

文章编号:1000-7423(2012)-01-0036-05

【论著】

# 广西 10 例人芽囊原虫基因型和同工酶谱的研究

战廷正, 石焕焕\*, 何姗姗, 刘腾

**【摘要】** 目的 分析广西 10 个人芽囊原虫 (*Blastocystis hominis*) 分离株基因型, 及其乳酸脱氢酶 (LDH) 和酯酶 (EST) 的同工酶谱特征。方法 从感染者粪便中分离到的 10 个人芽囊原虫 (*BhGX1~BhGX10*), 体外培养并提取基因组 DNA。用已知的 7 对特异性序列标记位点 (sequence tagged sites, STS) 引物 PCR 扩增, 来鉴定基因型。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 分别进行乳酸脱氢酶和酯酶 2 种同工酶染色, 比较分析 10 个分离株的酶谱。结果 10 个人芽囊原虫分离株中有 8 个为基因 I 型; 另外 2 个分离株 (*BhGX4* 和 *BhGX7*) 经 7 对引物扩增均为阴性, 为未知基因型。10 个人芽囊原虫分离株在 LDH 谱中共出现 10 条酶带, 常见酶带为 Rm37、Rm49、Rm57、Rm68 和 Rm92; 在 EST 谱中共出现 12 条酶带, 其中 Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm45、Rm50 和 Rm77 酶带较常见。各分离株之间的 LDH 和 EST 同工酶谱均存在差异。结论 广西 10 个人芽囊原虫分离株以基因 I 型为主, 但各分离株之间的 LDH 和 EST 同工酶谱存在差异。

**【关键词】** 人芽囊原虫; 基因型; 同工酶; 电泳

中图分类号: R382.319

文献标识码: A

## Genotype Analysis and Isoenzyme Patterns of Ten Isolates of *Blastocystis hominis* from Guangxi

ZHAN Ting-zheng, SHI Huan-huan\*, HE Shan-shan, LIU Teng

(Department of Parasitology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**【Abstract】** **Objective** To analyze genotypes and lactate dehydrogenase (LDH) and esterase (EST) patterns in 10 isolates of *Blastocystis hominis* collected from Guangxi. **Methods** Ten *B. hominis* isolates (*BhGX1~BhGX10*) were obtained from the fecal specimens of patients and cultivated *in vitro*, and then the genomic DNA was extracted. The isolates were genotyped by PCR using seven pairs of known sequenced-tagged site (STS) primers. Isoenzyme patterns of LDH and EST were investigated by SDS-PAGE. **Results** Out of the 10 isolates, 8 were identified as genotype I and the genotypes of the other two (*BhGX4* and *BhGX7*) were unknown which were negative to all the STS primers. Among the ten isolates, 10 LDH bands were found, more with Rm37, Rm49, Rm57, Rm68 and Rm92. 12 bands showed in EST patterns: Rm14, Rm18, Rm23, Rm27, Rm35, Rm41, Rm45, Rm50, Rm55, Rm68, Rm77 and Rm82. Difference existed with the LDH and EST patterns among the isolates. **Conclusion** Genotype I is the major one in the 10 *B. hominis* isolates from Guangxi, and the isolates show different isoenzyme patterns for LDH and EST.

**【Key words】** *Blastocystis hominis*; Genotype; Isoenzyme; Electrophoresis

Supported by the Natural Science Fund of Guangxi (No. 0991140)

\* Corresponding author, E-mail: hh.shi@tom.com

人芽囊原虫 (*Blastocystis hominis*) 是常见的人类肠道寄生原虫之一, 主要分布在热带和亚热带地区, 发展中国家感染率明显高于发达国家<sup>[1,2]</sup>。人芽囊原虫曾长期被误认为是一种对人体无害的肠道原虫, 但越来越多的数据表明它也能引起一些常见的临床症状<sup>[3,4]</sup>。目前, 有研究者认为人芽囊原虫的致病性与其基因

