

【综述】

阴道毛滴虫遗传学特性研究

袁丽杰¹综述, 高兴政²审校

文章编号: 1000-7423(2005)-01-0051-05

中图分类号: R382.211

文献标识码: A

阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*) 是 Donne 于 1836 年从脓性阴道分泌物和男性泌尿生殖道分泌物中首次发现, 1916 年被确认为妇女滴虫性阴道炎的病原体。1957 年发现了有效的治疗药物甲硝唑 (metronidazole)。1962 年临床首次报道阴道毛滴虫对甲硝唑具抗药性。最新资料表明, 人体感染阴道毛滴虫可增加对其他性传播疾病病原体的易感性, 感染免疫缺损病毒 (HIV) 的机率增加 2~4 倍, 促进 HIV 在人群中广泛流行^[1]。阴道毛滴虫作为一种性传播疾病病原体越来越受到人们的重视。

阴道毛滴虫属肉足鞭毛门的动鞭纲, 毛滴虫目, 毛滴虫属, 缺乏线粒体和过氧化物酶体, 但具特有的氢化酶体, 适宜在厌氧或微需氧环境生活。通过分子种系发生学对其核糖体 RNA 16S 完全序列和 23S 部分序列分析结果表明, 该虫属早期分化的真核生物, 在进化树上占据着一个很古老的分支^[2]。基于目前发现的热休克蛋白基因和氢化酶体的生物遗传学特性, 认为毛滴虫属的祖先具有线粒体^[3]。因而, 氢化酶体很可能来源于线粒体或者是线粒体的衍化产物。

在流行病学研究中, 人们观察到来源于不同地理位置的阴道毛滴虫虫株, 虽然形态完全相同, 但其生物学特性不同, 如: 致病力、抗药性、抗原性和细胞内阴道毛滴虫体内 TVV 病毒等。这些与临床治疗方案的选择、预后等关系密切。故有必要对形态相同、不同来源虫株的遗传学特性进行分析比较, 以探讨其遗传学特性与临床表型间的相互关系, 为滴虫病的流行病学、临床表现、药物治疗、疫苗研制等提供理论依据。

在用光学显微镜和电子显微镜的最初研究阶段, 常以一些易于鉴别的形态特征和生物学性状为遗传标志, 但因这些表型易受环境影响, 且虫株间又存在一定的遗传分化, 故用形态学特征反映物种的地位存在许多缺陷。目前, 对阴道毛滴虫遗传学特性的研究大致包括以下几方面:

1 表型分析

早期研究表明, 阴道毛滴虫不同虫株间在表型上

有差异, 如 Mr 270 000 表面蛋白表型、蛋白含量、蛋白水解酶、抗原组成以及针对表面抗原的单克隆抗体和多糖成分等均有不同^[4-9]。

阴道毛滴虫蛋白水解酶具有很高的活性。Barbara 等^[10]研究显示, 8 个不同虫株 (G3, 45733, 64, 39, 2755, 6950 ♂, 39 体内, 39 体外) 均具有半胱氨酸蛋白水解酶条带, 其中 G3 虫株的蛋白水解酶活性显著高于其他虫株。G3 虫株有 Mr 54 000 条带, 而 45733 和 64 虫株仅有的 Mr 45 000 条带在 G3 虫株却无。G3 虫株已在无菌条件下保种数年, 依赖其自身蛋白水解酶活性, 分解周围环境中的氨基酸获取能量。提示具有高水平蛋白水解酶活性的虫株更具生存能力。

阴道毛滴虫不同虫株其抗原成分不同, 这是由于其表面存在或缺乏高分子量糖蛋白免疫原所致^[11]。针对重要免疫原中高分子量糖蛋白的单克隆抗体的研究结果显示, 各虫株间存在差异^[12]。曾以其共同抗原和株特异性抗原对其进行鉴定, 但是株特异性抗原是由于株间遗传变异还是表达水平差异所致, 尚无定论^[13]。故以表型区分虫种尚存在很多不足。

