

综述

食品寄生虫快速检测技术的应用进展

蒋守富,张小萍,何艳燕

(上海市疾病预防控制中心,上海 200336)

摘要: 寄生虫可引起食源性疾病,已成为影响食品安全的重要因素之一。传统的病原学方法常受制于技术人员的技术熟练程度和鉴别能力,检测效率不高。因此,快速准确的检测技术成为食品寄生虫诊断领域发展的一大趋势。本文对目前先进的快速检测技术,如聚合酶链式反应(PCR)、经化学试剂特殊处理的棉纤维卡片(FTA)、环介导等温扩增(LAMP)、基因芯片(DNA chip)以及胶体金免疫层析(GICA)等技术在食品寄生虫检测中的应用和研究进展进行综述。

关键词: 寄生虫;快速检测;食品安全;食源性疾病

中图分类号: R155.5;R53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-8456(2014)01-0095-06

Application progress on rapid detection technology of parasites in food

JIANG Shou-fu, ZHANG Xiao-ping, HE Yan-yan

(Shanghai Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Food-borne diseases caused by parasites have become one of the important factors affecting the food safety. Traditional etiology methods were often subject to the technical proficiency and identification ability of technician. In addition, the detection efficiency can not be satisfied with the actual needs. Therefore, rapid and accurate detection is a trend to food-borne parasite diagnosis development. The research progress and its application of foodborne parasite detection with some modern detection techniques, such as polymerase chain reaction (PCR), flinders technology associates (FTA), loop-mediated isothermal amplification (LAMP), microarray (DNA chip) and colloidal gold immune chromato-graphy (GICA) technology, including their mechanisms, advantages and disadvantages is reviewed in this paper.

Key words: Parasite; rapid detection; food safety; food-borne disease

食源性寄生虫病是指进食生鲜的或未经彻底加热的含有寄生虫虫卵或幼虫的食品而感染的一类疾病的总称。近年来,随着人们生活水平的提高,饮食来源和方式的多样化使食源性寄生虫病的暴发时有发生,由食品寄生虫引发的食品安全问题愈加突出。食源性寄生虫病不仅是影响我国人民健康的主要因素之一^[1],且已成为重要的全球疾病负担之一^[2-3]。仅以食源性吸虫病为例,2005年全球有5 620万人感染食源性吸虫病,790万例患者留有严重后遗症,7 158例患者死亡,造成全球负担为66万伤残调整生命年(DALYs)^[4]。

我国食源性寄生虫病病原种类繁多^[5],该领域目前仍沿用传统的病原学方法,先进的快速检测技术的研究和应用仍处于被忽略状态。如果检测人员不能掌握病原特征,无法及时做出诊断,就会使患者延误治疗并影响疫情控制。事实上对于

一些新现或再现的食源性寄生虫病,检测人员仅依靠有限的传统技术所造成的误诊事件时有发生。近年影响较大的例子有:2006年北京发生因食用生的福寿螺而爆发广州管圆线虫病,160例患者辗转多家医院,未得到及时有效的诊断和治疗^[6];2011年云南省大理白族自治州发生一起因生食水生植物引起的片形吸虫群体感染事件,因为技术手段少导致误诊、漏诊^[7]。

由于诊断技术相对落后、不够完善,无法及时作出正确诊断、控制传染源、切断传播途径,可造成区域暴发或流行,甚至引起社会恐慌^[8]。因此,为推动食品寄生虫快速检测技术的大力发展和广泛应用,减少或杜绝误诊、漏诊发生,现将目前在该领域中有所应用的相关技术综述如下。

1 病原学检测技术

传统的病原学检测主要是借助于显微镜进行寄生虫形态学观察,根据其形态特征做种属鉴定。这种传统的显微镜观察快速简便、成本低廉,但食品寄生虫囊蚴和虫卵较小,有些形态、大小也较接

近,难以分辨,易造成漏诊、误诊,并常受制于技术人员的技术熟练程度和鉴别能力。根据待检虫种特征病原学检测分为下列几种:

