

犬贾第虫携病毒株体外纯培养的建立

陈丽凤^{1,2}, 李建华^{1*}, 张西臣¹, 刘全³, 赵月平¹, 曹利利¹

【摘要】 目的 培养一携带犬贾第虫病毒的犬贾第虫 (*Giardia canis*) 细胞株。方法 用蔗糖密度梯度离心-G1 耐酸漏斗过滤法纯化犬贾第虫包囊, 经口接种 5 日龄长爪沙鼠 (*Meriones unguiculata*), 8 d 后于其十二指肠无菌收集犬贾第虫滋养体, 置改良的 TYI-S-33 培养基中培养, 待滋养体在培养管壁上形成细胞单层后进行传代。同时进行冻存和复苏实验, 以及纯度、稳定性、细胞生物学特性、微生物污染等 4 项指标检测。滋养体经液氮冻融 3 次后 3 000 × g 离心 15 min, 取上清, 用磷钨酸负染, 透射电镜观察病毒粒子。结果 犬贾第虫滋养体接种 14 d 后虫体逐渐适应了培养环境, 在培养管壁上形成细胞单层, 经上述 4 项指标检测, 证明形成了稳定的犬贾第虫细胞株。电镜观察, 见滋养体内有外观球形呈 20 面体结构、直径约为 36 nm 的病毒样粒子。结论 建立了携带 GCV 的犬贾第虫细胞株的体外纯培养。

【关键词】 犬贾第虫病毒; 体外培养; 改良 TYI-S-33 培养基

中图分类号: R382.213

文献标识码: A

Establishment of In vitro Cultivation of *Giardia canis* Trophozoites Infected with *Giardia canis* Virus

CHEN Li-feng^{1,2}, LI Jian-hua^{1*}, ZHANG Xi-chen¹, LIU Quan², ZHAO Yue-ping¹, CAO Li-li¹

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China; 2 Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066000, China; 3 Institute of Military Veterinary, Academy of Military Medical Sciences, Changchun 130062, China)

【Abstract】 Objective To cultivate a *Giardia canis* isolate with *G.canis* virus (GCV). Methods Five-day-old *Meriones unguiculatus* was infected with the cysts of *G. canis* isolated from dogs in Changchun and purified by sucrose density gradient centrifugation-G1 acid funnel filtration method. Trophozoites were isolated aseptically from the duodenum of the infected rodent after 8 days, then transferred to modified TYI-S-33 medium and cultivated at 37 °C. The trophozoites were centrifuged with 3 000 × g, 15 min after liquid nitrogen freeze-thawing three times and the supernatant stained negatively by phosphotungstic acid was observed with transmission electron microscope. Results *G. canis* trophozoites which adapted gradually to the environment and grew a cellular monolayer after 14 days were examined by freezing and thawing experiment, purity quotient, stability, biology characteristics and microbial contamination detection. The results demonstrated that a stable *G.canis* trophozoite cell isolate was established. *G. canis* virus with icosahedron spherical shape and 36 nm in diameter was observed by electron microscope. Conclusion In vitro cultivation of *G. canis* trophozoites with GCV is established.

【Key words】 *Giardia canis*; Virus; In vitro culture; Modified TYI-S-33 medium

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30300260)

* Corresponding author, E-mail: jianhuali7207@163.com

蓝氏贾第鞭毛虫 (*Giardia lamblia*) 病是世界性分布的人兽共患病, 主要症状是腹泻。迄今为止尚无理想的防治方法。贾第虫被称为“生物活化石”, 是由原核生物演化的、最保守的真核生物, 在生物学分类上处于重要地位^[1]。贾第虫病毒 (*Giardia lamblia* virus,