型有一定的关联<sup>[5,6]</sup>, 因此人芽囊原虫的分型已成为研究重点。应用限制性片段长度多态性聚合酶链反应 (PCR-RFLP) 技术对人芽囊原虫核糖体小亚基 SSU rDNA 序列的分析表明, 人芽囊原虫在人源和动物源中至少存在 10 个基因型或地理株<sup>[7]</sup>。广西地处亚热带, 温暖潮湿的气候使得广西人群的人芽囊原虫感染率高于全国平均水平。因此, 有必要阐明广西人芽囊原虫基因型的构成, 以及是否存在遗传差异等问题。本实验室先前的研究发现, 同工酶谱能反映人芽囊原

基金项目: 广西自然科学基金 (No. 0991140)

作者单位: 广西医科大学寄生虫学教研室, 南宁 530021

\* 通讯作者, E-mail: hh.shi@tom.com

虫各分离株之间的遗传差异<sup>[8]</sup>。本研究拟使用已知的 7 对 STS 引物<sup>[9]</sup>对相同的 10 个广西人芽囊原虫分离株进行基因分型,并检测各分离株的乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)和酯酶(esterase, EST)这两种同工酶谱,探讨同工酶谱在人芽囊原虫基因分型中的价值。

## 材料与方法

### 1 主要试剂和仪器

小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、吩嗪硫酸甲酯(PMS)和氧化性辅酶 I (NAD)购自美国 Sigma 公司,组织/细胞 DNA 抽提试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司, *Taq* DNA 聚合酶购自宝生物工程(大连)有限公司,蛋白酶抑制剂购自德国 Roche 公司(使用时将 1 片蛋白酶抑制剂溶于 1.5 ml 去离子水)。7 对 STS 引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。LDH 染色液(6 ml 5 mol/L 乳酸钠、20 mg NAD、15 mg NBT、2 mg PMS 溶于 40 ml 0.05 mol/L pH 8.0 Tris-HCl 缓冲液)和 EST 染色液( $\alpha$ -萘乙酸酯 100 mg、 $\beta$ -萘乙酸酯 100 mg、丙酮 20 ml、固蓝 RR 盐 100 mg 溶于 100 ml 0.05 mol/L pH 7.1 Tris-HCl 缓冲液)用时配置。

PCR 仪(Tpersonal)为德国 Whatman Biometra 公司产品,稳压稳流电泳仪(DYY-III 型)为北京六一仪器厂产品,753 紫外分光光度计为上海光学仪器厂产品,凝胶成像分析仪(Pro)为英国 UVItec 公司产品。

### 2 虫体的分离、培养和收集

从 10 例广西医科大学第一附属医院门诊人芽囊原虫感染者粪便中各挑取约 2 g 粪样,加入 7 ml Locke's 液搅匀,将粪汁滤入试管中,加 Locke's 液至 10 ml,自然沉淀 1 h。加入 10 ml Locke's 液再次自然沉淀 1 h,在粪渣与上清液交界处吸取 1 ml 混悬液,接种至 5 ml Locke's 液鸡蛋血清(Locke-egg-serum, LES)双相斜面培养基(内含 14%灭活的无菌小牛血清、0.4%氨苄青霉素、0.1%链霉素和 0.0006%两性霉素 B),培养获得 10 个分离株,编号为: *BhGX1*~*BhGX10*,除 *BhGX8* 和 *BhGX9* 株采自无症状感染者外,其余 8 株均采自有胃肠道症状的感染者。形态学鉴定后,参照文献 [10] 方法 37 °C 体外厌氧培养,每隔 72 h 转种 1 次。3 次转种后,收集虫体,置于液氮中保存备用。

