

中国动物学会

全国第五次寄生虫学学术讨论会

论文摘要集



中国动物学会寄生虫学专业学会 编

1994年8月 北京

58.9-53

777

目 录

中国寄生虫病的现状与展望	贺联印 (1)
Cryptosporidiosis: an emerging waterborne diarrheal disease	B. H. Kwa (2)
寄生虫虫苗的研究进展	李德昌 陈启军 (3)

原 虫

巨噬细胞在寄生虫感染中的免疫作用	林建银 (4)
中国人体棘阿米巴角膜炎病原体的分离、培养和鉴定	刘家英 任 慧 (5)
牛双芽巴贝西虫病防制研究初报	周金林 沈 杰 王 权 李广济 甘胜家 陈家祥 吴鉴三 (6)
溶组织内阿米巴的解毒酶类与主要化学元素	陈金富 刘友尧 陈文列 黄 翔 (6)
应用静脉及脾内注射法对BALB/C鼠免疫效果的初步探讨	刘佩娜 王子龙 胡孝素 (7)
抗弓形虫独特型抗体免疫保护性的研究	陈彩华 张 乐 王亚凡 傅翠娥 杨旭明 林爱芬 (7)
脑脊液中弓形虫循环抗原的组分分析	林爱芬 傅翠娥 王亚凡 (8)
献血者弓形虫感染的血清学调查分析	张 乐 林爱芬 王亚凡 杨旭明 傅翠娥 陈彩华 (8)
循环抗原阳性对弓形虫病的诊断价值的研究	傅翠娥 余 毅 陈彩华 杨旭明 王 蓉 张 乐 丁贞英 刘 莉 许雪萍 张 群 (9)
一种恶性疟原虫多价重组复合抗原的免疫特性研究I. 免疫原性的进一步研究	陈白虹 缪 军 薛采芳 彼慧祥 李英杰 (10)
一种恶性疟原虫多价重组复合抗原的免疫特性研究II. 脾细胞增殖和IL-2水平测定	缪 军 薛采芳 陈白虹 李全贞 李英杰 毕惠祥 (10)
套式PCR检测滤纸干血滴恶性疟原虫的研究	孙明林 陈培霞 薛采芳 刘忠湘 (11)
约氏疟原虫保护性抗原对鼠疟红内期保护性免疫调节的研究I. 保护性抗原FPLC纯化及鉴定	王春莉 薛采芳 刘智广 陈志南 甄荣芬 刘成钢 (12)
约氏疟原虫保护性抗原对鼠疟红内期保护性免疫调节的研究II. 53KD抗原细胞增殖反应、IL-2水平及血清抗体与保护作用的关系	王春莉 薛采芳 张荣庆 甄荣芬 (13)
约氏疟原虫保护抗原对鼠疟红内期保护性免疫调节的研究III. 53KD抗原的免疫保护性	王春莉 薛采芳 张荣庆 甄荣芬 (14)
福建同安县疟疾流行的调查	叶金印 叶乌有 黄云川 陈秋霞 谢瑞琛 (14)
我国新疆皮肤利什曼病病原体生物特性的分析PCR-单链构象多态性分析(SSCP)与分子杂交的应用	胡孝素 陈建平 任灏远 (15)

四种利什曼原虫和我国新疆皮肤利什曼病病原体 kDNA 分子杂交实验研究	陈建平	胡孝素 (16)
三种恶性疟原虫杂合抗原基因重组减毒鼠伤寒沙门氏菌免疫应答水平的比较	黄建生	
王昌才 钟雄林 陈仕荣 李全贞 李英杰 赵雨田 毕惠祥 任大明 (17)		
恶性疟减毒鼠伤寒沙门氏菌口服活菌苗的研究	李全贞 黄建生 王昌才	
任大明 李英杰 (18)		
弓形虫巢式 PCR 体系的建立及其对人鼠弓形虫病的检测	陈晓光 刘国章 江静波 (19)	
家畜 9 种肉孢子虫包囊壁超微结构的比较研究	左仰贤 刘安康 (19)	
弓形虫 P30 基因在昆虫体系中的表达	陈晓光 刘国章 王洵章 (20)	
约氏疟原虫红外期早期发育的电镜观察	吴春容 李慧珠 (20)	
利什曼原虫 39Kd 抗原基因特征的研究	敬保迁 胡孝素 (21)	
鸡疟原虫在蚊体内早期卵囊形成的透射电镜观察	李慧珠 王风芸 (22)	
西安地区部分产妇弓形体感染血清调查	孙明芳 (22)	

吸 虫

血吸虫两性分子生物学研究概况 (综述)	王省良 刘国章 (23)
我国牛、羊矛形双腔吸虫和枝双腔吸虫的比较	唐崇惕 唐仲章 (23)
叶巢外睾吸虫的生活史研究	唐崇惕 王 云 (24)
矛形双腔吸虫及枝双腔吸虫尾蚴的组织学观察	陈 美 (25)
环孢菌素 A 和吡喹酮联合反应防治血吸虫性肝纤维化的研究	陈静卿 赵雪云
苏天成 倪永晖 黄安生 盛琴华 (25)	
吸虫纲一新种 (吸虫纲: 短咽科)	马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (26)
吸虫纲一新种 (吸虫纲: 短咽科)	马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (26)
吸虫纲一新种 (吸虫纲: 短咽科)	马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (27)
斯氏属一新种 (吸虫纲: 短咽科)	马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (28)
人、畜同步防治血吸虫病策略中的效果	李成亮 明心中 杨琳芬 (28)
永修县吴城镇动物 (家畜) 日本血吸虫病流行病学纵向观测二报	明心中 李成亮
吴国昌 徐志成 涂芬芳 喻 华 杨琳芬 方金华 张爵记	
袁涛根 郝宜铸 邓水生 龚 辉 邓素芬 吴有彩 (30)	
吡喹酮化疗耕牛血吸虫病的副反应	李成亮 明心中 杨琳芬 (31)
吡喹酮对考湖杂交绵羊的血吸虫病疗效试验	胡述光 唐锡华 朱瑞群 张 强
卿上田 李文斗 朱春霞 (32)	
日本血吸虫循环免疫复合物中抗原的鉴定	曾宪芳 王亚南 汪世平 易新元 (33)
日本血吸虫与旋毛虫寄生关系的研究	易新元 陆予云 曾宪妨 曾庆仁 (33)
日本血吸虫未成熟卵可溶性抗原诱导抗卵免疫的研究	汪世平 易新元 曾宪芳
赵慰先 吴观陵 管晓红 (34)	
日本血吸虫雌雄虫蛋白组分的电泳分析	王省良 刘国章 毕惠祥 沈树福 丁 娜 (35)

