

RNA原位杂交法动态观察弓形虫速殖子对 BALB/c小鼠小肠黏膜的黏附及侵入

马晓明, 孟晓丽, 殷国荣*, 刘红丽, 申金雁

【摘要】 目的 RNA原位杂交法观察弓形虫速殖子黏附和侵入小肠黏膜的部位及时间。方法 30只 BALB/c 小鼠随机分为两组, 实验组(24只)每鼠灌胃感染 2×10^4 个弓形虫速殖子(悬于 0.2 ml PBS), 对照组(6只)给予等量 PBS。分别于感染后 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h 和 8 h 各处死实验组小鼠 4 只和对照组小鼠 1 只, 取十二指肠、空肠和回肠标本制备石蜡切片, 并作 RNA 原位杂交。光学显微镜观察原位杂交切片, 随机选取 50 个视野, 计数所有观察视野内的虫体总数并计算平均数。结果 侵入的弓形虫速殖子可位于小肠上皮细胞(吸收细胞、杯状细胞和内分泌细胞)的纹状缘、吸收细胞胞浆内或相邻吸收细胞间及固有层内。感染后 15 min, 黏附于空肠的速殖子数量(4.93 ± 3.949)显著高于回肠(3.78 ± 3.102) ($P < 0.05$); 侵入空肠的速殖子数量(4.92 ± 4.164)显著高于十二指肠(4.10 ± 3.532)和回肠(3.68 ± 3.301) ($P < 0.05$)。随着感染后时间的延长, 黏附于各肠段的速殖子数量逐渐减少, 而侵入的数量逐渐增多。与感染后 15 min 相比, 感染后 8 h, 黏附于十二指肠(2.32 ± 3.039)、空肠(3.15 ± 3.241)和回肠黏膜(2.59 ± 3.028)的速殖子数量均显著减少 ($P < 0.05$), 而侵入十二指肠(8.92 ± 8.955)、空肠(9.11 ± 6.667)和回肠黏膜(9.15 ± 10.192)的速殖子数量均显著增加 ($P < 0.05$)。结论 弓形虫速殖子对其所黏附的小肠上皮细胞无严格的选择性, 但其侵入小肠的部位具有选择性, 空肠为速殖子侵入的易感部位。

【关键词】 RNA 原位杂交; 弓形虫速殖子; 小肠黏膜; 上皮细胞

中图分类号: R531.8 文献标识码: A

Dynamic Observation of Attachment and Invasion of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites to Intestinal Mucosa in BALB/c Mice by Chromogenic *In Situ* Hybridization Targeting SAG2 mRNA

MA Xiao-ming, MENG Xiao-li, YIN Guo-rong*, LIU Hong-li, SHEN Jin-yan
(*Institute of Medical Parasitology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China*)

【Abstract】 Objective To observe dynamically the location and time of attachment and invasion of *Toxoplasma gondii* tachyzoites to murine intestinal mucosa by chromogenic *in situ* hybridization targeting SAG2 mRNA. **Methods** Thirty 7- to 8-week-old BALB/c mice were randomly divided into experiment group (24 mice) and control group (6 mice). Each animal in the experiment group was given 2×10^4 tachyzoites of RH stain in 0.2 ml PBS by intragastric administration and that in the control group was given 0.2 ml PBS. Four mice in the experiment group and one in the control group were sacrificed at 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h and 8 h after infection, respectively, and paraffin sections of duodenum, jejunum and ileum were prepared to perform the *in situ* hybridization with Dig-labeled oligonucleotide probe complementary to SAG2 mRNA of *T. gondii*. **Results** Tachyzoites were found on the striated border of small intestine epithelial cells (absorptive cells, goblet cells and endocrine cells), in or between two absorptive cells or in the lamina propria. At 15 min-2 h after infection, there was significant difference in the number of attachment on jejunum and ileum ($P < 0.05$); the number of invasion in jejunum was significantly higher than in duodenum and ileum at minute 15 and 30 after infection ($P < 0.05$). Following the lapse of time, the number of attaching tachyzoites gradually reduced, whereas the number of invading tachyzoites gradually increased. Compared with 15 min after infection, for all the intestinal sections, the number of attachment significantly reduced at 8 h after infection ($P < 0.05$), in contrast, the number of invasion significantly increased at 4 h and 8 h after infection ($P < 0.05$). Between 4 h and 8 h after infection, a significant increase in the number of invasion was showed in jejunum and ileum ($P <$

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30640057); 山西省自然科学基金 (No. 20041105)

作者单位: 山西医科大学医学寄生虫学研究所寄生虫学教研室, 太原 030001

* 通讯作者, E-mail: guorongyin@163.com

0.05). **Conclusion** Although the cell selectivity of attachment has not been observed, the location selectivity of invasion is present, jejunum is more susceptible to the tachyzoite invasion.

