, 比较不同 DNA 检测技术对艾滋病患者合并寄生虫感染在真实世界的应用效果。方法 选择临床诊断为合并弓形虫感染或肺孢子虫感染的 16 例住院艾滋病患者作为研究对象, 以临床诊断为“金标准”进行实验室分子检测。检测方法包括针对不同靶基因的荧光定量聚合酶链反应 (qPCR) 和环介导等温扩增技术 (LAMP); 临床样本包括脑脊液、血浆和支气管肺泡灌洗液 (BALF); 比较采用不同方法和临床样本的检测结果。结果 采用 Rep-529 作为靶基因, LAMP 与 qPCR 诊断艾滋病合并弓形虫感染的总检出率均为 53.12%, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。对脑脊液样本进行 LAMP-529-11 和 qPCR-529 检测的检出率显著高于血浆样本 [90.62% (29/32) 比 15.62% (5/32),  $P < 0.01$ ]。采用 BALF 样本临床诊断合并肺孢子虫肺炎的检出率显著高于血浆样本 [100.00% (32/32) 比 18.75% (6/32),  $P < 0.01$ ]。LAMP-18S 检测的检出率显著高于 LAMP-Cob 检测引物组 [65.62% (21/32) 比 46.87% (15/32),  $P < 0.05$ ]。LAMP-18S 与 qPCR-mtSSU 的总检出率比较差异无统计学意义 [65.62% (21/32) 比 53.12% (17/32),  $P > 0.05$ ]。结论 采用 Rep-529 作为靶基因对艾滋病患者合并弓形虫感染进行检测, qPCR 和 LAMP 方法均可选, 建议首选样本为脑脊液; 肺孢子虫肺炎检测也可选 qPCR 和 LAMP 方法, 建议首选样本为 BALF。当选择 LAMP 方法时, 建议首选针对 18S 的引物组。

**【关键词】** 艾滋病; 弓形虫; 肺孢子虫; 环介导等温扩增技术; 荧光定量聚合酶链反应  
基金项目: 江苏省地病协会项目 (X202130); 中疾控标准化研究项目 (BZ2023-Q050)

## Comparison on application effect of different molecular detection techniques in real world of acquired immune deficiency syndrome patients with parasitic infection

Jiang Hua, Zhu Yinyin, Zhu Hongyan, Hu Zhiliang, Yin Weigang, Zhang Hongying. Nanjing Yuhuatui District Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210012, Jiangsu, China (Jiang H); Department of Public Health, Shanghai Minhang District Wujing Community Health Service Center, Shanghai 200241, China (Zhu YY); Nanjing Center for Disease Control and Prevention Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210003, Jiangsu, China (Yin WG, Zhang HY); Department of Infectious Disease, the Second Hospital of Nanjing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210003, Jiangsu, China (Zhu HY, Hu ZL)

Corresponding author: Zhang Hongying, Email: xiao99now@aliyun.com

**【Abstract】** **Objective** To preliminarily detect the parasitic infection in hospitalized patients with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and compare the application effect of different DNA detection techniques on parasitic infection in AIDS patients in the real world. **Methods** The 16 patients with clinical diagnosis of AIDS and complicated with *Toxoplasma gondii* infection or *Pneumocystis carinii* infection were selected as research objects. The laboratory molecular testing was conducted using clinical diagnosis as "gold standard". The detection methods included fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for different target genes. The clinical samples included cerebrospinal fluid, plasma and bronchoalveolar lavage fluid (BALF). The detection results using different methods and clinical samples were compared. **Results** Using Rep-529 as target gene, the total detectable rates of LAMP and qPCR in diagnosing AIDS complicated with *Toxoplasma gondii* infection were both 53.12%, without statistically significant difference ( $P > 0.05$ ). The detectable rate of LAMP-529-11 and qPCR-529 method in cerebrospinal fluid samples was significantly higher than that in plasma samples [90.62% (29/32) vs. 15.62% (5/32),  $P < 0.01$ ]. The detectable rate