已证明血清学试验能快速有效的鉴定虫株, 单克隆和多克隆抗体的免疫诊断方法已用于多种寄生虫的血清分型。Kott 等^[14]研究结果显示, 在 7 个虫株中有 2 种血清型, 在 19 个虫株中有 8 种血清型。Teras^[15]研究结果证实, 在几百个欧洲虫株中有 4 种血清型。Kreiger 等^[16]依据对单抗的反应图谱可将 88 株阴道毛滴虫分为 11 组, 在 1 种血清型中同时有来自 5 个不同地区的虫株, 而一个地区可以含有所有的 11 种血清型。针对此种现象, 研究者提出了克隆株繁殖基本理论, 认为有些虫株可以穿越广阔区域并经历相当长的时期却依然保持稳定的遗传性状^[17]。

2 同工酶分析

Markert 等^[18]首次提出的同工酶概念, 是指在同一种属生物体内, 由具不同基因位点或等位基因编码的多态链的单体、纯聚体或杂合体形成的酶, 虽其理化及/或生物学性质不同但能催化相同的化学反应。同工酶的结构、理化特性及其他特性取决于带有遗传信息的基因, 其发生与生物种群的进化和演变密不可分, 可反映其种或株的基因特性。研究同工酶常用的

方法是电泳法。

近年来,学者们相继应用同工酶技术分析了阴道毛滴虫的种内演化情况。Gradus 等^[19]对 4 株阴道毛滴虫 EST (酯酶)、SOD (超氧化物歧化酶)、ACP (酸性磷酸酶) 酶谱进行比较。Salem 等^[20]对 3 株阴道毛滴虫进行了 G-6-PD (6-磷酸葡萄糖脱氢酶)、MDH (苹果酸脱氢酶)、PGM (磷酸葡萄糖变位酶)、PGI (磷酸葡萄糖异构酶)、ME (苹果酸酶)、HK (己糖激酶) 及 LDH (乳酸脱氢酶) 酶谱分析,发现依据同工酶谱型,可将阴道毛滴虫进行种下分型。Soliman 等^[21]对 32 株阴道毛滴虫 8 种酶谱进行分析,依据 LDH、MDH、HK、PGI 同工酶谱将阴道毛滴虫分为 5 个酶株群。Proctor 等^[22]对 63 株阴道毛滴虫进行 ME、MDH、HK、LDH 4 种酶谱分析,并将之分为 15 个酶株群。Vohra 等^[23]对 11 株阴道毛滴虫进行酶谱型分析,依据 LDH、MDH、PGI、HK、PGM 及 ME 将其分为 3 个酶株群。但用同工酶谱无法区分致病和非致病阴道毛滴虫虫株。

3 限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析

分子生物学的发展为分类研究提供了新的思路和方法。它以生物大分子为依据,从遗传本质上阐明物种间的差异,弥补了传统分类方法上的不足,使分类结果客观准确。分子指纹图,是以微生物基因组种内差异性确定亚类特征,是研究许多感染性病原微生物常用的、有效的流行病学工具。基因组 DNA 被限制性核酸内切酶消化后,产生一系列分子量不同的 DNA 片段,通过凝胶电泳分离。在每个基因组中,非重复性 DNA 片段是大量的,形成散发的背景荧光,这只能通过放射性标记的探针杂交才可观察到;重复性 DNA 片段可以形成清晰可见的条带,其荧光强度与每个基因组中限制性片段的拷贝数有关。在基因组 DNA 中,大部分 DNA 没有编码功能,具中度或高度重复性序列,在种系发育过程中,这种高度重复性 DNA 序列演化较快,具种的特异性,可以显示种群内的同源性。因而基因组重复性 DNA 的 RFLP 标志着种株间的分子结构差异。由于用 RFLP 直接检测基因型,避免了外界因素在转录、翻译、以及翻译后水平对基因表达产物的影响,从而避免了在形态学及生物学资料分析中出现的主观性。DNA 限制性酶谱的发现使整个基因组分析成为可能。