直接压片镜检法:将肉块置于 2 张载玻片之间压片,在显微镜下查找。主要用于肉制品旋毛虫幼虫和囊尾蚴、鱼肉中寄生虫囊蚴(包括华支睾吸虫囊蚴)的快速检测。

灯检法:分为日光灯检法和紫外灯检法,前者利用白色透射光和反射光的共同作用,使得鱼肉内虫体呈不同颜色或阴影;后者利用紫外线激发虫体产生明亮的点状或条线状的荧光加以辨别。多为水产加工企业海产品寄生虫筛检之用,虽简便快速,但准确性欠佳,检出率仅为 60%~70%,容易误检、漏检^[9]。

直接沉渣镜检法:将水产品去壳后用食品搅拌机制成匀浆,通过过滤、沉降等手段将虫体或囊蚴分离出来,在显微镜下辨认。主要适用于甲壳类食品中并殖吸虫囊蚴、螺类吸虫囊蚴以及线虫幼虫的检测。无需复杂的前处理,操作简单、快速。

蛋白酶消化法:利用蛋白酶对鱼肉进行消化,而虫体或囊蚴本身由于其结构的特殊性,不易被同步消化掉,从而分离出来进行鉴别。该方法可以有效提高检出效率,是水产食品中使用较多的寄生虫确证性检测手段。但所需时间较长,对检测人员的经验要求较高。

2 分子生物学检测技术

每一种寄生虫都有其特定的核酸序列即基因片段,检测其特有的基因片段在理论上与检测虫体具有同样的诊断价值,可以作为确诊依据。应用分子生物学技术检测基因片段具有规模化、自动化特点,尤其适用于大样本的检测,较传统的病原学技术用时短,且无需镜检经验,具有广阔的应用前景。

2.1 聚合酶链式反应(PCR)技术

2.1.1 普通 PCR 技术

PCR 是一种体外酶促合成、扩增特定 DNA 片段的技术。基本原理是被检病原体核酸序列在 PCR 体系下经高温变性、低温退火和适温延伸三步循环,将单个核酸分子序列以 2 的指数进行大量复制、扩增。理论上只要样品中有一个分子,该病原体就可以在短时间内用 PCR 技术检出。PCR 具有高度敏感性和特异性等特点,在生物鉴定中被广泛使用,且无需镜检和专家鉴定,是食品寄生虫检测中除病原学检测外使用最多的方法,多用于替代传统的形态学观察进行种属鉴定,尤其对于检测食品或环境样品中的原虫包囊或卵囊,PCR 是主要检测技术^[10]。

PCR 对水产品中寄生虫的检测主要用于吸虫

囊蚴和尾蚴的检测和鉴定。Maleewong 等^[11]用 PCR 检测麝猫后睾吸虫的中间宿主豆螺和鲤鱼,检测出 1 个尾蚴/0.1 g 豆螺,1 个囊蚴/0.1 g 鲤鱼,且与其他吸虫无交叉反应。Parvathi 等^[12-13]建立的 PCR 方法对鱼肉麝猫后睾吸虫和华支睾吸虫的检出限分别为 3 个和 1 个囊蚴,Müller 等^[14]用试剂盒提取螺体中尾蚴和鱼肉中华支睾吸虫囊蚴的 DNA 进行 PCR 扩增,均显示高度的敏感性和特异性。魏纪玲等^[15]对贝类食品中的广州管圆线虫 rRNA 大亚基基因部分序列进行 PCR 扩增,均能扩增出阳性条带,而毛圆线虫、异尖线虫、棘头虫均无条带出现,阳性检出率(4.33%)明显高于组织匀浆分离方法(1.64%)。Qvarnstrom 等^[16]用 PCR 技术从蛞蝓等软体动物的组织和黏液分泌物中,扩增出广州管圆线虫 18S rRNA 基因。CHEN 等^[17]用 PCR 方法鉴别 6 种异尖线虫幼虫,最低检测限为 0.5~1 ng,能准确、特异性地判断海产品中异尖线虫的感染情况。

