

## · 研究进展 ·

## 弓形虫病研究概况

王跃兵<sup>1</sup>, 杨向东<sup>1</sup>, 杨国荣<sup>2</sup>, 于彬彬<sup>1</sup>, 黄文丽<sup>1</sup>, 马永康<sup>1</sup>

**摘要：**弓形虫病是一种严重危害人畜健康和畜牧业发展的人畜共患寄生虫病。目前对该病的流行病学、实验室检测技术及疫苗研究开发等方面的研究已经取得较大进展，特别是分子诊断技术的开发应用，使弓形虫病难以准确诊断和及时治疗的现状得到明显改善。现对弓形虫病的研究概况作一系统综述。

**关键词：**弓形虫病 概况

中图分类号：R382.5 文献标识码：A 文章编号：1009-9727(2012)4-497-04

Progress in research of toxoplasmosis. WANG Yue-bing, YANG Xiang-dong, YANG Guo-rong et al. (Yunnan Institute of Endemic Disease Control and Prevention, Dali, Yunnan 671000, China.)

**Abstract：** Toxoplasmosis is an important zoonosis that will produce serious damage to health of people and livestock, and development of animal husbandry. The progress of epidemiology, detecting technique, research and development of toxoplasmosis vaccine has been made a lot. The diagnosis and treatment level of toxoplasmosis have been obviously improved due to development and using of molecule diagnostic technique. The progress in research on toxoplasmosis is systematically review in this paper.

**Key Words：** Toxoplasmosis; Progress in research

弓形虫病 (Toxoplasmosis) 是由刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 引起的一种自然疫源性人畜共患寄生虫病，与人类优生优育和农牧业发展、艾滋病、恶性肿瘤和器官移植病人等有密切关系。弓形虫又称弓形体，属原生动物门 (Protozoa)、孢子虫纲 (Class sporozoasida)，是一种广泛寄生于人和多种动物的除红细胞外的所有有核细胞内的机会性致病原虫。1908 年由法国学者 Nicolle 和 Manceaux 在北非突尼斯的啮齿类梳趾鼠的肝脾单核细胞中首先发现，我国于恩庶教授于上世纪 50 年代首先在福建省的猫、兔等动物体内发现。弓形虫病现已成为全世界严重危害人畜健康和社会经济发展的重要人畜共患病之一<sup>[1-3]</sup>。

### 1 流行病学特点

弓形虫感染呈世界性分布，特别集中于温暖、潮湿和低海拔地区，估计全世界有 1/3 的人感染弓形虫，多为隐性感染。据血清学调查，人群弓形虫平均感染率为 25%~50%，英国 20%~40%，美国 50%~60%，法国 80%~90%，中国则低至 5%~15% (平均 8.5%)，这可能与生活和饮食习惯有关<sup>[1,4]</sup>。Gao XJ 等报道<sup>[5]</sup>，中国孕妇弓形虫感染血清抗体阳性率低于 10%，急性感染率为 0.3%。徐详珍等报道<sup>[6]</sup>，江苏省 3 978 人份血清弓形虫感染率为 7.19%，有猫、犬等动物接触史者感染率 (13.42%) 显著高于无接触史者 (6.66%)，临

床免疫功能低下者感染率 (11.96%) 显著高于普通人群 (6.97%)，不食生肉或蛋者及有良好卫生习惯的人弓形虫感染率相对较低。叶玉美等报道<sup>[7,8]</sup>，云南省 6 888 人份血清弓形虫感染阳性率为 5.72%，其中职业人群为 8.72%，非职业人群为 3.61%。感染率较高的职业为：皮毛和乳制品加工员 (11.87%)、放牧员 (11.12%)、兽医 (7.35%)、饲养员 (6.66%)、屠宰员 (6.37%) 等。11~20 岁年龄组感染率明显高于其他年龄组，男女性别间的感染率差异无统计学意义。朱祥明等报道<sup>[9]</sup>，云南省 5 068 名无偿献血者的血清弓形虫 IgM、IgG 阳性率分别为 0.47%、19.87%，云南省无偿献血者弓形虫 IgG 阳性率较国内其他地区高。弓形虫感染率地域差别较大，感染率与年龄、职业、文化程度、身体状况等因素有关，男女间感染机会均等。