GLV) 是专性寄生于贾第虫体内的病毒^[2], 以此病毒改造的真核表达载体已广泛应用于 GLV 基因组结构和功能分析、贾第虫基因表达调控等方面的研究^[3-5]。我国对贾第虫病毒研究起步较晚, 喻建军等^[6]首次从犬贾第虫体内发现约 7.0 kb 双链 RNA (dsRNA) 病毒。田宗成等^[7]以贾第虫滋养体 (北京株) 总核酸为模板, 利用 RT-PCR 方法构建了人源蓝氏贾第虫病毒基因组全长 cDNA 克隆。Liu 等^[8]以我国人源蓝氏贾第虫病毒为载体, 在人贾第虫 (北京株) 中表达了绿色荧光蛋白基因。但对动物源性贾第虫病毒全基因组

基金项目: 国家自然科学基金 (No.30300260)

作者单位: 1 吉林大学畜牧兽医学院, 长春 130062; 2 河北科技师范学院, 秦皇岛 066000; 3 军事医学科学院军事兽医研究所, 长春 130062

* 通讯作者: E-mail: jianhuali7207@163.com

序列及其载体的研究尚无报道。贾第虫及其病毒的研究必须以纯培养的贾第虫为前提条件。本研究旨在培养一株携病毒的犬贾第虫细胞株,为我国犬贾第虫病毒的分子生物学研究奠定基础。

材料与方法

1 试验动物

试验犬,经粪检贾第虫阳性犬 29 只,其中沈阳警犬基地的警犬 22 只,河北昌黎家养普通犬 5 只,解放军军事兽医研究所饲养宠物犬 2 只。均为单独饲养。长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*),购自首都医科大学实验动物室。

2 试剂

DNA 提取试剂盒购自上海生工生物工程技术有限公司,二乙基焦碳酸酯 (diethylprocarbonate, DE-PC) 购自北京鼎国生物技术有限公司,蔗糖购自长春市医药试剂公司。RNA 酶抑制剂、蛋白酶 K、培养基所用试剂均购自美国 Promega 公司。

3 犬贾第虫包囊的分离和纯化

用蔗糖密度梯度离心-G1 耐酸漏斗滤过法。配制 0.85 mol/L 蔗糖溶液,4 °C 保存备用。30 ml 冷蔗糖 (0.85 mol/L) 加于 50 ml 离心管,小心加入预处理粪样 10 ml,500 ×g 离心 20 min,将水相与蔗糖间包囊带吸至另 1 离心管,用蒸馏水稀释后 650 ×g 离心 10 min,取沉淀,用蒸馏水稀释至 10 ml,重复上述操作 1 次。再将 10 ml 包囊液用蒸馏水稀释至 100 ml,过 G1 耐酸漏斗,滤液经 800 ×g 离心 10 min,用蒸馏水洗涤沉淀 2 次,收集沉淀,用蒸馏水稀释制备包囊悬液 (1 × 10⁶ 个包囊/ml),置 1.5 ml 离心管中备用。

4 “携带”贾第虫病毒的犬贾第虫包囊的初步筛选

取纯化的犬贾第虫包囊 8 × 10⁶ 个,加入裂解液 1 ml [含 100 mmol/L NaCl, 20 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA), pH 7.5 20 mmol/L Tris·HCl, 2% 十二烷基磺酸钠 (SDS), 2 mg/ml 蛋白酶 K],反复冻融 3 次 (液氮中冻 5 min, 23 °C 水浴 10 min, ×3 次), 56 °C 水浴 2 h,用酚/氯仿抽提总 DNA,上清加 1/10 体积的乙酸钠 (3 mol/L, pH 5.2) 和 2 倍体积冷乙醇,置 -20 °C 冰箱 2 h, 4 °C 10 000 ×g 离心 30 min,用 70% 冷乙醇淋洗,倾去上清,用滤纸吸干,真空抽吸 2~3 min,加入 50 μl 无 RNA 酶水溶解核酸,1% 琼脂糖凝胶电泳分析,选择含有贾第虫病毒核酸条带的犬贾第虫包囊样品作为犬贾第虫滋养体体外纯培养