PCR 在肉制品的寄生虫检测中也显示出较高的敏感性。余莉等^[18]用 PCR 方法检测肉制品中弓形虫 *Toxo-529* 基因,能检测 100 个速殖子/10 g 猪肉,敏感性是弓形虫 *B1* 基因的 10 倍。用此靶标检测合肥市市售猪肉,弓形虫阳性率高达 17%。Pritt 等^[19]以 PCR 和组织学方法平行检测 48 份零售牛肉样品的肉孢子虫,检出阳性份数分别为 26 份和 16 份,以 PCR 敏感性较高。此外,PCR 也能扩增出羊奶中弓形虫 DNA,Camossi 等^[20]从 20 只自然感染弓形虫母羊的羊奶中检出 7 份样品含有弓形虫 DNA。

为缩短 PCR 模板制备时间,Orlandi 等^[21]发明了一种基于提取-过滤的模板制备方法,只需要极少量的部分纯化和浓缩的样品就可进行过滤,模板制备快速有效。只需 3~10 个原虫就可直接应用过滤方法进行 PCR 检测,且每 100 g 新鲜木莓中可检测到 10~30 个环孢子虫卵囊。该方法可用于检测食品和环境样品中的环孢子虫卵囊、隐孢子虫卵囊和微孢子虫。

普通 PCR 技术的不足之处:①PCR 扩增完毕后,需要对 PCR 产物进行凝胶电泳分析,费时较多;②不能对 PCR 的过程进行实时、定量监测;③由于灵敏度高,目的 DNA 与其他 DNA 的偶然污染、操作环境不洁净、过程不规范均易造成交叉污染,产生假阳性;④PCR 的稳定性受制于模板 DNA 的质量和纯度。

2.1.2 实时荧光定量 PCR 技术

实时荧光定量 PCR 通过将荧光探针或荧光色素结合至 PCR 反应混合物而无需随后的凝胶电泳,在一台仪器内同时扩增靶序列和分析产物,利用荧光信号累积实时监测整个 PCR 进程,最后通过标准

曲线对未知模板进行定量分析。实时荧光定量 PCR 技术自动化程度高,较普通 PCR 用时短,且采用了完全闭管检测,无需 PCR 后处理,污染少,敏感性和特异性高。

Lass 等^[22]用实时荧光定量 PCR 检测 216 份来自商店和庭院的水果及蔬菜样品,21 份样品均检出弓形虫 *B1* 基因。WANG 等^[23]检测 416 份市售猪肉,实时荧光定量 PCR 的弓形虫阳性检出率为 18.04%,而酶联免疫吸附测定(ELISA)为 10.1%,证明实时荧光定量 PCR 的敏感性高于 ELISA。实时荧光定量 PCR 对肌肉中旋毛虫的检测限约为 0.01 个幼虫/1 g 组织匀浆^[24],对异尖线虫的检测限为 1 mg 虫体组织/25 g 鱼肉样品^[25],对水样隐孢子虫卵囊的检测限为 <10 个卵囊^[26],不失为一种可靠、特异、敏感的检测方法。

实时荧光定量 PCR 的不足之处:①由于采用荧光淬灭及双末端标记技术,因此淬灭难以彻底、本底较高;②由于没有统一的标准品制备标准,实验室自制的参考品各不相同,试验结果缺乏可比性;③探针标记成本较高,仪器设备昂贵,不适合现场检测。

2.2 经化学试剂特殊处理的棉纤维卡片(FTA)技术

FTA 技术利用 FTA 卡收集样品并提取、纯化核酸,进行后续的 PCR 扩增分析。FTA 卡是经过专利化学配方浸滞的一种滤膜,在过滤基质中包埋有蛋白质变性剂、螯合剂和自由基捕捉剂的特殊干燥化学试剂混合物。样品中的感染性病原体接触 FTA 后裂解失活,病原体中的核酸与 FTA 基质紧密结合,并经 FTA 纯化试剂清洗、纯化,然后被洗脱下来进行后续 PCR 扩增。

FTA 技术处理样品仅需 15 ~ 30 min,较普通 PCR 减少 4 ~ 16 h,快速检测特点突出。且 FTA 卡携带方便,在室温下可以长期保存,操作简单、方便(在现场点样完成后可以很方便地把 FTA 卡带回实验室进行后续步骤的操作),实用性强,非常适合在野外或是试验条件较差的现场使用。