血吸虫尾蚴的检测方法和物理灭蚴实验研究概况	李文盛 曾方银 (35)
十二指肠球部腺瘤样血吸虫病一例	唐 勇 (36)
日本血吸虫病和曼氏血吸虫减毒尾蚴免疫小鼠的淋巴细胞表形分析	石佑恩 吕芳丽 Ruppel. A. (36)
日本血吸虫循环抗原动态观察及治疗后转归的实验	刘世国 史明珠 石佑恩 韩家俊 邓伟文 (37)
单克隆抗体 Dot-ELISA 直接法检测血吸虫循环抗原的现场应用	倪永晖 陈静卿 蒋明森 黄盘兴 (38)
江宁县山区发现光壳钉螺无唇脊	黄富林 (38)

肺 吸 虫

肺吸虫病 30 例误诊原因分析	徐维良 (39)
肺吸虫病 34 例临床观察	应子勇 (39)
长江三峡工程坝区肺吸虫病流行病学监测	张森康 龚发英 雷万义 (41)
卫氏并殖吸虫与短沟蜷的等位基因酶谱相容性研究	陈翠娥 曾肖芃 丁建祖 沈丽英 (42)
安徽休宁卫氏肺吸虫中间宿主的调查	陈黛霞 刘家荣 (43)

绦 虫

Pig as the favorable in Ternediate host of <i>Taenia saginata</i>	P.C.Fan (43)
Taeniasis in Asia with a special <i>Epidemiological pattern</i>	W.C.Chung, P.C.Fan (44)
中国鸟类膜壳科绦虫系统分类研究	负 莲 (45)
闽、滇鸟类绦虫调查	李海云 (45)
囊虫病患者血清中循环抗原检测在临床上的应用	张文玉 朱丽贤 (48)
二例肝泡球蚴病的组织病变考察	洪凌仙 林宇光 (48)
一例人体脑囊尾蚴的组织病变观察	洪凌仙 (49)
细粒棘球绦虫 (E.g) 原头蚴抗原接种犬的免疫效果初步观察	薛弘燮 付玉才 吾拉木 吴炳洪 齐普生 (49)
阿苯达唑与甲苯咪唑对体外培养猪囊虫作用的组织化学观察	陈佩惠 王凤芸 杨 进 王秀琴 刘绍杰 (50)
猪囊尾蚴的超微结构研究	田喜凤 徐 敏 周 贞 (50)
带绦虫的超微结构研究	田喜凤 (51)
关于鱼泡球蚴样物的报道	斯德克 库拉别克 (52)

线 虫

- 哈尔滨地区犬旋毛虫对猪、犬的感染性试验 宋铭忻 周源昌 李淑声 路义鑫 (52)
- 四川仪陇县肠道线虫感染流行病学调查 张仁刚 陶斯象 (53)
- 广州管圆线虫染色体核型分析 沈浩贤 (53)
- 我国不同地区和/或宿主的旋毛虫分离株分子分类研究 何忠平 陈佩惠 卢思奇
王凤芸 姚庆英 肖谷田 钱 伟 谢 毅 (54)
- 犬蛔虫 (*Toxocara caris*) 对感染鼠的细胞免疫和 IL-1、IL-2 免疫调节作用的影响 ...
姜洪杰 Uki Yamashita (55)
- 异尖线虫科幼虫 (Anisakidea) 的生物学及对动物致病力的研究 黄维义 (56)
- 夏伯特线虫属一新种 (线虫纲: 圆形科) 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (57)
- 泡翼属一新种 (线虫纲: 泡翼科) 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (57)
- 圆形属一新种 (线虫纲: 圆形科) 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (58)
- 蛲亚科一新种 (线虫纲: 蛲科) 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (58)
- 马歇尔线虫属二新种 (圆形目: 毛园科) 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (59)
- 重翼科一新种 马木尔汗 斯迪克 库拉别克 (60)
- 部队学员寄生虫感染情况调查 杜云静 李同京 杨 山 迟淑萍 (60)
- 南方种草养畜示范场羊寄生虫病防治研究 沈 杰 叶明忠 曹 杰 徐慧斌
陈永军 何国声 孙先红 覃发家 李作进 (61)
- mPAP 超微半定量法测定巨噬细胞表面 FC 受体 张海燕 李慧珠 (62)
- 浅论寄生虫学绘图报告 孙明芳 (62)
- 钉螺、拟钉螺及 r-拟钉螺的等位基因酶谱分析 曾肖 凡 陈翠娥 丁建祖
Dr. G. M. Davis (63)
- 玉溪地区鼠体内寄生虫感染情况调查 黄正美 拔文福 (64)
- 空军某部指战员肠道寄生虫感染的初步调查 王桂景 (65)
- 福建省三明、浦城颚口线虫流行病学和三种颚口线虫幼虫及刚刺颚口线虫成虫肠道形态学研究 林秀敏 陈 美 陈清泉 尉立春 (65)
- 我国鱼病学研究的现状与进展 华鼎可 (66)

医学节肢动物

- 中华按蚊和白纹伊蚊接种马来丝虫微丝蚴后血淋巴中酚氧化酶活性的变化 潘小军
金 萍 (66)
- 湖北地区嗜人按蚊与疟疾流行的关系 刘亦仁 (67)
- 杀螨灵对绵羊痒螨的防治试验 阿都阿且 (68)
- “虫克星”对安哥拉改良山羊寄生虫的驱治试验 罗锦定 何绍江 (68)

中国寄生虫病的现状与展望

贺联印

(北京人民医院, 北京 100044)

1988年卫生部制定在全国(不包括台湾省)开展的全国人体寄生调查工作, 经4年努力于1992年结束, 全国共抽样726个县(43.5%)、2848个点, 共调查1, 447, 742人(约占全国人口1.2%)人体寄生虫总感染率为63.632%推算全国7亿人感染寄生虫。(有17个省, 自治区感染率超过50%)。共查出56种寄生虫(不包括疟疾、黑热病、血吸虫、丝虫、弓形虫)其中原虫19种、线虫12种、吸虫12种、绦虫8种, 单一感染者为56.76%, 感染二种以上者43.33%, 最多者一人同时感染9种, 以上情况我国目前寄生虫病流行仍然严重。实堪引起重视。去年10月27—29日召开了全国寄生虫病防治工作会议, 制定了到本世纪末的《全国寄生虫病防治“九五”规划》确定了主要寄生虫病的控制目标。总目标是继续控制疟疾, 巩固和发展丝虫病、黑热病的防治成果, 降低钩虫等土源性线虫病、包虫病、带绦虫病和囊虫病、华枝睾吸虫病、肺吸虫病, 旋毛虫病等的感染率和发病率。以下将主要十几种寄生情况简介如下:

一、疟疾 全国大部分地区疫情保持稳定和下降, 南方部分地区回升并出现一些暴发点, 输入性恶性疟疾为主增多, 并向外逐年扩散。抗药性恶性疟疾原虫增多, 尤其是海南, 云南二省, 要求到2000年疟疾发病人数控制在5万以内, 主要疟区50%要达到基本控制标准, 防治工作仍十分艰巨。继续研究提高血内原虫检出, 研制新的抗疟药物, 控制边疆地区疟疾的输入及扩散是当前急待解决的问题。