【Key words】 RNA *in situ* hybridization; *Toxoplasma gondii*; Tachyzoite; Intestinal mucosa; Epithelial cell

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30640057) and the Natural Science Fund of Shanxi Province (No. 20041105)

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

弓形虫是一种可感染人和温血动物的专性细胞内寄生虫,经口食入为其自然感染途径。研究表明,弓形虫速殖子可穿过小肠黏膜屏障,并扩散至深部组织,亦可穿越胎盘屏障和血脑屏障等生物屏障到达机体重要脏器定居增殖^[1]。随着免疫缺陷性疾病发病率的增加和免疫抑制剂的广泛使用,弓形虫作为一种机会致病原虫而日益受到关注。

然而,弓形虫通过肠道黏膜屏障的方式及其侵入细胞的种类,至今尚存在争议。20世纪90年代的研究认为,卵囊在胃肠道释放的子孢子首先侵入小肠上皮细胞,在其内增殖并开始寄生生活^[2,3]。2005年Barragan等^[4]提出,弓形虫可主动分离细胞连接,经旁细胞途径穿越生物屏障后感染白细胞,并由白细胞转运而散播,认为弓形虫侵入小肠上皮细胞的可能性很小。Hopkins等^[5]和Pron等^[6]等证明肠侵袭性细菌可通过派伊尔淋巴结(PPs)周围的微褶皱细胞(M细胞)侵入与之相邻的树突状细胞(DCs),Rescigno等^[7]提出细菌也可被树突状细胞从肠腔内直接摄取。最近Courret等^[8]观察到,76K株弓形虫包裹灌胃感染小鼠后第7天,肠相关淋巴结的PPs和固有层内和肠系膜淋巴结(MLNs)内的DCs为弓形虫的宿主细胞,推测弓形虫可能首先进入小肠PPs,通过M细胞进入DCs,再经DCs进入小肠黏膜固有层。

确切了解弓形虫侵入的宿主细胞的种类及方式对防治弓形虫病具有重要意义。本研究采用RNA原位杂交法动态观察弓形虫速殖子对小肠黏膜的黏附和侵入,探讨其黏附和侵入的部位和时间,为研究弓形虫黏膜疫苗的抗感染机制提供依据。

材料与方法

1 动物与虫株

BALB/c小鼠7~8周龄,雌、雄各半,体重(22±2)g,引自中国医学科学院实验动物研究所,本实验室饲养,近交繁殖。弓形虫RH株引自北京大学医学部寄生虫学教研室,本室液氮保存。

2 主要试剂

焦碳酸二乙酯(DEPC)、十二烷基硫酸钠

(SDS)、蛋白酶K、鲑鱼精子DNA、聚蔗糖-400和甘氨酸购自美国Pharmacia公司,牛血清白蛋白购自瑞士Roche公司,去离子甲酰胺、硫酸葡聚糖和Tris碱(Trisbase)购自美国Amresco公司,地高辛标记探针检测试剂盒I(POD)购自武汉博士德生物有限公司。

3 寡核苷酸探针及标记

按文献[9]方法,设计弓形虫速殖子SAG2 mRNA(Genbank登录号为M33572)特异性寡核苷酸探针,序列为:5'-GGT CTC GCA GGT TTG TTG ATC ACG TTT GT-3',将地高辛加尾标记于3'末端。探针由上海生工生物工程技术有限公司合成。

4 动物分组与处理

30只BALB/c小鼠随机分为实验组(24只)和对照组(6只)。实验组每鼠灌胃感染 2×10^4 个弓形虫速殖子(悬于0.2 ml PBS),对照组同法给予等量PBS。于感染后15 min、30 min、1 h、2 h、4 h和8 h,颈椎脱臼处死实验组小鼠4只和对照组小鼠1只。