的起始材料。

5 犬贾第虫滋养体的分离和培养

5.1 动物接种 取 5 日龄 (未断乳) 长爪沙鼠,上述初步筛选的“携带”病毒的包囊悬液经口注入乳鼠胃内 (0.2 ml /只,约含包囊 1 × 10⁴ 个),接种后再放回母鼠笼内喂养。

5.2 虫体的分离和培养 接种后 8 d 处死乳鼠。无菌剖腹,剪取上段小肠 (长约 0.5~1.0 cm),弃肠内容物,纵向剪开肠腔,置 4 °C 含 3 ml Tyrode 液 (含 0.25 g 葡萄糖、0.25 g NaHCO₃、0.05 g KCl、0.0125 g Na₂HPO₄ 和 2.0 g NaCl,加蒸馏水至 250 ml) 的尖底玻璃离心管内,振摇 10 min,使虫体与肠壁组织分离。取出肠段,以 500 ×g 离心 10 min,弃上清。沉淀 (内含滋养体) 加 0.5 ml 改良 TYI-S-33 培养基^[9],混匀后移至含新鲜培养基的培养管内,倾斜 5°~7°,于 37 °C 培养。每天用倒置显微镜观察、记录虫体生长情况。连续培养 3 d,每天将管内培养基吸出 1/3,再补充等量预热 37 °C 的新鲜培养基。此后,每隔 2~3 d 重复 1 次,直至虫体在管壁上形成密集的单层细胞为止。在上述操作过程中,陆续将小肠样品带入的残渣吸除 (切勿搅动虫体)。

6 细菌检测

每天肉眼观察管内培养物的清晰度。如液体混浊,提示有细菌污染的可能。应进一步检测及作细菌培养。取培养物样品,在显微镜下观察有无细菌污染。定期取样,分别接种于肉汤内和血琼脂平板上,置 37 °C 培养。每天观察肉汤的清晰度和平板上有无菌落出现。每份样品观察 3~5 d。

7 虫体传代

虫体在管壁上形成密集的单层细胞后,即可开始传代。传代前须使虫体从管壁脱落下来。在培养初期采取吹打法。用吸管反复用力吹打管壁使虫体脱落下来,混匀后,吸出 0.5~1.0 ml 培养物,转入新管培养。原管可加入等量新鲜培养基继续培养。经上述方法传代几次,待虫体在管内生长稳定后,即可采用冰浴法。先将培养管置于冰水中 10~15 min,取出后在双手掌间用力搓动数次,再将培养管上下颠倒摇动几次使虫体混匀。吸出 0.5~1.0 ml 转入新管培养,原管加入新鲜培养基继续培养。

8 虫体的冻存与复苏

8.1 虫体冻存 在冷冻前,用新鲜培养基配制含

10% (v/v) 二甲基亚砜 (DMSO) 的冻存液, 分装于 2 ml 塑料冷冻管内, 每管 0.5 ml, 4 °C 保存备用, 用前至少预冷 2 h。将培养 48~72 h 虫体生长旺盛的培养管, 置于冰水中 10~15 min 使虫体脱壁。混匀后用血球计数板计数虫体, 并用培养基调整虫液至 2×10^6 个虫体/ml。取 0.5 ml 虫液缓慢滴入含 0.5 ml 冻存液的冷冻管内, 混匀。标记后置 4 °C 冰箱 2 h, 取出, 置液氮表面初冻 20 min, 然后缓慢浸入液氮内。

8.2 虫体复苏 自液氮取出冷冻管, 立即置于 40 °C 水中轻摇。融化后, 将培养物移至含适量新鲜培养基的培养管内, 500 × g 离心 5 min, 弃冻存液。管内加满新鲜培养基, 置 37 °C 培养。第 2 天吸除 1/3~2/3 培养基, 再加入等量新鲜培养基继续培养。

9 犬贾第虫病毒粒子电镜观察

虫体经离心沉淀后, 加少许无菌蒸馏水, 液氮冻融 3 次 (液氮中冻 5 min, 23 °C 水浴 10 min), 2000 × g 离心 15 min, 取 1 滴上清滴于铜网面上, 然后将铜网面覆于 2%~4% 磷钨酸染色液面上进行负染, 1 min 之后取出, 吸出多余的磷钨酸, 晾干后电镜观察。