Stiles 等^[24]对 36 株阴道毛滴虫基因组进行 RFLP 分析,使用放射性标记的 HSP70 基因探针与用 *EcoR* I 消化的基因组 DNA 杂交,结果显示 36 株阴道毛滴虫被分为 10 组,即 10 个亚型。各虫株甲硝唑抗性水平及虫株地理来源与其 *EcoR* I -HSP70 RFLP 图谱之间无相关性。由于在杂交中使用的探针可以辨认多

拷贝序列,加之被探针识别的序列只占一小部分,故有相似带型的虫株实际很可能不同。因此 RFLP 检测种内遗传变异的敏感性是有限的。

随着聚合酶链反应 (PCR) -RFLP 技术的出现,多基因 RFLP 研究成为热点。PCR-RFLP 可检测基因组的微小变化,如碱基被替代等,由此可能产生合适的酶切位点,或者使某个酶切位点消失。PCR 扩增一段含有 1 个或多个酶切位点的片段,则产物可被 1 个或多个限制性内切酶消化。通过电泳可以检测特异的等位基因类型。Cindy 等^[25]对 59 株阴道毛滴虫编码黏附蛋白的 AP33 基因进行 PCR-RFLP 分析,发现了 A、B、C 3 种基因型,再经测序得知 A 与 B 型、A 与 C 型间差异均为 1.1%, B 与 C 型间差异为 0.2%。可见 B 与 C 型间遗传关系更紧密。

T17 片段经 PCR 可在多种单细胞真核生物中扩增出不同的 DNA 重复序列条带,产生特征性图谱,具有种间及种内株间的特异条带。在多细胞生物中并未扩增出这些特异条带。Riley 等^[26]用引物检测 6 株阴道毛滴虫 T17 重复序列条带,其共同条带为 740、440、146 bp,说明这些虫株均属于一个单一种,但各虫株还具有特异条带,即 T17 PCR 扩增的特征性谱型在各虫株间表现出遗传差异。

4 随机扩增多态性 DNA (RAPD) 分析

Williams 等和 Welsh 等先后发展了一种以 PCR 为基础的基因分析方法即 RAPD 技术^[27 28]。该技术使用单一的随机核苷酸序列为引物。随机引物短且不均一 (通常为十聚体),此引物可在 1 个或多个位点与基因组 DNA 结合,由于在不同物种基因组中与引物相匹配的碱基序列的空间位置和数目不同,所以扩增产物的大小和数目也可能不同,电泳将不同大小的 DNA 片段分开,经放射自显影或溴化乙啶 (EB) 染色便可显示扩增产物的多态性。如果基因组 DNA 在扩增区域发生 DNA 片段的插入、缺失或碱基突变,则可能导致这些位点序列发生改变,出现扩增产物的增减或分子量的改变。

当以 1 个随机引物对生物标本进行 PCR 扩增时,每个标本都能扩增出一些 DNA 片段。其中有些片段具有种特异性,并为种内个体所共有,称为种间多态性。另一些片段为某些个体所独有,称为种内多态性。这种多态性在遗传上相对稳定。若随机选择多个引物则可使检测区域扩大至整个基因组。可得到条带不等的图谱,即 RAPD 指纹图谱。较简单的图谱可用于遗传作图,复杂的可用于基因型分类。故 RAPD 可作为基因标志,对生物种、株、型进行鉴定,评价种间品系发生、种内和株内多态性,揭示其内在差异^[29]。

此方法除具有常规 PCR 的快速、安全、简便、重复性较好等优点外,由于引物的设计不需要特异的模板核苷酸序列信息,可避免 PCR 特异性引物设计上的困难。因而在无模板信息的情况下仍可进行,尤其适用于未知样本的分类鉴定,显示了其独特的优点。另外,实验所需 DNA 材料极微量,能高效地找出生物遗传标志,大大缩短研究周期。

