

同进行二向分离,对于寻找特异性的抗原较为有利。此外,本研究还发现,在蛋白质印迹实验中转膜方法、发光试剂盒的种类以及分析软件的选择等都会对实验结果产生影响,所以在分析中应注意避免这些干扰因素,使结果更加精确有效。

本研究利用 2-DE 和 Western blotting 技术分析裂头蚴蛋白质,获得了裂头蚴双向电泳图谱和特异性抗原斑点数据。图谱显示有 376 个蛋白斑点,这些蛋白点主要集中在小分子量(M_r 18 840~46 800)的范围内,从等电点来看,裂头蚴蛋白多数为酸性蛋白,分布在等电点 4.0~7.0 内的有 246 个,占总数的 67.0%。另外,Western blotting 结果示 30 个特异性蛋白斑点能被感染小鼠的血清识别。

本研究显示小鼠经口感染裂头蚴后,血清中可产生高滴度、高亲和力、维持时间较长的 IgG 抗体。经检测在感染后第 8 周 IgG 抗体在小鼠血清中达到高峰,故选用第 8 周的感染小鼠血清作为一抗进行特异性蛋白区带或蛋白斑点的筛选。另外,蛋白质印迹实验中还发现,用健康小鼠的血清进行筛选时,会出现非特异性的蛋白区带或蛋白斑点。因此,下一步的工作是将对筛选出的特异性蛋白区带或蛋白斑点作质谱鉴定,分析蛋白的结构、性质和功能,为筛选干预性治疗和诊断的靶点提供有利的依据。

参 考 文 献

[1] Wang Y, Ye LP, Sun YW, *et al.* The potential of rapid detection for specific antibodies in diagnosing sparganosis using plerocercoid soluble antigen[J]. Chin J Pathogen Biol, 2006, 1(4):

260-262. (in Chinese)
(王越,叶丽萍,孙亚维,等.曼氏裂头蚴可溶性抗原 DIGFA 法快速检测特异性抗体的潜在诊断价值[J].中国病原生物学杂志,2006,1(4):260-262.)

[2] Wu ZJ, Chen Y, Qiu XL, *et al.* Investigation of frog plerocercoids in Guiyang city and clinical characteristics analysis of 104 cases[J]. J Guiyang Med Coll, 2007, 32(2): 140-142. (in Chinese)

(吴泽江,陈艳,裘学丽,等.贵阳市农贸市场青蛙裂头蚴感染调查及 104 例临床病例分析[J].贵阳医学院学报,2007,32(2):140-142.)

[3] Jing BQ, Deng SS, Zhang RG, *et al.* Comparative proteomic analysis of the promastigotes and amastigotes of *Leishmania donovani*[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2009, 27(2): 102-106. (in Chinese)

(敬保迁,邓世山,张仁刚,等.杜氏利什曼原虫前鞭毛体和无鞭毛体的比较蛋白质组学分析[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2009,27(2):102-106.)

[4] Wang W, Scali M, Vignani R, *et al.* Protein extraction for two-dimensional electrophoresis from olive leaf, a plant tissue containing high levels of interfering compounds[J]. Electrophoresis, 2003, 24(14): 2369-2375.

[5] Li LJ, Bao HN, Pan W. Analysis of *Toxoplasma gondii* specific antigens by two dimensional electrophoresis and Western blotting [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(4): 318-320. (in Chinese)

(李林杰,包怀恩,潘卫.应用双向电泳及蛋白质印迹分析弓形虫特异性抗原[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2008,26(4):318-320.)

[6] Choi SH, Kang SY, Kong Y, *et al.* Antigenic protein fractions reacting with sera of sparganosis patients[J]. Korean J Parasitol, 1988, 26(3): 163-167.

