

人芽囊原虫的致病性与遗传多样性研究进展

李兰花 周晓农

【摘要】 人芽囊原虫是否具有致病性一直颇有争议,无论是流行病学研究还是实验动物研究均存在相互矛盾的结论。研究发现,人芽囊原虫具有广泛的遗传多样性,近年来,研究者用各种方法对此进行了研究。他们将人芽囊原虫分成不同的种群,并尝试探讨其遗传多样性与致病性的关系。该文就人芽囊原虫的致病性、遗传多样性及两者关系的研究进展进行了综述。

【关键词】 人芽囊原虫;致病性;遗传多样性

Research progress on pathogenicity and genetic diversity of *Blastocystis hominis* LI Lan-hua, ZHOU Xiao-nong. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, MOH, Shanghai 200025, China

【Abstract】 The pathogenic potential of *Blastocystis hominis* is still controversial because many epidemiologic and experimental animal studies gave quite different conclusions. Since extensive genetic heterogeneity has been demonstrated among *B. hominis*, the relation between different demes or genetically distinct genotypes of *B. hominis* and its pathogenicity has been studied. The article summarizes the research progress on pathogenicity and genetic diversity of *B. hominis* as well as their relations.

【Key words】 *Blastocystis hominis*; Pathogenicity; Genetic diversity

1 人芽囊原虫的致病性

关于人芽囊原虫(*Blastocystis hominis*)的致病性问题颇有争议,无论是流行病学研究还是实验动物研究均存在相互矛盾的结论。

1.1 临床表现

人芽囊原虫感染者多无临床症状,部分表现出消化道症状。与人芽囊原虫感染有关的消化道症状一般无特异性,可有腹泻、腹部不适、腹痛或腹部绞痛、呕吐等症状,急性感染可能会出现水样泻;此外,疲劳、食欲减退、胃胀及其他非特异性消化道症状也可能与人芽囊原虫感染有关^[1]。有些免疫功能正

常的宿主,感染后并不表现出临床症状,而是暂时处于隐性感染状态,但当机体抵抗力下降或免疫功能不全时,患者出现明显的临床症状和体征。Babb等^[2]认为,人芽囊原虫是机会致病性生物,人的健康状况可能会影响其在人体内的生长繁殖,而人的免疫缺陷或免疫抑制状态可能增加其感染力或感染的严重程度。

除主要临床表现为消化道症状外,尚有一些病例报道提示人芽囊原虫感染可能与过敏性皮肤病,如皮肤瘙痒症、荨麻疹甚至关节炎等有关^[3-5]。Kilic等^[6]研究发现,人芽囊原虫感染者与非感染者相比,血清镁离子浓度显著降低,锌离子浓度也有所降低,但无统计学意义。Cheng等^[7]研究发现,人芽囊原虫阳性者白细胞计数(主要是中性粒细胞)、红细

作者单位: 200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室
E-mail: orchid8@sina.com

- [12] Liesenfeld O. Oral infection of C57BL/6 mice with *Toxoplasma gondii*: a new model of inflammatory bowel disease? J Infect Dis, 2002, 185 (Suppl 1): S96-101.
- [13] Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. Science, 2004, 303 (5664): 1662-1665.
- [14] Mordue DG, Sibley LD. A novel population of Gr-1⁺-activated macrophages induced during acute toxoplasmosis. J Leukoc Biol, 2003, 74 (6): 1015-1025.
- [15] Shibahara T, Wilcox JN, Couse T, et al. Characterization of epithelial chemoattractants for human intestinal intraepithelial lymphocytes. Gastroenterology, 2001, 120 (1): 60-70.
- [16] Ronet C, Darche S, Leite de Moraes M, et al. NKT cells are critical for the initiation of an inflammatory bowel response against *Toxoplasma gondii*. J Immunol, 2005, 175 (2): 899 - 908.
- [17] Buzoni-Gatel D, Debbabi H, Mennechet FJ, et al. Murine ileitis after intracellular parasite infection is controlled by TGF-beta-producing intraepithelial lymphocytes. Gastroenterology, 2001, 120 (4): 914-924.
- [18] Suzuki Y, Sher A, Yap G, et al. IL-10 is required for prevention of necrosis in the small intestine and mortality in both genetically resistant BALB/c and susceptible C57BL/6 mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. J Immunol, 2000, 164 (10): 5375-5382.