### 3 基因分型

使用组织/细胞 DNA 抽提试剂盒抽提 10 个分离

株的基因组 DNA。使用已有的 7 对 STS 引物(SB83、SB155、SB227、SB332、SB340、SB336 和 SB337)分别进行 PCR 扩增<sup>[9]</sup>。反应总体积为 50  $\mu$ l,其中基因组 DNA 2  $\mu$ l, 10 $\times$ PCR 缓冲液 5  $\mu$ l, 脱氧核糖核酸(dNTPs)(10 mmol/L) 5  $\mu$ l, 引物(10 pmol/L) 1  $\mu$ l, *Taq* DNA 聚合酶(2.5 U/L) 0.5  $\mu$ l。反应条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 57 °C 30 s, 72 °C 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 10 min。用人芽囊原虫阴性者粪便的 DNA 提取物作为阴性对照。取 5  $\mu$ l 扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果,并用凝胶成像系统照相。

### 4 同工酶电泳与染色

4.1 同工酶电泳样品的制备 自液氮中取出上述分离株标本各 2 管,每管加入 60  $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混匀<sup>[11]</sup>,冻融 3 次后,4 °C 10 000 $\times$ g 离心 30 min,取上清液。用紫外分光光度计测定吸光度( $A_{280}$  值),计算各样品的蛋白浓度,调整一致后作为电泳样品,-20 °C 贮存备用。

4.2 电泳与同工酶区带染色 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。浓缩胶和分离胶的浓度分别为 3% 和 7.5%,电极缓冲液为三羟甲基甲烷(Tris-Gly, pH 8.9)。每泳道加样 30  $\mu$ l (25  $\mu$ l 电泳样品+5  $\mu$ l 蔗糖溴酚蓝溶液)。稳压电泳:浓缩胶 70 V,分离胶 150 V。电泳约 1 h。电泳结束后参照文献 [12] 将胶板浸入新配制的染色液避光 37 °C 下染色,每隔 10 min 观察染色情况,直至酶带显示清晰,7%冰醋酸终止反应并固定保存。

4.3 同工酶谱扫描分析与图谱绘制 用数码相机拍摄同工酶电泳凝胶,经凝胶系统扫描确定酶带,计算各酶带的相对迁移率(relative mobility,  $R_m$ )并绘制酶谱。 $R_m$ =酶带迁移分离胶距离/指示剂迁移分离胶距离 $\times$ 100%。

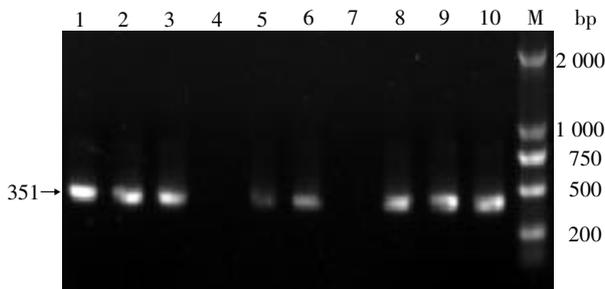
## 结 果

### 1 基因分型

*BhGX1*、*BhGX2*、*BhGX3*、*BhGX5*、*BhGX6*、*BhGX8*、*BhGX9* 和 *BhGX10* 分离株经引物 SB83 PCR 扩增后出现阳性条带,扩增片段与理论值 351 bp 相符(图 1)。10 个分离株经另外 6 对 STS 引物 PCR 扩增后结果均为阴性。*BhGX4* 和 *BhGX7* 经 7 对 STS 引物 PCR 扩增后均为阴性。