[7] Zhou JC, Cao QR, Peng XC. A study on immunological characteristics of *Sparganum mansoni* antigen and the detection of specific antibody in experiment host[J]. Bull Hunan Med Univ, 1995, 20(3): 208. (in Chinese)

(周金春,曹庆仁,彭先楚.曼氏迭宫绦虫裂头蚴抗原的免疫特性及特异性抗体检测[J].湖南医科大学学报,1995,20(3):208.)

(收稿日期:2009-07-14 编辑:杨频)

文章编号:1000-7423(2010)-02-0132-03

【研究简报】

曼氏裂头蚴病流行病学调查及动物实验

蔺西萌*, 刘长军, 张红卫, 郑丽媛, 颜秋叶, 贺丽君, 赵旭东

【提要】 2008 年 4~11 月在河南省漯河市开展曼氏裂头蚴病流行病学调查。现场采集并检测中间宿主感染情况,包括显微镜检查剑水蚤体内曼氏迭宫绦虫原尾蚴,解剖镜下观察青蛙和蝌蚪皮下、肌肉组织和内脏感染裂头蚴的状况。水洗沉淀法收集终宿主家猫和犬粪便,镜检计数虫卵。收集蝌蚪体内的裂头蚴灌胃感染家猫,观察其排卵情况。结果显示,剑水蚤、蛙类和蝌蚪的感染率分别为 3.5%(3/85)、35.9%(120/334)和 16.8%(75/446)。调查家猫 3 只、犬 31 只,分别有 1 只和 6 只 (19.4%)感染曼氏迭宫绦虫。感染家猫裂头蚴后 12 d 粪检,曼氏迭宫绦虫卵阳性,25 d 自小肠取出 17 条曼氏迭宫绦虫成虫。表明河南省漯河市为曼氏裂头蚴病疫源地,终宿主和中间宿主感染率均较高。当地居民有生食蝌蚪的不良习俗是感染曼氏裂头蚴的主要原因。

【关键词】 曼氏裂头蚴病;流行病学调查;蝌蚪;动物实验

中图分类号:R532.31

文献标识码:B

Epidemiological Investigation on Sparganosis mansoni and Animal Experiments

LIN Xi-meng*, LIU Chang-jun, ZHANG Hong-wei, ZHENG Li-yuan,
YAN Qiu-ye, HE Li-jun, ZHAO Xu-dong

(Henan Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, China)

[Abstract] The investigation was made in Luohe City of Henan Province from April to November, 2008. Cyclops were collected and plerocercoids of *Spirometra mansoni* were examined by microscope. Skin, muscle and internal organs of frogs and tadpoles were checked to detect spargana by naked eye and/or anatomical microscope. Feces of cats and dogs were collected to examine eggs after washing and precipitation. Spargana from tadpoles were collected to infect cats by oral inoculation. Results showed that the infection rate of plerocercoids in cyclops was 3.5% (3/85) and that of spargana in tadpoles and frogs was 35.9% (120/334) and 16.8% (75/446), respectively. Among 3 cats and 31 dogs investigated, 1 and 6 (19.4%) were found infected respectively. Eggs of *Spirometra mansoni* were found in feces of cats 12 days after infection. 17 adult worms were found in the intestine of the cat on the 25th day. The habit of eating live tadpoles was found in local residents. The investigation reveals a high prevalence of *Spirometra mansoni* in the intermediate and final hosts. Eating live tadpoles seems a main reason of getting sparganosis mansoni.