of *Pneumocystis carinii* pneumonia in clinical diagnosis using BALF samples was significantly higher than that in plasma samples [100.00% (32/32) vs. 18.75% (6/32),  $P < 0.01$ ]. The detectable rate of LAMP-18S was significantly higher than that of LAMP-Cob detection primer group [65.62% (21/32) vs. 46.87% (15/32),  $P < 0.05$ ]. There was no statistically significant difference in the total detectable rate between LAMP-18S and qPCR-mtSSU [65.62% (21/32) vs. 53.12% (17/32),  $P > 0.05$ ]. **Conclusions** When Rep-529 is used as the target gene to detect *Toxoplasma gondii* infection in AIDS patients, both qPCR and LAMP methods are optional, and it is recommended that the first sample is cerebrospinal fluid. qPCR and LAMP methods could also be used for detecting *Pneumocystis carinii* pneumonia, and it is recommended to choose BALF as the preferred sample. When choosing the LAMP method, it is recommended to prioritize primer sets targeting 18S.

**【Key words】** Acquired immune deficiency syndrome; *Toxoplasma gondii*; *Pneumocystis carinii*; Loop-mediated isothermal amplification; Fluorescence quantitative polymerase chain reaction

**Fund Program:** Jiangsu Provincial Association of Geological Diseases Project (X202130); Standardization Research Project for Central Disease Control and Prevention (BZ2023-Q050)

据统计,在全球总人口中约有 1/3 感染弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)<sup>[1-2]</sup>。作为重要的食源性寄生虫,弓形虫在联合国粮农组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 和世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 2014 年发布的报告中被列为食源性寄生虫第 4 位<sup>[3]</sup>。此外,全球化和国际贸易可能会促进新寄生虫株的区域间和洲际传播<sup>[4-5]</sup>。

弓形虫是一种细胞内寄生原虫,其感染人类主要通过以下 3 种不同途径。① 摄入组织囊泡:弓形虫感染中间宿主后存在于动物(如羊和猪)的肌肉组织中,如果在烹饪时未杀死动物肌肉中的弓形虫囊泡,人食用后则会被感染;② 摄入孢子囊:摄入或接触被感染的猫粪便污染的水、新鲜农产品、花园土壤、儿童沙盒土壤等,以及滤食性的双壳类动物(如贻贝和牡蛎)吸入含有浮游生物的水,过滤出食物,再排出多余的水和废物,在上述过程中通过水过滤来积累弓形虫孢子<sup>[6-8]</sup>;③ 胎儿先天感染或通过胎盘传播:如怀孕期间感染的母亲将快速复制的弓形虫传染给胎儿<sup>[9]</sup>。

人类感染弓形虫通常是无症状的,并可导致慢性感染。然而,孕妇初次感染弓形虫可能导致先天性传播并对胎儿造成严重损伤<sup>[9]</sup>。对于免疫系统功能较弱的人群(如使用免疫抑制剂患者、肿瘤患者和免疫缺陷患者),感染弓形虫可能会导致发热、淋巴结肿大、头痛、肌肉疼痛等症状。有研究表明,在免疫功能受损的个体(如艾滋病患者)中重新激活弓形虫感染或发生新感染常可导致严重的神经系统和肺部症状<sup>[10-11]</sup>。因此,对于艾滋病患者,包括弓形虫感染在内的共感染发生率往往比免疫系统正常者更高,感染后发展为重症的概率更大,预后也更