### 2 同工酶电泳

2.1 LDH 同工酶的电泳酶谱 10 个分离株的 LDH 电泳酶谱中共出现 10 条酶带:  $R_m35$ 、 $R_m37$ 、



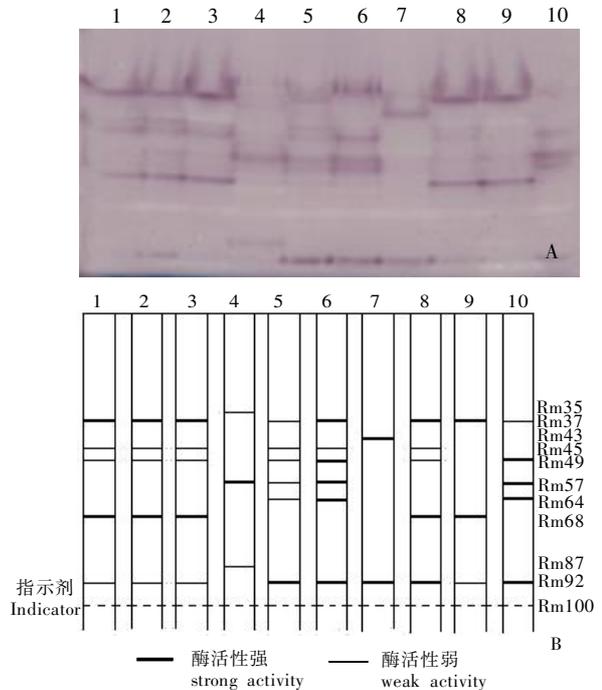
M: DNA 标志物; 1~10: *BhGX1*~*BhGX10* 分离株的 PCR 扩增产物。  
M: DNA marker; 1-10: PCR products of *BhGX1*~*BhGX10* isolates.

图 1 引物 SB83 的 PCR 扩增结果

Fig.1 PCR amplification with primer SB83

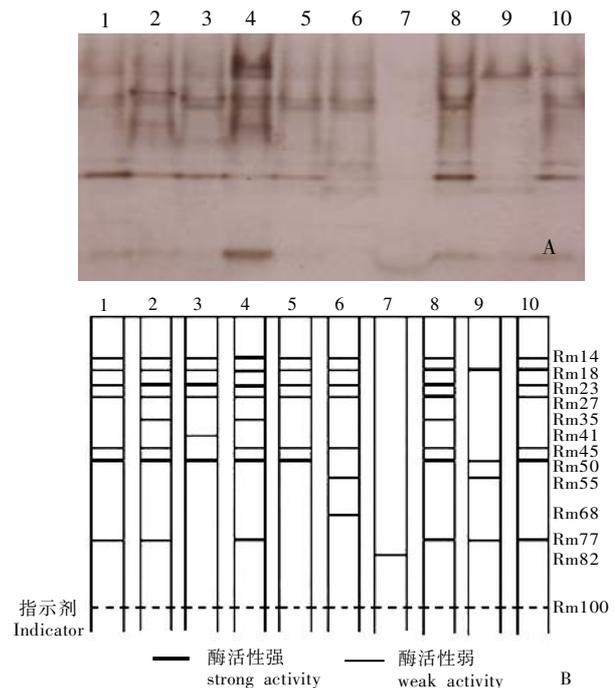
Rm43、Rm45、Rm49、Rm57、Rm64、Rm68、Rm87 和 Rm92。其中, *BhGX1*、*BhGX2*、*BhGX3* 和 *BhGX8* 分离株均显示 Rm37、Rm45、Rm49、Rm68 和 Rm92 等 5 条酶带, *BhGX9* 与上述 3 个分离株相比, 少表达了 Rm45 和 Rm49 酶带。*BhGX5* 和 *BhGX6* 分离株均出现 Rm37、Rm45、Rm49、Rm57、Rm64 和 Rm92 等 6 条酶带。*BhGX10* 与 *BhGX6* 分离株的酶谱相似, 仅 Rm45 酶带未表达。*BhGX4* 分离株表达了 3 条酶带, 分别为 Rm35、Rm57 和 Rm87, 其中 Rm35 和 Rm87 为特殊酶带, 在其他虫株中未见表达。*BhGX7* 分离株的酶带最少, 仅 Rm43 和 Rm92 两条, 其中 Rm43 为特殊酶带。LDH 酶谱显示, 酶带 Rm37、Rm49、Rm57、Rm68 和 Rm92 较常见, 而 Rm35 和 Rm87 仅见于 *BhGX4*, Rm43 仅见于 *BhGX7*。此外, Rm37、Rm57 和 Rm68 酶带染色较深, 尤其是 Rm68, 提示酶活性较高, 而 Rm45 酶带染色较浅, 提示酶活性相对较低(图 2)。

