

## 【研究简报】

文章编号: 1000-7423(2009)-01-0083-04

## 同位素微量试验法检测新化合物抗恶性疟原虫活性试验

陈兆国<sup>1\*</sup>, Alicia MORENO<sup>2</sup>, Agustin BENITO<sup>2</sup>, Marta MORENO<sup>2</sup>,  
Pedro J. BERZOSA<sup>2</sup>, Aida de LUCIO<sup>2</sup>, Eva MOYANO<sup>2</sup>

**【摘要】** 将连续培养的恶性疟原虫克隆系 Dd2 和 3D7 用 6% 山梨醇作 2 次同步处理。处理后第 2 代原虫用健康人红细胞稀释至红细胞比容为 2.5%、原虫血症为 0.5%，并加入 2  $\mu\text{Ci/ml}$  8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤，利用同位素微量试验法检测 20 个新化合物的抗疟原虫活性。结果显示 20 个新化合物均无明显的抗疟原虫活性；对照药物氯喹和奎宁显示出良好的抗疟活性，表明同位素微量试验法是一个稳定、可靠的体外筛选新抗疟药的方法。

**【关键词】** 恶性疟原虫；抗疟药；同位素微量试验法

中图分类号: R382.312 文献标识码: B

Detection of Antimalarial Activity for New Compounds  
by Isotopic MicrotestCHEN Zhao-guo<sup>1\*</sup>, Alicia MORENO<sup>2</sup>, Agustin BENITO<sup>2</sup>, Marta MORENO<sup>2</sup>,  
Pedro J. BERZOSA<sup>2</sup>, Aida de LUCIO<sup>2</sup>, Eva MOYANO<sup>2</sup>

(1 Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Animal Parasitology, Ministry of Agriculture, Shanghai 200232, China; 2 Laboratorio de Malaria, Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Crta. Majadahonda-Pozuelo Km2, 28220 Madrid, Spain)

**【Abstract】** Two clone lines (Dd2 and 3D7) of *Plasmodium falciparum* were cultivated continuously in human erythrocytes at 37°C in RPMI 1640 medium with human serum and subjected to 6% sorbitol treatment 2 times in order to obtain highly synchronized cultures. The second generation parasites after the treatment were diluted with human RBC to be a suspension of *P. falciparum*-human RBC at 2.5% hematocrit and 0.5% parasitemia, and 2  $\mu\text{Ci/ml}$  of 8-<sup>3</sup>H-hypoxanthine was added. Isotopic microtest was employed to detect the antimalarial activity for 20 new compounds. Results revealed that the 20 compounds showed no anti-malarial activity, while the control drugs, chloroquine and quinine, exhibited high efficacy, indicating that the isotopic microtest is a stable and reproducible assay for screening new antimalarials.

**【Key words】** *Plasmodium falciparum*; Antimalarial drug; Isotopic microtest

Partly supported by Special Funds of Essential Scientific Research Work for National Non-profit Institute (No. 2006JB04)

\* Corresponding author, E-mail: zhaoguochen70@yahoo.com.cn

疟疾是全球最为严重的公共卫生问题之一，自 20 世纪 50 年代末首次发现对氯喹的抗药性以来，对多种抗疟药具有抗药性的恶性疟原虫迅速出现并扩散，成为全球疟疾控制面临的最大挑战之一。不断地研究和发现新的抗疟药，对现有药物进行敏感性监测，都对疟疾的控制和合理使用药物具有重要意义。

常用的抗疟药物筛选方法包括 WHO 推荐的体外微量法 [WHO microtest, 又称裂殖子成熟测定法 (WHO schizont maturation assay)]<sup>[1]</sup>、同位素微量试验法 (isotopic microtest)<sup>[2]</sup>、乳酸脱氢酶法 (parasite lactate dehydrogenase, pLDH)<sup>[3]</sup>、双夹心酶联乳酸脱氢酶免疫检测法 (double-site enzyme-linked lactate dehydrogenase immunodetection assay, DELI)<sup>[4]</sup>、富组氨酸蛋白