二、血吸虫病 我国是世界上流行最严重国家之一。全国目前仍有122个县(市)流行较严重, 钉螺面积有36.1亿平方米, 仍有113万多病人, 绝大多数分布在湖沼或大山地区, 使预防工作较难开展。近年来经多学科综合研究, 大陆血吸虫有四个品系(云南、广西、四川、皖鄂), 具有不同的生物特性, 对疫区流行病学监测有参考价值。目前我国已构建出血吸虫成虫基因文库、对重组疫苗有重要意义。检测血吸虫循环抗原已研究多年, 已建立多种方法, 但对强度感染及晚期病人循环抗原的检出仍有待提高。用于考核疗效, 尚有不同看法, 尚应更多的近行观察。

我国制定的目标是到本世纪末基本控制血吸虫病, 国家为此投入了大量的人力、物力、财务、世界银行还提供了大量贷款。尽管任务仍是很艰巨, 但前景仍是乐观的。

三、黑热病 根据近年疫情动态分析, 除原来人源型黑热病区, 继续巩固防治成果外, 而流行于西部及西北地区的山丘、荒漠区的自然疫源型黑热病, 1991年起发病人数有逐年上升趋势, 1994年已报告患者为43人, 应引起重视。本世纪末目标要减少为1990年的80%。我国有单位已建立了L.D.的基因文库, 为黑热病的诊断和疫苗研制提供了条件。

四、丝虫病 到1994年10月, 全国已达到基本消灭标准, 即以行政村为单位, 微丝蚴检出率在0.1%以下。但由检血内微丝蚴数量很少。血检常不易查到。以后的监测工作仍很艰巨。到2000年要使1/3县(市)消灭丝虫病, 故找出有效的免疫学方法能推广到基层使用, 仍是需要解决的问题。

五、钩、鞭、蛔三种土源性线虫及蛲虫病 是我国流行广泛, 感染率高, 感染度高的肠寄生虫。全国平均感染率: 钩虫为17.2%, 鞭虫为18.8%, 蛔虫为47%, 蛲虫为26.4%, 由于分布面广, 在粪便仍做肥料尚未能管好的情况下, 要求到2000年钩虫感染率下降50%, 鞭、

蛔、蛲感染率下降30%。任务仍很艰巨。通过年近年来各地防治经验,每年普查一次,对虫卵阳性者,上、下半年各投给一次广谱高效驱虫药(甲苯咪唑、丙硫咪唑、噻嘧啶等),同时加强卫生宣教,连续几年,可使感染率明显下降。近二年在、中城市中、小学生已经实行。

六、并殖吸虫 根据近年资料分析、全国已有21省(市)的442个县发现本病,有418个县的蟹或蝲蛄等有并殖吸虫囊蚴。我国并殖吸虫种类多,分类问题长期存在。临床上有肺型及肺外型,诊断亦常困难。近年来有的单位已试图用不同种类成虫构建基因文库。制备DNA探针,或比较酶切DNA片段长度对比,用于鉴别虫种。有报告用免疫印迹技术,及单抗斑点免疫酶标方法测CAg收到良好效果。对肺外型诊断及治疗后的疗效考核有很好结果。目标到2000年无新发病人。

七、华枝睾吸虫病 广泛分布于全国22个省、市、自治区、全国人均感染率约0.43%(朝鲜族可高达4.6%)推算全国感染人数在500万人以上,到2000年要求以村为单位、下降50%。本病与并殖吸虫病为自然疫源性寄生虫病,宣教及防治结合是重点,需做好安排。

八、猪带绦虫和囊虫病 广泛分布于27个省(市)自治区。根据部分调查资料,感染率绦虫为1%—15.2% 囊虫为0.14%—1.94%。囊虫猪阳性率为0.20%—20%,如此高的感染率已引起各方面重视,近年来在本病诊断及治疗上都取得一定进展。吡喹酮,丙硫咪唑都是治疗本病有效药物。政府食品卫生法,加强对猪肉及制品的管理,对控制本病前途有望。

九、棘球蚴病(包虫病) 我国有两种,细粒棘球蚴已有22个省、区查到本病、但广泛流行于西北及西南地区,高发区平均人口感染率为1—2%,牲畜感染率为40—50%,家犬感染率为35%,多房棘球蚴(泡球蚴病)分布于7省(区)的55个县,但在牲畜或人的感染情况尚不清楚,规划要求1997年调查清楚分布范围和流行情况,以便有效的进行防治。控制本病关键是降低家犬的感染率。

十、旋毛虫病 已在全国12个省(市)自治区70个县发现本病、已报告有433起人群旋毛虫病暴发流行。发病人数17,459人,死亡194人,除猪外,牛、羊、狗亦受感染而成为感染源。流行区有扩大趋势、应受到重视。诊断方法有新的改进,丙硫咪唑为本病特效药物。食品卫生法的实施,可能使本病发病率下降。

十一、弓形虫病 对优生学关系重大。全国已报告200余例。

十二、卡氏肺孢子虫及隐孢子虫病 为免疫功能低下患者常见的合并症,应引起重视。

综观以上情况,摆在我们面前的问题还是十分严峻的,现在距本在世纪末只有五年时间了,我们做为寄生虫学科研,防治工作者,任务是很艰巨的,让我们团结起来,共同努力,为完成“2000年全国寄生虫病的防治规划”的目标做出更多的贡献。

CRYPTOSPORIDIOSIS: AN EMERGING WATERBORNE DIARRHEAL DISEASE

B. H. Kwa

(Department of Environmental and Occupational Health
University of South Florida, College of Public Health)

Cryptosporidiosis has emerged as an important waterborne diarrheal illness with the occurrence of several major outbreaks in Britain and the United

States. Oocyst survival and viability under various conditions is important in understanding the risk of environmental contamination of sources of drinking water. The development of an animal model to assess viability based on infectivity contributes to our ability to predict the risk posed by oocysts in environmental samples.

寄生虫虫苗的研究进展

李德昌 陈启军

(农牧大学兽医学院, 长春 130062)