差。除弓形虫外,肺孢子虫共感染也常见于艾滋病患者。然而,目前在临床工作中上述两种病原体的检测面临巨大的挑战。

目前在临床上对弓形虫感染仍主要使用非病原学检测方法,如抗体-抗原检测等。由于其较高的感染率和抗体阳性率,免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 抗体可以持续存在于人体中,且免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 抗体也会持续存在几个月到 1 年,导致抗体检测的特异性大打折扣<sup>[12-13]</sup>。弓形虫的 DNA 检测方法已经在各种脊椎动物以及非人类领域进行了比较广泛的探索和应用<sup>[14-15]</sup>,但是在临床艾滋病患者真实世界中的研究仍比较缺乏。本研究拟对临床艾滋病患者中的共感染者进行弓形虫 DNA 检测。此外,肺孢子虫的临床检测主要采用非特异的 G 试验,而且由于组织样本获得较困难及经典检测方法检出率低等缺点,病原学检测面临困境,急需一种敏感度和特异度均较高的方法。目前分子生物学方法已有不少报道,但因缺乏分子检测的临床实践而未得到广泛应用。

本研究收集合并弓形虫或肺孢子虫感染艾滋病患者的脑脊液、支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 以及血浆样本,分别采用荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR) 和环介导等温扩增技术 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 进行检测,比较不同方法和临床样本的检测结果,为探讨 DNA 检测技术对艾滋病患者合并寄生虫感染在真实世界的临床应用效果提供参考,现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 样本收集** 选择 16 例临床诊断为肺孢子虫肺部感染以及 16 例合并弓形虫脑病的艾滋病患者作

为研究对象,采集所有受检者 BALF 样本 16 份、脑脊液样本 16 份以及血浆样本 32 份,外送进行二代测序(next-generation sequencing, NGS)<sup>[16-17]</sup>,并将剩余样本在 -70 °C 冰箱保存待检。

**1.2 样本 DNA 提取** 采用 Emagpure-32A 全自动核酸提取仪和配套的磁珠法组织 DNA 提取试剂盒(上海医脉赛科技有限公司)进行样本 DNA 提取,操作按照试剂盒说明书进行。脑脊液、BALF、血浆样本量均为 300  $\mu$ L,洗脱体积为 60  $\mu$ L。提取后样本在 -20 °C 冰箱保存待检。

**1.3 qPCR 检测** 弓形虫与肺孢子虫检测引物和探针序列以及 qPCR 反应体系和程序设置方法参照文献<sup>[18-19]</sup>,靶基因包括 Rep-529 和 mtSSU,使用的 qPCR 检测试剂购自宝生物工程(大连)有限公司。使用 Quant Studio™5 qPCR 系统(上海爱普拜斯应用生物系统贸易有限公司)进行分析,阴性对照无对数增长 S 曲线、阳性对照有对数增长 S 曲线为反应有效。

**1.4 LAMP 检测** 本课题组设计的弓形虫和肺孢子虫检测等温扩增体系包括 LAMP-529-11(靶基因为 Rep-529)<sup>[20]</sup>和 LAMP-Cob4(靶基因为 Cob)。同时使用文献报道的 LAMP-RE 检测体系进行比较(靶基因为 18S)<sup>[21-23]</sup>。

LAMP-Cob4 引物组包括 Cob4-B3: 5'-AGAGTAGCATGATTAACAGAGA-3'; Cob4-F3: 5'-GCTTGA GGTATCTATTATGGATCT-3'; Cob4-LB: 5'-GCCA CTGTTATTACTAATTTGATGT-3'; Cob4-LF: 5'-GAA GATAACTACACCAATAGACCA-3'; Cob4-FIP: 5'-AT CCAAGAAAGCAGTAACAATCATCGAACTCCCAG AATTCTCG-3'; Cob4-BIP: 5'-TGGTCAAATGTCATT GTGGGACAATATCATTACCAATCCAAGG-3'。

采用 GspSSD 2.0 等温 Mastermix 试剂盒进行扩增和 Genie II 等温扩增荧光检测系统(购自英国 Optigene 公司)进行分析。阴性对照无对数增长 S 曲线、阳性对照有对数增长 S 曲线为反应有效。

**1.5 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,并已获得南京市疾病预防控制中心伦理委员会批准(审批号: PJ2023-A001-17),对临床诊断为肺孢子虫肺部感染或弓形虫脑病的艾滋病患者进行余样核酸检测均获得过本人或家属的知情同意。