(收稿日期: 2006-07-18)

(本文编辑: 刘悦)

胞比容及血红蛋白含量均显著低于阴性者。Chen 等^[8]研究发现,人芽囊原虫感染组慢性乙肝、幽门螺旋杆菌感染率显著高于非感染组,而尿酸浓度则显著低于非感染组。这些研究提示,人芽囊原虫的感染可能与其他疾病有关。

1.2 临床流行病学研究

国内外研究者对人芽囊原虫进行了大量流行病学研究,但是存在相互矛盾的结论。一些研究发现,有腹泻、腹痛、肠应激综合症等消化道症状人群的人芽囊原虫感染率或虫荷显著高于健康人群,而且用甲硝唑等药物在杀灭体内人芽囊原虫的同时能消除临床症状,从而推断人芽囊原虫具有致病性^[9-12]。但另一些研究则得出相反的结论,即具消化道症状人群的人芽囊原虫感染率或感染度与健康人群无差别,人芽囊原虫感染引起的消化道疾病具有自限性,患者不需要任何治疗即可自愈^[13-15]。

对免疫功能低下人群的流行病学研究也存在相互矛盾的结论。一些研究者根据 HIV 感染者人芽囊原虫感染率高于健康人,将人芽囊原虫归入机会致病性寄生虫^[16, 17]。但也有研究者发现 HIV 感染者人芽囊原虫感染率与健康人无差别,人芽囊原虫感染与 HIV 感染者消化道症状并无关联^[18-20]。此外,严重的糖尿病、白血病及接受免疫抑制剂治疗的患者中,有症状和无症状的人芽囊原虫感染者均有报道。

关于人芽囊原虫引起变态反应性疾病的流行病学研究较少。Giacometti 等^[21]研究发现,人芽囊原虫感染度与过敏性皮肤病(慢性荨麻疹、过敏性皮炎、瘙痒症等)有关。Barahona 等^[12]发现人芽囊原虫阳性组荨麻疹发病率高于阴性组,其比值比为 3.19。

但无论是消化道疾病还是变态反应性疾病,病因均极其复杂。几乎所有的流行病学研究都未排除或者不能完全排除其他致病因子的存在;而且甲硝唑等药物在杀灭人芽囊原虫的同时,也能杀灭其他肠道原虫、革兰阳性和革兰阴性菌。相反,自限性也不能说明人芽囊原虫不具致病性,因为一些感染性腹泻也具自限性;另一方面,无症状感染者也可能是由于个体正处于感染的恢复期、潜伏期,或人芽囊原虫感染以隐性感染为主要表现。因此,难以根据流行病学研究对人芽囊原虫是否具有致病性作出明确的结论。

1.3 实验动物研究

对人芽囊原虫的研究,尚缺乏合适的动物模型。由于小鼠与人的基因组相似,含有许多相同基因,因

此常作为人的模式生物,对人芽囊原虫的动物实验研究也常用小鼠作为动物模型。但研究者在实验室大鼠的粪便中查出人芽囊原虫,而实验室小鼠、金仓鼠、兔中则未查到该生物^[22, 23],因此有研究者认为,大鼠可能是人芽囊原虫动物实验合适的动物模型^[24]。

Moe 等^[25]建立了 BALB/c 小鼠的实验室感染模型,发现幼龄小鼠对人芽囊原虫更易感,但感染仅引起其轻微的反应,且感染具有自限性。贺丽君等^[26]用不同数量的人芽囊原虫感染小白鼠,发现人芽囊原虫感染引起小白鼠肠黏膜损害,且损伤程度与感染数量有关。姚繁荣等^[27]研究发现,人芽囊原虫引起免疫功能低下的小鼠体重下降、行动迟缓、腹泻排黏液便甚至死亡,因此认为人芽囊原虫具有致病性,且与其数量和被感染个体的免疫功能状态有关。

