

河南省新乡市市售牛羊肉弓形虫感染情况调查

许培培¹ 刘峰² 许晶晶³ 李浩¹ 牛含青¹ 何京¹ 曹梓轩¹ 冯龙¹
张耀元¹ 李向云¹ 刘世国^{1*}

【摘要】目的 了解新乡市 2013 年市售牛、羊肉弓形虫感染情况，为弓形虫病的防治提供依据。**方法** 随机采集新乡市 40 个农贸市场的牛、羊肌肉组织，其中市区牛肉 71 份、羊肉 77 份，郊区牛肉 65 份、羊肉 64 份，农村牛肉 46 份、羊肉 45 份，用套式 PCR 检测肉类弓形虫的感染情况。**结果** 共检测牛肉 182 份，其中阳性 23 份，阳性率为 12.64% (23/182)。市区、郊区、农村牛肉弓形虫阳性率依次为 12.00% (9/75)、12.50% (8/64) 和 13.95% (6/43)。共检测羊肉 191 份，阳性 22 份，阳性率为 11.52% (22/191)，市区、郊区、农村羊肉弓形虫阳性率依次为 10.96% (8/73)、11.29% (7/62) 和 12.50% (7/56)。牛、羊肉弓形虫阴性率在市区、郊区之间差异均无统计学意义 ($\chi^2=2.153$, $\chi^2=1.084$, $P>0.05$)。市区、农村之间牛、羊肉阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=6.418$, $\chi^2=7.005$, $P<0.05$)。**结论** 新乡市郊区及农村市售牛、羊肉有弓形虫感染。

【关键词】 羊肉；牛肉；弓形虫；套式 PCR 技术

Investigation on *Toxoplasma gondii* infection of commercial beef and mutton in Xinxiang, Henan Province Xu Peipei¹, Liu Feng², Xu Jingjing³, Li Hao¹, Niu Hanqing¹, He Jing¹, Cao Zixuan¹, Feng Long¹, Zhang Yaoyuan¹, Li Xiangyun¹, Liu Shiguo^{1*}. ¹Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China ²Hualan Biological Bacterin Co. Ltd, Xinxiang 453003. ³People's Liberation Army 371 Hospital, Xinxiang 453003, China

*Corresponding author: Liu Shiguo, Email: lsg1963@163.com

【Abstract】Objective To investigate the infection of *Toxoplasma gondii* of commercial beef and mutton in Xinxiang City. **Methods** Beef and mutton samples were collected randomly at 40 farmer markets, of which, 71 beef and 77 mutton samples from urban; 65 beef and 64 mutton samples from suburban; 46 beef and 45 mutton samples from rural. The nested PCR was used to detect *Toxoplasma gondii* DNA in the muscle tissue. **Results** The total *Toxoplasma* positive rate was 12.64% (23/182) in beef samples. The *Toxoplasma* positive rates of beef samples from urban, suburban and rural were 12.00% (9/75), 12.50% (8/64) and 13.95% (6/43), respectively. The total *Toxoplasma* positive rate of mutton samples was 11.52% (22/191). The *Toxoplasma* positive rates of mutton samples from urban, suburban and rural were 10.96% (8/73), 11.29% (7/62) and 12.50% (7/56), respectively. There was no statistically significant difference of beef and mutton positive rate between urban and suburban ($\chi^2=2.153$, $\chi^2=1.084$, $P>0.05$). There was statistically significant difference of beef and mutton positive rate between urban and rural ($\chi^2=6.418$, $\chi^2=7.005$, $P<0.05$). **Conclusion** The results showed that the commercial beef and mutton sold in Xinxiang City were infected with *Toxoplasma gondii*.

【Key words】 Mutton; Beef; *Toxoplasma gondii*; Nested PCR

刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 寄生在人、畜、禽的脑、肺、淋巴结、肌肉等组织细胞内，引起的一种急性、热性原虫病，称为弓形虫病。弓形

虫病是一种人畜共患的寄生虫病^[1]。人或动物通过摄入被弓形虫卵囊污染的食物或水源，或通过食入含包囊的肉而被感染。弓形虫病对人类健康危害大，可造成孕妇流产、死胎、畸形儿、弱智儿等一系列围产期疾患^[2]。它也可导致人精神和行为异常，给人类健康和社会发展带来严重危害。

目前，弓形虫的检测方法主要有血清学^[3]、病原形态鉴定或小鼠腹腔接种等^[4]。血清学方法要求

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2015.02.010

作者单位：¹453000 新乡，新乡医学院三全学院临床医学专业；²453000 新乡，华兰生物疫苗有限公司；³453000 新乡，新乡市解放军 371 医院

*通信作者：刘世国，Email: lsg1963@163.com

有足够的血清滴度，小鼠接种所需时间较长。而 PCR 检测方法只要检测到病原的核酸即可确诊，可以快速、敏感、特异地诊断弓形虫病。国内使用 PCR 检测牛、羊肉弓形虫的研究较少。为了了解新乡市市售牛羊肉弓形虫感染情况，本研究从 2013 年 6 月至 2013 年 8 月，运用巢式 PCR 方法开展了市售牛、羊肉弓形虫感染的流行病学调查。