在距幽门部0.2 cm处剪取十二指肠,5 cm处向远端剪取空肠,自回盲处向近端剪取回肠,每段肠管长约3~4 cm。肠段标本用4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,7 μm厚的切片。

5 RNA原位杂交及判定

切片经常规脱蜡复水,参照史晓燕等^[9]方法进行原位杂交,但将地高辛标记探针剂量增至1 ng/μl。标记物检测按照地高辛标记探针检测试剂盒I(POD)说明书操作。苏木素轻度复染,常规脱水、透明,中性树胶封片。以经腹腔感染速殖子的小鼠腹水涂片为阳性对照,对照组小鼠小肠组织切片为阴性对照。光学显微镜观察原位杂交切片,弓形虫速殖子呈棕黄色点状颗粒判为杂交阳性,无棕黄色显色反应判为阴性。以小肠上皮细胞为界,速殖子位于绒毛纹状缘的肠腔侧为黏附,越过纹状缘至固有层内为侵入。小肠组织原位杂交切片在高倍镜(×400)下随机选取50个视野,计数所有观察视野内的虫体总数并计算平均数,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

6 统计学分析

用 SPSS11.5 软件进行统计学分析, 原始数据做方差齐性检验, 差异无统计学意义者做 *q* 检验。

结 果

1 弓形虫速殖子对小肠黏膜的黏附

灌胃感染后 15 min, 十二指肠、空肠和回肠绒毛表面均可见黏附的弓形虫速殖子, 虫体见于构成小肠上皮的各细胞(吸收细胞、杯状细胞和内分泌细胞)表面。上皮细胞的分界清晰可见。速殖子呈棕黄色点状颗粒, 附着于小肠上皮细胞的纹状缘(图 1A)。感染后 8 h, 仍可见黏附于小肠上皮细胞的速殖子。

感染后 15 min~2 h, 黏附于空肠的速殖子数量显著高于回肠的 ($P<0.05$), 两者与十二指肠的差异无统计学意义 ($P>0.05$); 4~8 h, 三者的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。随着感染后时间的延长, 黏附的速殖子数量逐渐减少, 感染后 8 h, 所有肠段的速殖子数均显著低于 15 min 的 ($P<0.05$)(表 1)。

表 1 黏附于肠段黏膜的速殖子数 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Number of *T. gondii* tachyzoites attaching to intestinal mucosa ($\bar{x}\pm s$)

感染后时间 Time after infection	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
15 min	4.27±3.171 ^a	4.93±3.949 ^{ac}	3.78±3.102 ^{ad}
30 min	4.21±2.029	4.83±4.598 ^c	3.75±2.338 ^d
1 h	4.19±2.813	4.81±3.779 ^c	3.55±3.659 ^d
2 h	3.91±3.571	4.73±3.431 ^c	3.49±5.002 ^d
4 h	3.31±2.992 ^b	3.39±3.853 ^b	3.17±3.919
8 h	2.32±3.039 ^{bc}	3.15±3.241 ^{bd}	2.59±3.028 ^b

注: a 与 b 之间, $P<0.05$; c 与 d 之间, $P<0.05$ 。

Note: a vs. b, $P<0.05$; c vs. d, $P<0.05$ 。

2 弓形虫速殖子对小肠黏膜的侵入

RNA 原位杂交结果显示, 感染后 15 min, 即可见黏附于小肠绒毛的速殖子经上皮侵入固有层, 小肠上皮细胞屏障未见破坏。侵入小肠上皮的速殖子位于构成上皮的主要细胞, 即吸收细胞胞浆内或相邻吸收细胞之间, 细胞间分界模糊。侵入的速殖子移行于紧密排列的两吸收细胞间(图 1B), 或侵入上皮细胞, 经细胞肠腔侧(图 1C)移行至固有层侧(图 1D), 然后离开小肠上皮侵入固有层(图 1E)。

感染后 15 min, 侵入空肠的速殖子数量显著高于十二指肠和回肠 ($P<0.05$); 30 min, 侵入空肠的速殖子数量显著高于十二指肠 ($P<0.05$), 两者与回肠之间差异无统计学意义 ($P>0.05$); 1~8 h, 三者之间差异无统计学意义。随着感染后时间的推移, 侵入小

