

文章编号:1000-7423(2001)-03-0173-03

【实验报道】

## 用 PCR 技术检测大鼠弓形虫 DNA

耿志辉<sup>1</sup> 何成彦<sup>2</sup> 张永生<sup>3</sup> 李淑红<sup>3</sup> 杜军<sup>3</sup> 刘利<sup>3</sup> 方艳秋<sup>4</sup> 朱刚<sup>5</sup> 李佳和<sup>5</sup>

**【摘要】** 目的 探讨弓形虫病大鼠外周血弓形虫 DNA 检测的意义。方法 自行设计一对引物,用聚合酶链反应技术扩增弓形虫 P30基因的一段保守序列。结果 设计的这对引物对健康人、大鼠、小鼠外周血白细胞以及阴道毛滴虫、溶组织内阿米巴均不能扩增,表明具有特异性。反应体系经 35 个循环扩增,可检测到 2 条弓形虫 DNA,表明具有较高的敏感性。结论 PCR 法对大鼠弓形虫感染可做出早期诊断。

**【关键词】** 聚合酶链反应;引物;弓形虫

中图分类号:R531.8

文献标识码:A

Detection of DNA of *Toxoplasma gondii* in Rat by Using Polymerase Chain ReactionGENG Zhi-hui<sup>1</sup>, HE Cheng-yan<sup>2</sup>, ZHANG Yong-sheng<sup>3</sup>, LI Shu-hong<sup>3</sup>, DU Jun<sup>3</sup>, LIU Li<sup>3</sup>, FANG Yan-qiu<sup>4</sup>, ZHU Gang<sup>5</sup>, LI Jia-he<sup>5</sup>

(1 Department of the Third Centre, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun, 130021;

2 China-Japan Union Hospital, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun, 130021;

3 Department of Pathobiology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun, 130021;

4 Laboratory of Centre, the First Clinical Hospital, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun, 130021;

5 Jilin Qianwei Hospital, Changchun, 130021)

**【Abstract】 Objective** To study the significance of DNA of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood. **Methods** DNA of *T. gondii* in peripheral blood of 50 infected rats was detected by polymerase chain reaction. A pair of primers was designed, according to the sequence P30 gene specific to *T. gondii*, to amplify DNA from *T. gondii* by PCR. **Results** The primers amplified DNA specifically from *T. gondii* and could not amplify DNA from humans, uninfected rat and mouse and from *Trichomonas vaginalis* and *Entamoeba histolytica*. DNA of two *Toxoplasma* parasites was detected by 35 cycles of amplification, indicating a fair sensitivity of the PCR system. **Conclusion** PCR may have a value for early diagnosis of *T. gondii* infection in rat.

**【Key words】** polymerase chain reaction, primer, *Toxoplasma gondii*

弓形虫(*Toxoplasma gondii*)广泛寄生于宿主的有核细胞内,可通过母婴垂直传播,造成胎儿畸形、神经系统发育障碍及引起死产或流产等。因此,建立特异、敏感的检测方法对弓形虫感染进行早期诊断非常重要。已有的免疫学诊断方法不能令人满意。近年来 PCR 技术在弓形虫病的诊断中已被推广使用<sup>[1,2]</sup>,具有特异、敏感、快速等优点。但 PCR 技术对于弓形虫感染不敏感的人类和大鼠等检出效果如何,目前尚不清楚<sup>[3]</sup>。本实验通过设计弓形虫核苷酸引物及建立 PCR 技术检测弓形虫的方法,检测感染弓形虫的大鼠,并对比 PCR 法和 IHA 法诊

断结果,以期为临床诊断弓形虫病提供参考。

## 材料与方 法

## 1 材料

弓形虫 FR2株为本室保种。阴道毛滴虫、溶组织内阿米巴由日本北里大学寄生虫学教研室提供。昆明系小鼠、Wistar 大鼠由本校实验动物中心提供。健康人血样由本校第三临床学院检验科提供。Tag DNA 聚合酶、4 种 dNTP 混合物(1.25 mmol/l)及 Marker 等均购自华美生物工程公司北京分公司, IHA 试剂购自中国农业科学院兰州兽医研究所,引物由长春市中日联谊医院检验科设计合成。两个引物分别由 21 个碱基及 20 个碱基组成,其序列为:

I: 5'-CCA CAC TGA TGT CGT TTC TTG-3'

II: 5'-TGC TTG CGG AAC TTT GAC TC-3'.