[Key words] Sparganosis mansoni; Epidemiological survey; Tadpole; Animal experiment

Supported by a Key Project of Medical Science and Technology of Henan Province (No. 200903151)

* Corresponding author, E-mail: linximeng8@163.com

曼氏裂头蚴病(sparganosis mansoni)是人兽共患寄生虫病, 食生蛙肉、局部贴敷蛙肉消炎, 或误食生水中的剑水蚤是常见的感染方式, 近年来在河南省发现有因食生蝌蚪而感染曼氏裂头蚴者^[1]。为确认曼氏裂头蚴病疫源地的存在, 以及中间宿主的传播作用, 本研究于 2008 年 4~11 月在河南省漯河市姬石乡康洼村进行曼氏裂头蚴病流行病学调查和动物感染实验。

1 材料与方法

1.1 调查点概况 2008 年 4~11 月选择漯河市姬石乡康洼村为调查点。漯河市位于河南省中部偏南, 伏牛山东麓平原和淮北平原交错带。北纬 33°24'~33°59', 东经 113°27'~114°16', 面积 2 617 km²。属暖湿性季风气候, 四季分明, 冬季寒冷干燥, 夏季高温多雨, 境内有河流 81 条, 均属淮河水系, 主要有沙河、澧河和颍河等。康洼村 1 300 人, 居民多散养猫、犬, 村内、村周有数十个大小不同的水坑、水塘, 雨季常有积水, 塘内有蝌蚪、青蛙等, 周边多堆积生活垃圾。居民有食生蝌蚪“败火”消炎的习俗。

1.2 宿主调查

1.2.1 终宿主犬、猫调查 在调查点收集猫、犬粪便, 逐一编号, 带回实验室经过水洗、沉淀、取渣镜检虫卵并计数。

1.2.2 第一中间宿主剑水蚤调查 2008 年 7 月在蝌蚪孳生的水坑, 用细网捞取剑水蚤, 显微镜检查鉴别, 并记录原尾蚴感染剑水蚤情况。

1.2.3 第二中间宿主蛙类和蝌蚪调查 2008 年 8~9 月在调查点对捕捉的青蛙进行编号、称重, 鉴别蛙种后在解剖镜下逐只解剖, 检查皮下、肌肉和内脏等曼氏裂头蚴感染情况, 发现肌

肉中有白色可疑物, 即分离取出, 观察鉴定, 并记录其寄生部位和数量等^[2]。2008 年 4 月和 7 月, 同法对两批捕捞的蝌蚪逐只解剖、分离收集裂头蚴, 在清洁载玻片 (5 cm×7.5 cm) 中央滴生理盐水 2 滴, 将裂头蚴置于水滴中央观察形态。

1.3 动物感染实验 在郑州宠物市场购买 3 月龄家猫 1 只, 体重 5 kg。连续 3 d 粪检阴性排除曼氏迭宫绦虫和其他绦虫感染。自流行区采集蝌蚪, 解剖收集存活的裂头蚴, 备用。用乙醚轻度麻醉家猫, 灌胃感染 33 条裂头蚴。感染 10 d 后逐天收集粪便, 经水洗过滤、沉淀, 镜检虫卵, 记录排卵时间、计算排卵量^[3]。26 d 后麻醉实验猫, 解剖, 观察裂头蚴寄生部位、分离虫体。镜下观察裂头蚴头节、体节, 并鉴定成虫^[4]。

2 结果

2.1 终宿主猫和犬调查 采集、检查 3 只猫和 31 只犬粪样, 其中 1 只猫、6 只 (19.4%) 犬粪曼氏迭宫绦虫卵阳性。虫卵计数, 犬粪平均为 1 488 个/g (1 133~2 666 个/g), 猫粪为 2 666 个/g。

2.2 中间宿主调查 第一中间宿主调查结果显示, 检查的 85 只剑水蚤均为广布中剑水蚤 (*Mesocyclops leuckarti*)^[5], 阳性 3 只, 感染率为 3.5%, 检出原尾蚴数分别为 3、4 和 5 条。第二中间宿主调查结果如下, 共调查青蛙 334 只, 阳性率为 35.9% (120/334)。6 只中华蟾蜍 (*Bufo bufogargarizans*) 中阳性 3 只, 泽蛙 (*Rana limnocharis*) 和黑斑蛙 (*R. nigromaculata*) 的阳性率分别为 43.8% (14/32) 和 34.8% (103/296)。按调查地点分, 村内坑塘 44 只, 村周鱼塘 17 只, 集市调查 273 只 (捕于河道), 阳性率分别为 56.8%、70.6% 和 30.4%。120 只阳性蛙中共检获 831 条曼氏裂头蚴, 平均每只感染 6.93 条, 寄生部位以大腿和背肌为主, 分别为 554 条和 216 条, 占 66.7% 和 17.5%。曼氏裂头蚴长度为 (9~50) mm, 平均为 30.3 mm。