法 (histidine-rich protein II, HRP2)<sup>[5]</sup> 和荧光测定法 (fluorescence assay, FA)<sup>[6]</sup> 等。其中体外微量法和同位素微量试验法是 WHO 推荐的抗疟药物筛选和敏感性检测方法，最为常用。国内多采用体外微量法，同位素微量试验法报道甚少。本研究使用同位素微量试验法检测 20 种新化合物对恶性疟原虫的抗疟活性，探讨该方法是否适用于体外筛选抗疟药。

## 1 材料与方

1.1 恶性疟原虫 恶性疟原虫 Dd2、3D7 克隆系，由西班牙卡洛斯三世健康研究院国家微生物中心疟原虫研究室提供，其中 *P. falciparum* Dd2 克隆系来自东南亚，从 Indochina III/CDC 克隆衍生而来，对氯喹、甲氟喹和乙胺嘧啶具有抗药性。而对药物敏感的 *P. falciparum* 3D7 克隆系从 *P. falciparum* NF54 株衍生而来，对氯喹、奎宁、甲氟喹、乙胺嘧啶及二氢青蒿素等药物均敏感。实验前复苏两克隆系并连续培养。

1.2 主要仪器和试剂 RPMI 1640 细胞培养基购自美国 Gibco

**基金项目:** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (No. 2006JB04)

**作者单位:** 1 中国农业科学院上海兽医研究所，农业部动物寄生虫学重点开放实验室，上海 200232；2 西班牙卡洛斯三世健康研究院国家微生物中心，马德里 28220

\* 通讯作者，E-mail: zhaoguochen70@yahoo.com.cn

BRL公司, 次黄嘌呤、氯喹和奎宁购自美国 Sigma Chemical 公司, 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤 (放射性强度 1 mCi/ml) 购自瑞典 Amersham Biosciences 公司, B 型人血清和 B 型红细胞 (4 °C 保存, 用前以 RPMI 1640 清洗并在 2 周内使用) 由无疟原虫感染史的志愿者提供。20 个新化合物由西班牙 Salamanca 大学药学院药物化学系提供, 为二环辛二烯衍生物 (属高不饱和吡喃酮多聚乙酰类化合物)、鞘氨醇和二氢神经鞘氨醇系列类似物等 (表 1、2); Printed Filtermat A、Meltilex<sup>TM</sup> A 膜购自芬兰 WALLAC Oy 公司, 液体闪烁仪 1450 Microbeta 购自美国 PerkinElmer Life Science 公司, 96 孔细胞收集器购自丹麦 SkatRon 公司。

1.3 药物配制 溶液 I: 取氯喹和奎宁各 15 mg, 加入 3 ml 70%乙醇, 再加入 7 ml RPMI 1640 溶液; 待检新化合物, 用 70%乙醇按同样浓度、方法消毒、溶解, 对部分较难溶解的, 置 37 °C 水浴至完全溶解。溶液 II: 20 μl 溶液 I 溶于 5 ml 含 15%血清的完全培养基。

1.4 同位素微量试验 按 Trager 等<sup>[7]</sup>方法建立恶性疟原虫体外培养体系。抗疟活性检测按 Desjardins 等<sup>[2]</sup>建立的方法改进进行: 将连续培养的 2 个克隆系恶性疟原虫用 6%山梨醇作 2 次同步处理。处理后第 2 代原虫用健康人 B 型红细胞稀释至红细胞比容为 2.5%、原虫血症为 0.5%, 加入 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤, 使放射性强度为 2 μCi/ml。在 96 孔细胞培养板的第一列, 加入药物溶液 II 50 μl, 以后各列分别用含 15%血清的完全培养基进行倍比稀释, 至第 10 列, 每孔中再加 200 μl 上述含感染疟原虫的红细胞, 每种药物重复测定 2 次, 设乙醇对照组和空白对照组, 同时设正常红细胞对照组和培养基对照组。37 °C