为了控制甚至最后消灭寄生虫病, 近一个世纪以来各国的寄生虫学家为研制有效的寄生虫虫苗进行着不懈的探索。致弱苗是最早期也可以说是第一代寄生虫虫苗。致弱方法包括虫种筛选、传代致弱、射线和药物致弱等。抗原苗是将寄生虫的有效成分提取出来, 加以相应的佐剂免疫动物; 制备这类虫苗的关键是确定和大量提取寄生虫有效宿主保护抗原。人工合成肽苗是以化学合成多肽代替虫体蛋白作为虫苗, 由于目前还不能将整个抗原多肽都合成出来, 因此对抗原决定簇的分析至关重要。伴随分子生物学技术在寄生虫学研究领域的应用, 保护性抗原分离、确定及分子克隆不断取得突破, 已研制成了多种基因工程抗体虫苗和抗独特型抗体虫苗。已有许多种重要寄生虫病的虫苗研制方面取得了可喜进展。在疟疾方面, 经过近50年的研究, 已有多种抗疟虫苗在不同地区进行临床试验, 其中希望较大的有: 抗子孢子苗、抗裂殖子苗和多价杂合抗疟虫苗-sp66。在血吸虫病方面, 酶性抗原作为抗日本血吸虫虫苗的候选抗原是近年来较为活跃的研究领域, 其中研究较多的要数谷胱甘肽-S-转移酶(GST), 它不但具有较好的免疫原性, 还有虫种间交叉反应, 能有效的预防再感染, 目前的研究主要集中于(1)用质粒载体在E.Coli内表达GST; (2)用入巨噬体合成融合蛋白; (3)人工合成GST。在弓形虫病方面, 约占速殖子蛋白5%, 含于速殖子表面的SAG1(P30)是一个极有潜力的, 对急慢性弓形虫病都有保护作用的抗原; 目前, 国内外一些研究单位正在进行该抗原的基因工程合成及免疫原性试验。由速殖子和缓殖子分泌的两种外分泌抗原(GRA1、GRA2)属于致密颗粒蛋白, 以此做成虫苗也可使小鼠抵抗强毒虫株的攻击。此外值得注意的是, 有的学者通过对弓形虫的基因转移, 已获得热敏型突变弱毒株(TS)。免疫试验表明, TS-4可使动物抵抗强毒株的攻击。在巴贝斯虫病方面, 虫苗研究始于本世纪50年代, 最初应用的是由经犊牛体反复传代致弱的牛巴贝斯虫弱毒苗, 该苗在澳大利亚使用了20多年。70年代后, 伴随巴贝斯虫的体外连续培养技术成熟, 利用从培养上清分离大量的虫体ES抗原所制备的抗原苗开始取代致弱苗, 其中以牛巴贝斯虫和犬巴贝斯虫虫苗最为成功; 国外已有不同类型的商品苗出售。80年代后, 国外又开始研究巴贝斯虫的基因工程苗。其中牛巴贝斯虫的BV60双芽巴贝斯虫的P58宿主保护性抗原的体外大量合成方法已经建立, 用这两种重组抗原所制备的虫苗正在澳大利亚进行临床试验。在球虫病方面有三种类型虫苗: (1)自然筛选的弱毒苗, 国内外均有利用各种早熟株预防鸡球虫病的虫苗出售; (2)培养致弱苗, 通过反复在鸡胚内传代, 可以降低鸡球虫毒力, 欧洲广泛使用的即为一种含柔嫩艾美尔球虫鸡胚适应株的弱毒苗; (3)重组苗, 有关艾美尔球虫的基因重组及重组抗原的应用报道很多, 研究认为艾美尔球虫重组抗原苗至少应包含虫体表面蛋白、虫体内抗原和有性繁殖阶段的抗原, 因为只有这种联合多价苗才能阻断球虫寄生阶段的全部生活史。

巨噬细胞在寄生虫感染中的免疫作用

林建银

(福建医学院寄生虫学教研室, 福州 350004)

巨噬细胞属单核吞噬细胞系统, 由骨髓内多能干细胞分化而来。它在体内分布广泛, 能分泌几十种不同物质, 功能复杂。从免疫学角度, 巨噬细胞功能主要有两类: 诱导调节免疫功能以及非特异防御。

寄生虫在与哺乳动物共同进化过程中发展了许多逃避宿主免疫系统攻击的策略, 包括细胞外寄生虫(血吸虫)的抗原变异和伪装以及细胞内寄生虫(疟原虫、弓形虫、利什曼原虫)的细胞膜隔离机制。然而, 绝大多数寄生虫的逃避策略最终均是设法预防宿主巨噬细胞的活化。

静止状态的巨噬细胞其抗寄生虫的活力不能明显表现出来, 只有活化的巨噬细胞才能产生杀伤侵入的寄生虫的效应分子(RNI、ROI、TNF)。实验证据表明, 一氧化氮(NO)是活化巨噬细胞的主要效应分子, 氧自由基(O₂⁻、H₂O₂)为协同因子, 肿瘤坏死因子(TNF- α)则仅充当第二信号协同IFN- γ 提高NO产量。

巨噬细胞的活化取决于寄生虫特异的CD4⁺亚类巨噬细胞的免疫反应。相反, 这种免疫反应的诱导又依赖于巨噬细胞呈递寄生虫抗原。宿主免疫系统对巨噬细胞呈递寄生虫抗原的细胞免疫反应至少有两种方式。其一, 有可能优先刺激寄生虫特异的CD4⁺TH1细胞生产与活化巨噬细胞有关的细胞因子(IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF); 其二, 有可能优先刺激寄生虫特异的CD4⁺TH2细胞上产与B细胞有关的细胞因子(IL-3、4、5和6)以及IL-10。IL-10可抑制TH1分泌的IL-2、IFN- γ , 抑制MHC-II类分子的表达, 抑制巨噬细胞产生IL-1和TNF- α 等。

TH1和TH2各自分泌的细胞因子是互相制约和依赖的。一个亚类的CD4⁺细胞的刺激和活化显然可阻碍或积极预防另一亚类CD4⁺细胞的刺激和活化。有意义的是, TH2对寄生虫抗原反应的激活抑制了宿主巨噬细胞的活化。因此, 能够优先诱导TH2反应的寄生虫可能是成功的哺乳动物寄生虫。例如, 小鼠感染蠕虫后主要引起TH-2反应。有些病原体则在感染的不同阶段刺激不同的CD4⁺亚类。例如, 血吸虫与疟原虫在感染初期主要刺激TH1, 而在感染后期则被TH2所代替。又如BALB/C小鼠对利什曼原虫易感, 产生的是TH-2反应, 而对该病原体不易感的小鼠则刺激TH1细胞反应, 对这种现象的确切机理目前尚不清楚。

虽然至今绝大多数证据均是根据动物实验, 但许多实验室正积极从事TH1和TH2免疫反应在人体寄生虫病中的应用研究。对寄生虫感染的任何一种免疫治疗均与寄生虫特异的TH1免疫反应的促进和刺激以及此后宿主巨噬细胞的活化密切相关, 据此可设计有助于调节宿主免疫力的新的治疗方案。

中国人体棘阿米巴角膜炎病原体的分离、培养和鉴定

刘家英 任 慧

(华东师范大学生物系, 上海 200062)

棘阿米巴 (*Acanthamoeba*) 是一类小型的自由生活阿米巴, 该属中的一些虫株引起肉芽肿性阿米巴脑炎 (Granulomatous Amebic Encephalitis, 简称 GAE); 1975 年, Jones 等首次报告了这类阿米巴还能引起一种疼痛的、威胁视力的人体角膜疾病, 称为棘阿米巴角膜炎 (*Acanthamoeba Keratitis*)。1984 年, 国外学者发现该病的发生与佩戴软质接触镜 (Soft contact lens, SCL, 俗称“隐形眼镜”) 有关。棘阿米巴角膜炎在欧洲、澳大利亚、美洲、非洲及亚洲的印度、日本和中国台湾都有报告。在美国, 病例数目的渐增始于 1981 年, 从 1985 年起发生明显增长, 至 1988 年 7 月, 向疾病控制中心 (CDC) 报告的已有 208 例, 其中有 85% 的患者佩戴 SCL。自 1984 年以来, 国内已有数例因这类致病性自由生活阿米巴感染而发生的人体中枢神经系统疾病, 也曾开展过以自然环境中分离致病虫株的研究。种种迹象表明, 这类兼性寄生原虫正日益对人类健康构成威胁, 值得引起关注。