畜间弓形虫感染率可达 10%~50%，其中猫的感染率高达 66.7%<sup>[2,10]</sup>。崔平等研究得出<sup>[11]</sup>，河北省动物弓形虫平均感染率为 30.92%，其中，猪为 35.69% (散养猪高达 72.50%)、牛 26.67%、绵羊 25.68%、山羊 10.00%、马属动物 3.85%。叶玉美等<sup>[7,8]</sup>检测了云南省 1 153 份牛、猪、羊、马、犬、鼠及兔等 7 种动物的血清，弓形虫平均感染率为 13.44%，猪的阳性率最高 (32.76%)，其次是鼠 (20.8%) 和犬 (14.6%)。此外，还从黄胸鼠和褐家鼠体内分离到 7 株弓形虫滋养体，从

基金项目：国际家畜研究所生态健康研究云南省合作项目

作者单位：1. 云南省地方病防治所，云南 大理 671000 2. 云南省草地动物科学研究院，云南 昆明 650212

作者简介：王跃兵 (1980~)，男，硕士，主管医师，主要从事人兽共患病防治研究工作。

黄胸鼠体内分离到弓形虫在国内还是首次报道。

弓形虫的宿主种类十分广泛,猫和猫科动物是其终宿主兼中间宿主,许多哺乳动物(猪、牛、羊、犬、猫等约 14 种)、鸟类、鱼类和人类都可作为中间宿主。弓形虫对中间宿主的选择极不严格,对寄生组织的选择也无特异亲嗜性,除红细胞外的所有有核细胞均可寄生。弓形虫病可经饮食、污染的水源、接触感染禽畜、胎盘、输血等途径传播,并有家庭聚集现象<sup>[12]</sup>。动物饲养员、屠宰场工作人员、医务人员、免疫功能低下者(如接受免疫抑制治疗者、肿瘤、器官移植和艾滋病患者等)易感染本病。本病与艾滋病的关系十分密切,约有 5%~10% 的患者合并弓形虫感染<sup>[12]</sup>。

## 2 检测及诊断

2.1 实验室检测技术 弓形虫病实验室检测方法分为病原学、免疫学及分子生物学三大类。病原学培养和分离虽操作复杂,但却是弓形虫检测的金标准。传统的免疫学方法在区分现症和既往感染及诊断免疫缺陷患者方面有缺陷,但具有敏感性高、特异性强、操作简便快速等优点,仍然是各实验室的首选方法。分子生物学检测具有特异性强和敏感性高的特点,适用于弓形虫病的早期诊断。

2.1.1 病原学检测(弓形虫分离鉴定) 常用标本有脑、心、肝、肺、肾、骨骼肌、腹腔液、脑脊液、淋巴液、羊水及房水等。在送检材料包括病理切片中查见弓形虫滋养体或包囊,需用免疫酶或免疫荧光法确认,检测到弓形虫滋养体一般可以确诊,但对分离到的虫株需做鉴定<sup>[13,14]</sup>。

2.1.2 免疫学检测 方法有染色试验(DT)、间接血凝试验(IHA)、免疫吸附凝集试验(ISAGA)、乳胶凝集试验(LAT)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、间接荧光抗体试验(IFA)、亲和素-生物素-酶联免疫吸附试验(ABC-ELISA)、免疫印迹技术(IBT)和免疫胶体金技术(ICG)等,可检测样品中 IgM、IgG、IgE、IgA 等特异抗体及 Cag 抗原(循环抗原)<sup>[13,14]</sup>。