2.2 EST 同工酶的电泳酶谱 10 个分离株的 EST 同工酶电泳酶谱中共出现 12 条酶带: Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm35、Rm41、Rm45、Rm50、Rm55、Rm68、Rm77 和 Rm82。*BhGX1* 和 *BhGX10* 分离株均显示 Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm45、Rm50 和 Rm77 等 7 条酶带。*BhGX2*、*BhGX4* 和 *BhGX8* 分离株均表达 8 条酶带, 比上述两个分离株多表达了 Rm35 酶带。而 *BhGX5* 分离株比 *BhGX1* 和 *BhGX10* 分离株少表达了 Rm77 酶带。*BhGX3* 分离株显示 6 条酶带: Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm41 和 Rm50。*BhGX6* 分离株显示 7 条酶带: Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm45 和 Rm55。*BhGX9* 分离株显示 4 条酶带: Rm18、Rm50、Rm55 和 Rm77。*BhGX7* 仅有一条酶带 Rm82。EST 同工酶谱显示, Rm14、Rm18、Rm23、Rm27、Rm45、Rm50 和 Rm77 酶带较常见, 而 Rm41、Rm55、Rm68 和 Rm82 则仅在个别虫株表达。此外, Rm50 酶带染色较深, 提示酶活性较高, 其它酶带普遍染色较浅, 提示酶活性相对较低(图 3)。



1~10: *BhGX1*~*BhGX10*; Rm100: 指示剂的迁移率。  
1-10: *BhGX1*~*BhGX10*; Rm100: The relative mobility of indicator.  
A: LDH 同工酶 PAGE 电泳结果; B: LDH 同工酶 PAGE 电泳结果模式图。  
A: PAGE results of LDH isoenzyme; B: Diagram of LDH isoenzyme pattern in PAGE.

图 2 LDH 同工酶 PAGE 电泳结果和模式图  
Fig.2 PAGE results and pattern diagram of LDH isoenzyme



1~10: *BhGX1*~*BhGX10*; Rm100: 指示剂的迁移率。  
1-10: *BhGX1*~*BhGX10*; Rm100: The relative mobility of indicator.  
A: EST 同工酶 PAGE 电泳结果; B: EST 同工酶 PAGE 电泳结果模式图。  
A: PAGE results of EST isoenzyme; B: Diagram of EST isoenzyme pattern in PAGE.

图 3 EST 同工酶 PAGE 电泳结果和模式图  
Fig.3 PAGE results and pattern diagram of EST isoenzyme

## 讨 论

传统的形态学分类无法发现人芽囊原虫各地理株的遗传差异。SDS-PAGE、蛋白质印迹、同工酶分析、电泳核型分析、随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 和限制片段长度多态性 (RFLP) 分析等已用于人芽囊原虫的分类学研究<sup>[13-17]</sup>, 证明在地域内和地域间人芽囊原虫的抗原性和遗传学存在不均一性, 提示该原虫存在遗传多态性。

Yan 等<sup>[18]</sup>和 Li 等<sup>[19]</sup>应用 Yoshikawa 的方法分别对中国江西赣南地区 35 例人芽囊原虫标本和上海等 4 个地区的 192 例人芽囊原虫标本进行了基因分型, 发现在上述地区至少存在 4 种基因型, 并指出 3 型可能是最常见的基因型。与 Yoshikawa 等<sup>[9]</sup>对来自日本、巴勒斯坦、孟加拉国和泰国等地的人芽囊原虫基因分型结果相符。然而, 本研究应用 7 对已知的 STS 引物对广西 10 个人芽囊原虫分离株进行 PCR 基因分型发现, 其中 8 株为基因 I 型, 提示该型可能为广西最主要的基因型。可能是基因 I 型在有症状感染者中的分布频率明显高于无症状的感染者<sup>[5,20]</sup>。因此, 基因 I 型与致病性的关系值得关注。本实验发现, *BhGX4* 和 *BhGX7* 分离株经 7 对 STS 引物 PCR 扩增后均为阴性, 经多次重复试验仍为阴性, 故认为这 2 株属新基因型。有关它们的分类地位尚待进一步研究。