1992 年, 我们陆续从一些因佩戴隐形眼镜引起角膜疾病的患者的角膜刮片冲洗生理盐水中分离到这类阿米巴, 这是中国大陆上的首次发现。现将我们的研究结果报告如下:

一、无菌克隆培养 由于分离样品本身带有杂菌, 我们用涂布有灭活 *E. coli* 的无营养琼脂 (NNA) 平板接种, 28℃ 恒温培养, 反复转接的方法, 可达到无菌化目的; 经挑选单个滋养体或包裹在液体培养基中培养, 即获克隆株 L 和 W。

二、形态学观察 L、W 株的形态特征与棘阿米巴属完全吻合。其滋养体平均长度为 27.5 μm , 平均宽度为 21.0 μm ; 能从表面产生尖而细长, 可曲伸的棘状伪足, 缓慢运动; 包裹平均直径为 13.625 μm , 内囊呈多角形, 趋于圆形, 内囊壁扩展不突出, 数量为 6--7; 蛋白银染色显示它们无网状结构。

三、致性试验 用无菌培养的 L 与 W 株阿米巴, 经离心收集, 计数后分别由鼻腔接种 Balb/c 小鼠 (10⁶ 细胞/鼠); 4 周后, 除对照组外, 在死亡或存活小鼠嗅叶附近的脑组织均发现有棘阿米巴的存在, 说明这两个分离株具有对小鼠的致病性。

四、生化比较分析 我们将国内 2 分离株 (L 和 W 株), 与国外 4 虫株 (*A. tubiashii*, *A. castellanii*, *A. polyphaga* 和 *A. palestinensis*) 一起进行了总蛋白质及 20 种同工酶的电泳分析。L 与 W 株的总蛋白带型及同工酶谱相差无几, 相似系数为 0.9870; 它们与类群 II 中的 *A. castellanii* 和 *A. polyphaga* 比较接近。

五、虫体的初步鉴定 根据以上特征分析, 我们认为 L 与 W 株属同一虫种, 其特征与棘阿米巴属类群 II 中的虫种 *A. lugdunnensis* 比较吻合, 因此初步定为该种。这是我国人体棘阿米巴角膜炎病原体的首批分离及研究的结果。

鉴于棘阿米巴这类自由生活阿米巴 (Free-living Amoebae, FLA) 广泛分布于淡水与土壤中, 并且越来越多地发现它们与人体的中枢神经系统疾病及眼病有关; 又鉴于国内环境保护状况不良, 年青人佩戴隐形眼镜者已逾数千万之多, 镜片消毒液不能杀灭包裹, 致使不少人患眼角膜疾病, 严重破坏视力甚至完全失明。而我们的眼科医生还不了解这类由阿米巴引起的眼病之来龙去脉, 故更应引起我们寄生虫学界的关注, 加强对这类兼性寄生原虫的全面研究。

牛双芽巴贝西虫病防制研究初报

周金林 沈 杰 王 权

(中国农科院上海家畜寄生虫病研究所, 上海 200032)

李广济 甘胜家 陈家祥

(湖北红安县畜牧局)

吴鉴三

(农业部青岛动检所)

牛双芽巴贝西虫病防制试验点位于湖北红安县许家楼村, 有耕牛100头左右, 均为农户散养。在流行病学调查基础上, 采取控制传播媒介和药物预防注射为中心的综合防制措施。在蜱活动的4-11月份, 选择双甲脒和螨净, 分别以1:600倍、1:400倍水稀释, 进行牛体表喷洒灭蜱, 药量为80-100ml/m², 两种灭蜱药每半月交替使用一次。在牛双芽巴贝西虫病发病季节5-9月份, 进行二次药物预防注射, 分别在5月中旬和7月下旬进行。预防药物选用贝尼尔、咪唑苯脲和缓释剂, 分别以剂量3.5mg/kg、1.5mg/kg、4ml/头。一次肌肉注射。三种预防药在试验点分组交替使用。防治工作经阶段性努力, 取得初步成果, 试验点防制后没有发生牛双芽巴贝西虫病; 牛体蜱数从未防制年平均9-282只/头, 次下降到防制年份平均0-11.3只/头、次; 间接血凝试验结果显示, 耕牛血清牛双芽巴贝西虫抗体效价明显下降, 防制前抗体效价在1:20、1:40和1:80以上的耕牛百分率分别是42.72%、26.36%和10%, 防制后耕牛百分率分别下降为24.73%、8.6%和3.22%; 间接荧光抗体试验结果表明, 耕牛双芽巴贝西虫的阳性率从防制前的23.63%下降为防制后的6.56%。整个防制工作仍继续进行, 防制措施的完善和防制效果的考核有待进一步的研究。

溶组织内阿米巴的解毒酶类 与主要化学元素

陈金富 刘友尧 陈文列 黄 翔

(福建医学院, 福州 350004)

溶组织内阿米巴(Eh)生活在低O₂的结肠腔, 侵入组织后如何适应富O₂环境求得生存, 及含有哪些主要化学元素在酶类和代谢中起作用? 我们从91-94年对上述问题的研究取得以下结果。

虫体经洗涤、粉碎后取上清液检测发现Eh含有解毒酶类: 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POase)。Eh的微粒体含氧化酶和CAT。当Eh侵入富O₂的肝、肺时存有大量O₂。O₂在氧化酶催化下产生H₂O₂; O₂在氧化酶传递电子还原成份时生成超氧阴离子自由基(O₂⁻)。H₂O₂和O₂⁻都可使Eh中毒死亡。O₂⁻由SOD催化(解毒)成H₂O₂。H₂O₂再由CAT(主要)和POase(次要)分解成H₂O获得解毒。若Eh缺SOD、CAT和POase, O₂⁻与H₂O₂在Fe催化下产生活性氧自由基破坏Eh质膜。足见三种酶类的存在使Eh既可利用氧进行有氧呼吸, 又免遭其反应过程生成的毒物的毒害而获得长期生存、繁殖危害人体。