5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后冻融 3 次, 用细胞收集器收集细胞培养液到 Printed Filtermat A 膜上, 46 °C 干燥 30 min, 其上小心覆盖 Meltilex<sup>TM</sup> A 膜, 90 °C 加热溶解, 然后用液体闪烁仪检测虫体中掺入的 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤放射性强度。

1.5 统计学分析 利用 Microsoft Office Excel 2003 软件进行数据处理、统计, 计算不同浓度各种药物作用时虫体 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤的摄入百分比, 计算公式为: 虫体 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤摄入百分比 = (试验组虫体摄入的 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤放射性强度/无药物对照组虫体摄入的 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤放射性强度) × 100%; 根据 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤的摄入百分比, 利用 HN-NonLin 软件进行非线性回归分析, 绘制量效曲线, 计算具有抗虫效果的各种药物的 50%抑制浓度(50% inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。

## 2 结果

2.1 20 个新化合物对恶性疟原虫 Dd2 克隆系的抗疟活性试验 试验共分 2 次进行, 第 1 次对 4 个新化合物进行试验, 对照为氯喹; 第 2 次为 16 个新化合物的抗虫活性试验, 以氯喹和奎宁为对照药物。结果显示 20 个新化合物以不同浓度作用后, 虫体的 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤摄入百分比均在 70%以上, 表明这些化合物均无明显的抗疟原虫活性 (表 1)。37.5 ng/ml 氯喹作用恶性疟原虫时, 2 次的 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤摄入百分比分别为 39.1%和 41.0%, IC<sub>50</sub> 分别为 15.88 ng/ml [相关系数 (correlation coefficient, R<sup>2</sup>) = 0.9937] 和 15.73 ng/ml (R<sup>2</sup> = 0.9886); 150 ng/ml 奎宁作用时, 其 8-<sup>3</sup>H-次黄嘌呤摄入百分比为 41.7%, IC<sub>50</sub> 为 67.54 ng/ml (R<sup>2</sup> = 0.9971)。

2.2 14 个新化合物对恶性疟原虫 3D7 克隆系的抗疟活性试验

表 1 20 个新化合物抗恶性疟原虫 Dd2 克隆系抗虫活性试验结果

	不同药物浓度(ng/ml)作用时虫体 8- <sup>3</sup> H-次黄嘌呤摄入百分比 (%)									
	2.35	4.69	9.38	18.75	37.5	75	150	300	600	1200
第一次试验										
Elysiapyrone B	86.1	94.0	97.7	85.8	87.1	93.3	91.4	88.8	99.3	102.3
Elysiapyrone C	92.2	107.3	100.0	98.9	103.2	99.1	102.8	105.4	98.4	100.9
Erano C	106.8	96.6	107.8	107.1	101.6	93.3	106.6	97.4	101.6	103.9
Erano D	101.4	103.9	104.9	107.9	101.7	102.8	114.5	114.6	109.5	105.8
氯喹	105.8	90.4	78.1	55.5	39.1	29.3	26.3	23.7	23.0	16.6
第二次试验										
Fc-1	101.7	98.9	100.3	104.6	95.2	94.5	98.8	101.8	93.4	91.6
Fcs-10	109.8	108.1	107.1	107.1	103.8	103.3	97.1	92.7	87.5	81.4
Fcs-11	97.2	109.6	96.3	94.9	95.5	96.1	96.8	97.3	91.1	79.6
Fcs-12	110.7	110.5	109.4	105.6	103.0	103.9	102.1	100.9	101.0	100.2
Fcs-15	112.1	104.3	108.5	116.7	108.3	104.9	100.3	100.2	96.2	86.5
Fcs-16	101.2	114.9	100.3	108.0	115.8	101.5	98.6	95.2	86.3	87.8
Fcs-29	106.7	122.4	126.6	116.0	120.1	119.4	111.6	105.5	103.1	98.8
Fcs-38	105.4	107.8	112.0	107.4	107.9	107.4	102.1	108.1	96.9	101.1
Fcs-41	99.5	109.4	95.7	109.6	98.8	99.5	93.4	96.2	88.5	79.5
Fcs-60	104.4	111.5	113.9	108.0	110.7	109.7	107.4	108.4	109.6	87.4
Fcs-17	98.9	97.8	95.4	101.0	95.5	87.1	85.1	98.0	95.1	82.5
Fcs-21	82.9	90.9	89.5	91.9	96.7	93.1	93.2	88.1	91.3	73.9
Fcs-121	104.9	101.8	112.7	105.2	101.6	94.6	87.5	97.7	95.0	99.2
Fcs-3	90.5	89.9	92.1	94.9	90.1	85.0	82.4	86.0	84.8	86.0
Fcs-7	85.3	93.4	77.6	85.2	90.3	86.5	86.2	86.0	78.2	72.5
Cr-005	102.6	103.3	102.9	96.7	96.2	99.3	94.5	95.3	91.6	89.9
氯喹	97.1	98.1	80.9	64.1	41.0	32.8	32.0	30.3	29.2	25.0
奎宁	98.9	98.0	102.6	90.8	74.7	55.3	41.7	32.4	23.4	20.4