1.4 致病机制研究

寄生虫对宿主的损害主要有 3 个方面:掠夺营养、机械性损伤、毒性与免疫病理作用。对人芽囊原虫感染者的内窥镜和活组织检查发现,人芽囊原虫虽引起肠黏膜水肿和发炎,但并不破坏结肠黏膜的完整性,提示人芽囊原虫对肠黏膜的机械性损伤作用较弱。Dagci 等^[28]研究发现,人芽囊原虫引起肠黏膜通透性显著升高,但 Zuckerman 等^[29]的研究却发现,与对照组相比,人芽囊原虫感染者肠黏膜通透性显著下降。

Long 等^[30]将人芽囊原虫与结肠癌 HT-29 细胞及 T-84 结肠内皮细胞放在一起体外培养,发现人芽囊原虫不能引起上述细胞的病理反应,但引起 IL-8、GM-CSF 分泌显著增加。用培养的人芽囊原虫悬液进行上述试验也得到同样的结果。研究者认为,人芽囊原虫能诱导并调节肠上皮细胞的免疫反应,从而引发一系列病理生理反应。金群鑫^[31]等研究发现,人芽囊原虫感染能引起患者肠黏膜病理改变和细胞因子 IL-8、IL-18、GM-CSF 水平的升高,且与感染程度相关。Walderish 等^[32]发现,人芽囊原虫及其溶解产物均能引起体外培养的单层中华仓鼠的卵巢细胞和结肠癌 HT29 细胞明显的致细胞病变作用,且作用强度与细胞浓度有关。

胃肠道分泌的 IgA 与宿主体内寄生虫的清除有关。Puthia 等^[33]体外实验发现,人芽囊原虫及其溶解产物能够黏附分泌型 IgA,提示人芽囊原虫可能分泌降解 IgA 的蛋白酶,因而得以在肠道内寄生、繁殖。

2 人芽囊原虫的遗传多样性

通常所说的遗传多样性主要指种内不同群体之间或同一群体内不同个体的遗传变异的总和。人芽囊原虫具有遗传多样性。遗传多样性的研究一般从 4 个不同的层次上进行:形态学变异、细胞学(染色体多态性)、基因表达产物(蛋白质、多肽多态性)及 DNA 分子水平的多态性。

2.1 形态多样性

形态学变异是指生物特定的、肉眼可见的外部特征的差异。人芽囊原虫形态多样,在体外培养时可见空泡型、颗粒型、阿米巴型、包囊型等,此外还有多泡型、无泡型等。体外培养时,空泡型最常见,被认为是人芽囊原虫典型的形态。光镜下呈圆形或卵圆形,直径 2~200 μm 不等,平均为 4~15 μm 。虫体中央有一大的透亮的空泡,空泡和细胞膜之间的薄层(外周带)为细胞质和细胞器。颗粒型通常见于体外培养,光镜下形态与空泡型类似,直径为 6.5~80 μm ,但中央空泡或细胞质中充满颗粒状物质,有时虫体外包裹一层细胞外被,厚薄不一。阿米巴型直径为 2.6~7.8 μm ,外形多变,有一个或多个伪足样突起,内含一个或多个细胞核及其他细胞器。阿米巴型虫体是否有中央空泡尚无定论^[34, 35]。包囊型直径为 3~10 μm ,有一层厚囊壁,包囊无中央空泡,内含 1~4 个细胞核、多个小泡以及糖原或脂质沉淀。有时包囊外裹一层松散的纤维层,类似于空泡型的细胞外被,纤维层似乎在包囊成熟时脱落。包囊外界抵抗力强,耐低渗,不会被胃液杀死,一般认为是人芽囊原虫的感染期^[36]。

人芽囊原虫的形态多样性提示可能存在不同的种群(demes)甚至是不同的种(species),但更有可能是生长发育的不同阶段或环境改变造成的形态学改变。

2.2 染色体多态性

染色体组型分析有助于阐明染色体组的演化和生物种属间的亲缘关系、分析物种的变异和进化过程,对遗传学研究非常重要。研究者通过电镜观察、脉冲场凝胶电泳等手段,发现不同来源的人芽囊原虫染色体数目、带型有所差异,染色体数目在 9~13 之间,大小在 260~2 200 kb 之间,据此把人芽囊原虫分成不同的核型^[37-39]。但由于染色体受到的选择压力较大,进化较为保守,一般用于比较亲缘关系较远的物种之间的遗传多样性,而对于亲缘关系较近的物种、群体或个体来说,所能得到的信息有限。