作者单位:

- 1 白求恩医科大学基础医学院第三技能实验室,长春 130021;
- 2 白求恩医科大学中日联谊医院检验科,长春 130021;
- 3 白求恩医科大学基础医学院病原生物教研室,长春 130021;
- 4 白求恩医科大学第一临床学院中心实验室,长春 130021;
- 5 吉林省前卫医院检验科,长春 130021

## 参 考 文 献

- [1] 谢佩梅,陈银珍,郑春福. 先天性弓形虫病的 PCR 诊断. 国外医学妇产科学分册, 1999, 26: 289-293.
- [2] 张华,张志萍,刘秀萍. 应用 ELISA 和 PCR 联检法对贵阳地区孕妇和新生儿弓形虫感染的检查. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(3): 110-111.

[3] 于恩庶主编. 弓形虫病学. 福州:福建科学技术出版社, 1992: 62-63.

[4] Weiss LM, Udem SA, Salgo M. Sensitive and specific detection of *Toxoplasma* DNA in an experimental murine model: Use of *Toxoplasma gondii*-specific cDNA and the polymerase chain reaction. J Infect Dis, 1991, 163(1): 180-186.

(收稿日期: 2000-09-05 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-7423(2001)-03-0175-01

## 【 简 报 】

## 超声显像对 51 例晚期血吸虫病患者 门脉高压的诊断分析

杨军 张命生

中图分类号: R532.21

文献标识码: D

为探讨晚期血吸虫病(晚血)患者门脉内径宽度与其压力及食道静脉曲张程度的关系,对 51 例晚血脾切除手术患者和 15 例胃、十二指肠溃疡手术患者进行了对比观察。

## 对象与方法

## 对象

51 例晚血脾切除手术患者,男性 36 例,女性 15 例,年龄 16~60 岁,平均 37 岁。手术中取肝组织作病理检查,血吸虫病肝纤维化 34 例,混合型肝硬化 17 例。有呕血史 30 例。对照组 15 例均为胃、十二指肠溃疡患者,年龄 21~59 岁,平均 31 岁。

## 方法

B 超采用韩国 SA-4800HD 超声诊断仪,探头频率为 3.5 MHz。晚血超声检查按文献标准<sup>[1,2]</sup>。术前观察肝、脾大小及肝脾质回声,测量门脉(PV)内径和脾静脉(SV)内径, X 线吞钡或纤维胃镜检查食道和胃底静脉。手术开腹后选择胃网膜右静脉测门脉压力(PVP)。

## 结果

门脉内径、脾静脉内径及门脉压力,见表 1。

表 1 两组患者门脉、脾静脉内径及门脉压力 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	例数	PV (mm)	SV (mm)	PVP (kPa)
晚血组	51	16.15±2.16	12.54±2.04	3.98±0.24
对照组	15	10.96±1.49	5.80±1.34	1.41±0.20

表 1 显示,晚血患者术前 B 超检测 PV、SV 内径和术中直接所测 PVP 均显著高于对照组。(t 值均 > 19.9,  $P < 0.001$ )。51 例晚血患者 PV、SV 内径与 PVP 之间无显著性差异( $r=0.018$ ,  $P > 0.05$ )。提示晚血患者 PV、SV 内径虽因 PVP 增高而增宽,但相关性不显著。

门脉内径及压力与食道静脉曲张程度和出血的关系:51 例晚血中有 48 例食道静脉曲张,其中,轻度 15 例,中度 19 例,重度 14 例。对照组未发现食道静脉曲张。晚血组 PV、

SV 内径宽度和 PVP 高低与食道静脉曲张严重程度无相关性( $r=0.1134$ ,  $P > 0.05$ )。有呕血史的 30 例患者与无呕血史的 21 例晚血患者 PV 内径分别为  $18.80 \pm 2.16$  和  $15.50 \pm 2.07$ , PVP 分别为  $4.57 \pm 0.22$  kPa 和  $3.49 \pm 0.23$  kPa,经统计学处理差异显著( $t=2.37$ ,  $P < 0.05$ ),提示出血组门脉压力高、内径宽。