结 果

1 犬贾第虫包囊的分离纯化

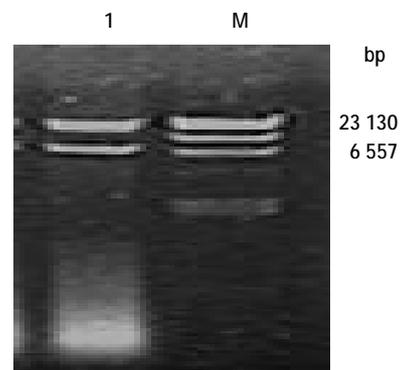
经蔗糖密度梯度离心纯化, 大量犬贾第虫包囊位于蔗糖和水相之间, 所得包囊经 G1 耐酸漏斗过滤后显微镜下观察, 见包囊纯净, 形态正常, 视野清亮, 粪便中的大多数细菌及其他杂质已除去 (图 1)。



图 1 犬贾第虫包囊 (×400)
Fig.1 The cysts of *G. canis* (×400)

2 携带贾第虫病毒的犬贾第虫包囊的筛选

用犬贾第虫包囊提取的核酸样品进行琼脂糖凝胶电泳。其中, 解放军军事兽医研究所宠物犬的犬贾第虫包囊提取的核酸电泳图谱上, 除观察到 1 条约 23 kb 的基因组条带外, 还观察到 1 条约 6.5 kb 的病毒核酸条带, 其余均为阴性 (图 2)。



1: 犬贾第虫滋养体总核酸, M: λ-HindIII 标志物。
1: Total nucleic acid of *G. canis*, M: λ-HindIII marker.

图 2 犬贾第虫滋养体总核酸电泳
Fig.2 Agarose gel electrophoretic analysis of total nucleic acid from trophozoites of *G. canis*

3 犬贾第虫滋养体的分离和培养

自长爪沙鼠小肠分离的滋养体接种于 TY1-S-33 培养基, 1 d 后大量虫体死亡, 仅少量虫体存活, 存活虫体大多成游离状态。3 d 后即见到个别虫体贴附于培养管壁, 5 d 后有少量虫体呈分裂状态。7 d 后虫体数量明显增多, 个别处有十几个虫体在一起铺成单层。14 d 后虫体已在管壁形成密集的细胞单层 (图 3)。经显微镜观察、肉汤和血琼脂平板培养, 结果表明, 贾第虫滋养体培养物内无细菌和 (或) 其他微生物生长, 属纯培养。

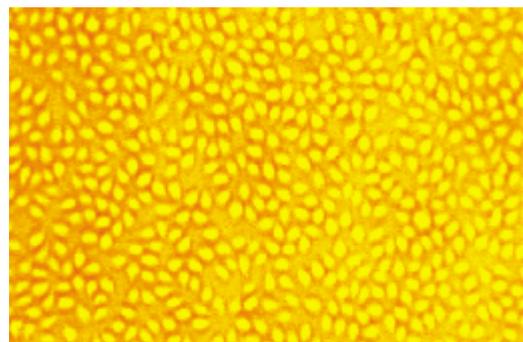


图 3 犬贾第虫滋养体 (×100)
Fig.3 The trophozoites of *G. canis* (×100)

4 虫体的传代、冻存与复苏

虫体在管壁形成细胞单层时进行传代, 以后每隔 48~72 h 传代 1 次, 经多次传代后虫体生长依然旺盛。虫体经吹打培养管壁法传代和冷却培养管法传代均获成功, 而且传 30 余代活力不减。传代同时进行液氮冻存。将在液氮内冻存 5 个月的虫体进行复苏, 复活率达 90% 以上, 复苏后的虫体再培养后形态及生长状况同前。