2.1.3 分子生物学检测 方法有 DNA、核糖体 RNA 和 PCR 检测。随着弓形虫分子遗传学研究的深入和核酸微阵列技术的开发,以及 DNA 芯片的应用,将会使弓形虫的分子生物学检测技术达到简易、微量、快速、准确和经济的目的,将显著提高对其诊断水平<sup>[15]</sup>。

2.2 临床诊断 目前,弓形虫病的诊断尚无统一标准。甘绍伯报道<sup>[13]</sup>,弓形虫病的诊断必须具有临床症状和/或体征,且排除其它与之相混淆的疾病,并经实验室检查获得阳性结果后才能确诊。弓形虫病的诊

断一定要选用质量可靠的试剂,严格区分弓形虫感染和弓形虫病,且不宜以“抗弓形虫治疗有效”作为回顾性诊断。

## 3 分子生物学研究

3.1 弓形虫的基因型 弓形虫基因组大小约 80Mb,含有 11 条染色体。其基因组在很大程度上是保守的,但在 SAG1、SAG2、SAG3、SAG5 和 B1 等基因位点上的多态性导致弓形虫表型有很大的区别。多重酶切电泳分析、PCR 限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP)和微卫星分型等可将弓形虫的基因型分为 型(强毒型)、型和型(弱毒型)三种典型的基因型<sup>[16]</sup>。弓形虫毒力差异与基因差异有关,在 DNA 序列上仅有 1%~2% 的微小差异,但对小鼠的急性毒力却存在很大的差异。根据弓形虫对小鼠致病力强弱可将其分为强毒株和弱毒株<sup>[17]</sup>。Chen ZW 等<sup>[18]</sup>对 14 株分离自我国安徽、湖北、陕西和广东的弓形虫分离株用 RFLP 方法进行基因分型研究,结果 14 株分离株可分为 2 个基因型,但这 2 个基因型均和典型的、和型基因型不同源,提示中国弓形虫基因型为非典型基因型,其毒力可能更强。

3.1.1 P30 蛋白(SAG1) 是弓形虫 P30 基因所编码的弓形虫主要表面抗原,按其克隆顺序又称为 SAG1。其基因序列全长为 1 634bp,分子量约 30kd,占速殖子总蛋白质量的 3%~5%。SAG1 基因是弓形虫的毒力相关基因,在虫体侵入宿主细胞及其毒力方面具有重要性,具有高度免疫原性和免疫保护性,常用于疫苗的研制和感染的分子诊断。

3.1.2 P22 蛋白(SAG2) 是由弓形虫 P22 基因所编码的主要表面抗原,按克隆顺序称为 SAG2,只在弓形虫速殖子表达。SAG2 基因具有弱毒株基因组的特点,仅局限于该基因的 5' 末端,而与 3' 末端没有相关联系。

3.1.3 SAG3 是弓形虫速殖子期的主要表面抗原之一,同时也是 SRS 蛋白超家族的重要成员,其分子量为 43kd。目前已发现的 SRS 蛋白家族成员有 SAG1、SAG2、SAG3 及 SRS1-SRS5 等 20 余种。SAG3 与 SAG1 具有相似的三级结构且均可介导弓形虫与宿主细胞的粘附,SAG3 蛋白在弓形虫对宿主细胞的粘附及入侵过程中可能发挥了重要作用,但 SAG3 在弓形虫致病机制中的地位和作用目前还知之甚少。

3.1.4 棒状体蛋白 棒状体蛋白是由弓形虫棒状体释放出的一类蛋白质家族,对棒状体蛋白研究较多的主要是 ROP1 和 ROP2。ROP1 是在虫体侵入宿主细

胞时从棒状体内释出的,具有较强的免疫原性,还与促进虫体侵入宿主的穿透增强因子有关。ROP2 是弓形虫入侵宿主细胞过程中分泌的多种棒状体蛋白中的一种,可能在弓形虫入侵宿主细胞过程中发挥关键作用。ROP2 在弓形虫生活周期的速殖子、缓殖子和子孢子期中均有表达,能诱导机体的体液免疫反应,产生 IgA、IgM 和 IgG,也能诱导机体的细胞免疫反应,产生高水平的 IFN- $\gamma$ 。