2.3 基因表达产物多态性——蛋白多态性

用于研究基因表达产物遗传多样性的方法有血清学谱型分析和同工酶谱分析等。

血清学分析用常规的蛋白血清沉淀法来测定生物种质资源的亲缘关系,运用凝胶扩散和电泳的方法,使抗原和抗体在琼脂凝胶中相对扩散,形成沉淀带,对蛋白质结构进行定性鉴定。具体步骤为:将提取的蛋白质注射动物,收集含有抗体的动物血清(抗血清),然后将抗血清与待试的蛋白质悬浊液(抗原)相结合,抗原与抗体反应形成沉淀(沉淀反应),测定沉淀量的强度。沉淀反应对用以形成原始抗体的抗原具有特异性(同源反应),是标准反应和参考反应,抗体血清与其他生物体的抗原产生的反应(异源反应),可以用作对照进行比较。异源反应的强度可看作是供试样品中蛋白质相似性的程度,因此,在某种程度上也反映了所比较的生物体的相似性。Kukoschke 和 Muller 用血清学谱型分析的方法,将 4 株人芽囊原虫分为 2 个血清学同类群^[40],后来 Muller 又将 61 株人芽囊原虫分成 4 个不同的血清学同类群^[41]。Boreham 等^[42]对 10 株人芽囊原虫的血清学谱型分析也揭示了该 10 株人芽囊原虫至少可以分为 2 个不同的亚种群。

同工酶存在于生物的同属、种、变种,或同一个体的不同组织、细胞中,可以其多态性作为遗传标志,研究种质资源的亲缘关系。Gerick 等^[43]选择了 3 种能区分致病性溶组织内阿米巴与非致病性迪斯帕内阿米巴的同工酶,将 119 株人芽囊原虫分别分成 5、11、35 个同工酶谱型。Mansour 等^[44]将 9 株人芽囊原虫分成至少 2 个同工酶谱型。虽然同工酶谱分析使遗传多样性的分析进入分子时代,但同工酶在同一物种、同一个体的不同生长发育时期,其表现是不一样的,而且有一些同工酶的重现性较差,因此,同工酶所探测到的变异并不能代表整个基因组的变异。

2.4 基因多态性

基因的多态性显示了遗传背景的多样性和复杂性,是显示遗传多样性最直接的证据。基因多态性研究方法很多,用于研究人芽囊原虫基因多态性的有限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析、随机扩增多态性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)分析、序列标记位点(sequence tagged sites, STS)分析、简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)分析、DNA 序列分析等。

DNA 的多态性使 DNA 分子的限制酶切位点及

数目发生改变,用限制酶切割基因组时,所产生的片段数目和每个片段的长度就不同,即所谓的限制性片段长度多态性。导致限制性片段长度发生改变的酶切位点,又称为多态性位点。最早用 Southern 印迹/RFLP 方法检测,后采用 PCR 与限制酶酶切相结合的方法研究基因的限制性片段长度多态性。Kaneda 等^[45, 46]用 PCR-RFLP 对人芽囊原虫进行分析,将人芽囊原虫分成不同的基因型。但由于该技术对 DNA 质量要求高、操作繁琐、需用放射性核素、成本较高,所以其应用受到了一定限制。

RAPD 技术是用一系列约 10 bp 的单链随机引物对基因组进行 PCR 扩增,并通过凝胶电泳检测多态性。该技术灵敏度高、DNA 用量少、质量要求低、引物较短且随机排列,使该技术可在对物种无任何分子生物学研究背景下进行 DNA 多态性分析。因此, RAPD 是最早用于研究芽囊原虫基因多态性的分子标志^[47]。但 RAPD 技术稳定性不佳而导致重复性差,且其在种间、属间的变异水平很高,取样代表性是一个较大的问题,即利用某一个体代表一个种或用一个种代表一个属都可能造成结果的偏差。