Vanacova 等^[30]比较了 18 株阴道毛滴虫,认为 RAPD 可作为有效的确定其遗传多态性的分子标记。实验发现 RAPD 图谱与阴道毛滴虫在体内、外对甲硝唑抗性,与虫株的地理分布及患者的临床表现均有密切关系。如来自捷克布拉格的 8 株阴道毛滴虫中有 7 株在进化树上形成 1 个群系,另 1 支系 5 株均来自欧洲。而来自美国的 2 株阴道毛滴虫在进化树上也紧密相连。另外发现,在阴道毛滴虫体内 TVV 病毒存在与否与阴道毛滴虫在进化树上的位置无相关性。TVV 病毒于 1985 年发现,是在原生生物中报道的第 1 个双链 RNA 病毒。TVV 病毒基因组含有 1 个 5.5 kb 双链 RNA,但其在寄生关系中的作用尚不明确^[31]。研究结果表明,用 TVV 病毒感染不含此病毒的虫株,未获成功。认为此病毒很可能是以垂直方式传播,不可能是以水平方式传播^[32]。故虫株是否含有 TVV 病毒似可作为有效的遗传标记。但经长期体外培养此病毒可丢失,这又提示 TVV 病毒的随机分布不能反映阴道毛滴虫虫株间的进化关系^[33]。此为不同研究者论述相互矛盾之处。关于甲硝唑抗性试验显示,5 个抗性株组成了进化树上的 1 个分支,这一结果似提示,阴道毛滴虫的一些支系具有甲硝唑抗药性的遗传本质。

Snipes 等^[34]研究显示,在 109 个虫株中有 42 个为抗性株。由 RAPD 数据建立的系统进化树揭示,阴道毛滴虫对甲硝唑敏感程度的相似性与虫株间的遗传关系相关。抗性株彼此间基因组更相似,系来自同一分支,提示可能来自共同的祖先。含有 TVV 病毒的虫株均在同一支系上,说明其进化关系密切;虫株在进化树上分布与虫株地理来源无关(试验虫株来自同一国家的不同城市)。

Vladimir 等^[35]的 RAPD 结果证实,虫株间的遗传关系与感染者临床表现和对甲硝唑的敏感程度相关,而与虫株毒力、TVV 病毒的存在和共同的地理来源之间无直接关系。其中对甲硝唑的敏感性与虫株间的进化关系最密切。Vladimir 未发现含有 TVV 病毒虫株与其在进化树上的位置有关,此与 Vanacova 等^[30]结果一致,并支持了 TVV 病毒可在虫株间水平传播的观点。但 Snipes 等^[34]却从 109 株阴道毛滴虫 RAPD 图谱中获得了完全相反的论点。在其所建进化树上,其中有 1 分支,除 1 个虫株外其余均为 TVV 阳性虫

株。两者间的分歧可能是由于虫株地理来源不同所致。Vladimir 等分析来自不同大洲的 20 个虫株,而 Snipes 等研究的 109 株均为美国虫株。Vladimir 等建立的进化树不能反映虫株的地理来源及其进化关系。作者认为可能是与阴道毛滴虫宿主的流动性有关。Snipes 等也获得了相同的结果。这些发现与 Vanacova 等的结果不同,他认为相似地理来源的虫株关系密切。

Lazara 等^[36]应用 10 种随机引物,根据所得到的 124 个扩增产物构建的进化树,将来自临床的 40 个虫株分为 4 组,而此分组刚好和 40 个虫株的临床分类(无症状、症状轻、症状中、症状重)完全一致,即引起临床相同症状的虫株,在进化树上位于同一支系。同时发现有症状的 3 个组,无论症状轻重,均具有 490 bp 的分子标记条带,而无症状组则无此条带。由此反映出虫株间的遗传关系与感染者临床表现密切相关。

5 核酸序列测定

基因序列分析法是鉴定不同种、株的最直接方法。它以单核苷酸位点为研究对象,故可避免生活史阶段的变异、环境和宿主诱导的修饰及翻译后修饰的影响,可以克服杂交、RFLP 等方法所遇到的局限性,从而有效的反映其他方法所不能反映的物种在突变和进化中碱基转换/颠换率,分析物种在进化中基因流和遗传漂流对基因序列的影响。评估物种的进化速率和物种大进化的形势和过程。