试验分 2 次进行, 第 1 次测试 4 个化合物, 氯喹为对照; 第 2 次试验 10 个新化合物, 氯喹和奎宁为对照。结果显示, 14 个化合物以不同浓度作用疟原虫后, 虫体的  $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤摄入百分比均在 70% 以上, 表明这些化合物均无明显抗疟原虫活性 (表 2)。而对照药物氯喹和奎宁的浓度分别为 9.38 和 37.5 ng/ml

时, 即能有效抑制恶性疟原虫的生长。氯喹 2 次的  $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤摄入百分比分别为 40.9% 和 21.3%,  $IC_{50}$  分别为 6.28 ng/ml ( $R^2=0.9945$ ) 和 4.69 ng/ml ( $R^2=0.9989$ ); 奎宁  $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤摄入百分比为 40.4%,  $IC_{50}$  为 12.05 ng/ml ( $R^2=0.9920$ )。

表 2 14 个新化合物抗恶性疟原虫 3D7 克隆系抗虫活性试验结果

	不同药物浓度(ng/ml)作用时虫体 $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤摄入百分比 (%)									
	2.35	4.69	9.38	18.75	37.5	75	150	300	600	1200
第一次试验										
Elysiapyrone B	86.1	94.0	97.7	85.8	87.1	93.3	91.4	88.8	99.3	102.3
Elysiapyrone C	92.2	107.3	100.0	98.9	103.2	99.1	102.8	105.4	98.4	100.9
Erano C	106.8	96.6	107.8	107.1	101.6	93.3	106.6	97.4	101.6	103.9
Erano D	101.4	103.9	104.9	107.9	101.7	102.8	114.5	114.6	109.5	105.8
氯喹	105.8	90.4	78.1	55.5	39.1	29.3	26.3	23.7	23.0	16.6
第二次试验										
Fc-1	101.7	98.9	100.3	104.6	95.2	94.5	98.8	101.8	93.4	91.6
Fcs-10	109.8	108.1	107.1	107.1	103.8	103.3	97.1	92.7	87.5	81.4
Fcs-11	97.2	109.6	96.3	94.9	95.5	96.1	96.8	97.3	91.1	79.6
Fcs-12	110.7	110.5	109.4	105.6	103.0	103.9	102.1	100.9	101.0	100.2
Fcs-15	112.1	104.3	108.5	116.7	108.3	104.9	100.3	100.2	96.2	86.5
Fcs-16	101.2	114.9	100.3	108.0	115.8	101.5	98.6	95.2	86.3	87.8
Fcs-29	106.7	122.4	126.6	116.0	120.1	119.4	111.6	105.5	103.1	98.8
Fcs-38	105.4	107.8	112.0	107.4	107.9	107.4	102.1	108.1	96.9	101.1
Fcs-41	99.5	109.4	95.7	109.6	98.8	99.5	93.4	96.2	88.5	79.5
Fcs-60	104.4	111.5	113.9	108.0	110.7	109.7	107.4	108.4	109.6	87.4
Fcs-17	98.9	97.8	95.4	101.0	95.5	87.1	85.1	98.0	95.1	82.5
Fcs-21	82.9	90.9	89.5	91.9	96.7	93.1	93.2	88.1	91.3	73.9
Fcs-121	104.9	101.8	112.7	105.2	101.6	94.6	87.5	97.7	95.0	99.2
Fcs-3	90.5	89.9	92.1	94.9	90.1	85.0	82.4	86.0	84.8	86.0
Fcs-7	85.3	93.4	77.6	85.2	90.3	86.5	86.2	86.0	78.2	72.5
Cr-005	102.6	103.3	102.9	96.7	96.2	99.3	94.5	95.3	91.6	89.9
氯喹	97.1	98.1	80.9	64.1	41.0	32.8	32.0	30.3	29.2	25.0
奎宁	98.9	98.0	102.6	90.8	74.7	55.3	41.7	32.4	23.4	20.4