重点检测,揭示Eh含有常量元素Ca、Mg、P、Na、K、Cl和微量元素Fe、Zn、Cu及各种元素的含量。Fe对虫体氧的输送、氧化还原、电子传递起着重要作用。Fe⁺⁺是SOD、CAT和POase的辅基。Zn是SOD等多种酶的组分和激活剂。Zn以不同程度的特异性影响膜结合酶。Eh含有Na⁺-K⁺-ATP酶,此酶活性受Zn的影响。Cu也是SOD的组分。Ca⁺⁺调节着细胞的吸附、融合、分泌、运动和收缩等功能,随Ca浓度的变化而变化。P参与核酶的组成和能量代谢。多种酶类以Mg⁺⁺作为激活剂,Eh含有大量核糖体,Mg⁺⁺维持核糖体的结构与功能,并降低膜的渗透性。Na⁺、K⁺、Cl⁻是影响细胞膜电位的主要离子。K⁺是细胞内最主要的阳离子之一,能稳定细胞内部结构。Na⁺、K⁺是Eh的Na⁺-K⁺ATP酶的组分。各种氨基酸的吸收都需要Na⁺。Cl⁻是Eh的淀粉酶的激活剂。从上说明许多元素是Eh酶的辅基、激活剂或酶的组分,参与虫体的多种功能。金属离子的多少与有无关系到虫体的代谢与存活。

应用静脉及脾内注射法对BALB/C鼠免疫效果的初步探讨

刘佩娜 王子龙 胡孝素

(华西医科大学寄生虫学教研室, 成都 610041)

用199培养基培养杜氏利什曼原虫前鞭毛体 (*Leishmania donovani* Sichuan juman isolate, MHOM /CN /g6 /sc6) 离心取沉淀,生理盐水洗2-3次,悬浮于生理盐水中,选用BALB/C鼠免疫,前3次采用尾静脉注射,第四次则采用打开皮肤,不开腹腔,直刺脾内注射;以减少感染和损伤,4次免疫均间隔2周,每次注射前鞭毛虫体数 $0.5-1 \times 10^7$,融合前三天加强免疫仍采用脾内注射,用ELISA法检测BALB/C鼠血清抗体效价可达1:25600,通过细胞融合,再克隆获得单克隆抗体1F₇-D₆和2A₁-H₁₁,抗体滴度分别为1:51,200; 1:102,400,用双向琼脂扩散法,培养杂交瘤细胞的上清,作Ig亚类鉴定均为IgG_{2b}。

在制备单克隆抗体时,首先需要免疫BALB/C鼠,常规采用的免疫方法是二次基础免疫,一次静脉加强,该法的缺点是免疫时程长,抗原用量较大,spitz等人采用打开腹腔,一次将抗原直接注入脾内的免疫方法,该法免疫时间短注射88小时后可进行融合,抗原用量少,细胞抗原30左右,可溶性抗原20 μg-100g,在上述方法的基础上,本文采用静脉及脾内注射BALB/C鼠,获得较好的结果,该法免疫时间较短,抗原用量少,抗体效价高,而且避免了IgM型McAb的产生,另外,在制备多克隆抗体时也可考虑此法。

抗弓形虫独特型抗体免疫保护性的研究

陈彩华 张 乐 王亚凡 傅翠娥 杨旭明 林爱芬

(浙江省医学科学院寄生虫病研究所, 杭州 310013)

近年来,对弓形虫疫苗的研究,主要是使用减毒或诱变的无毒株,也有应用寻找保护性抗原成份。Hanndman等用6株McAb分别转输小鼠,结果发现有两株可使小鼠获得对中等毒力

虫株感染的100%的保护力,可使强毒虫株攻击感染平均存活时间延长。本文以抗弓形虫膜单克隆抗体(简称M₄A₆)免疫新西兰纯种兔,经三次免疫后,获抗M₄A₆独特型多抗血清。采用亲和层析法纯化独特型抗体血清,经SDS-PAGE电泳分析,抗M₄A₆独特型抗体(简称抗Id-抗体)约在43、67KDa处呈现两条主要蛋白区带,尤以43KDa处更明显。应用M₄A₆和抗Id抗体免疫小鼠进行免疫保护性的研究,初步实验结果提示,以M₄A₆McAb和抗Id抗体免疫后小鼠对重度弓形虫感染(10⁶/只)具有一定的保护力,与未免疫的对照组小鼠相比,免疫鼠感染弓形虫后发病、死亡时间较对照组分别延缓2-3天和4-5天。

本项研究为弓形虫疫苗研究开辟新途径。

脑脊液中弓形虫循环抗原的组分分析

林爱芬 傅翠娥 王亚凡

(浙江省医学科学院寄生虫病研究所, 杭州 310013)

本文首次应用SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和酶联免疫印渍试验(ELIB),对经ELISA检测弓形虫循环抗原(cAg)阳性者的脑脊液标本进行抗原组分分析,以进一步确定cAg的抗原成份,探讨ELIB技术作为确诊弓形虫感染的可触性。

两份脑脊液分别采自脑瘫患者(经弓形虫病原学证实)及脑囊虫病伴发弓形虫感染者。同时用正常人脑脊液、RH株速殖子的代谢抗原及可溶性虫体抗原作为平行对照。SDS-PAGE电泳结果:2例脑脊液出现24、23条蛋白区带,分子量范围都在14-108KD初,在38-67KD处有明显的电泳区带。RH株代谢抗原电泳条带有21条,分子量范围在14-108KD处,在38-67KD、97-108KD处有明显的电泳区带。正常脑脊液电泳区带有21条,分子量范围在16-108KD处,在40-60KD处电泳区带明显。ELIB结果:RH株高免血清与脑瘫病人脑脊液中cAg反应,在50KD处出现1条显色区带;与脑囊虫病伴发弓形虫感染者脑脊液cAg反应,分别在50、54KD处出现2条显色条带;与RH株代谢抗原反应,在50、97、108KD处出现了3条反应区带;与RH株可溶性虫体抗原反应,分别在35、38KD处出现2条反应区带;而与正常人脑脊液无反应区带显示。结果提示,脑脊液标本与RH株代谢抗原在50KD处都有明显的显色区带,为弓形虫cAg的功能条带。

以上结果表明,脑脊液cAg的SDS-PAGE蛋白电泳区带及ELIB所显示的功能条带,都与代谢抗原相似,证实上述脑脊液标本中的cAg为弓形虫体在宿主体内增殖的裂解及代谢产物。由于弓形虫病原学检查费时、费力,且成功率低。因此,在临床标本的检测中,ELIB技术代替病原学诊断,可以作为弓形虫病急性,活动性感染的确诊指标。

献血者弓形虫感染的血清学调查分析

张 乐 林爱芬 王亚凡 杨旭明 傅翠娥 陈彩华

(浙江省医学科学院寄生虫病研究所, 杭州 310013)

弓形虫病是一种人兽共患病,其病原体可通过输血等多种途径传播给他人造成严重危害。

近年来,国内外对弓形虫通过输血传播引起重视。为了正确评估献血者弓形虫感染情况和通过输血传播的可能性。我们首次采用ELISA三联诊断试剂盒对浙江省五个地区1514名献血者进行cAg、IgM、IgG三项指标的血清学调查。调查结果,献血者中感染率为18.8%。其中新近感染者为49名,占调查总人数的3.2%,占感染人数的17.3%说明献血者弓形虫感染率较高,新近感染者极易通过输血传播给受血者造成危害,应引起血站重视。建议今后在献血者合格筛选时开展弓形虫检测项目。特别是对cAg、IgM两项目的检测,这对彻底切断弓形虫从输血传播的途径,进一步提高血制品质量具有重要意义。