**1.6 统计学分析** 使用 Excel 统计学软件进行数据录入和整理,采用 SPSS 16.0 软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )

进行描述;计数资料以百分比(%)进行描述,采用双尾  $\chi^2$  检验。差异有统计学意义以  $P < 0.05$  表示。

## 2 结果

**2.1 使用不同方法和样本对合并弓形虫感染艾滋病患者的 DNA 检测结果比较** 本研究采用同一个靶基因 Rep-529 作为 DNA 检测对象,16 例临床诊断为弓形虫脑病患者的 32 份血浆和脑脊液样本的 DNA 检测结果表明,LAMP 与 qPCR 的检出率均为 53.12%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两种方法对脑脊液样本的检出率显著高于血浆样本(90.62% 比 15.62%, $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 使用不同方法和样本对合并弓形虫感染艾滋病患者的 DNA 检出率比较

检测方法	样本	样本数 (份)	检出率 [% (份)]	P 值	$\kappa$ 值
LAMP-529-11	脑脊液 + 血浆	32	53.12 (17)	1.000 <sup>a</sup>	0.875
qPCR-529	脑脊液 + 血浆	32	53.12 (17)		
LAMP-529-11 + qPCR-529	脑脊液	32	90.62 (29)	0.000	0.119
LAMP-529-11 + qPCR-529	血浆	32	15.62 (5)		

注: LAMP 为环介导等温扩增技术, qPCR 为荧光定量聚合酶链反应; a 为双尾  $\chi^2$  检验

**2.2 使用不同方法和样本对合并肺孢子虫感染艾滋病患者的 DNA 检测结果比较** 16 例临床诊断为肺孢子虫肺炎患者的 32 份血浆和 BALF 样本的 DNA 检测结果表明,LAMP-18S 体系的检出率显著高于 LAMP-Cob4 体系(65.62% 比 46.87%, $P < 0.05$ );但与 qPCR-mtSSU 体系的检出率(53.12%)比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );LAMP-18S 与 qPCR-mtSSU 体系对 BALF 样本的检测阳性率显著高于血浆样本(100.00% 比 18.75%, $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 使用不同方法和样本对合并肺孢子虫感染艾滋病患者的 DNA 检出率比较

检测方法	样本	样本数 (份)	检出率 [% (份)]	P 值	$\kappa$ 值
LAMP-Cob4	BALF+ 血浆	32	46.87 (15)	0.031 <sup>a</sup>	0.632
LAMP-18S	BALF+ 血浆	32	65.62 (21)		
LAMP-18S	BALF+ 血浆	32	65.62 (21)	0.219 <sup>a</sup>	0.633
qPCR-mtSSU	BALF+ 血浆	32	53.12 (17)		
LAMP-18S+ qPCR-mtSSU	BALF	32	100.00 (32)	0.000 <sup>a</sup>	0.099
LAMP-18S+ qPCR-mtSSU	血浆	32	18.75 (6)		

注: LAMP 为环介导等温扩增技术, qPCR 为荧光定量聚合酶链反应, BALF 为支气管肺泡灌洗液; a 为双尾  $\chi^2$  检验



### 3 讨论

目前在不同国家和地区弓形虫的流行率因居民生活习惯和日常风险因素不同而高低不同。在中美洲和南美洲弓形虫流行率为 40%~60%；在印度弓形虫流行率为 20%~40%，在埃及约为 40%<sup>[8, 24]</sup>。本研究结果表明，南京市艾滋病患者的弓形虫抗体总阳性率为 12.2%。人类感染弓形虫的来源包括食物、水以及环境和伴侣动物来源<sup>[25-27]</sup>。本研究结果显示，猫在初始感染期间主动排出卵囊时对人类构成风险，与文献相符<sup>[20]</sup>。目前弓形虫感染已成为一种重要的人畜共患疾病和公共卫生问题，对弓形虫感染的检测尤其是在艾滋病患者中的检测工作具有重要的意义<sup>[13, 28-29]</sup>。然而，目前临床检测弓形虫的慢性感染主要依赖于血清学技术，如采用改良凝集试验<sup>[13]</sup>。弓形虫 DNA 检测已广泛应用于非人类感染，在人类感染领域，国内尚缺乏临床实践。