核糖体 DNA (rDNA) 是基因组 DNA 中的中等重复、并有转录活性的基因家族。重复次数在 $10^3 \sim 10^5$ 。在进化速度上,rDNA 编码区比较保守,可在目、科、属水平上比较不同生物种。在其中的高度保守区,所有的异源基因几乎都能与之杂交。基因间隔区是 rDNA 中进化速度最快的区域,此区域常用于属内种间或种内群体间比较。其中 ITS 在种属关系密切的虫株间更为有用,存在于所有真核生物 rDNA 中,但该区不形成核糖体功能区,因此没有功能基因那么保守。即使在种属关系非常密切的虫株间,ITS 的位置和长度也大不相同。ITS 是用于比较属内和种内差异的理想片段^[37]。

Snipes 等^[35]的研究表明 15% (16/109) 虫株在 rDNA 的 ITS1 区第 66 位核苷酸上有一 C-T 点突变(即由胸腺嘧啶替代胞嘧啶)。5.8S 和 ITS2 区 109 株阴道毛滴虫均与基因库中提供的序列完全相同。总体看,阴道毛滴虫 ITS 区缺乏较大差异。提示不同虫株间具有高度相关性,虫株间发生种内分化时间相对较短。此结果与 Gunderson 等^[38]发现一致。说明阴道毛滴虫 rDNA 基因序列分析不能提供较高的种内分辨力。

6 遗传多态性研究

感染阴道毛滴虫可引起男、女泌尿生殖系统炎症,新生儿肺炎、支气管炎及口腔损害等。同时与不育症及低出生体重儿和死胎(40%)有关,与宫颈癌的发病率具有很高的相关性^[39,40]。可使人群对 HIV 病毒的易感性增高^[1]。有关阴道毛滴虫培养、显微镜检查诊断、临床表现及抗体检测技术等实验方法已有很多报道^[41]。临床治疗中发现阴道毛滴虫对甲硝唑耐药性高达 15% 以上,并呈上升趋势^[42]。但关于虫株间遗传关系的研究,特别是对表型相似的虫株间遗传关系的研究较少。阴道毛滴虫作为一种极为原始的真核细胞,其遗传多态性分析将能阐明真核生物进化最早期的表现,为真核生物进化提供可靠依据。自患者分离的虫株间生物学性状究竟有何不同,目前多局限于体外药物抗性水平的观察。遗传多态性的研究也局限于少量虫株,且大多未考虑临床表型。广泛的遗传多态性研究,可区分不同表型的虫株,这对于解决难以确诊、以及制定抗药虫株的特殊治疗方案具有指导意义。不同虫株同源基因的不同序列可供设计特异引物,用于临床快速诊断。

综上所述,对阴道毛滴虫遗传学特性的研究,主要表现在对其系统发育及遗传多样性研究。准确了解阴道毛滴虫的特性及种群内变异范围,可有效诊断、治疗和控制其引起的疾病,对研制疫苗和深入了解寄生现象提供必要的理论基础。

参 考 文 献

[1] Hobbs MM, Kazembe P, Reed AW, *et al.* *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men[J]. *Sex Transm Dis*, 1999, 26 : 381-387.

[2] Leipe DD, Gunderson JH, Nerad TA, *et al.* Small subunit ribosomal RNA of *Hexamita inflata* and the quest for the first branch in the eukaryotic tree[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1993, 59 : 41-48.

[3] Muller M. Evolutionary origins of trichomonad hydrogenosomes[J]. *Parasitol Today*, 1997, 13 : 166-167.

[4] Alderete JF. Iron modulates phenotypic variation and phosphorylation of P270 in double-stranded RNA virus-infected *Trichomonas vaginalis* [J]. *Infect Immun*, 1999, 67 : 4298-4302.

[5] Alderete JF, Garza G, Smith J, *et al.* *Trichomonas vaginalis* : Electrophoretic analysis and heterogeneity among isolates due to high-molecular-weight trichomonad proteins[J]. *Exp Parasitol*, 1986, 61 : 244-251.

[6] Neale KA, Alderete JF. Analysis of the proteinases of representative *Trichomonas vaginalis* isolates[J]. *Infect Immun*, 1990, 58 : 157-162.