肠黏膜的速殖子数逐渐增加, 感染后 4~8 h, 侵入各肠段的速殖子数均较 15 min 显著增加 ($P<0.05$)(图 1F), 进一步比较 2 h 与 4 h、4 h 与 8 h 侵入各肠段的速殖子数表明, 感染后 2 h 与 4 h 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 感染后 8 h, 侵入空肠和回肠的速殖子数显著高于 4 h 的侵入数 ($P<0.05$)(表 2)。

表 2 侵入肠段黏膜的速殖子数 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Number of *T. gondii* tachyzoites invading in intestinal mucosa ($\bar{x}\pm s$)

感染后时间 Time after infection	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum
15 min	4.10±3.532 ^{ac}	4.92±4.164 ^{bc}	3.68±3.301 ^{ac}
30 min	4.32±3.799 ^a	5.49±4.652 ^b	4.83±4.711
1 h	5.84±4.407 ^d	5.69±5.522	5.58±5.093 ^d
2 h	6.51±4.478 ^d	5.91±4.169	5.69±5.522 ^d
4 h	8.04±8.643 ^d	7.37±6.387 ^{de}	7.43±6.183 ^{de}
8 h	8.92±8.955 ^d	9.11±6.667 ^{df}	9.15±10.92 ^{df}

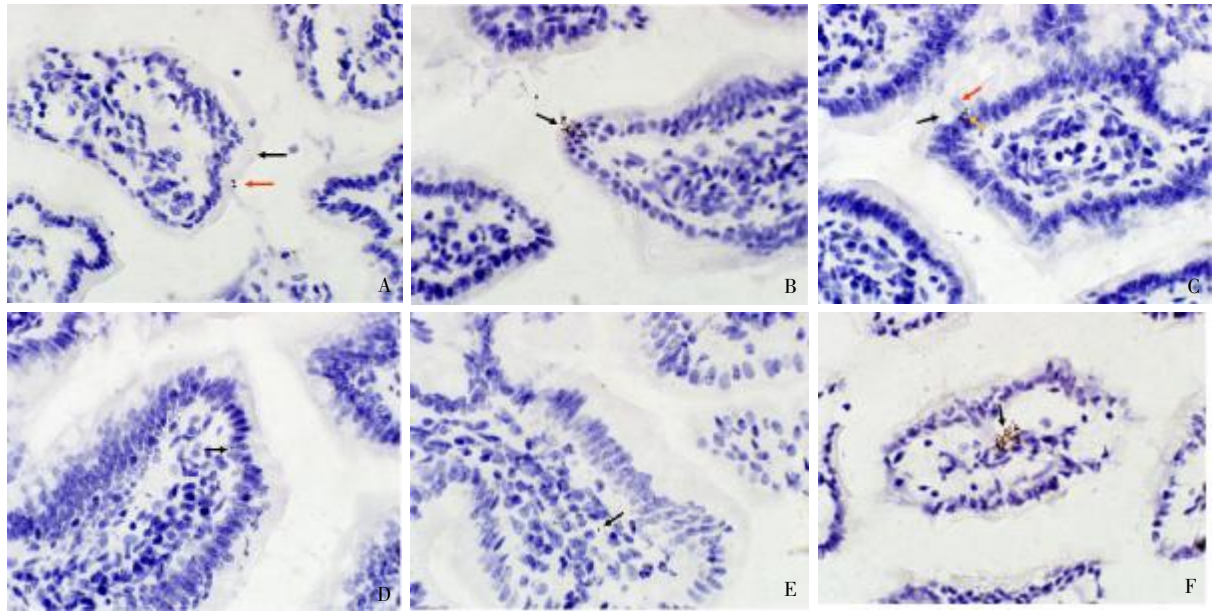
注: a 与 b 之间, $P<0.05$; c 与 d 之间, $P<0.05$; e 与 f 之间, $P<0.05$ 。