循环抗原阳性对弓形虫病的 诊断价值的研究

傅翠娥 余毅 陈彩华 杨旭明 王蓉 张乐

(浙江省医学科学院寄生虫病研究所, 杭州 310013)

丁贞英 刘莉 许雪萍 张群

(江西省寄生虫病研究所)

本研究采用双抗体夹心ELISA一步法,检测不同人群标本的弓形虫循环抗原(CITCULATING ANTIGEN),并结合病原学检查及临床观察,以进一步验证cAg阳性对弓形虫病的确诊价值。

1. 用ELISA-CAg检测血清、脑脊液、羊水等标本5658例,阳性87例。其中有65例诊断为中枢神经系统弓形虫病(74.7%),11例为先天性弓形虫病(12.6%)。其余为淋巴结肿大,视神经炎、慢性白血病伴发弓形虫感染及不明原因的发热等。

2. 从87例cAg阳性标本中,取41例进行病原学检查。结果,有26例通过动物接种分离到弓形虫,3例在涂片查见弓形虫速殖子。不同样本中的虫体检出率依次为羊水3/3、乳汁1/1、胚胎匀浆1/1、脑脊液21/30、血液3/6。其中2例羊水及胚胎标本1例,同时采用PCR方法检查,亦呈阳性。

3. 对29例分别在起病3-21天的疑似弓形虫脑炎或脑病患者,取脑脊液进行不同免疫学指标的检测。结果,cAg在发病3天即可检出,而2周后出现下降趋势,总阳性数为26例;IHA抗体于发病5天出现阳性,共检出4例;ELISA-IgM及IgG抗体在发病1周后逐渐出现阳性,阳性数分别为5例和1例。cAg的检测结果与人工感染弓形虫兔血清的cAg消长规律似相一致。

研究结果表明,ELISA-CAg检测与病学检查的阳性符合率达70.7%(29/41);与PCR方法有相似的敏感性,它是一种人体弓形虫感染的快速诊断方法。结合临床发病情况的观察,发现起病3天即可在脑脊液中检出CAg,阳性率高达26/29,而抗体出现较晚,阳性检出率并明显低于CAg(10/29),由此提示,检测CAg,具有弓形虫早期、活动期感染的诊断价值。通过对5658例不同类型标本的cAg检测结果显示,弓形虫病可见于临床各科,尤其是神经内科与妇产科,因此认为,在对某些原因不明的疾病进行鉴别时,应考虑弓形虫病的可能性。同时,如果能将cAg检测列为孕妇围产期监测指标,对优生优育具有重要的意义。

一种恶性疟原虫多价重组复合抗原 的免疫特性研究 I

免疫原性的进一步研究

陈白虹 缪 军 薛采芳

(第四军医大学寄生虫学教研室)

彼慧祥 李英杰

(第一军医大学疟疾免疫研究室)

自从杂合肽 Spf66 在猴和人体试验中取得了初步可喜的成功后, 多价复合疫苗已被认为是当前组建疫苗的最佳方案。这种疫苗应包含疟原虫个阶段有效保护性抗原成份, 同时具有可被大多数 MHC 分子识别的 T、B 细胞表位, 甚至另接外源性如: IL-1、破伤风毒素 (TT) 等具有广泛刺激 T 细胞的位点。本文所研究的基因重组抗原既包含了 MSA1、MSA2、RESA 上 T 和/或 B 细胞活性位点及 IL-1、TT 上的 T 细胞激活位点, 又含有 Spf66 序列, 本工作对该抗原的免疫原性作进一步研究。

实验将 Balb/c 小鼠分为复合抗原加佐剂组、复合抗原组、全虫抗原 (可溶性裂殖子抗原) 加佐剂组和佐剂对照组。C57BL/6 小鼠分为复合抗原加佐剂组和佐剂对照组: 于 0、14、28 天进行三次腹腔注射免疫, 抗原用量为 $50 \mu\text{g}$ /次。于免疫前及第三次免疫后第 10 天取血并分离血清, 用 ELISA 间接法分别检测抗复合抗原抗体和抗虫抗原抗体。

结果显示: 复合抗原加佐剂组和复合抗原组均产生了明显的抗复合抗原抗体, 前者免疫前、后抗体水平分别为 0.008 和 0.973; 而后者为 0.060 和 0.954, 与佐剂组相差显著 ($P=0.016$), 表明在有或无佐剂的情况下, 复合抗原均能刺激小鼠产生抗复合抗原抗体, 该复合抗原具有免疫原性。此外, 复合抗原加佐剂组与全虫抗原加佐剂组一样能够产生抗全虫抗原抗体, 两者比较相差不显著 ($P=0.07$), 提示复合抗原加佐剂组能产生一定水平的抗全虫抗原抗体; 而复合抗原组则未能产生明显的抗全虫抗原抗体, 虽然它能产生明显的抗复合抗原抗体, 这提示佐剂能促进小鼠产生有效的针对全虫抗原的抗体。C57BL/6 小鼠的抗复合抗原抗体的结果亦提示该复合抗原具有免疫原性, 表明复合抗原至少可以识别两种 MHC ($H-2^b$ 、 $H-2^d$) 的 T 或 B 细胞位点。

以上结果提示该重组抗原具有免疫原性, 并可望成为较好的抗恶性疟的候选疫苗。

本项目得到联合国开发计划署 世界卫生组织热带病研究和培训规划的资助 ID No 920048

一种恶性疟原虫多价重组复合抗原 的免疫特性研究 II

脾细胞增殖和 IL-2 水平测定

缪 军 薛采芳 陈白虹

(第四军医大学寄生虫学教研室)

李全贞 李英杰 毕惠祥

(第一军医大学寄生虫学教研室)

著名的杂合肽 Spf66 虽然取得了可喜的部分保护作用, 但专家们认为 Spf66 中主要包含的

是B细胞位点,T细胞位点不够。从最新研究结果发现,Spf₆₆仅能引起12%的人T细胞发生增殖,现代研究发现细胞免疫,特别是T细胞免疫在抗疟免疫中发挥了重要的作用,故当前认为在设计疟疾疫苗中,应同时包含有B细胞和T细胞位点,本文所研究的多价重组和抗原就是既包含MSA.RESA.MSA₂的B细胞位点,又包含了其上的T细胞位点,且含有IL-1和TT上的广谱的T细胞刺激位点。本文就该复合抗原能否诱导小鼠细胞免疫方面做了初步研究。