[7] Warton A, Honigberg BM. Lectin analysis of surface saccharides in two *Trichomonas vaginalis* strains differing in pathogenicity[J]. *J Protozool*, 1980, 27 : 410-419.

[8] Fiori PL, Rappelli P, Manca A, *et al.* Phenotypic variation of surface antigenic determinants in *Trichomonas vaginalis* detected by monoclonal antibodies[J]. *Microbiological*, 1992, 15 : 227-235.

[9] Warton A, Honigberg BM. Analysis of surface saccharides of *Trichomonas vaginalis* strains with various pathogenicity levels by fluorescein-conjugated plant lectins[J]. *Z Parasitenkd*, 1983, 69 : 149-159.

[10] Barbara CL, Michael JN, Karen IS, *et al.* The use of a highly sensitive electrophoretic method to compare the proteinases of trichomonads [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1987, 24 : 89-95.

[11] Alderete JF, Suprun-Brown L, Kasmala L, *et al.* Heterogeneity of *Trichomonas vaginalis* and discrimination among trichomonad isolates and subpopulations with sera of patients and experimentally infected mice[J]. *Infect Immun*, 1985, 49 : 463-468.

[12] Alderete JF, Suprun-Brown L, Kasmala L. Monoclonal antibody to a marker surface glycoprotein immunogen differentiates isolates and subpopulations of *Trichomonas vaginalis*[J]. *Infect Immun*, 1986, 52 : 70-75.

[13] Alderete JF, Kasmala EL, Metcalfe E, *et al.* Phenotypic variation and diversity among *Trichomonas vaginalis* isolates and correlation of phenotype with trichomonad virulence determinants[J]. *Infect Immun*, 1986, 53 : 285-293.

[14] Kott H, Adler S. A serological study of *Trichomonas* sp. parasitic in man[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1961, 55 : 333-344.

[15] Teras JK. Differences in the antigenic properties within strains of *Trichomonas vaginalis*[J]. *Wiad Parazytol*, 1966, 12 : 357-363.

[16] Kreiger JH, Holmes KK, Spence MR, *et al.* Geographic variation among isolates of *Trichomonas vaginalis* : demonstration of antigenic heterogeneity by using monoclonal antibodies and the indirect immunofluorescence technique[J]. *J Infect Dis*, 1985, 152 : 979-984.

[17] Tibayrenc M, Kjellberg F, Ayala FJ, *et al.* A clonal theory of parasitic protozoa : the population structures of *Entamoeba*, *Giardia*, *Leishmania*, *Naegleria*, *Plasmodium*, *Trichomonas*, and *Trypanosoma* and their medical and taxonomical consequences[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87 : 2414-2418.

[18] Markert CL, Moller F. Multiple forms of enzymes, tissue, ontogenetic, and species specific patterns[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1959, 45 : 753.

[19] Gradus MS, Matthews HM. Electrophoretic analysis of soluble proteins and esterase, superoxide dismutase and acid phosphatase isoenzymes of members of the protozoan family Trichomonadidae[J]. *Comp Biochem Physiol B*, 1985, 81 : 229-233.

[20] Salem SA, Azab ME, Abd-el-Ghaffar FM, *et al.* Characterization of Egyptian isolates of *Trichomonas vaginalis* I. Isoenzyme patterns[J]. *J Egypt Soc Parasitol*, 1992, 22 : 675-682.

[21] Soliman MA, Ackers JP, Catterall RD. Isoenzyme characterization of *Trichomonas vaginalis*[J]. *Br J Vener Dis*, 1982, 58 : 250-256.

[22] Proctor EM, Naaykens W, Wong Q, *et al.* Isoenzyme pattern of isolates of *Trichomonas vaginalis* from Vancouver[J]. *Sex Transm Dis*, 1988, 15(4) : 181-185.

[23] Vohra H, Sharma P, Sofi BA, *et al.* Correlation of zymodeme patterns, virulence and drug sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolates from women[J]. *Indian J Med Res*, 1991, 93 : 37-39.