Note: a vs. b, $P<0.05$; c vs. d, $P<0.05$; e vs. f, $P<0.05$ 。

讨 论

弓形虫速殖子侵入脊椎动物细胞的过程起始于对宿主细胞的黏附^[10]。本实验观察到小鼠感染后 15 min, 速殖子已黏附于十二指肠、空肠和回肠绒毛, 且附着于构成小肠上皮的各细胞表面; 感染后 15 min~2 h, 黏附于空肠绒毛表面的虫体数明显高于回肠; 至 4 h 时, 三者差异无统计学意义。Carruthers 等^[11]研究表明, 速殖子在接触宿主细胞后、侵入前, 发生极化, 并通过其顶端黏附于宿主细胞; 弓形虫速殖子能识别广泛分布的细胞表面分子和细胞外基质的多种成分, 通过配体-受体结合方式黏附于多种细胞。因此, 本研究认为速殖子在小肠黏膜上皮的黏附无细胞选择性, 在感染后短时间内, 不同肠段黏附数量的差异可能与小肠各段的组织结构及功能不同有关。

弓形虫速殖子侵入是一个极迅速的过程, 发生于与宿主细胞相接触的数十秒内^[12]。弓形虫速殖子经口感染后, 首先侵入小肠黏膜, 小肠上皮细胞是弓形虫速殖子的第一个宿主细胞。Barragan 等^[1]发现 RH 虫株具有较强的穿越小肠能力, 可迅速侵入小肠黏膜, 在黏膜层, 大多数弓形虫速殖子(>96%)位于上皮细胞内, 并能侵入固有层。Sibley 等^[13,14]的研究表明, 弓形虫速殖子经小肠上皮细胞, 可移行穿越基膜, 并可侵入黏膜下层。本实验证实, 灌胃感染后 15 min, 弓形虫速殖子已侵入小肠黏膜的固有层; 侵入小肠上皮的速殖子位于吸收细胞内, 同一细胞内的速殖子数量少于 4 个, 推测侵入小肠上皮细胞的速殖子并不在此定居增殖, 而是迅速穿过上皮细胞经基底膜进入固



A: 感染后 15 min 黏附于空肠绒毛上的速殖子, 黑色箭头示小肠绒毛纹状缘, 红色箭头示黏附的速殖子棕黄色颗粒; B: 感染后 15 min 在回肠黏膜上皮移行的速殖子, 箭头示移行的速殖子位于吸收细胞之间; C: 感染后 15 min 速殖子侵入回肠吸收细胞, 红色、黑色和黄色箭头分别示吸收细胞、杯状细胞和速殖子; D: 感染后 15 min 侵入回肠上皮细胞的速殖子 (↑); E: 感染后 15 min 弓形虫速殖子侵入空肠固有层 (↑); F: 感染后 8 h 位于空肠固有层的呈团块状分布的大量速殖子 (↑)。

A: attachment of *T. gondii* tachyzoite on the villus of jejunum at 15 min after infection, black arrow indicating the striated border of intestinal villus, and red arrow indicating the attaching tachyzoite buffy particle; B: migration of tachyzoites in the ileum mucosal epithelium at 15 min after infection, arrow indicating tachyzoites located in between the adjacent absorptive cells; C: invasion of tachyzoites in the absorptive cell at 15 min after infection, red, black and yellow arrows indicating absorptive cell, goblet cell and tachyzoites respectively; D: invasion of tachyzoite (↑) into ileum epithelial cell at 15 min after infection; E: section of villus from mouse jejunum showing tachyzoite (↑) invading into lamina propria at 15 min after infection; F: Numerous tachyzoites forming agglomerate (↑) in jejunum lamina propria at 8 h after infection.

图 1 黏附和侵入小肠黏膜的弓形虫速殖子 (×400)

Fig.1 Attachment and invasion of *T. gondii* tachyzoite to intestinal mucosa (×400)

有层。

Suss-Toby 等^[15]的研究表明, 弓形虫速殖子可在自身滑动力作用下, 迅速挤过宿主细胞连接区域, 当其完全侵入后, 连接区域融合。Barragan 等^[4]发现, 弓形虫速殖子在移行过程中首先集中于相邻的极化细胞紧密连接处, 提出其可经旁细胞途径而穿越生物屏障。本实验显示, 侵入小肠上皮的速殖子尚可位于相邻细胞之间, 推测位于细胞间的速殖子可能通过旁细胞途径侵入固有层或经细胞间隙侵入小肠上皮细胞后进入固有层。