STS 是一段短 DNA 序列,通常长度在 100 ~ 500 bp,易于识别,在待研究的染色体或基因组中仅出现一次。将代表遗传特异性的 RAPD 标志进行纯化、克隆和测序,然后根据此片段合成特殊位点引物,用于 PCR 扩增,从而把 RAPD 标志转换为一些能用特异性 PCR 检测的基因组序列,即 STS 标志。Yoshikawa 等^[48, 49]根据 PCR-RAPD 的结果,建立了 7 个不同的亚型(subtype),并设计了 7 对 STS 引物,用于区分不同的亚型。

SSR 是以 1 ~ 6 个碱基为基本单元的串联重复序列,分布于大多数真核生物的基因组中,且重复单位数具有高频率的变异。利用微卫星 DNA 两侧的特异性序列作为引物,经 PCR 扩增后检测 DNA 多态性。SSR 位点在整个基因组中分布广泛、均匀且数量充足,因而多态性极其丰富;且分析时只需要少量 DNA,质量要求不高。Init 等^[50]用一对引物(TR7、TR8)PCR 扩增人芽囊原虫 SSR 序列,将 20 株人芽囊原虫分成 5 型。

遗传信息在分子水平的基本表现形式为 DNA 序列,因此,通过比较不同生物的基因组序列可以鉴定它们之间的差异,从而解释某些特定和重要的功能,如病原性。随着序列分析技术手段的进步以及分子遗传学的发展,序列数据的积累越来越多,为进行不同种的研究比较奠定了基础。Thathaisong

等^[51-53]通过对不同宿主来源的芽囊原虫的 SSUr DNA 全序列进行分析,将芽囊原虫分成了不同的基因型。

3 人芽囊原虫的致病性与遗传多样性的关系

Zierdt 等^[1]提出,既然溶组织内阿米巴被分成 2 个种,即致病性的溶组织内阿米巴和非致病性的迪斯帕内阿米巴,抗原性分析和对 SSUr RNA 基因的分析也表明两者之间具稳定的种间差异,那么人芽囊原虫可能也存在类似的情况。

有研究发现,阿米巴型人芽囊原虫可能与腹泻等消化道症状有关^[54]。Muller^[41]的研究发现,腹泻患者中某一种血清学同类群的比例高于健康人,但是经统计学分析,各同类群在腹泻患者和健康人的分布没有统计学差异。Gericke 等^[43]的研究未发现任何一种同工酶谱型与临床症状有关联。Kaneda 等^[45, 46]的研究也未发现任何一个亚群与症状有关联,但是基因型 I、III、VI 可能与致病性有关。Yoshikawa^[48]用 7 种特异性引物 PCR 将 102 株人芽囊原虫分成 7 个基因型(genotype),但未发现有症状者和无症状者基因型分布上的差别;亚型 2、5、7 仅见于无症状者,可能是非致病亚型。Init 等^[50]进行 SSR 分析时发现,所有来自消化道疾病患者的人芽囊原虫虫株的 PCR 产物中都含有 280 bp 的片段,因此提出该 280 bp 扩增产物可能是致病性人芽囊原虫的“标志”之一。

4 问题与展望

尽管国内外研究者对人芽囊原虫的流行状况作了大量调查,但对各地的感染率尚缺乏正确的估计,而且各研究所用的病原学诊断方法不同,使得各研究结果之间难以比较。以往的流行病学调查中,对人芽囊原虫的诊断多依赖于粪便中查到空泡型虫体。然而有研究表明,空泡型并非人芽囊原虫在粪便中的主要存在形式,很多是以包囊或多泡型的形式存在的,但由于这些形态的虫体较小,并缺乏对其形态的详细描述,因此如果直接对粪便中的虫体进行检查,即使是技术熟练者,也很容易漏诊和误诊^[55]。而与其他方法相比,培养后的虫体数量多且形态典型,所以体外培养法敏感性、特异性高,易于掌握且有利于分离虫株进行保种或进一步研究,因此值得在今后的流行病学调查或临床诊断中加以推广,以了解人芽囊原虫流行的真实情况,揭示与感染有关的危险因素。