1 材料与方法

1.1 样本的采集及预处理

样本均来自新乡市 40 个大型农贸市场的牛肉摊位，连续 9 d 每天每摊位采集牛随机部位肌肉组织 1 000 mg，后用液氮冷冻，研钵内进行研磨至细小颗粒状，称取 500 mg，放置 4 ℃ 保存，供检测使用。

1.2 样本 DNA 的提取

弓形虫 DNA 的提取均采用苯酚抽提法，RH 株弓形虫 DNA 提取采用酚-氯法。

1.3 巢式 PCR 扩增

以总 DNA 为模板，进行巢式 PCR 分析（单管一步法），扩增弓形虫 529 多拷贝片段。PCR 引物序列为：弓形虫 529 外引物 F: 5'-CGC TGC AGG GAGGAA GAC GAA AGT TG-3'，R: 5'-CGC TGC AGA CAC AGT GCA TCT GGA TT-3'；内引物 F: 5'-AGA AGG GAC AGA AGTCGA AG-3'，R: 5'-CTC CACTCT TCA ATT CTC TCC-3'。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应条件为：95 ℃ 2 min: 95 ℃ 30 s, 68 ℃ 30 s, 72 ℃ 50 s; 95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 50 s, 72 ℃ 5 min，共 35 个循环。取 10 μl PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。以 RH 株弓形虫滋养体 DNA 作阳性对照，健康牛、羊肉 DNA 作阴性对照，ddH₂O 作阴性对照。

1.4 统计学分析

检测结果经 GraphPad5.0 统计学分析，不同地区阳性率之间的比较用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 牛肉样品检测结果

共检测牛肉 182 份，其中阳性 23 份（图 1），阳性率为 12.64%。市区阳性率为 12.00%（9/75），郊区为 12.50%（8/64），农村为 13.95%（6/43）。城市和农村的弓形虫阳性率差异有统计学意义（ $\chi^2=6.418$ ， $P < 0.05$ ），城市和郊区之间无统计学意义差异（ $\chi^2=2.153$ ， $P > 0.05$ ）。

2.2 羊肉样品检测结果

共检测商品羊肉 191 份，其中阳性 22 份（图 2），总阳性率为 11.52%，市区阳性率为 10.96%（8/73），郊区为 11.29%（7/62），农村为 12.50%（7/56）。城市和农村羊肉的弓形虫阳性率差异有统计学意义（ $\chi^2=7.005$ ， $P < 0.05$ ），城市和郊区之间无统计学意义（ $\chi^2=1.084$ ， $P > 0.05$ ）。

3 讨论

哺乳动物都是弓形虫病的传染源，人作为中间宿主可通过接触肉类以及污染的水等被感染，人体内的弓形虫还可以通过胎盘感染下一代^[5]。目前流行病学调查多采用血清学方法，但是血清学方法假阳性率远较 DNA 检测高^[6]。国内一些学者采用 PCR 方法对一些动物进行了弓形虫流行病学调查，发现屋舍燕子的弓形虫感染率为 12.46%^[7]，上海家养犬弓形虫感染率为 0^[8]，新乡市猪肉弓形虫阳性率为 4.55%^[9]，北京散养猫弓形虫感染率为 57.8%^[10]。本研究采用单管一步法套式 PCR 方法对新乡市市售羊肉进行了 DNA 检测，经虫株 DNA 及

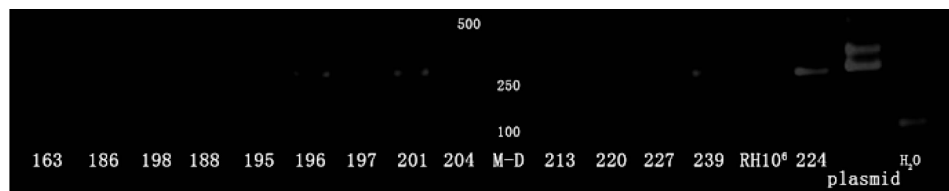


图 1 牛肉样品弓形虫片段扩增结果

163, 186, 198, 188, 195, 196, 201, 204, 213, 220, 227, 239: 牛肉标本 DNA;
RH: 株阳性对照, 质粒对照, H₂O: 阴性对照。M-D: DNA 标志物

Fig. 1 Amplification of *Toxoplasma* fragment of beef samples

163, 186, 198, 188, 195, 196, 201, 204, 213, 220, 227, 239: DNA of beef samples;
RH: Positive control; Plasmid control; H₂O: Negative control; M-D: DNA marker.