[24] Stiles JK, Shah PH, Xue L, *et al.* Molecular typing of *Trichomonas vaginalis* isolates by HSP70 restriction fragment length polymorphism [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2000, 62 : 441-445.

[25] Cindy DS, Hans JFS, Willem I. vdM, *et al.* Host and pathogen interaction during vaginal infection by *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma hominis* or *Ureaplasma urealyticum*[J]. *J Microb Methods*, 2001, 45 : 61-67.

[26] Riley DE, Samadpour KJN. Detection of variable DNA repeats in diverse eukaryotic microorganisms by a single set of polymerase chain reaction primers[J]. *J Clinical Microbiol*, 1991, 29 : 2746-2751.

[27] Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucl Acid Res*, 1990, 18 : 6531-6535.

[28] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers[J]. *Nucl Acid Res*, 1990, 18 : 7213-7218.

[29] Felleisen RSJ. Comparative genetic analysis of trichomonad protozoa by the random amplified polymorphic DNA technique[J]. *Parasitol Res*, 1998, 84 : 153-156.

[30] Vanacova S, Tachezy J, Kulda J, *et al.* Characterization of Trichomonad species and strains by PCR fingerprinting[J]. *J Euk Microbiol*, 1997, 44 : 545-552.

- [31] Wang AL, Wang CC. A linear double-stranded RNA in *Trichomonas vaginalis*[J]. *J Biol Chem*, 1985 260 3697-3702.
- [32] Champney WS, Curtis SK, Samuels R. Cytopathology and release of an RNA virus from a strain of *Trichomonas vaginalis*[J]. *Parasitology*, 1995 1463-1471.
- [33] Wang AL, Wang CC, Alderete JF. *Trichomonas vaginalis* phenotypic variation occurs only among trichomonads infected with the double-stranded RNA virus[J]. *J Exp Med*, 1987 166 142-150.
- [34] Snipes LJ, Gamard PM, Narcisi EM, et al. Molecular epidemiology of metronidazole resistance in a population of *Trichomonas vaginalis* clinical isolates[J]. *J Clinical Microbiology*, 2000 38 3004-3009.
- [35] Hampl V, Vanacova S, Kulda J, et al. Concordance between genetic relatedness and phenotypic similarities of *Trichomonas vaginalis* strains [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2001 1 11.
- [36] Narcisi EM. *In vitro* effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996 40 1121-1125.
- [37] Lazara R, Jorge F, Idalia S. Genetic variability between *Trichomonas vaginalis* isolates and correlation with clinical presentation[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2004 4 53-58.
- [38] Hillis DM, Dixon MT. Ribosomal DNA : molecular evolution and phylogenetic inference[J]. *Q Rev Biol*, 1991 66 411-453.
- [39] Gunderson JG, Leipe HD, Morrison HG, et al. Phylogeny of trichomonads inferred from small-subunit rRNA sequences[J]. *J Eukaryot Microbiol*, 1995 42 411-415.
- [40] Saurina GR, McCormack WM. Trichomoniasis in pregnancy[J]. *Sex Transm Dis*, 1997 24 361-362.
- [41] Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, et al. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia[J]. *Acta Oncol*, 2000 39 71-75.
- [42] Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, et al. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*[J]. *Clin Microbiol Rev*, 1998 11 : 300-317.

(收稿日期 : 2004-05-20 编辑 : 富秀兰)

【 简报 】

肾 棘 球 蚴 病 8 例

葛春鸣, 王戈泉

文章编号 : 1000-7423(2005)-01-0055-01

中图分类号 : R532. 32

文献标识码 : B

棘球蚴病是牧区常见的地方病。人是中间宿主, 如果误食犬细粒棘球蚴虫卵, 即在十二指肠孵化成六钩蚴, 穿过肠黏膜潜入门静脉, 寄生于肝脏。六钩蚴也可穿过门静脉, 寄生于肺脏。人的棘球蚴病多发于肝、肺, 仅有极少量的六钩蚴随动脉血流进入全身其他脏器^[1]。新疆伊犁州新华医院 1987 ~ 2002 年, 共治疗棘球蚴病 524 例, 其中肾棘球蚴病 8 例, 报告如下。