本研究选择 Rep-529 作为靶基因，采用自主设计的 LAMP-529-11 体系以及文献报道的 qPCR 方法分别对临床诊断合并弓形虫脑病艾滋病患者的脑脊液和血浆进行检测和比较，结果显示在靶基因相同的情况下，qPCR 和 LAMP 检测结果的差异与检测方法无关，而与样本来源有关，因为 LAMP 法的检出率与 qPCR 的检出率比较差异无统计学意义，而对脑脊液样本的检出率显著高于血浆样本，差异有统计学意义。

中国农业大学索勋教授团队对饲养宠物的孕妇血液中弓形虫感染进行检测，结果表明靶向 Rep-529 基因的 LAMP 检出率为 7.0% (14/200)，传统 PCR 方法的检出率为 2.5% (5/200)<sup>[30]</sup>。上述结果比本研究中 LAMP 或 qPCR 的检出率 (53.12%) 低得多，可能与样本来源不同有关。因为本研究纳入的研究对象均为临床诊断为弓形虫感染的患者，且已通过影像学、治疗评价、脑脊液检测、抗体检测等确诊，其脑脊液样本的检出率高达 87.50%，而在血浆中检出 DNA 含量就低得多，检出率只有 12.50%。因此，本研究提出对弓形虫脑病患者建议检测脑脊液样本，在无法获得脑脊液的情况下，可以选择血液样本。由于弓形虫的生活史，其可能存在于中间宿主的各种可能部位，因此可以检测的样本包括全血、脑脊液、尿液、BALF、羊水、房水、脐带血、胎盘、脑组织以及寄生虫所在的其他样本<sup>[31-32]</sup>。

qPCR 已被报道用于血液和组织样本、羊水和脑脊液中的弓形虫 DNA 检测，靶基因是 B1 基因

(35 个拷贝) 和 Rep-529 基因 (300 多个拷贝)<sup>[33]</sup>。Rep-529-PCR 的敏感度高于 B1-PCR，这是由于寄生虫基因组中 Rep-529 的重重复度较高<sup>[34]</sup>。目前报道中能 Rep-529 相当的靶基因只有 GRA7 保守区，其特异度和敏感度均高于 B1 基因<sup>[14]</sup>。

本研究中对肺孢子虫检测时 LAMP 针对 18S 引物组的检出率显著高于针对 Cob 基因引物组。肺孢子虫肺炎患者的 BALF 样本检出率显著高于血浆样本。LAMP-18S 引物组与 qPCR 法的总检出率比较差异无统计学意义，两种方法均为临床检验可使用的方法。日本学者报道的 LAMP 检测肺孢子虫的检出率为 87.5%<sup>[23]</sup>，稍低于本研究 LAMP-18S 对 BALF 样本的检出率 (100.00%)。该文献纳入的 24 份样本中有 8 份痰液样本，16 份 BALF 样本，未检出的样本中有 2 份为痰液样本，1 份为 BALF 样本<sup>[23]</sup>。如果分别计算检出率，则 BALF 样本的检出率为 93.75% (15/16)，与本研究差别不大；而痰液样本的检出率为 75.00% (6/8)，高于本研究的血浆检出率 18.75% (6/32)。结合文献和本研究结果，肺孢子虫肺炎的检测样本首选 BALF，其次为痰液，血液为最次。