3.1.5 微线体蛋白 由弓形虫虫体前端散布在棒状体周围的微线体分泌的,属于成员众多的家族蛋白质。主要分为两类:一类为具有跨膜性质的微线体蛋白,包括 MIC2、MIC6、MIC7、MIC8、MIC9、MIC12 等;另一类为不具有跨膜性质的可溶性黏附蛋白,如 MIC1、MIC3、MIC4、MIC5 等<sup>[19]</sup>。

3.2 分子诊断技术 相对于靶基因的多样性,弓形虫的分子诊断方法也逐渐的多样化。以常规 PCR 方法为基础,近年来又发展了巢式 PCR、RT-PCR、PCR-ELISA 以及免疫 PCR(I-PCR)等技术<sup>[20]</sup>。

3.2.1 常规 PCR 是一种敏感、快速、特异的检测技术,操作方法简单。谢德华等<sup>[21]</sup>以 ITS-1 作为弓形虫种特异遗传标记,建立了猪弓形虫病特异 PCR 诊断方法,最低能检测到 10 个弓形虫速殖子的 DNA。

3.2.2 巢式 PCR 利用内外两对引物先后扩增,可从极少量的模板中获得较高浓度和纯度的靶片段。巢式 PCR 由于需选用两对引物两次识别靶基因,并进行两次扩增,因此特异性和敏感性均高于传统 PCR。Fuentes 等<sup>[22]</sup>用巢式 PCR 方法,用尿液进行婴儿先天性弓形虫病的产前诊断,结果表明该方法更加敏感、快速和特异。

3.2.3 实时 PCR 在常规 PCR 基础上,运用荧光共振能量转移现象,加入荧光标记探针,巧妙地把核酸扩增、杂交、光谱分析和实时检测技术结合在一起,具有敏感性和特异性高的特点,并且克服了传统 PCR 技术中存在的假阳性污染和不能进行准确定量的缺点。Petersen 等<sup>[23]</sup>以弓形虫 529bp 序列为靶基因建立 RT-PCR 技术,成功从 HIV 阳性病人的支气管肺泡灌洗液中检测到弓形虫感染。

3.2.4 PCR-ELISA 及免疫 PCR PCR 技术与免疫学检测技术相结合发展而来,因其具有 PCR 的灵敏性、核酸杂交的特异性以及 ELISA 的酶联放大作用,故检测结果更灵敏、更准确。此外,近年来还发展了多重 PCR、原位 PCR 和套式 PCR 等有效实用的分子生物学诊断技术<sup>[20]</sup>。

#### 4 疫苗研究

弓形虫疫苗的研究始于上世纪 60 年代,目前主要有灭活疫苗、弱毒疫苗和基因工程疫苗(亚单位疫苗、核酸疫苗、乳酸菌口服疫苗、弓形虫植物疫苗、重组卡介苗疫苗等)<sup>[24-25]</sup>。

4.1 灭活疫苗 灭活疫苗虽然免疫安全性较好,但疫苗免疫效力不理想,一般需加大剂量和使用频率,且抵抗感染的能力较低,故目前已不再使用。

4.2 弱毒或减毒活疫苗 将病原微生物在人工训育的条件下促使其产生定向变异,使其极大程度地丧失致病性,但仍保留一定的毒力、免疫原性和繁衍能力而制成疫苗。此类疫苗可刺激机体产生细胞免疫应答和体液免疫应答等多种保护性反应。

4.3 亚单位疫苗 将病原体的保护性抗原基因通过原核或真核表达系统表达纯化后制成的疫苗。

4.4 核酸疫苗 是继病原体疫苗、亚单位疫苗之后的第一代疫苗,以 DNA 疫苗为主。将编码位于真核表达调控元件下的抗原基因质粒 DNA(或 RNA)直接注射至机体局部组织,质粒 DNA 在机体局部表达相应抗原蛋白,并以类似自然感染的方式递呈抗原,从而全面诱导特异性体液免疫应答和细胞免疫应答。