## 讨论

晚血患者由于肝内门脉分支大量血吸虫卵沉积形成肉芽肿炎症,引起门脉周围和窦前纤维化,门脉高压和充血性脾肿大。B 超检查这些静脉内径大多明显增宽。本文测定的数据晚血组 PV 内径为  $16.15 \pm 2.16$  mm, SV 内径为  $12.54 \pm 2.04$  mm,比文献<sup>[3]</sup>偏高。一般门脉内径随门脉压力增高而逐渐增宽,但不呈正相关关系。本文结果与文献<sup>[3]</sup>相符。出现这种情况可能与下列因素有关:血吸虫肝纤维化门脉血管扩张各段分布不均匀,需多部位测量较好,如增加测量门脉左右支及肠系膜静脉等。而我们只测了 PV 和 SV;手术中测门脉压时患者可能因麻醉及血压、呼吸、穿刺点变化以及个体差异(如身高、体重)影响测量结果。本组两例患者中 1 例 PV 为 16 mm, PVP 为 5.05 kPa,而另 1 例为 26 mm, PVP 只有 3.89 kPa。

一般认为食道静脉曲张标志门脉高压。但曲张程度与门脉压力之间的关系有不同的报告。本文有 94.2% 患者发生食道静脉曲张,曲张程度并不因门脉压力增高而呈正比例加重。但出血组的 PV 平均值、PVP 均较非出血组高。故对晚血 PV、SV 明显增宽者应警惕食道静脉曲张破裂出血的危险性,应采取预防性服药(如心得安),尽早手术治疗。

## 参 考 文 献

- [1] 周永昌,郭万学主编. 超声医学. 北京:科学技术文献出版社, 1997: 773-792.
- [2] 陈清林摘译,陈名刚校. 血吸虫病超声诊断咨询会议. 中国血吸虫病防治杂志, 1992, 4: 317-319.
- [3] 易哲生,黄令霞,黄文志. 各期血吸虫病 236 例 B 超检查的结果分析. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1996, 14: 161-162.

(收稿日期: 2000-12-31 编辑: 富秀兰)

作者单位: 湖南省沅江市血吸虫病防治院, 沅江 413100

## 参 考 文 献

- [1] 谢佩梅,陈银珍,郑春福. 先天性弓形虫病的 PCR 诊断. 国外医学妇产科学分册, 1999, 26: 289-293.
- [2] 张华,张志萍,刘秀萍. 应用 ELISA 和 PCR 联检法对贵阳地区孕妇和新生儿弓形虫感染的检查. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(3): 110-111.

- [3] 于恩庶主编. 弓形虫病学. 福州:福建科学技术出版社, 1992: 62-63.
- [4] Weiss LM, Udem SA, Salgo M. Sensitive and specific detection of *Toxoplasma* DNA in an experimental murine model: Use of *Toxoplasma gondii*-specific cDNA and the polymerase chain reaction. J Infect Dis, 1991, 163(1): 180-186.

(收稿日期: 2000-09-05 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-7423(2001)-03-0175-01

## 【 简 报 】

## 超声显像对 51 例晚期血吸虫病患者 门脉高压的诊断分析

杨军 张命生

中图分类号: R532.21

文献标识码: D

为探讨晚期血吸虫病(晚血)患者门脉内径宽度与其压力及食道静脉曲张程度的关系,对 51 例晚血脾切除手术患者和 15 例胃、十二指肠溃疡手术患者进行了对比观察。

## 对象与方法

## 对象

51 例晚血脾切除手术患者,男性 36 例,女性 15 例,年龄 16~60 岁,平均 37 岁。手术中取肝组织作病理检查,血吸虫病肝纤维化 34 例,混合型肝硬化 17 例。有呕血史 30 例。对照组 15 例均为胃、十二指肠溃疡患者,年龄 21~59 岁,平均 31 岁。