综上所述，本研究首次对合并弓形虫脑病和肺孢子虫肺炎的艾滋病患者进行分子检测，结果显示以 Rep-529 作为靶基因，弓形虫脑病的检测方法可选 qPCR 和 LAMP，应以脑脊液样本作为首选检测样本；肺孢子虫肺炎检测应首选 BALF 样本，qPCR 和 LAMP 方法均可选，当选择 LAMP 时，建议首选针对 18S 的引物组。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- BIGNA J J, TOCHIE J N, TOUNOUGA D N, et al. Global, regional, and country seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pregnant women: a systematic review, modelling and meta-analysis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 12102. DOI: 10.1038/s41598-020-69078-9.
- ROSTAMI A, RIAHI S M, GAMBLE H R, et al. Global prevalence of latent toxoplasmosis in pregnant women: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26 (6): 673-683. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.01.008.
- GOMEZ-MARIN J. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites [M]. Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization, Rome: 2014.
- BERTRANPETIT E, JOMBART T, PARADIS E, et al. Phylogeography of *Toxoplasma gondii* points to a South American origin [J]. *Infect Genet Evol*, 2017, 48: 150-155. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.12.020.
- GALAL L, HAMIDOVIC A, DARDE M L, et al. Diversity of *Toxoplasma gondii* strains at the global level and its determinants [J]. *Food Waterborne Parasitol*, 2019, 15: e00052. DOI: 10.1016/j.fawpar.2019.e00052.