4.5 乳酸菌口服疫苗 用表达抗原基因的重组乳酸菌,以口服的方式进行免疫。

4.6 虫体特异组分疫苗 用免疫化学方法从虫体裂解物、排泄和分泌抗原中提取特定组分作为疫苗,主要作用于宿主的免疫系统,激发宿主产生细胞免疫和体液免疫,阻止弓形虫的寄生。

#### 参考文献:

- [1] Yu ES. China toxoplasmosis[M]. Hong Kong:Asian medicine press, 2000:1-11.(In Chinese)  
(于恩庶. 中国弓形虫病[M]. 香港:亚洲医药出版社,2000:1-11.)
- [2] Wang YL, Hou JX, Wang W et al. Toxoplasmosis and profession [J]. Professional and health, 2003, 19(9):25.(In Chinese)  
(王月玲,侯锦心,王伟,等. 弓形虫病与职业[J]. 职业与健康,2003,19(9):25.)
- [3] Xu MS. Toxoplasmosis[J]. Parasitic disease prevention and research, 1996, 25(3):174-177.(In Chinese)  
(徐明生. 弓形虫病[J]. 寄生虫病防治与研究,1996,25(3):174-177.)
- [4] Howe DK, Sibley LD. Toxoplasma gondii comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease [J]. J Infect Dis, 1995, 172(6):1561-1566.
- [5] Gao XJ, Zhao ZJ, He ZH et al. Toxoplasma gondii infection in pregnant women in China[J]. Parasitology, 2012, 139(2):139-147.