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目 (No. 200903151)

作者单位: 河南省疾病预防控制中心, 郑州 450016

* 通讯作者, E-mail: linximeng8@163.com

4 月底采集、解剖蝌蚪 500 只，均为阴性。7 月在同一调查点再次采集、解剖蝌蚪 446 只，阳性率为 16.8%(75/446)。共检出曼氏裂头蚴 148 条，每只检出 1~14 条不等，平均 1.97 条/只。镜下观察曼氏裂头蚴呈白色带状、长 (2.7~21.3) mm，平均(9.02±3.83) mm。感染部位以腹腔、皮下和肢体较多，分别为 65、54 和 24 条，占 43.9%、36.5%和 16.2%，其他脊背部肌肉寄生 3 条、尾部 2 条。

2.3 家猫感染实验 从蝌蚪检获的曼氏裂头蚴经口感染家猫后，第 12~13 天粪检发现曼氏迭宫绦虫卵，15 d 后虫卵密度高达 70 930 个/g 粪便。第 25 天解剖家猫，在小肠中段至直肠检出成虫 17 条，长度为(26~45) cm，平均 35.59 cm。其头端呈四棱状，背、腹各有 1 条吸槽，其他部位，如胸腔、腹腔、心、肝、肺、肌肉等组织脏器均未见曼氏裂头蚴。

3 讨论

曼氏裂头蚴病在我国流行甚广，全国 31 省(市、自治区)均有人体曼氏裂头蚴病报道，疫源地以南方省区较为多见。目前河南省有 3 例报道^[6]。河南省东南部淮河流域的池塘、沟渠、洼地众多，每年 5~7 月降雨较为集中，气温适宜，是各种蛙类产卵孵出蝌蚪的最佳季节。当地居民有食生蝌蚪“败火”的习俗，增加感染裂头蚴的机会。本次调查在当地终宿主犬、猫，中间宿主剑水蚤、蝌蚪和青蛙体内均发现病原体，证实当地为曼氏裂头蚴病疫源地。

本次调查犬感染率 (19.4%) 高于文献报道的 13.2%^[7]，可能与该村散养的犬、猫常在坑周随处觅食、排便有关。本次调查结果显示，4 月底捕获的蝌蚪未检出裂头蚴，与曼氏迭宫绦虫生活史周期相吻合^[8]。7 月蝌蚪感染率为 16.8%，流行季节蝌蚪密度非常高，传播几率也大。蛙的感染率国内外报道较多^[9,10]，本调查显示村内、村周围鱼塘的蛙感染率明显高于河道。这可能与前者位于居民生活区，更容易实现整个生活史过程有关。但本次调查范围较为局限，有待于进一步扩大调查。

蝌蚪与青蛙体内裂头蚴形态基本一致，平均长度前者明显短于后者。解剖可见蛙裂头蚴检出部位主要为四肢肌肉、脊背肌。而蝌蚪则以腹腔、皮下为多。蝌蚪感染率和带虫率均低于蛙，但孳生地较为局限、密度较高，所以当食入蝌蚪数量较多时更易感染。调查发现流行区居民多有食生蝌蚪习俗，有用蝌蚪泥贴敷现象，因此为当地感染曼氏裂头蚴病的主要原因。