将Balb/c小鼠分为复合抗原加佐剂组和佐剂对照组,于0,14,28天进行三次腹腔注射免疫,抗原用量为50 μg/次,第一次免疫用完全弗氏佐剂,第二、三次免疫用不完全弗氏佐剂,于第三次免疫后10天处死小鼠,制备脾细胞悬液,调整细胞为 1×10^7 ml,加入培养板中,再分别加入ConA 10 μg/ml,复合抗原2.5 μg/ml(终浓度),于5%CO₂,37℃条件下培养,48小时后取上清用CTLL H^s-TdR掺入法测定IL-2,60小时后,于ConA刺激的脾细胞中掺入H^s-TdR,102小时后,于复合抗原刺激的脾细胞中掺入H^s-TdR,分别于掺入后18小时收集细胞,B液闪烁测定cpm值。

结果显示,复合抗原加佐剂组脾细胞经复合抗原刺激后增殖显著,同时IL-2水平亦明显提高,而佐剂对照组则无明显增殖,IL-2水平亦变化不明显;但两组经ConA刺激后均表现明显增殖和明显的IL-2水平上升。IL-2是由T_H细胞分泌,其能促进T_H细胞及B细胞,CTL细胞,Mφ等的分化增殖,发挥进一步的免疫效应。该复合抗原能促进脾细胞增殖和IL-2产生,提示其的T细胞位点发挥了有效的作用。这一结果与以前研究的该复合抗原具有明显免疫原性的结果综合起来提示该复合抗原可能是一个较好的疫苗。

本项目得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究和培训特别规划的资助。
ID No. 920048

套式PCR检测滤纸干血滴 恶性疟原虫的研究

孙明林 陈培霞 薛采芳 刘忠湘

(第四军医大学寄生虫学教研室, 西安 710032)

根据恶性疟原虫(P.f)及其它疟原虫和相关原虫的小亚单位核糖体核酸基因(SSUrDNA)序列资料,设计出一对P.f特定片段的寡聚核苷酸外引物,在比较分析我国P.f不同地理株SSUrDNA扩增片段碱基序列的基础上,设计出一对P.f特异的内引物,采用双温点PCR技术,建立了套式PCR检测P.f系统。本文对该系统进行优化改进,并用于检测滤纸干血滴标本中P.f,使之更适于现场大规模应用。

耳垂或手指采血,滴于经处理的普通滤纸上,4℃干燥保存。用浸泡煮沸法萃取DNA模板,进行套式PCR扩增,其产物经电泳鉴定后,进一步用限制性内切酶酶切分析证实是否为目的的片段。取P.f原虫率为1.3%的滤纸干血滴(简称干血滴)标本浸泡,用非疟区正常人干血滴标本浸泡液进行10倍梯度稀释,平行扩增并重复实验,结果显示检测敏感度达 1.3×10^7 ,超过镜检及套式PCR检测P.f冻存血标本的敏感度水平(0.8×10^{-6})。1984年采自云南经实验证实为P.f感染的干血滴标本21份,用本系统检测,全部出现大小为165bp的SSUrDNA特定扩增片段,而30份采自非疟区健康献血员干血滴标本以及间日疟原虫(P.v)、食蟹猴疟原虫、诺氏疟原虫均未出现扩增带,表明该系统有较强的特异性。1993年采集云南疟区门诊发热病人

干血滴标本110份, 门诊镜检59份为P.f、51份阴性, 用该套式PCR扩增系统检测阳性者分别为55和19份。61份经实验室镜检和为P.v感染的干血滴标本, 用本系统检测, 其中30份出现特定扩增带, 表明为混合感染。

本实验采用滤纸干血滴标本, 取材、保存及运输都很方便, 偏远地区可邮寄, 长期保存不影响其检测敏感度, 4℃干燥保存10年的标本仍可扩增出目的片段。采用生理盐水处理样本和双蒸水煮沸法制备模板操作简单、对实验条件无特殊要求。由于反应体积的减少和反应系统的优化, 大大降低了成本。反应条件进一步改进, 达到更快速的目的, 整个检测过程可在3个小时内完成。初步研究显示套式PCR系统还具有检出混合感染的潜力。本实验进一步证明此系统具有灵敏、准确、简易、快速的特点, 是诊断P.f的良好手段, 与已建的SSUrDNA为靶的P.v套式PCR系统结合, 将使疟原虫检测和鉴定系统更为完善, 诊断水平更为提高, 具有推广价值和较好的现场应用前景。

约氏疟原虫保护性抗原对鼠疟红内期 保护性免疫调节的研究 I 保护性抗原 FPLC 纯化及鉴定*

王春莉 薛采芳 刘智广 陈志南 甄荣芬 刘成钢

(第四军医大学寄生虫学教研室, 西安 710032)

约氏疟原虫(*Plasmodium yoelii yoelii* P.y) 红内期保护性抗原能诱导宿主产生抗约氏疟原虫再感染的免疫力, 其产生保护性免疫的机理一般认为是通过保护性抗原刺激不同T细胞亚群, 使其产生IL-2、IL-4、IFN- γ 等细胞因子以及协同体液免疫疟原虫入侵红细胞。为了研究疟疾疫苗确切的保护性机理, 需继续寻找单一的保护性抗原, 并进一步研究保护性抗原如何通过T细胞及其细胞因子对红内期原虫起保护作用, 所以, 制备一定数量纯化的保护性抗原是研究保护性免疫机理和亚单位疫苗的物质基础。为此, 我们应用快速蛋白液相色谱系统(EPLC)建立了二步法半制备级纯化P.y保护性抗原的新方法。

该法从重度感染P.y的BALB/C小鼠血液中提取P.y粗抗原, 粗抗原先用Sephacryl S-200凝胶过滤经FPLC纯化, 用pH7.4 10mmol/L的PB洗脱可得到三个组分峰, ELISA双抗体夹心法检测第二峰中含有P.y保护性抗原组分, 将此组分经DEAE-40HR阴离子交换色谱柱纯化, 缓冲液A为pH7.4 10mmol/L PB, 缓冲液B为pH7.4 0.5mmol/L NaCl-10mmol/L PB, 洗脱条件: 0-15min用0-30%B液洗脱: 15-60min用30-60%B液洗脱: 60-70min用70%B液洗脱。共分离出6个组分峰, 经检测第5峰中P.y保护性抗原活性最高, 将其浓缩后即得到保护性抗原纯品。

纯化抗原经SDS-PAGE检测仅有一条主带, 其纯度大于90%, 抗原分子量53KDa。用纯化抗原加福氏完全佐剂免疫BALB/C小鼠两次, 间隔25天, 第二次免疫后14天再从尾静脉直接注射P.y保护性抗原, 10天用P.y 10^6 PRBC攻击, 同时设佐剂对照组和易感小鼠组。攻击后每2天制薄血膜一次, 染色镜检计数原虫率。纯化抗原免疫的小鼠原虫率低于佐剂对照组和易感小鼠组($P < 0.01$), 佐剂对照组仅原虫高峰推迟出现。说明纯化抗原具有很好的保护作用。

该法操作比亲和层析法简单, 纯化周期短, 样品预处理方法简单, 制备量大, 是亲和层析法制备量的100倍以上, 又由于该法在整个纯化过程中条件比较温和, 所选用的洗脱缓冲