- [6] Xu XZ, Sun FH, Cao HJ et al. Investigation on toxoplasmosis infection status of different people in Jiangsu province [J]. Chin J Schistosomiasis Control 2006, 18(6): 468-469. (In Chinese)  
(徐祥珍, 孙凤华, 曹汉钧, 等. 江苏省不同人群弓形虫感染调查[J]. 中国血吸虫病防治杂志 2006, 18(6): 468-469.)
- [7] Ye YM, Wei DQ, Tu YF et al. Epidemiology investigate and research on toxoplasmosis in Yunnan province [J]. Chin J Zoonoses 2001, 17(2): 102-103. (In Chinese)  
(叶玉美, 魏德琼, 涂育发, 等. 云南省弓形虫病流行病学调查研究[J]. 中国人兽共患病杂志 2001, 17(2): 102-103.)
- [8] Ye YM, Wei DQ, Tu YF et al. Investigation on toxoplasmosis infection status of animals in Yunnan province [J]. Chin J of parasitol Parasitic Dis 2002, 20(4): 255. (In Chinese)  
(叶玉美, 魏德琼, 涂育发, 等. 云南省动物弓形虫感染调查[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2002, 20(4): 255.)
- [9] Zhu XM, Yang TH, Yang GQ et al. Investigation on toxoplasmosis infection status of voluntary blood donor in Yunnan province [J]. J Clin Transfusion and Laboratory Med 2007, 9(4): 295-298. (In Chinese)  
(朱祥明, 杨通汉, 杨国庆, 等. 云南省无偿献血者弓形虫感染状况[J]. 临床输血与检验, 2007, 9(4): 295-298.)
- [10] Wang H, Han XM. Research summary of toxoplasmosis in Qinghai province [J]. Chin J Parasitic Disease Control 2002, 15(3): 186. (In Chinese)  
(王虎, 韩秀敏. 青海省弓形虫病研究概况[J]. 中国寄生虫病防治杂志 2002, 15(3): 186.)
- [11] Cui P, Qin JH. Epidemiology investigation on animal toxoplasmosis in Hebei province [D]. Hebei agricultural university 2003: 21-23. (In Chinese)  
(崔平, 秦建华. 河北省动物弓形虫病流行病学调查[D]. 河北农业大学 2003: 21-23.)
- [12] Xu XZ, Wang CG, Wu Q et al. Research about familial clustering of toxoplasmosis [J]. Chin J Schistosomiasis Control 2003, 15(5): 373-375. (In Chinese)  
(徐祥珍, 王崇功, 吴菁, 等. 弓形虫感染家庭聚集性研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志 2003, 15(5): 373-375.)
- [13] Gan SB. Diagnostic criteria for toxoplasmosis [J]. Endemic Dis Bulletin 2001, 16(3): 88. (In Chinese)  
(甘绍伯. 弓形虫病诊断标准 [J]. 地方病通报 2001, 16(3): 88.)
- [14] Diagnostic techniques for toxoplasmosis. Chinese agricultural industry standard [S]. NY/T 573-2002. (In Chinese)  
(弓形虫病诊断技术. 中华人民共和国农业行业标准 [S]. NY/T 573-2002.)
- [15] Xu H, Ni AP. Detection for toxoplasmosis [J]. foreign medical sciences (Section of Parasitic diseases) 2004, 31(5): 204-208. (In Chinese)  
(许慧, 倪安平. 弓形虫的检测 [J]. 国外医学寄生虫病分册, 2004, 31(5): 204-208.)
- [16] Su C, Zhang X, Dubey JP. Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: A high resolution and simple method for identification of parasites [J]. Int Parasitol 2006, 36(7): 841-848.
- [17] Hartati S, Kusumawati A, Wuryastuti H et al. Primary structure of mature SAG1 gene of an Indonesian *Toxoplasma gondii* and comparison with other strains [J]. J Vet Sci 2006, 7(3): 263-270.
- [18] Chen ZW, Gao JM, Huo XX et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from cats in different geographic regions of China [J]. Vet Parasitol 2011, 183(1-2): 166-170.
- [19] Cai GQ, Zh ZS. Research progress of toxoplasmosis [J]. Shanghai J Animal Husbandry and Veterinary Med 2010, (4): 11-13. (In Chinese)  
(蔡广强, 朱志森. 弓形虫病的研究进展 [J]. 上海畜牧兽医通讯 2010(4): 11-13.)
- [20] Zhang H, Liao SQ, Song HQ et al. Research progress of molecular biology diagnosis and genotype identification about toxoplasmosis [J]. J Trop Med 2007, 7(3): 292-295. (In Chinese)  
(张翰, 廖申权, 宋慧群, 等. 弓形虫分子生物学诊断和基因型鉴定的研究进展 [J]. 热带医学杂志 2007, 7(3): 292-295.)
- [21] Xie DH, Zhu XQ, Cui HL et al. Establishment of peculiar PCR diagnostic method of pig toxoplasmosis [J]. Chin J Veter Sci Technol 2005, 35(4): 289-293. (In Chinese)  
(谢德华, 朱兴全, 崔焕彝, 等. 猪弓形虫病特异 PCR 诊断方法的建立 [J]. 中国兽医科技 2005, 35(4): 289-293.)
- [22] Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ et al. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR [J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(10): 2368-2371.
- [23] Petersen E, Edvinsson B, Lundgren B et al. Diagnosis of pulmonary infection with *Toxoplasma gondii* in immunocompromised HIV-positive patients by real-time PCR [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006, 25(6): 401-404.
- [24] Kong M, Bai J, Shao GQ. Research progress About Vaccine of toxoplasmosis [J]. Heilongjiang animal science and veterinary Med 2010, (2): 25-27. (In Chinese)  
(孔猛, 白昀, 邵国青. 弓形虫疫苗的研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医 2010, (2): 25-27.)
- [25] Zhang FZ, Li JF. Research progress about toxoplasmosis vaccine [J]. Chin J Animal Husbandry Veterinary Med 2010, (7): 9-10. (In Chinese)  
(张凤珍, 李景峰. 弓形虫疫苗研究进展 [J]. 畜牧兽医科技信息 2010, (7): 9-10.)

收稿日期 2011-12-03 编辑 谢永慧