本研究以蝌蚪体内检获的曼氏裂头蚴感染终宿主猫，猫粪中检出曼氏迭宫绦虫卵，肠道发现曼氏迭宫绦虫成虫，镜下观察成虫形态与作者以前以福建蛇曼氏裂头蚴感染猫所获成虫一致。自猫感染曼氏裂头蚴到其粪便检出曼氏迭宫绦虫卵时间为 12 d，明显少于文献报道的 3 周时间^[11]。本研究通过动物实验证实蝌蚪可作为曼氏迭宫绦虫的中间宿主，结合当地有食生蝌蚪“败火”的不良习俗、不断有曼氏裂头蚴病例出现的情况，应

引起有关卫生防疫部门的重视。

参 考 文 献

[1] Lin XM, Liu CJ, Yan QY, *et al.* Investigation and analysis on infection of sparganum mansoni by eating alive tadpole[J]. Chin J Zoonoses, 2008, 24(12): 1173-1175. (in Chinese)
(蔺西萌, 刘长军, 颜秋叶, 等. 生食蝌蚪感染裂头蚴发病的发现与调查[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(12): 1173-1175.)

[2] Ye LP, Qin ZQ, Sun YW, *et al.* The distribution and control of sparganum mansoni in frog[J]. Chin J Pub Hlth, 2003, 19(11): 1368. (in Chinese)
(叶丽萍, 秦志强, 孙亚维, 等. 曼氏裂头蚴在青蛙体内的分布及防治[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(11): 1368.)

[3] Shen JL. Clinical Parasitology and Laboratory Technology[M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008; 76-77. (in Chinese)
(沈继龙. 临床寄生虫学与检验[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 76-77.)

[4] Yu ES. Zoonoses in China[M]. 2nd ed. Fuzhou: Fujian Science & Technology Publishing House, 1996: 992-998. (in Chinese)
(于恩庶. 中国人兽共患病学[M]. 第 2 版. 福州: 福建科学技术出版社, 1996: 992-998.)

[5] Feng LZ, Mao SB. Parasitology[M]. Shanghai: Shanghai Science & Technology Publishing House, 1964: 1077-1086. (in Chinese)
(冯兰洲, 毛守白. 寄生虫病学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964: 1077-1086.)

[6] Xu LQ, Yu SH, Xu SH. Distribution and Pathogenic Impact of Human Parasites in China[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 226-228. (in Chinese)
(许隆祺, 余森海, 徐淑惠. 中国人体寄生虫分布与危害[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 226-228.)

[7] Chen SL, Zhang YK. An investigation and research of zoonosis in dogs[J]. J Hengyang Med Coll, 1996, 24(4): 277-278. (in Chinese)
(陈善龙, 张愉快. 家犬人兽共患病的调查研究[J]. 衡阳医学院学报, 1996, 24(4): 277-278.)

[8] Zhao WX. Human Paratitology[M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994: 636-647. (in Chinese)
(赵慰先. 人体寄生虫学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 636-647.)

[9] Ye LP, Sun YW, Xu GZ, *et al.* An analysis of plerocercoid infection of frogs in Ningbo City[J]. Chin J Zoonoses, 2005, 21(5): 443, 378. (in Chinese)
(叶丽萍, 孙亚维, 许国章, 等. 宁波市青蛙裂头蚴感染分析[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(5): 443, 378.)

[10] Wu ZJ, Chen Y, Qiu XL, *et al.* An investigation of plerocercoid infection in frogs in Guiyang City and clinical analysis of 104 cases [J]. J Guiyang Med Coll, 2007, 32(2): 140-141. (in Chinese)
(吴泽江, 陈艳, 裘学丽, 等. 贵阳市农贸市场青蛙裂头蚴感染调查及 104 例临床病例分析[J]. 贵阳医学院学报, 2007, 32(2): 140-141.)

[11] Li YL. Human Parasitology[M]. 7th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 136-139. (in Chinese)
(李雍龙. 人体寄生虫学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 127-131.)

(收稿日期: 2009-06-19 编辑: 杨频)