迄今为止,虽然研究者用不同的方法研究了人芽囊原虫的遗传多样性,并将人芽囊原虫分成不同

的种群,但极少有研究者将不同方法的研究结果联系起来。因不同方法所分的种群不能建立起对应关系,故难以将不同的研究进行比较或者统一分析。在遗传多样性研究方法中,DNA 水平的分析将是未来的发展方向。人芽囊原虫基因多态性的研究数量尚有限,各研究的样本量也较小,因此有必要进一步研究不同地区、人群来源的人芽囊原虫的基因型分布,并继续研究是否存在致病性不同的株、种群或种。但这种以 DNA 序列为基础的方法必须以直接分析基因编码的产物——蛋白质作为补充。因为已知一个基因组序列并不代表可以识别这个基因组所编码的蛋白质,且 DNA 序列信息并不能说明蛋白质翻译后修饰的过程。因此,研究基因水平的多态性并不意味着放弃其他方面的研究。

流行病学研究对于人芽囊原虫与疾病关系的研究价值始终有限,因为所有与人芽囊原虫感染相关的疾病几乎都不可能排除所有的感染性和非感染性致病因子。有研究者认为,除非建立合适的动物模型,否则关于人芽囊原虫致病性的争论不会得到解决,其生活史的真正过程也无法明确^[54]。因此,建立动物模型仍是人芽囊原虫研究的重点之一。由于存在广泛的遗传多态性,不同株人芽囊原虫动物实验的结果可能不同,因此,有必要将动物实验和遗传多样性研究相结合。

此外,人芽囊原虫体内尚有许多功能不明确的结构,如中央空泡、线粒体样结构、溶酶体样结构等。进一步研究这些结构的功能以及某些生物大分子的功能或许会有所发现。

参 考 文 献

- [1] Zierdt CH. *Blastocystis hominis* – past and future. Clin Microbiol Rev, 1991, 4(1):61-79.
- [2] Babb RR, Wagener S. *Blastocystis hominis* – a potential intestinal pathogen. West J Med, 1989, 151(5):518-519.
- [3] Muntean E, Boceat T. [Observations on 4 atypical cases of blastocystosis]. Rev Ig Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol Pneumofuziol Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol, 1989, 34(3):285-288.
- [4] Kick G, Rueff F, Przybilla B. Palmoplantar pruritus subsiding after *Blastocystis hominis* eradication. Acta Derm Venereol, 2002, 82(1):60.
- [5] Carrascosa M, Martinez J, Perez-Castrillon JL. Hemorrhagic proctosigmoiditis and *Blastocystis hominis* infection. Ann Intern Med, 1996, 124(2):278-279.
- [6] Kilic E, Yazar S, Saraymen R. Serum zinc and magnesium levels in patients with blastocystosis. Biol Trace Elem Res, 2004, 98(1):21-26.
- [7] Cheng HS, Guo YL, Shin JW. Hematological effects of *Blastocystis hominis* infection in male foreign workers in Taiwan. Parasitol Res, 2003, 90(1):48-51.
- [8] Chen TL, Chan CC, Chen HP, et al. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with *Blastocystis hominis* in healthy adults. Am J Trop Med Hyg, 2003, 69(2):213-216.
- [9] Nimri LF, Meqdam M. Enteropathogens associated with cases of gastroenteritis in a rural population in Jordan. Clin Microbiol Infect, 2004, 10(7):634-639.
- [10] Harms G, Dorner F, Bienzle U, et al. [Infections and diseases after travelling]. Dtsch Med Wochenschr, 2002, 127(34-35):1748-1753.
- [11] el Masry NA, Bassily S, Farid Z, et al. Potential clinical significance of *Blastocystis hominis* in Egypt. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1990, 84(5):695.
- [12] Barahona Rondon L, Maguina Vargas C, Naquira Velarde C, et al. [Human blastocystosis: prospective study symptomatology and associated epidemiological factors]. Rev Gastroenterol Peru, 2003, 23(1):29-35.
- [13] Tungtrongchitr A, Manatsathit S, Kositchaiwat C, et al. *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2004, 35(3):705-710.
- [14] Sun T, Katz S, Tanenbaum B, et al. Questionable clinical significance of *Blastocystis hominis* infection. Am J Gastroenterol, 1989, 84(12):1543-1547.
- [15] Senay H, MacPherson D. *Blastocystis hominis*: epidemiology and natural history. J Infect Dis, 1990, 162(4):987-990.
- [16] Mendez OC, Szmulewicz G, Menghi C, et al. [Comparison of intestinal parasite infestation indexes among HIV positive and negative populations]. Medicina (B Aires), 1994, 54(4):307-310.
- [17] Gassama A, Sow PS, Fall F, et al. Ordinary and opportunistic enteropathogens associated with diarrhea in Senegalese adults in relation to human immunodeficiency virus serostatus. Int J Infect Dis, 2001, 5(4):192-198.
- [18] Church DL, Sutherland LR, Gill MJ, et al. Absence of an association between enteric parasites in the manifestations and pathogenesis of HIV enteropathy in gay men. The GI/HIV Study Group. Scand J Infect Dis, 1992, 24(5):567-575.
- [19] Brandonisio O, Maggi P, Panaro MA, et al. Intestinal protozoa in HIV-infected patients in Apulia, South Italy. Epidemiol Infect, 1999, 123(3):457-462.
- [20] Albrecht H, Stellbrink HJ, Koperski K, et al. *Blastocystis hominis* in human immunodeficiency virus-related diarrhea. Scand J Gastroenterol, 1995, 30(9):909-914.
- [21] Giacometti A, Cirioni O, Antonicelli L, et al. Prevalence of intestinal parasites among individuals with allergic skin diseases. J Parasitol, 2003, 89(3):490-492.
- [22] Chen XQ, Singh M, Ho LC, et al. Description of a *Blastocystis* species from *Rattus norvegicus*. Parasitol Res, 1997, 83(4):313-318.