陈韶红等^[27]首次将 FTA 技术应用于水产品吸虫囊蚴的检测,成功检出华支睾吸虫囊蚴 *ITS2* 基因 *CS1/CS2*、并殖吸虫囊蚴 *ITS2* 基因 *3s/A28* 和东方次睾吸虫囊蚴 *ITS2* 基因 *BD1/BD2*。灵敏度达到 1 个囊蚴/1 g 样品,实现了快速、准确的目的。黄燕等^[28]采用 FTA 卡片法提取果汁饮料中的卡耶他环孢子虫 DNA,利用特异性引物组 *FIE/R2B*、*CC719/CRP999* 进行巢式 PCR,敏感度最高达 1 个/ml,且与柔嫩艾美耳球虫、贝氏隐孢子虫无特异性条带。

2.3 环介导等温扩增(LAMP)技术

LAMP 技术通过能识别靶序列上 6 个位点的

4 个特殊设计的引物和一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶,在恒温条件下快速地扩增核酸,扩增效率为 1 h 内达到 $10^9 \sim 10^{10}$ 个数量级,扩增产物是一系列反向重复的靶序列构成的茎环结构和多环花椰菜样结构的 DNA 片段混合物,肉眼可直接判定;或根据电泳后在凝胶上显现出由不同大小的区带组成的阶梯式图谱加以判定;也可用荧光染料 SYBR Green I 染色,在紫外灯或日光下进行判定。

与 PCR 相比,LAMP 具有以下优点:①灵敏度较高,能检测到比 PCR 低 10 倍的拷贝数;②特异性较强,设计的引物须针对靶基因的 6 个区域,任何 1 个不匹配就会导致反应无法进行;③用时较短,没有温度循环变化上的时间损失,只需在恒温条件下保温 30 ~ 60 min 即可完成扩增;④费用低廉且结果容易判断,无需昂贵的 PCR 扩增仪,适合基层和现场使用^[29-30]。LAMP 技术的不足之处:①引物的设计较为复杂,扩增靶序列长度须在 300 bp 以下,引物筛选需耗费巨大工作量;②因灵敏度高,一旦开盖容易形成气溶胶污染;③阳性反应电泳条带呈阶梯状,若有非特异性扩增产生,不易辨别;④定量检测时,需购置昂贵的实时荧光定量 PCR 仪或浊度仪。

Karanis 等^[31]用 LAMP 技术检测水样中微小隐孢子虫的 60 kD 的糖蛋白基因 *gp60*,可检测到微小隐孢子虫卵囊的最低数量为 1 条,DNA 水平的最低检测限为 400 fg/ μ l,均高于 PCR 的灵敏度。CHEN 等^[32]用 LAMP 技术扩增福寿螺中广州管圆线虫第 3 期幼虫的 18S rRNA,DNA 水平的最低检测限为 1 fg/ μ l,且与其他寄生虫如弓形虫、疟原虫、血吸虫、华支睾吸虫、卫氏并殖吸虫和异尖线虫等无交叉反应。CAI 等^[33]根据华支睾吸虫组织蛋白酶 *B3* 基因设计引物,采用 LAMP 方法从感染华支睾吸虫的鱼肉中得到特异性扩增产物,灵敏度比普通 PCR 高 100 倍。QU 等^[34]根据弓形虫 18S rRNA 的保守序列设计引物进行逆转录(RT-LAMP)检测,60 min 内完成等温扩增和检测,检测限达到 1 个弓形虫速殖子/1 g 猪肉,为检测食品中弓形虫提供了 1 种简单、可靠的工具。LI 等^[35]用 LAMP 技术检测感染 10 条旋毛虫幼虫 20 d 后的小鼠肌肉样品,在 70 min 内完成等温扩增和检测,检测限为 362 fg/ μ l,灵敏度高于普通 PCR 10 倍,为肉品旋毛虫的直接检测提供了有效方法。