### 3 讨论

Desjardins 等<sup>[2]</sup>利用放射性核素氚 ( $^3\text{H}$ ) 标记的次黄嘌呤在寄生虫代谢过程中的掺入, 建立了半自动的同位素微量试验法。次黄嘌呤是疟原虫核苷酸代谢过程中的重要产物, 在黄嘌呤氧化酶的催化下形成黄嘌呤,  $^3\text{H}$  标记的次黄嘌呤的放射性强度与疟原虫密度相关, 摄入的  $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤放射性强度越低, 摄入百分比相应也越低, 表明药物抑制疟原虫生长作用越大, 药物的抗疟活性越高。虫体中掺入的  $8\text{-}^3\text{H}$ -次黄嘌呤放射性强度由液体闪烁计数器自动读取, 消除了人为读取结果所造成的误差。本试验用同位素微量试验法筛选 20 个新化合物, 虽未发现抗疟新药, 但对照药物氯喹和奎宁的 4 次试验结果基本一致, 相关系数也很高, 表现出较好的重复性和稳定性。仅氯喹对 3D7 克隆系的  $IC_{50}$  第 1 次为 6.28 ng/ml, 第 2 次为 4.69 ng/ml, 有一定差异, 这可能是由人工计数红细胞原虫血症、或其他试验操作误差所致。2001 年 Druilhe 等<sup>[4]</sup>发现起始血液中原虫血症比例不同, 对试验结果有影响, 当原虫血症比例低于 0.2% 时, 不能使用同位素微量试验法。同时本试验还证实了恶性疟原虫 Dd2 克隆系对氯喹和奎宁存在一定程度的抗药性, 2 种药物对该系疟原虫的  $IC_{50}$  明显高于 3D7 克隆系。

当然, 同位素微量试验法也存在一定的局限性, 如所用

仪器成本较高, 对原虫密度有一定要求 (约 0.5%), 特别是放射性核素材料的使用和放射性废料的处理, 使该方法在一般实验室或现场应用较为不便。目前, 一些新的抗疟药筛选和敏感性检测技术, 如 pLDH、DELI、HRP2 和 FA 等, 克服了传统试验方法的一些不足, 但由于报道的试验数量有限, 能否替代传统方法尚不清楚<sup>[8]</sup>。

新抗疟药的筛选是一个长期的、艰巨的任务。西班牙国家微生物中心疟原虫实验室也与有关大学合作开展了广泛的抗疟药筛选, 本试验仅为其中的一小部分。初步结果显示, 试验的 20 个化合物均无明显抗疟活性, 但同位素微量试验法是一个稳定、可靠的体外筛选新抗疟药的方法。

### 参 考 文 献

- [1] Rieckmann KH, Campbell GH, Sax LJ, et al. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in-vitro* microtechnique[J]. Lancet, 1978, 1(8054): 22-23.
- [2] Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, et al. Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semiautomated microdilution technique[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1979, 16(6): 710-718.
- [3] Makler MT, Ries JM, Williams JA, et al. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity

[J]. Am J Trop Med Hyg, 1993, 48(6): 739-741.