5 犬贾第虫病毒粒子的电镜观察

虫体经磷钨酸负染及电镜观察,发现病毒样粒子外观球形,呈 20 面体结构,直径约为 36 nm(图4)。图中的病毒粒子,发白的是完整的病毒粒子,发黑的是脱去核酸的病毒空壳。

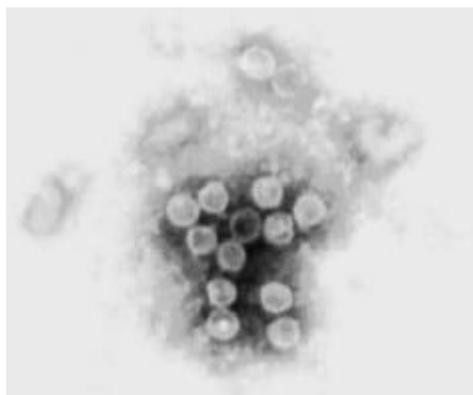


图 4 犬贾第虫病毒 ($\times 80\,000$)
Fig.4 *Giardia canis* virus ($\times 80\,000$)

讨 论

贾第虫呈世界范围分布,广泛寄生于人、哺乳动物、鸟类和两栖类动物。寄生于人和哺乳动物的是蓝氏贾第虫 (*Giardia lamblia*),根据不同宿主分为牛贾第虫 (*G.bovis*)、犬贾第虫 (*G.canis*)、羊贾第虫 (*G.caprae*) 和猫贾第虫 (*G.cati*) 等。寄生于两栖类动物的为敏捷贾第虫 (*G.agilis*);寄生于啮齿类的为鼠贾第虫 (*G.muris*)。此外,还有寄生于野鼠和麝鼠体内的 *G.microti*、寄生于鸚鵡体内的 *G.psicatti* 及寄生于苍鹭和朱鹭体内的 *G.ardeae*。贾第虫可引起人或动物的贾第虫病,主要症状是腹泻,在美国为必须报告的肠道寄生虫病之一。

关于贾第虫体外培养,1976 年美国研究者 Meyer 建立了自人体分离的蓝氏贾第虫纯培养 (axenic culture)。随后,世界各地相继出现了蓝氏贾第虫纯培养的报道^[10]。卢思奇等^[9]用改良 TYI-S-33 培养基成功培育了我国第一个贾第虫虫株 BEIJ88/BTMRI/1。赵永军等^[11]培育了我国第一个不含病毒的犬贾第虫虫株。本试验采用优化的改良 TYI-S-33 培养基,利用无菌纯培养技术对携带贾第虫病毒的犬贾第虫进行了体外纯培养,经纯度、稳定性、细胞生物学特性、微生物污染检测等,证实已形成了稳定的细胞株。

本试验首次在犬贾第虫滋养体的磷钨酸负染中观察到呈 20 面体结构的、直径约为 36 nm 病毒粒子,也证实了在贾第虫中确实存在多种贾第虫病毒。

贾第虫病毒 (*Giardia virus*) 是专性寄生于贾第虫体内的病毒,是国际病毒分类命名委员会正式承认并命名的第一个原虫病毒,属于不分节双链 RNA、真菌病毒科 (Totiviridae)、贾第鞭毛虫病毒属 (*Giardiavirus*)^[10]。Wang 等^[12]检查 76 株人源蓝氏贾第虫滋养体及其分离物,结果 28 株含病毒 dsRNA,大多数无病毒虫株对 GLV 易感。Johan 等^[13]从牛贾第虫 (*G.bovis*) 滋养体和猫贾第虫 (*G.cati*) 滋养体中分离到约 7.0 kb 的 dsRNA 病毒。Tai 等^[14]又从人源蓝氏贾第虫 (WB 株) 滋养体中分离到两种不同的 6.2 kb dsRNA 病毒,表明贾第虫存在多种不同的 dsRNA 病毒。