同工酶是基因表达的产物, 能直接反映生物个体之间的遗传差异, 已成为寄生虫分类学常用指标之一。Mansour 等<sup>[21]</sup>用 SDS-PAGE 和同工酶谱分析的方法将 11 株人芽囊原虫分离株至少分为两型。本研究对广西 10 个人芽囊原虫分离株进行了 2 种同工酶谱的电泳分析, 结果显示, 不同分离株之间可表达相似的酶谱, 但酶谱又存在不同, 揭示它们的亲缘关系密切, 且存在遗传差异。本研究的 LDH 同工酶谱显示, *BhGX1*、*BhGX2* 和 *BhGX3* 酶谱相似, *BhGX5* 和 *BhGX6* 的酶谱特征相近, 仅个别酶带在活性上略有差异。同时 *BhGX4* 出现电泳迁移率特殊的酶带 Rm35 和 Rm87, *BhGX7* 显示特殊酶带 Rm43, 这些特殊酶带可能在人芽囊原虫的分类学研究中具有重要价值。从 EST 酶谱来看, *BhGX1*、*BhGX5* 和 *BhGX10* 之间, 及 *BhGX2*、*BhGX4* 与 *BhGX8* 之间的酶谱特征相似, 而 *BhGX7* 与其他株差异较大。

对于人芽囊原虫在不同基因型之间以及同一基因型不同分离株之间的同工酶谱是否存在差异这一问题, 作者已另对这 10 个分离株的苹果酸脱氢酶和碱性磷酸酶的同工酶谱进行了分析<sup>[8]</sup>。结合基因分型和 4 种酶谱的结果可发现如下几点: ① 同一种基因型

表达出相似的同工酶谱型, 不同的基因型表达的同工酶谱则有明显的差异, 因此, 同工酶谱可为人芽囊原虫的基因分型提供强有力的佐证; ② 同一基因型的同工酶谱也存在个别的差异, 提示基因 I 型有存在亚基因型的可能, 同时表明同工酶谱更能发现基因型内的差异性; ③ 从 4 种同工酶谱的谱型上来看, 乳酸脱氢酶谱与基因分型的结果高度一致, 提示在人芽囊原虫分类学研究中乳酸脱氢酶谱作为基因分型的依据效果较好; ④ 一些酶带只出现在特定的基因型中, 这些酶谱中所表达出的特殊酶带很可能对人芽囊原虫的分类学有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] Yakoob J, Jafri W, Jafri N, et al. *In vitro* susceptibility of *Blastocystis hominis* isolated from patients with irritable bowel syndrome [J]. Br J Biomed Sci, 2004, 61(2): 75-77.
- [2] Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited [J]. Clin Microbiol Rev, 1996, 9(4): 563-584.
- [3] Dinleyici EC, Eren M, Dogan N, et al. Clinical efficacy of *Saccharomyces boulardii* or metronidazole in symptomatic children with *Blastocystis hominis* infection [J]. Parasitol Res, 2011, 108(3): 541-545.
- [4] Kaya S, Cetin ES, Aridogan BC, et al. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation [J]. Turkiye Parazitoloj Derg, 2007, 31(3): 184-187.
- [5] Yakoob J, Jafri W, Beg MA, et al. Irritable bowel syndrome: is it associated with genotypes of *Blastocystis hominis* [J]. Parasitol Res, 2010, 106(5): 1033-1038.
- [6] Eroglu F, Genc A, Elgun G, et al. Identification of *Blastocystis hominis* isolates from asymptomatic and symptomatic patients by PCR [J]. Parasitol Res, 2009, 105(6): 1589-1592.
- [7] Stensvold CR, Arendrup MC, Nielsen HV, et al. *Blastocystis*—an enigmatic parasite [J]. Ugeskr Laeger, 2009, 171(34): 2388-2390.
- [8] Zhan TZ, Yang Y, Tang LL, et al. Isoenzyme patterns of the isolates of *Blastocystis hominis* from Guangxi [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2010, 28(1): 42-45. (in Chinese) (战廷正, 杨彦, 唐莉莉, 等. 广西人芽囊原虫分离株同工酶谱的初步分析 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(1): 42-45.)
- [9] Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, et al. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries [J]. Parasitol Res, 2004, 92(1): 22-29.
- [10] Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance [J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(3): 329-341.
- [11] Cheng XJ, Huang MY. Preliminary studies on isoenzymes of *Entamoeba histolytica* [J]. J Shanghai Med Univ, 1989, 16(3): 179-182. (in Chinese) (程训佳, 黄美玉. 溶组织内阿米巴同工酶的初步研究 [J]. 上海医科大学学报, 1989, 16(3): 179-182.)
- [12] Barnert G, Hassl A, Aspöck H. Isoenzyme studies on *Toxoplasma gondii* isolates using isoelectric focusing [J]. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A, 1988, 268(4): 476-481.
- [13] Gamra MM, Elwakil HS, El Deeb HK, et al. The potential use of 29 kDa protein as a marker of pathogenicity and diagnosis of symptomatic infections with *Blastocystis hominis*