[4] Druilhe P, Moreno A, Blanc C, et al. A colorimetric *in vitro* drug sensitivity assay for *Plasmodium falciparum* based on a highly sensitive double-site lactate dehydrogenase antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Am J Trop Med Hyg, 2001, 64(5-6): 233-241.

[5] Noedl H, Wernsdorfer WH, Miller RS, et al. Histidine-rich protein II: a novel approach to malarial drug sensitivity testing[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(6): 1658-1664.

[6] Bacon DJ, Latour C, Lucas C, et al. Comparison of a SYBR

green I-based assay with a histidine-rich protein II enzyme-linked immunosorbent assay for *in vitro* antimalarial drug efficacy testing and application to clinical isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(4): 1172-1178.

[7] Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture[J]. Science, 1976, 193(4254): 673-675.

[8] Talisuna AO, Bloland P, D'Alessandro U. History, dynamics, and public health importance of malaria parasite resistance[J]. Clin Microbiol Rev, 2004, 17(1): 235-254.

(收稿日期: 2008-01-25 编辑: 杨频)

文章编号: 1000-7423(2009)-01-0086-01

## 【病例报告】

# 婴儿眼内感染结膜吸吮线虫 1 例

吕志跃, 曹爱莲, 吴忠道\*

中图分类号: R532.18 文献标识码: D

### 1 病例

患儿, 男, 3 月龄, 深圳人。2008 年 9 月 8 日因眼部分泌物增多、畏光、红肿, 沐浴时父母发现其左眼角有乳白色虫体, 先后到深圳市南山区人民医院和广州市儿童医院眼科就诊, 分别从其左眼内取出虫体 4 条和 2 条, 但均未对虫体进行鉴定。其后, 患儿父母携患儿和 1 条虫体到本教研室进行确诊。经检查, 患儿双眼无异常体征。虫体经 10% 甲醛固定后光学显微镜下观察, 虫体呈乳白色, 大小为 15.2 mm×0.6 mm。头端钝圆, 有角质口囊, 尾端较尖细, 体表角皮除头、尾端外具微细横纹; 由于该虫体在送本教研室镜检前已有部分损坏, 虫体子宫已被剥离出体腔, 其中充满虫卵, 虫卵椭圆形, 壳薄且透明, 大小为 (54~60) μm×(34~37) μm, 成熟虫卵中各含一条盘曲的幼虫, 轻挤压雌虫子宫, 阴门处排出的虫卵形状不规则, 卵壳成为幼虫的鞘膜 (图 1)。根据上述形态学特点, 鉴定该虫体为结膜吸吮线虫 (*Thelazia callipaeda* Railliet & Henry, 1910) 雌性成虫。

### 2 讨论

结膜吸吮线虫又称华裔吸吮线虫, 主要寄生于犬、猫等动物眼部结膜囊及泪管内, 亦可寄生于人的眼部, 引起结膜吸吮线虫病 (thelaziasis)。该病多为散发, 以婴幼儿多见, 并多见于农村和夏秋季节, 与结膜吸吮线虫的中间宿主——果蝇的生活习性和繁殖季节密切相关<sup>[1]</sup>。1917 年, 我国就有人眼结膜吸吮线虫病例报道, 此后, 国内外陆续有本虫寄生于人眼的病例报道<sup>[2-6]</sup>, 本次在广东地区发现的病例为首次报道。