1 资料与方法

搜集伊犁州新华医院 1987 ~ 2002 年, 经手术治疗的肾细粒棘球蚴病 8 例。标本均经 10% 甲醛固定, 常规石蜡切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜观察。并结合其发病情况、临床表现及诊断和治疗方法等进行讨论。

2 结果

524 例中, 肾细粒棘球蚴病 8 例, 占 1.5%。其中, 男 4 例, 女 4 例。维吾尔族 5 例, 哈萨克族 3 例。年龄最小 8 岁, 最大 50 岁。单肾单发 6 例, 肾与肝同时发病 1 例, 双肾多发 1 例, 合并感染 1 例。棘球蚴囊直径为 1 ~ 12 cm, 7 例肾内皆为单囊, 1 例为多囊。主要临床表现: 早期可无任何症状, 随着棘球蚴囊肿的增大出现患侧腰部胀痛, 上腹部可触及大小不等的包块, 腰区有轻度扣击疼。

3 讨论

棘球蚴病为牧区常见病, 犬为其终宿主, 羊为主要中间宿主。患者的生存环境、生活习惯以及与犬的接触史, 对本病的诊断有极为重要意义。本组肾细粒棘球蚴病 8 例中, 5 例为牧民, 3 例来自半农牧区, 均有与犬的密切接触史。早期棘球蚴病多无症状和体征, 随着棘球蚴囊肿的逐渐增大, 患侧腰部

或上腹部可触及包块, 并有腰部胀痛感及轻度扣击痛。绞痛发作比较少见。本组有 5 例在上腹部可触及包块, 并有一定弹性, 张力大。借以与肾囊肿、多囊肾、肾肿瘤相鉴别。

本组 7 例卡索尼皮内试验均为阳性, 反应率高达 90% 以上。可与肾囊肿、肾积水、多囊肾相鉴别。X 线检查, 肾棘球蚴的外囊壁较薄, 平片显示患侧肾阴影增大。逆行肾盂造影可见肾盂肾盏被压迫。本组 5 例 B 超检查, 病变部位显示圆形无回声区, 囊壁光滑呈“双壁征”, 与周围组织界限清。

外科手术是治疗肾棘球蚴囊肿有效方法。本组 4 例棘球蚴囊肿较大, 压迫肾实质, 致使肾实质萎缩成一薄层, 另肾正常。行病肾切除, 治愈。内囊完整摘除 3 例。其中有 1 例采用内囊穿刺摘除法, 即在外囊壁最薄处用注射器穿刺, 抽出大部分囊液 (减张) 后, 切开外囊, 吸尽囊液, 取出内囊。必须注意, 穿刺过程中囊液外溢要及时吸除, 并以纱布严密保护周围组织, 防止头节移植。有 2 例为突出于肾表面的包囊, 采用内囊完整脱出法。即轻巧剪开外囊, 开口长约包囊直径, 做十字形剪开, 尽量敞开外囊, 因内囊柔软且充满囊液而有张力。剪开外囊后, 整个内囊便自行缓慢娩出。此法可避免囊液外溢和头节移植。内囊摘除后的残腔, 用蘸有双氧水或 10% 甲醛纱布球涂擦外壁杀死头节, 再用生理盐水冲洗。须尽量剪去无功能的外壁, 在残腔内壁双壁缝合拉拢, 连续内翻缝合外囊, 即可将残腔缝合或消除, 避免发生感染^[2]。

本组有 1 例行部分肾脏切除术, 即棘球蚴外囊完整切除术。适用于在肾脏一极、突出于肾表面的较小的棘球蚴囊。此法, 可保留大部分肾脏, 又可避免残腔纤维化和继发改变。

参 考 文 献

- [1] 甘肃省人民医院《人体棘球蚴病》编写组. 人体棘球蚴病[M]. 兰州 : 甘肃人民出版社, 1973. 219-222.
- [2] 徐明谦. 肾棘球蚴病[J]. 中华泌尿外科杂志, 1980 1 36.

(收稿日期 : 2004-11-01 编辑 : 富秀兰)