Courret 等^[8]给予小鼠灌胃感染 76K 株弓形虫包囊, 将小肠均分为 4 段, 于感染后 2、3 和 7 d 用 RT-PCR 定量检测各段小肠组织弓形虫数量, 结果显示中间肠段的弓形虫数量明显高于其他肠段。本研究将小肠按结构和功能分段, 并在感染后短时间内, 比较分析侵入各段小肠黏膜的速殖子数量。结果显示, 感染后 15 min, 侵入空肠的速殖子数量显著高于其它肠段, 故认为在感染开始时, 弓形虫速殖子对小肠各段的侵入具有选择性差异, 空肠对弓形虫

速殖子易感。

本实验观察到黏附、移行于小肠上皮及侵入固有层内的速殖子并未破坏上皮细胞屏障, 与 Barragan 等^[4]的观察结果一致。Lauwaet 等^[16]的研究表明, 在感染过程中, 溶组织阿米巴的细胞毒效应可导致宿主细胞连接蛋白复合体改变。本研究发现速殖子移行部位的细胞分界模糊不清, 故推测可能是由于弓形虫速殖子的侵入导致了宿主细胞的连接蛋白复合体重构。

本研究结果表明, 随感染后时间的推移, 小肠黏膜各段黏附的速殖子数逐渐减少, 而侵入的数量逐渐增多。与感染后 15 min 比较, 4~8 h 侵入的速殖子数显著增加。感染后 8 h 侵入空肠和回肠的速殖子数量显著高于 4 h, 固有层内可见大量弓形虫速殖子呈团块状分布。Jones 等^[17]研究也观察到, 侵入细胞内的弓形虫速殖子存在于纳虫泡内, 以 5~10 h 为增殖周期形成玫瑰花环, 最终导致宿主细胞破裂和速殖子的释放。因此, 推测感染后 8 h, 侵入的速殖子于固有层细胞内增殖, 最终导致宿主细胞破裂, 释放大量速殖子。

参 考 文 献

[1] Barragan A, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence[J]. J Exp Med, 2002, 195(12): 1625-1633.

[2] Chardes T, Buzoni-Gatel D, Lepage A, et al. *Toxoplasma gondii* oral infection induces specific cytotoxic CD8 alpha/beta+ Thy-1+ gut intraepithelial lymphocytes, lytic for parasite-infected enterocytes[J]. J Immunol, 1994, 153(10): 4596-4603.

[3] Dubey JP. Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*[J]. J Eukaryot Microbiol, 1997, 44(6): 592-602.

[4] Barragan A, Brossier F, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* involves an interaction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) with the parasite adhesion MIC2[J]. Cell Microbiol, 2005, 7(4): 561-568.

[5] Hopkins SA, Niedergang F, Corthesy-Theulaz IE, et al. A recombinant *Salmonella typhimurium* vaccine strain is taken up and survives within murine Peyer's patch dendritic cells[J]. Cell Microbiol, 2000, 2(1): 59-68.

[6] Pron B, Boumaila C, Jaubert F, et al. Dendritic cells are early cellular targets of *Listeria monocytogenes* after intestinal delivery and are involved in bacterial spread in the host[J]. Cell Microbiol, 2001, 3(5): 331-340.

[7] Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria [J]. Nat Immunol, 2001, 2(4): 361-367.

[8] Courret N, Darche S, Sonigo P, et al. CD11c- and CD11b-expressing mouse leukocytes transport single *Toxoplasma gondii* tachyzoites to the brain[J]. Blood, 2006, 107(1): 309-316.

[9] Shi XY, Zhao HM, Zeng XZ. Experimental study on the detection of *Toxoplasma* on the paraffin section of liver by RNA *in situ* hybridization[J]. Chin J Zoonoses, 2004, 20(3): 214-216. (in Chinese)
(史晓燕, 赵恒梅, 曾宪忠, 等. RNA 原位杂交法检测组织内弓形虫的实验研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(3): 214-216.)

[10] Nam HW, Youn JH, Kim DJ, et al. Tight junctional inhibition of entry of *Toxoplasma gondii* into MDCK cells [J]. Kisaengchunghak Chapchi, 1990, 28(4): 197-205.

[11] Carruthers VB, Håkansson S, Giddings OK, et al. *Toxoplasma gondii* uses sulfated proteoglycans for substrate and host cell attachment[J]. Infect Immun, 2000, 68(7): 4005-4011.

[12] Morisaki JH, Heuser JE, Sibley LD. Invasion of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell[J]. J Cell Sci, 1995, 108 (6): 2457-2464.