对贾第虫病毒的研究必须以携带病毒的贾第虫体外纯培养为前提条件。贾第虫生活史中有滋养体和包囊两个发育阶段。贾第虫包囊的分离和纯化是体外纯培养研究的基础,而包囊的获得主要来自感染动物的粪便。本次试验的关键是从临床分离、纯化并筛选携带病毒的犬贾第虫包囊。又对这些犬贾第虫包囊提取总核酸进行电泳,对“携带”贾第虫病毒的犬贾第虫包囊进行了初步筛选,结果显示在解放军军事兽医研究所单独饲养的 1 只 3 月龄宠物犬粪便中分离的包囊核酸电泳图谱中观察到了病毒条带。因此,这株包囊就作为此后的体外培养试验的最原始的材料。试验结果证明作者最初的筛选方法可靠。

犬贾第虫携病毒株体外纯培养的成功,可为进一步研究犬贾第虫病毒,以及开展犬贾第虫的生物学、生物化学及分子生物学、药物试验等研究提供充分的实验材料和重要的条件。

参 考 文 献

- [1] Wen JF, Li JY. Nuclear matrix of the most primitive eukaryote Archezoa[J]. *Sci Chin (Series C)*, 1998, 28: 423-430. (in Chinese)
(文建凡, 李靖炎. 最原始的真核生物-原真核生物的核骨架[J]. *中国科学(C辑)*, 1998, 28: 423-430.)
- [2] Wang AL, Wang CC. Discovery of a specific double-stranded RNA virus in *Giardia lamblia*[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1986, 21: 269-276.
- [3] Yu DC, Wang AL, Wang CC. Amplification, expression and packaging of a foreign gene by giardia virus in *Giardia lamblia*[J]. *J Virol*, 1996, 70: 8752-8757.
- [4] Dan M, Wang CC. Role of alcohol dehydrogenase E (ADHE) in the energy metabolism of *Giardia lamblia*[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2000, 109: 25-36.
- [5] Dan M, Wang AL, Wang CC. Inhibition of pyruvate-ferrodoxin oxidoreductase gene expression in *Giardia lamblia* by a virus-mediated hammerhead ribozyme[J]. *Mol Microbiol*, 2000, 36: 447-456.
- [6] Yu JJ, Zhang XC, Li JH, et al. Identification and characterization of *Giardia canis* dsRNA virus[J]. *Chin J Vet Sci*, 2001, 21: 475-478. (in Chinese)
(喻建军, 张西臣, 李建华, 等. 犬蓝氏贾第虫 dsRNA 病毒的分离、鉴定及特性研究[J]. *中国兽医学报*, 2001, 21: 475-478.)
- [7] Tian ZC, Zhang XC, Li JH, et al. Genome sequence of *Giardia*

- virus in *Giardia lamblia* isolated in China [J]. *Chin J Vet Sci*, 2003, 23: 573-575. (in Chinese)
(田宗成, 张西臣, 李建华, 等. 中国人源蓝氏贾第虫病毒组全长 cDNA 克隆及序列测定[J]. 中国兽医学报, 2003, 23: 573-575.)
- [8] Liu Q, Zhang XC, Li JH, et al. *Giardia lamblia*: stable expression of green fluorescent protein mediated by giardiavirus[J]. *Exp Parasitol*, 2005, 109: 181-187.
- [9] Lu SQ, Wang ZY, Zu H, et al. Axenic cultivation of *Giardia lamblia*[J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 1990, 8: 199-201. (in Chinese)
(卢思奇, 王正仪, 祝虹, 等. 贾第鞭毛虫纯培养的建立[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1990, 8: 199-201.)
- [10] Meyer EA. *Giardiasis*[M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990.
- [11] Zhao YJ, Zhang XC, Liu Q, et al. Axenic cultivation of *Giardia canis*[J]. *Chin J Zoonoses*, 2005, 21: 706-709. (in Chinese)
(赵永军, 张西臣, 刘全, 等. 犬贾第虫纯培养的建立[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21: 706-709.)
- [12] Wang AL, Wang CC. The discovery of a specific double-stranded RNA virus in *Giardia lamblia*[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1986, 21:269-276
- [13] Johan F, De Jonckheere, Gordts B. Occurrence and transfection of a *Giardia* virus[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1987, 23: 85-89.
- [14] Tai JH, Chang SC, Chou CF, et al. Separation and characterization of two *Giardia* virus in the parasitic protozoan *Giardia lamblia*[J]. *Virology*, 1996, 216: 124-132.
- (收稿日期:2005-11-14 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-7423(2006)-04-0265-03