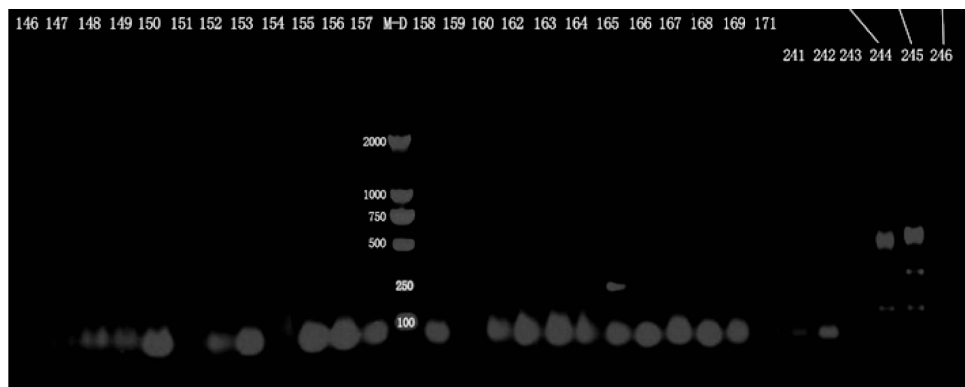


图 2 羊肉样品弓形虫片段扩增结果

146-171: 羊肉标本 DNA, 244: RH 株阳性对照, 245: 质粒对照, 246: H₂O 阴性对照, M-D: DNA 标志物

Fig. 2 Amplification of *Toxoplasma* fragment of mutton samples

146-171: DNA of mutton samples; 244: RH positive control; 245: Plasmid control; 246: H₂O negative control; M-D: DNA marker

水样对照, 其灵敏度达 1 个虫体/ μ l, 说明该方法有较高敏感性。

本研究中牛肉的阳性率为 12.64% (23/182), 羊肉阳性率为 11.52% (22/191)。牛、羊肉弓形虫感染率在城市和农村之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 不仅说明新乡市市售羊肉存在经口感染人类的可能性, 而且农村人群更容易感染弓形虫, 可能是喂养习惯及卫生状况等原因。如农村卫生条件较差, 牛羊散养更容易接触到粪便中弓形虫卵囊而被感染, 更需要引起检疫与疾病防控部门重视^[11]。

本研究中牛、羊肉弓形虫的总阳性率为 12.06% (45/373)。随着我国居民生活质量的逐步提高, 牛肉和羊肉也逐渐成为人们餐饮中重要的组成成分; 另外当前餐桌文化中健康饮食安全饮食的主题引起人们的广泛重视, 所以在享用牛肉和羊肉的过程中, 一定要生熟分开, 不食用生或半生牛肉, 防止人们通过摄入被弓形虫卵囊污染或含包囊的牛肉而被感染弓形虫病。

参 考 文 献

[1] 吕晓星. 人畜共患病的防治弓形虫[J]. 湖南农业, 1996(7), 22.
[2] 许倩, 华海涌. 弓形虫既往感染在孕期内对胎儿的影响[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2010, 22(2): 187-188.

[3] Olamendi-Portugal M, Caballero-Ortega H, Correa D, et al. Sero-survey of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* white-tailed deer from Northern Mexico[J]. Vet Parasitol, 2012, 189(2-4): 369-373.
[4] Butler NJ, Furtado JM, Winthrop KL, et al. Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management[J]. Clin Experiment Ophthalmol, 2013, 41(1): 95-108.
[5] 龚波, 张昕明, 李俊, 等. 妇女风疹病毒、弓形虫、巨细胞病毒感染调查分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(3): 468-472.
[6] Opsteegh M, Teunis P, Züchner L, et al. Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA[J]. Int J Parasitol, 2011, 41(3-4): 343-354
[7] Cong W, Huang SY, Zhou DH, et al. Prevalence and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in house sparrows (*Passer domesticus*) in Lanzhou, China[J]. Korean J Parasitol, 2013, 51(3): 363-367.
[8] Wang Q, Jiang W, Chen YJ, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and DNA in dogs in Shanghai, China[J]. J Parasitol, 2011, 97(2): 367-369.
[9] 陈俊强, 李洁, 董浩, 等. 河南省新乡市商品猪肉弓形虫感染情况调查[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2014, 41(5): 291-291.
[10] Qian W, Wang H, Su C, et al. Isolation and characterization of *Toxoplasma gondii* strains from stray cats revealed a single genotype in Beijing, China[J]. Vet Parasitol, 2012, 187(3-4): 408-813.
[11] 姜旭, 张展, 高翔, 等. 河南省新乡市学龄前儿童蛔虫感染情况调查[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2013, 40(6): 329-330.

(收稿日期: 2014-11-26)

(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)

(上接第 100 页)

[6] WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases[M]. Geneva: World Health Organization, 2010.
[7] WHO. Sustaining the drive to overcome the global impact of ne-

glected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases[M]. Geneva: World Health Organization, 2013.

(收稿日期: 2014-12-15)

(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)