2.4 基因芯片(DNA chip)技术

DNA chip 技术是指大量的基因探针有序地、高密度地排列固定在支持物上,然后与标记的样品进行杂交,通过检测杂交信号的强度及分布进而对靶

分子的序列和数量进行分析。突出特点是高通量、高集成、微型化和自动化,可以在 1 次试验中同时对上千个基因进行定量和定性分析,省时省力。同时具有分析速度快、所需样品量少、污染少等优点,适用于大规模、高通量的检测^[36]。DNA chip 技术的不足之处:①芯片的特异性和检测信号的灵敏度有待提高;②芯片的高制作成本和昂贵的检测仪器,使得检测费用高,目前仅限于实验室研究,未能广泛应用于基层和现场。

张媛等^[37]选用弓形虫 *B1* 基因、旋毛虫 *SB2* 基因、绦虫 12S rDNA 上的可变区设计引物及探针,点样于玻片制成 DNA chip。寄生虫 DNA 经过引物扩增后与芯片上的探针杂交,通过扫描图像对结果进行判断。DNA chip 杂交检测敏感度约为 15 ng/ml,可以检测出 1 条旋毛虫/200 mg 肉品。检测模拟污染样本的正确率达到 100%。杨朋欣等^[38]以弓形虫 *B1* 基因和旋毛虫 18S rDNA 基因为靶序列,设计并合成特异性探针和引物,建立一种可同时检测食品中弓形虫和旋毛虫的液相 DNA chip 方法,检测弓形虫和旋毛虫的灵敏度分别为 65.60 和 39.06 ng/ml,比琼脂糖凝胶电泳灵敏高约 8 倍;模拟食品污染试验准确率达 98% 以上。目前,在水样品中应用 DNA chip 检测寄生虫也有一些研究。WANG 等^[39]设计了基于属、种、亚种的特异探针的寡核苷酸芯片,这种芯片联合多重 PCR 成功鉴定了溶组织内阿米巴、Dispar 内阿米巴、兰氏贾第鞭毛虫、微小隐孢子虫。Brinkman 等^[40]研发 DNA chip 技术,同时检测自然水中微小隐孢子虫、人隐孢子虫、粪肠球菌、炭疽芽孢杆菌以及兔热病杆菌 5 种病原微生物,为及时评估水源性病原体的暴露危险提供了依据。

3 免疫学检测技术

3.1 胶体金免疫层析(GICA)技术

GICA 是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体反应的一种新型的免疫标记技术。基本原理是以微孔滤膜为载体,包被已知抗原或抗体,加入待检样品后,经滤膜的毛细管作用使样品中的抗原或抗体与膜上包被的抗体或抗原结合,再与胶体金标记物结合而显示反应色带。与其他快速检测技术相比,GICA 技术具备方便快捷、特异敏感、稳定性强、不需要特殊设备和试剂、结果判断直观等优点,已成为目前医学领域快速检测的主要方法之一。GICA 技术较多应用于检测食品中的有害微生物、药物残留物,但对食品寄生虫的检测还为数不多。Patrascu 等^[41]开发一种测试猪旋

毛虫的层析卡(猪肉 TS 卡),具有特异、敏感、快速(3~12 min)等特点,适用于猪全血、干血、血清、组织液的检测,可用于猪肉旋毛虫感染筛查或现场监测。崔晶等^[42]以胶体金标记 SPA 和旋毛虫肌幼虫 ES 抗原,制备了免疫层析试纸条。检测旋毛虫幼虫感染的 20 头家猪血清及肉汁,抗体阳性率均为 100%,10 头正常对照家猪均为阴性,与肌肉压片镜检法结果相同。感染猪肌肉-20℃保存 8 个月的肉汁抗体阳性率亦为 100%,显示试纸条检测肉汁中旋毛虫抗体可用于新鲜猪肉及冷冻猪肉中旋毛虫检疫的初筛。