- [J]. Parasitol Res, 2011, 108(5): 1139-1146.
- [14] Gericke AS, Burchard GD, Knobloch J, et al. Isoenzyme patterns of *Blastocystis hominis* patient isolates derived from symptomatic and healthy carriers [J]. Trop Med Int Hlth, 1997, 2(3): 245-253.
- [15] Carbajal JA, del Castillo L, Lanuza MD, et al. Karyotypic diversity among *Blastocystis hominis* isolates [J]. Int J Parasitol, 1997, 27(8): 941-945.
- [16] Yoshikawa H, Nagano I, Wu Z, et al. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers [J]. Mol Cell Probes, 1998, 12(3): 153-159.
- [17] Dominguez-Marquez MV, Guna R, Munoz C, et al. High prevalence of subtype 4 among isolates of *Blastocystis hominis* from symptomatic patients of a health district of Valencia (Spain) [J]. Parasitol Res, 2009, 105(4): 949-955.
- [18] Yan YM, Su SL, Lai RY, et al. Genetic variability of *Blastocystis hominis* isolates in China [J]. Parasitol Res, 2006, 99(5): 597-601.
- [19] Li LH, Zhang XP, Lv S, et al. Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China [J]. Parasitol Res, 2007, 102(1): 83-90.
- [20] Hussein EM, Hussein AM, Eida MM, et al. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats [J]. Parasitol Res, 2008, 102(5): 853-860.
- [21] Mansour NS, Mikhail EM, Masry NA, et al. Biochemical characterization of human isolates of *Blastocystis hominis* [J]. J Med Microbiol, 1995, 42(4): 304-307.

(收稿日期: 2011-10-13 编辑: 杨频, 张争艳)

文章编号: 1000-7423(2012)-01-0040-01

## 【病例报告】

# 曼氏迭宫绦虫成虫和裂头蚴合并感染 1 例

王衡<sup>1</sup>, 汤益<sup>1</sup>, 杨洋<sup>1</sup>, 徐卫民<sup>1</sup>, 王佳<sup>1</sup>, 金行一<sup>1</sup>, 朱素娟<sup>1</sup>, 黄阳梅<sup>1</sup>, 干小仙<sup>2\*</sup>