[13] Sibley LD. *Toxoplasma gondii*: perfecting an intracellular life style [J]. Traffic, 2003, 4(9): 581-586.

[14] Sibley LD. Intracellular parasite invasion strategies[J]. Science, 2004, 304(5668): 248-253.

[15] Suss-Toby E, Zimmerberg J, Ward GE. *Toxoplasma* invasion: the parasitophorous vacuole is formed from host cell plasma membrane and pinches off via a fission pore[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(16): 8413-8418.

[16] Lauwaet T, Oliveira MJ, De Bruyne G, et al. *Entamoeba histolytica* trophozoites transfer lipophosphopeptidoglycans to enteric cell layers[J]. Int J Parasitol, 2004, 34(5): 549-556.

[17] Jones TC, Yeh S, Hirsch JG. The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. I. Mechanism of entry and intracellular fate of the parasite[J]. J Exp Med, 1972, 136(5): 1157-1172.

(收稿日期: 2007-11-27 编辑: 高石)

文章编号: 1000-7423(2008)-04-0276-01

【病例报告】

HIV感染者检出粪类圆线虫幼虫 1 例

刘杰, 王北宁, 孙天胜, 樊卫红, 周海峰

中图分类号: R532.19 文献标识码: D

2006 年 4~12 月, 作者等北京军区总医院共 43 人组成中国维和医疗分队赴利比里亚执行维和任务。在利比里亚第四战区维和二级医院诊治期间, 发现 1 例 HIV 感染者合并粪类圆线虫感染, 报告如下。

患者, 男, 31 岁, 埃塞俄比亚人, 利比里亚维和士兵。因消瘦 7 个月, 干咳 2 周, 短暂性意识障碍 3 h, 于 2006 年 12 月 14 日下午入院。该患者 2006 年 4 月前由埃塞俄比亚到利比里亚执行维和任务, 进入任务区即出现无明显诱因而持续性消瘦, 无腹痛、腹泻等, 7 个月内体重减轻 13 kg, 未就医。12 月初出现干咳, 时感低热, 无胸痛气喘, 未就医。12 月 11 日开始盗汗伴食欲不振。12 月 14 日上午(于就诊前 3 h)在执勤中突发晕厥, 无抽搐及呕吐, 即刻送往利比里亚第四战区维和二级医院救治。该患者既往有肺结核病史, 有婚外史, 无吸毒史。入院查体: 消瘦, 神清, 浅表淋巴结未触及; 胸廓对称, 两下肺可闻及湿啰音, 左侧明显; 腹平软, 肝、脾肋缘下未触及; 生理反射存在, 未引出病理反射。实验室检查: 白细胞 $5.9 \times 10^9/L$, 红细胞 $3.91 \times 10^{12}/L$, 血小板 $191 \times 10^9/L$, 中性粒

细胞占 69.4%, 淋巴细胞占 9.7%, 红细胞压积(HCT)0.292, 血沉 63 mm/h, 谷草转氨酶 (AST) 46 μ/L , 总蛋白 49.9 g/L, 白蛋白 23.2 g/L, 电解质、血脂、肾功能、血糖及尿常规等其他均正常。HIV 抗体阳性, HBsAg、丙型肝炎抗体 (HCV) 阴性。四联毒品尿检阴性。胸部 X 线显示双肺浸润、左侧明显。粪常规检查: 黄色糊状, 低倍镜下($\times 100$)可见大量可活动的虫体。取粪便少许(约绿豆大)经处理后, 取样涂片低倍镜下观察: 虫体细长, 约为 0.3~0.5 mm, 无色透明, 呈反 S 形或 C 形。高倍镜下 ($\times 400$)观察: 头端钝圆, 咽管呈柱状, 口腔短而浅, 食道前后膨胀, 中间狭窄, 生殖原基较大, 生殖孔位于虫体后 1/3 处, 尾端尖细(图 1)。符合粪类圆线虫的特征, 确定为粪类圆线虫杆状蚴。隐血试验阴性。诊断为 HIV 合并粪类圆线虫感染, 不排除肺结核。给予支持性疗



图 1 粪类圆线虫杆状蚴($\times 400$)

作者单位: 北京军区总医院检验科, 北京 100700

(下转第 280 页)