3.2 其他免疫学检测技术

主要有免疫印迹技术和酶联免疫吸附技术,但在食品寄生虫检测领域应用较少。Thiruppathiraja 等^[43]以抗卵囊抗体和碱性磷酸酶双标记金颗粒探针建立了快速免疫斑点印迹(IDBA)技术,检测水样和环境中微小隐孢子虫,最低检测值为 10 个卵囊/ml,灵敏度为常规方法的 500 倍。XU 等^[44]用特异性抗异尖线虫幼虫粗提物的兔多克隆抗体,经蛋白 A 亲和层析纯化,用辣根过氧化物酶标记,建立直接竞争酶联免疫吸附试验(ELISA),可以同时检测海产品中的异尖线虫幼虫和伪新地线虫幼虫,最低检测限约为 5 条幼虫/1 kg 鱼肉基质。

4 结语

快速准确的检测技术已成为食品寄生虫诊断领域发展的一大趋势,对于尽早明确病因、有效治疗患者、及时控制食源性疾病爆发或流行意义重大。传统的病原学方法常受制于技术人员的技术熟练程度和鉴别能力,主观性强、检测效率不高。免疫学检测中的 GICA 技术操作简便,全过程仅需 10~20 min,是真正意义上的快速检测,但与 ELISA 一样,基于免疫学原理,主要检测抗原或抗体,诊断效率不高,目前在食品寄生虫检测中的应用较少。分子生物学技术检测寄生虫特异的基因片段,具有确诊价值,并具备规模化、自动化特点,不受形态学鉴别经验的制约,结果判断客观可靠,尤其适用于大样本的检测,为食品寄生虫检测领域未来发展的主要方向。其中,实时荧光定量 PCR 和 DNA chip 技术在进一步提高敏感性和特异性的基础上,缩短检测时间,降低检测费用,可作为食品寄生虫检测机构(包括医院)的主流检测技术;FTA 技术简化了样品处理步骤,提高了模板提取效率,使得 PCR 时间有所缩短;LAMP 技术可用肉眼直接判断结果,在扩增时间上也较 PCR 明显缩短,是目前用时最快的核酸检测技术,适合现场和基层使用。较为理想的

设想是:以 FTA 技术处理样品,LAMP 技术扩增核酸,试纸条技术观察结果。这 3 项技术的整合有助于食品安全领域内的寄生虫现场和基层检测向更加快速、准确的方向迈进。

参考文献

[1] SHAO H D,SHI H Z,WEI I J,et al. A brief review of foodborne zoonoses in China [J]. Epidemiol Infect, 2011, 139 (10): 1497-1504.

[2] Mead P S, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the United States [J]. Emerg Infect Dis, 1999, 5 (5): 607-625.

[3] Torgerson P R, Macpherson C N. The Socioeconomic burden of parasitic zoonoses: global trends [J]. Vet Parasitol, 2011, 182 (1): 79-95.

[4] Furst T, Keiser J, Utzinger J. Global burden of human food-borne trematodiasis: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2012 (3), 12: 210-221.

[5] Shin E H, Guk S M, Kim H J, et al. Trends in parasitic diseases in the Republic of Korea [J]. Trends Parasitol, 2008, 24 (3): 143-150.

[6] 庄建林,姜庆五. 食源性寄生虫病应引起临床医生的重视 [J]. 中华全科医师杂志, 2007, 6 (1): 48-49.

[7] 陈家旭. 我国爆发片形吸虫群体感染事件的警示 [J]. 中国地方病学杂志, 2012, 31 (6): 593-594.

[8] 谷俊朝, 刘建. 我国食源性寄生虫病的趋势及思考 [J]. 中国热带医学, 2009, 9 (10): 2060-2061.

[9] Levsen A, Lunestad B T, Berland B. Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish [J]. J Food Prot, 2005, 68 (4): 828-832.

[10] Leonska-Duniec A, Adamska M. Biology, epidemiology and diagnostics of pathogenic waterborne protozoan parasites [J]. Wiad Parazytol, 2010, 56 (2): 125-132.

[11] Maleewong W, Intapan P M, Wongkham C, et al. Detection of *Opisthorchis viverrini* in experimentally infected bithynid snails and cyprinoid fishes by a PCR-based method [J]. Parasitology, 2003, 126 (Pt1): 63-67.

[12] Parvathia A, Umeshaa K R, Kumara S, et al. Development and evaluation of a polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of *Opisthorchis viverrini* in fish [J]. Acta Tropica, 2008, 107 (1): 13-16.