【研究简报】

血吸虫性门脉纤维化及肝实质纤维化程度与门脉内径的关系

付晓¹, 罗新松¹, 侯循亚¹, 贺宏斌¹, 周杰¹, 王媛园¹, 何永康¹, Alain Dessein², 李岳生^{1*}

【提要】 在湖南省洞庭湖血吸虫病重度流行区以 B 超检测高频率暴露渔民的门脉及肝实质纤维化程度以及门脉内径, 分析其相关性。结果表明血吸虫性门脉纤维化及肝实质纤维化程度与门脉内径大小成正相关, 相关系数分别为 0.375 和 0.332, 具有显著性意义。作者认为门脉内径可以作为评估血吸虫病患者肝损程度的指标。

【关键词】 血吸虫病; 门脉; 肝纤维化

中图分类号: R532.21

文献标识码: B

Study on the Relationship Between the Degree of Periportal Fibrosis, Hepatic Parenchymatous Fibrosis and Diameter of Portal Vein in *Schistosoma japonicum* Infection

FU Xiao¹, LUO Xin-song¹, HOU Xun-ya¹, HE Hong-bin¹, ZHOU Jie¹, WANG Yuan-yuan¹, HE Yong-kang¹, Alain Dessein², LI Yue-sheng^{1*}

(1 Hunan Institute of Parasitic Diseases, Yueyang 414000, China; 2 French National Institute of Sanitation and Health, Marseilles, France)

【Abstract】 The degree of periportal fibrosis, hepatic parenchymatous fibrosis and the diameter of portal vein in fishermen from highly endemic area of schistosomiasis japonica in Dongting Lake region were measured. The results showed a significant correlation between the degree of periportal fibrosis and parenchymatous fibrosis and the portal venous diameter with a correlation coefficient of 0.375 and 0.332 respectively. The authors consider that the diameter of the portal vein can be used to assess the hepatic morbidity of patients.

【Key words】 *Schistosoma japonicum*; Hepatic Fibrosis; Portal vein

Supported by National 863 Hi-Tech Research and Development Program of China (No.2004AA2Z3610)

* Corresponding author, E-mail: yueshenl@qimr.edu.au

便携式和高分辨力超声诊断仪, 对血吸虫病病程估计及肝脏受损程度评估具有重大实用价值, 并已积累了丰富的经验^[1]。血吸虫病所致肝门脉及其分支血管壁的纤维化在 B 型超声诊断声像图上可呈现特异性改变^[2]。为探索门脉纤维化及肝实质纤维化程度与门脉内径 (portal venous diameter, PVD) 的关

系, 作者于 2005 年 4 月及 11 月在湖南省洞庭湖血吸虫病重度流行区对专业渔民家庭进行了 B 超检查, 结果报告如下。

1 内容及方法

1.1 研究对象 2005 年作者在湖南省洞庭湖血吸虫病重度流行区岳阳县麻塘、鹿角及益阳市明朗、莲花、澎湖潭村, 以专业渔民家庭为调查对象, 共检查渔民 805 人, 其中男性 481 人, 女性 324 人, 平均年龄 38.4 岁。 (下转第 289 页)

基金项目: 国家 863 高技术研究发展计划 (No. 2004AA2Z3610)

作者单位: 1 湖南省血吸虫病防治所, 岳阳 414000;

2 法国国立卫生与健康研究院

* 通讯作者, E-mail: yueshenl@qimr.edu.au