## 方法

B 超采用韩国 SA-4800HD 超声诊断仪,探头频率为 3.5 MHz。晚血超声检查按文献标准<sup>[1,2]</sup>。术前观察肝、脾大小及肝脾质回声,测量门脉(PV)内径和脾静脉(SV)内径, X 线吞钡或纤维胃镜检查食道和胃底静脉。手术开腹后选择胃网膜右静脉测门脉压力(PVP)。

## 结果

门脉内径、脾静脉内径及门脉压力,见表 1。

表 1 两组患者门脉、脾静脉内径及门脉压力 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	例数	PV (mm)	SV (mm)	PVP (kPa)
晚血组	51	16.15±2.16	12.54±2.04	3.98±0.24
对照组	15	10.96±1.49	5.80±1.34	1.41±0.20

表 1 显示,晚血患者术前 B 超检测 PV、SV 内径和术中直接所测 PVP 均显著高于对照组。(t 值均 > 19.9,  $P < 0.001$ )。51 例晚血患者 PV、SV 内径与 PVP 之间无显著性差异( $r=0.018$ ,  $P > 0.05$ )。提示晚血患者 PV、SV 内径虽因 PVP 增高而增宽,但相关性不显著。

门脉内径及压力与食道静脉曲张程度和出血的关系:51 例晚血中有 48 例食道静脉曲张,其中,轻度 15 例,中度 19 例,重度 14 例。对照组未发现食道静脉曲张。晚血组 PV、

SV 内径宽度和 PVP 高低与食道静脉曲张严重程度无相关性( $r=0.1134$ ,  $P > 0.05$ )。有呕血史的 30 例患者与无呕血史的 21 例晚血患者 PV 内径分别为  $18.80 \pm 2.16$  和  $15.50 \pm 2.07$ , PVP 分别为  $4.57 \pm 0.22$  kPa 和  $3.49 \pm 0.23$  kPa,经统计学处理差异显著( $t=2.37$ ,  $P < 0.05$ ),提示出血组门脉压力高、内径宽。

## 讨论

晚血患者由于肝内门脉分支大量血吸虫卵沉积形成肉芽肿炎症,引起门脉周围和窦前纤维化,门脉高压和充血性脾肿大。B 超检查这些静脉内径大多明显增宽。本文测定的数据晚血组 PV 内径为  $16.15 \pm 2.16$  mm, SV 内径为  $12.54 \pm 2.04$  mm,比文献<sup>[3]</sup>偏高。一般门脉内径随门脉压力增高而逐渐增宽,但不呈正相关关系。本文结果与文献<sup>[3]</sup>相符。出现这种情况可能与下列因素有关:血吸虫肝纤维化门脉血管扩张各段分布不均匀,需多部位测量较好,如增加测量门脉左右支及肠系膜静脉等。而我们只测了 PV 和 SV;手术中测门脉压时患者可能因麻醉及血压、呼吸、穿刺点变化以及个体差异(如身高、体重)影响测量结果。本组两例患者中 1 例 PV 为 16 mm, PVP 为 5.05 kPa,而另 1 例为 26 mm, PVP 只有 3.89 kPa。

一般认为食道静脉曲张标志门脉高压。但曲张程度与门脉压力之间的关系有不同的报告。本文有 94.2% 患者发生食道静脉曲张,曲张程度并不因门脉压力增高而呈正比例加重。但出血组的 PV 平均值、PVP 均较非出血组高。故对晚血 PV、SV 明显增宽者应警惕食道静脉曲张破裂出血的危险性,应采取预防性服药(如心得安),尽早手术治疗。

## 参 考 文 献

- [1] 周永昌,郭万学主编. 超声医学. 北京:科学技术文献出版社, 1997: 773-792.
- [2] 陈清林摘译,陈名刚校. 血吸虫病超声诊断咨询会议. 中国血吸虫病防治杂志, 1992, 4: 317-319.
- [3] 易哲生,黄令霞,黄文志. 各期血吸虫病 236 例 B 超检查的结果分析. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1996, 14: 161-162.

(收稿日期: 2000-12-31 编辑: 富秀兰)

作者单位: 湖南省沅江市血吸虫病防治院, 沅江 413100