[13] Parvathi A, Kumar H S, Prakasha B K, et al. *Clonorchis sinensis*: development and evaluation of a nested polymerase chain reaction (PCR) assay [J]. Exp Parasitol, 2007, 115 (3): 291-295.

[14] Müller B, Schmidt J, Mehlhorn H. Sensitive and species-specific detection of *Clonorchis sinensis* by PCR in infected snails and fishes [J]. Parasitol Res, 2007, 100 (4): 911-914.

[15] 魏纪玲,周卫川,邵碧英,等. PCR 检测螺类感染广州管圆线虫方法的建立与应用 [J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24 (12): 1136-1140.

[16] Qvarnstrom Y, Sullivan J J, Bishop H S, et al. PCR-based detection of *Angiostrongylus cantonensis* in tissue and mucus secretions from molluscan hosts [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73 (5): 1415-1419.

[17] CHEN Q, YU H Q, LUN Z R, et al. Specific PCR assays for the identification of common anisakid nematodes with zoonotic potential [J]. Parasitol Res, 2008, 104 (1): 79-84.

[18] 余莉,朱新伊,胡元生,等. 敏感性 PCR 检测猪肉弓形虫方法的建立与应用 [J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26 (10): 895-899.

[19] Pritt B, Trainer T, Simmons-Arnold L, et al. Detection of sarcocystis parasites in retail beef : a regional survey combining histological and genetic detection methods [J]. J Food Prot, 2008, 71 (10): 2144-2147.

[20] Camossi L G, Greca-Junior H, Corrêa A P, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes [J]. Vet Parasitol, 2011, 177 (3 - 4): 256-261.

[21] Orlandi P A, Lampel K A. Extraction-free, filter-based template preparation for rapid and sensitive PCR detection of pathogenic parasitic protozoa [J]. J Clin Microbiol, J Clin Microbiol, 2000, 38 (6): 2271-2277.

[22] Lass A, Pietkiewicz H, Szostakowska B, et al. The first detection of *Toxoplasma gondii* DNA in environmental fruits and vegetables samples [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31 (6): 1101-1108.

[23] WANG H, WANG T, LUO Q, et al. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in pork from retail meat stores in Eastern China [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 157 (3): 393-397.

[24] Atterby H, Learmount J, Conyers C, et al. Development of a real-time PCR assay for the detection of *Trichinella spiralis* in situ [J]. Vet Parasitol, 2009, 161 (1 - 2): 92-98.

[25] Lopez I, Pardo M A. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction (PCR) assay for detection of anisakis simplex parasite as a food-borne allergen source in seafood products [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58 (3): 1469-1477.

[26] Ramirez N E, Sreevatsan S. Development of a sensitive detection system for *Cryptosporidium* in environmental samples [J]. Vet Parasitol, 2006, 136 (3 - 4): 201-213.

[27] 陈韶红,张永年,李树清,等. 应用 FTA 法检测水产品中吸虫囊蚴的初步研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26 (10): 931-934.

[28] 黄燕,张龙现,李晓虹,等. 卡片 PCR 法检测果汁饮料中卡耶他环孢子虫技术的建立 [J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18 (1): 59-63.

[29] Prasad D, Vidyarthi A S. DNA based methods used for characterization and detection of food borne bacterial pathogens with special consideration to recent rapid methods [J]. Afr J Biotechnol, 2009, 8 (9): 1768-1775.

[30] Yamazaki W. Sensitive and rapid detection of cholera toxin-producing *Vibrio cholera* using a loop-mediated isothermal amplification [J]. Methods Mol Biol, 2011, 739: 13-22.

[31] Karanis P, Thekisoe O, Kiouptsi K, et al. Development and preliminary evaluation of a loop-mediated isothermal amplification procedure for sensitive detection of *Cryptosporidium oocysts* in fecal and water samples [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73 (17): 5660-5662.

[32] CHEN R, TONG Q, ZHANG Y, et al. Loop-mediated isothermal amplification: rapid detection of *Angiostrongylus cantonensis* infection in *Pomacea canaliculata* [J]. Parasit Vectors, 2011, 4: 204.