本病例患儿就诊前随父母居住深圳约 1 个月, 但就诊前 65 d 曾先后于河南、河北农村生活过, 且家中饲养有犬和猫。故结合结膜吸吮线虫的生活史, 推测该患儿可能是在卫生条件较差农村被感染的。为防止婴幼儿结膜吸吮线虫病, 应特别注意婴幼儿眼部的卫生, 搞好环境卫生, 防蝇灭蝇, 不养宠物<sup>[9]</sup>。

### 参 考 文 献

[1] Shen J, Gasser RB, Chu D, et al. Human thelaziasis neglected parasitic disease of the eye[J]. J Parasit, 2006, 92(4): 872-875.

[2] Huo S, Hui QF, He J, et al. The first case of ocular thelaziasis in Shanbei Area[J]. Int J Ophthalm, 2003, 3(2): 95. (in Chinese) (霍昭, 惠清法, 贺经, 等. 陕北地区首次发现结膜吸吮线虫[J]. 国际眼科杂志, 2003, 3(2): 95.)

[3] Yang YJ, Liang TH, Lin SH, et al. Human thelaziasis occurrence in Taiwan[J]. Clin Exp Optom, 2006, 89(1): 40-44.

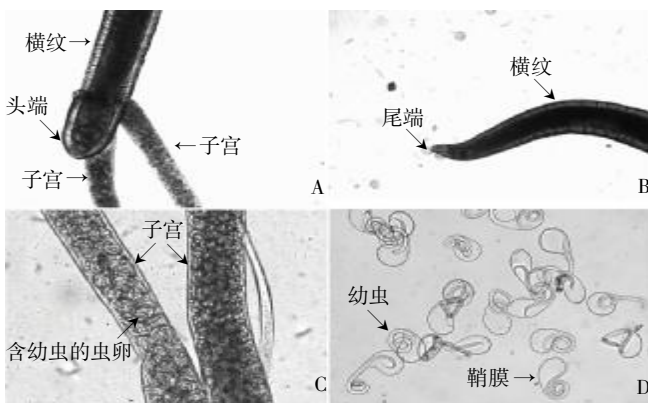
[4] Bhaibulaya M, Prasertsilpa S, Vajrasthira S. *Thelazia callipaeda* Railliet and Henry, 1910, in man and dog in Thailand[J]. Am J Trop Med Hyg, 1970, 19(3): 476-479.

[5] Hong ST, Lee SH, Han H. A human case of thelaziasis in Korea[J]. Korean J Parasit, 1985, 23(2): 324-326.

[6] Wang ZX, Chen Q, Jiang BL, et al. The epidemiology of *Thelazia callipaeda* and thelaziasis in China[J]. Chin Dis Control Prev, 2002, 6(4): 335-337. (in Chinese) (王增贤, 陈群, 江宝玲, 等. 中国结膜吸吮线虫及结膜吸吮线虫病流行病学[J]. 疾病控制杂志, 2002, 6(4): 335-337.)

[7] Wang KC, Wang ZX, Wang HY, et al. Studies on the relationship between human thelaziasis and canine *Thelazia callipaeda* infection[J]. J Trop Dis Parasit, 1999, 28(4): 204-206. (in Chinese) (王可灿, 王增贤, 王红岩, 等. 结膜吸吮线虫病与犬感染关系的研究[J]. 热带病与寄生虫学, 1999, 28(4): 204-206.)

(收稿日期: 2008-10-10 编辑: 衣凤芸)



A: 头端 (×20), B: 尾端 (×20), C: 子宫 (×40), D: 虫卵 (×100)。

图 1 结膜吸吮线虫雌性成虫及虫卵

基金项目: 科技部自然资源平台项目 (No. 2005DKA21104)

作者单位: 中山大学中山医学院寄生虫学教研室, 中山大学教育部热带病防治重点实验室, 广州 510080

\* 通讯作者, E-mail: wuzhd@mail.sysu.edu.cn