中图分类号: R532.31 文献标识码: D

患者, 男, 53 岁, 杭州市郊区居民。2010 年 7 月 14 日, 因发热在当地卫生院就诊, 抗感染治疗无效。2010 年 8 月 2 日入住杭州市某医院, 此后反复发热 2 周余, 最高体温达 39.5℃, 伴咳嗽、头晕、头痛和乏力, 偶有腹痛。入院血常规检查: 白细胞 5.0×10<sup>9</sup>/L, 中性粒细胞 63.6%, 淋巴细胞 26.3%, 单核细胞 3.4%, 嗜酸粒细胞 6.5%; 入院第 26 天嗜酸粒细胞达 1.04×10<sup>9</sup>/L, 百分比为 17.3%。CT 示双肺支气管纹理增多、增粗, 并见散在片状高密度影, 边缘不清, 两侧胸腔可见少量积液。8 月 17 日至杭州市疾病预防控制中心就诊, 金标免疫渗滤法 (DIGFA) 检测抗曼氏裂头蚴 IgG 强阳性, 抗血吸虫 IgG 阳性, 抗肺吸虫 IgG 阴性, 抗华支睾吸虫 IgG 阴性。ELISA 检测抗曼氏裂头蚴 IgG<sub>4</sub> 阳性, 抗血吸虫 IgG<sub>4</sub> 阴性。粪检查见多个虫卵, 两端稍尖, 一侧稍隆起, 呈橄榄形, 浅灰褐色, 长约 66 μm, 宽约 40 μm, 卵壳较薄, 一端有卵盖, 内有一个卵细胞和若干个卵黄细胞, 卵盖与卵体交界处不整齐, 两侧有凹陷伴山脊样隆起, 鉴定为曼氏迭宫绦虫卵 (*Spirometra mansoni*) (图 1)。

患者自诉发病前 1 天活吞过当地小青蛙 12 只, 剖检当地小青蛙 5 只, 其中 1 只查见曼氏裂头蚴 2 条。给予患者吡喹酮 25 mg/kg, 3 次/d, 连续 3 d。服药后 11 h, 患者自诉排出黄白色、细长分节的虫体。治疗后体温恢复正常, 双肺啰音消失, 其他症



图 1 曼氏迭宫绦虫卵

状也明显好转。治疗后 1 周粪检未见虫卵。治疗后 3 个月, 嗜酸粒细胞仍保持较高水平。治疗后 10 个月随访, 血常规各项指标恢复正常, 嗜酸粒细胞降至正常范围。

### 讨论

曼氏迭宫绦虫成虫寄生人体较少见。我国自 1932 年以来累计报道病例仅 20 例<sup>[1,2]</sup>。裂头蚴寄生人体引起的曼氏裂头蚴病较为常见, 寄生部位广泛, 以皮下寄生最多见, 约占 37.7%, 其他部位依次为眼部 (30.5%)、口腔颌面部 (27.8%) 和脑部 (3.2%), 内脏感染罕见 (0.9%)<sup>[1]</sup>。本例患者是因吞食小青蛙, 致使曼氏裂头蚴造成患者肺部感染和部分曼氏裂头蚴在肠道发育为曼氏迭宫绦虫。曼氏裂头蚴病的病原检出存在很大的局限性, 通常只能根据临床表现、血清免疫学和流行病学资料等综合诊断。近年, 杭州市郊发现野生青蛙曼氏裂头蚴感染率高达 35.1%<sup>[3]</sup>, 需引起疾病防控和卫生监督部门的重视。

### 参 考 文 献

- [1] Wu GL. Human Parasitology [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 572-586. (in Chinese) (吴观陵. 人体寄生虫学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 572-586.)
- [2] Li MD. Practical Lemology [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998: 664. (in Chinese) (李梦东. 实用传染病学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 664.)
- [3] Xu WM, Tang Y, Wang J, et al. Survey of *Sparganum mansoni* infection in frogs and snakes in Hangzhou [J]. Dis Surv, 2009, 24(8): 612-613. (in Chinese) (徐卫民, 汤益, 王佳, 等. 杭州市蛙、蛇体内曼氏裂头蚴感染情况调查 [J]. 疾病监测, 2009, 24(8): 612-613.)

(收稿日期: 2011-08-24 编辑: 衣凤芸)

作者单位: 1 杭州市疾病预防控制中心, 杭州 310021;  
2 浙江省医学科学院寄生虫病研究所, 杭州 310013  
\* 通讯作者, E-mail: xiaoxian\_gan@hotmail.com