[33] CAI X Q, XU M J, WANG Y H, et al. Sensitive and rapid detection of *Clonorchis sinensis* infection in fish by loop-mediated

isothermal amplification (LAMP) [J]. Parasitol Res, 2010, 106 (6):1379-1383.

[34] QU D, ZHOU H, HAN J, et al. Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) as a diagnostic tool of *Toxoplasma gondii* in pork [J]. Vet Parasitol, 2013, 192(1-3):98-103.

[35] LI X, LIU W, WANG J, et a. Rapid detection of *Trichinella spiralis* larvae in muscles by loop-mediated isothermal amplification[J]. Int J Parasitol, 2012, 42(13-14):1119-1126.

[36] CHANG J C, Hilsenbeck S G, Fuqua S A. Genomic approaches in the management and treatment of breast cancer[J]. Br J Cancer, 2005, 92(4):618-624.

[37] 张媛, 童睿, 郑秋月, 等. 运用基因芯片技术检测三种寄生虫方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(12):2168-2170.

[38] 杨朋欣, 张子群, 路义鑫, 等. 食品中弓形虫和旋毛虫液相基因芯片检测方法的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(10):777-780.

[39] WANG Z, Vora G J, Stenger D A. Detection and genotyping of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* by oligonucleotide microarray [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(7):3262-3271.

[40] Brinkman N E, Francisco R, Nichols T L, et al. Detection of multiple waterborne pathogens using microsequencing arrays[J]. J Appl Microbiol, 2013, 114(2):564-73.

[41] Patrascu I, Gamble H R, Sofronic-Milosavljevic L, et al. The lateral flow card test: an alternative method for the detection of *Trichinella* infection in swine[J]. Parasite, 2001, 8(2 Suppl):S240-242.

[42] 崔晶, 何永康, 来利红, 等. 免疫层析试纸条检测实验感染猪肉汁抗旋毛虫抗体的研究[J]. 热带病与寄生虫学, 2008, 6(1):8-10.

[43] Thiruppathiraja C, Kamatchiammal S, Adaikkappan P, et al. An advanced dual labeled gold nanoparticles probe to detect *Cryptosporidium parvum* using rapid immuno-dot blot assay [J]. Biosens Bioelectron, 2011, 26(11):4624-4627.

[44] XU X, SUI J, CAO L, et al. Direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for rapid screening of anisakid larvae in seafood[J]. J Sci Food Agric, 2010, 90(5):877-881.

综述

我国母乳中持久性有机污染暴露水平及主要来源研究

黄志¹, 胡余明², 朱明元¹
(1. 中南大学公共卫生学院, 湖南 长沙 410078; 2. 湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005)

摘 要: 本文介绍了我国母乳中有机氯农药 (OCPs)、二噁英 (PCDD/Fs)、多氯联苯 (PCBs)、多溴联苯醚 (PBDEs)、全氟代烃类化合物 (PFCs) 等持久性有机污染物 (POPs) 的污染状况及可能的暴露来源。持久性有机污染物在我国母乳中存在一定的身体负荷, 可能对婴儿的健康产生不利影响。

关键词: 持久性有机污染物; 母乳; 污染; 暴露; 有机氯农药; 二噁英; 多氯联苯; 多溴联苯醚; 全氟代烃类化合物

中图分类号: R15; R174.4 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)01-0100-05

The level and source of persistent organic pollutants in breast milk of China: a review

HUANG Zhi, HU Yu-ming, ZHU Ming-yuan

(Public Health School of Central South University, Hunan Changsha, 410078, China)

Abstract: The purpose of this study is to introduce the current situation of pollution and possible exposure mechanism of POPs including organochlorine pesticides, dioxin, polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl-ethers, and perfluorinated generation of hydrocarbons, in breast milk of China. Persistent organic pollutants in breast milk have certain load in China, which may have adverse influence on infant's health.

Key words: Persistent organic pollutants; breast milk; pollution; exposure; organochlorine pesticides; dioxins; polychlorinated biphenyls; polybrominated diphenyl-ethers; perfluorinated hydrocarbons