- 6 SHAPIRO K, BAHIA-OLIVEIRA L, DIXON B, et al. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: oocysts in water, soil and food [J]. Food Waterborne Parasitol, 2019, 15: e00049. DOI: 10.1016/j.fawpar.2019.e00049.
- 7 MARQUIS N D, BISHOP T J, RECORD N R, et al. Molecular epizootiology of *Toxoplasma gondii* and *Cryptosporidium parvum* in the Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*) from Maine (USA) [J]. Pathogens, 2019, 8 (3): 125. DOI: 10.3390/pathogens8030125.
- 8 ALMERIA S, DUBEY J P. Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade. An overview [J]. Res Vet Sci, 2021, 135: 371–385. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.10.019.
- 9 JONES J L, LOPEZ A, WILSON M, et al. Congenital toxoplasmosis: a review [J]. Obstet Gynecol Surv, 2001, 56 (5): 296–305. DOI: 10.1097/00006254-200105000-00025.
- 10 WANG Z D, WANG S C, LIU H H, et al. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet HIV, 2017, 4 (4): e177–e188. DOI: 10.1016/S2352-3018(17)30005-X.
- 11 ROBERT-GANGNEUX F, MERONI V, DUPONT D, et al. Toxoplasmosis in transplant recipients, Europe, 2010–2014 [J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24 (8): 1497–1504. DOI: 10.3201/eid2408.180045.
- 12 DIAN S, GANIEM A R, EKAWARDHANI S. Cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients: a review [J]. Pathog Glob Health, 2023, 117 (1): 14–23. DOI: 10.1080/20477724.2022.2083977.
- 13 BISETEGN H, DEBASH H, EBRAHIM H, et al. Global seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among patients with mental and neurological disorders: a systematic review and meta-analysis [J]. Health Sci Rep, 2023, 6 (6): e1319. DOI: 10.1002/hsr2.1319.
- 14 SOUZA I, SIQUEIRA V, RIBEIRO I, et al. Molecular and serological diagnosis of toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis [J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2023, 65: e19. DOI: 10.1590/S1678-9946202365019.
- 15 KHAN A H, NOORDIN R. Serological and molecular rapid diagnostic tests for *Toxoplasma* infection in humans and animals [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39 (1): 19–30. DOI: 10.1007/s10096-019-03680-2.
- 16 ZHU Y, XU M, DING C, et al. Metagenomic next-generation sequencing vs. traditional microbiological tests for diagnosing Varicella-Zoster virus central nervous system infection [J]. Front Public Health, 2021, 9: 738412. DOI: 10.3389/fpubh.2021.738412.
- 17 ZHU Y, ZHAO W, YANG X, et al. Metagenomic next-generation sequencing for identification of central nervous system pathogens in HIV-infected patients [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 1055996. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1055996.
- 18 WU Y, WANG F, WANG C, et al. Detection of *Pneumocystis jirovecii* and *Toxoplasma gondii* in patients with lung infections by a duplex qPCR assay [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2021, 15 (12): e0010025. DOI: 10.1371/journal.pntd.0010025.
- 19 SENCHYNA F, HOGAN C A, MURUGESAN K, et al. Clinical accuracy and impact of plasma cell-free DNA fungal polymerase chain reaction panel for noninvasive diagnosis of fungal infection [J]. Clin Infect Dis, 2021, 73 (9): 1677–1684. DOI: 10.1093/cid/ciab158.
- 20 殷位刚, 朱银银, 杨佩才, 等. 弓形虫 529 重复序列检测方法的比较 [J]. 畜牧与兽医, 2023, 55 (12): 111–116.
- 21 ZHANG H, THEKISOE O M, ABOGE G O, et al. *Toxoplasma gondii*: sensitive and rapid detection of infection by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method [J]. Exp Parasitol, 2009, 122 (1): 47–50. DOI: 10.1016/j.exppara.2009.01.012.
- 22 LIN Z, ZHANG Y, ZHANG H, et al. Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time PCR method targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis [J]. Vet Parasitol, 2012, 185 (2–4): 296–300. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.10.016.
- 23 UEMURA N, MAKIMURA K, ONOZAKI M, et al. Development of a loop-mediated isothermal amplification method for diagnosing *Pneumocystis pneumonia* [J]. J Med Microbiol, 2008, 57 (Pt 1): 50–57. DOI: 10.1099/jmm.0.47216-0.
- 24 DUBEY J P. Toxoplasmosis of animals and humans [M]. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2021.
- 25 杨佩才, 何伊莎, 杨芬, 等. 南京市特殊人群弓形虫感染调查 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30 (6): 696–697, 701. DOI: 10.16250/j.32.1374.2018182.
- 26 DUBEY J P. Toxoplasmosis: a waterborne zoonosis [J]. Vet Parasitol, 2004, 126 (1–2): 57–72. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.09.005.
- 27 DUBEY J P, JONES J L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States [J]. Int J Parasitol, 2008, 38 (11): 1257–1278. DOI: 10.1016/j.ijpara.2008.03.007.
- 28 WESOLOWSKI R, PAWLOWSKA M, SMOGULA M, et al. Advances and challenges in diagnostics of toxoplasmosis in HIV-infected patients [J]. Pathogens, 2023, 12 (1): 110. DOI: 10.3390/pathogens12010110.
- 29 毛子晴, 许文炯, 乔梦凯, 等. 两种快速检测试剂在人类免疫缺陷病毒 / 获得性免疫缺陷综合征筛查中的应用 [J]. 实用检验医师杂志, 2023, 15 (1): 56–59. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.01.015.
- 30 SUN X M, JI Y S, LIU X Y, et al. Improvement and evaluation of loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of *Toxoplasma gondii* infection in human blood samples [J]. PLoS One, 2017, 12 (1): e0169125. DOI: 10.1371/journal.pone.0169125.
- 31 ROSTAMI A, KARANIS P, FALLAHI S. Advances in serological, imaging techniques and molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection [J]. Infection, 2018, 46 (3): 303–315. DOI: 10.1007/s15010-017-1111-3.
- 32 LIU Q, WANG Z D, HUANG S Y, et al. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii* [J]. Parasit Vectors, 2015, 8: 292. DOI: 10.1186/s13071-015-0902-6.
- 33 GUTIERREZ-LOLI R, FERRADAS C, DIESTRA A, et al. Development of a novel protocol based on blood clot to improve the sensitivity of qPCR detection of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood specimens [J]. Am J Trop Med Hyg, 2019, 100 (1): 83–89. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0920.
- 34 RAUWOLF K K, FLOETH M, KERL K, et al. Toxoplasmosis after allogeneic haematopoietic cell transplantation—disease burden and approaches to diagnosis, prevention and management in adults and children [J]. Clin Microbiol Infect, 2021, 27 (3): 378–388. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.10.009.

(收稿日期: 2024-03-13)

(本文编辑: 邵文)