- [23] Chen XQ, Singh M, Ho LC, et al. A survey of *Blastocystis* sp. in rodents. *Lab Anim Sci*, 1997, 47(1):91-94.
- [24] Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol*, 2002, 32(7):789-804.
- [25] Moe KT, Singh M, Howe J, et al. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitol Res*, 1997, 83(4):319-325.
- [26] 贺丽君, 苏云普, 颜秋叶, 等. 人芽囊原虫的形态观察及致病性研究. *中国寄生虫病防治杂志*, 1999, 12(3):195-196.
- [27] 姚繁荣, 乔继英, 张旭, 等. 消化道人芽囊原虫感染小鼠形态观察. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(S1):45-48.
- [28] Dagci H, Ustun S, Taner MS, et al. Protozoan infections and intestinal permeability. *Acta Trop*, 2002, 81(1):1-5.
- [29] Zuckerman MJ, Watts MT, Ho H, et al. *Blastocystis hominis* infection and intestinal injury. *Am J Med Sci*, 1994, 308(2):96-101.
- [30] Long HY, Handschack A, Konig W, et al. *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res*, 2001, 87(12):1029-1030.
- [31] 金群鑫, 唐国都, 余开敏. 人芽囊原虫病患者肠粘膜损伤及其粘膜细胞因子的测定. *中国寄生虫病防治杂志*, 2005, 18(5):352-354.
- [32] Walderich B, Bernauer S, Renner M, et al. Cytopathic effects of *Blastocystis hominis* on Chinese hamster ovary (CHO) and adenocarcinoma HT29 cell cultures. *Trop Med Int Health*, 1998, 3(5):385-390.
- [33] Puthia MK, Vaithilingam A, Lu J, et al. Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. *Parasitol Res*, 2005, 97(5):386-389.
- [34] Zierdt CH. Studies of *Blastocystis hominis*. *J Protozool*, 1973, 20(1):114-121.
- [35] Tan HK, Zierdt CH. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. *Z Parasitenkd*, 1973, 42(4):315-324.
- [36] 贾中伟, 沈继龙. 人芽囊原虫的研究进展. *国际医学寄生虫病杂志*, 2006, 33(6):321-324.
- [37] Upcroft JA, Dunn LA, Dommett LS, et al. Chromosomes of *Blastocystis hominis*. *Int J Parasitol*, 1989, 19(8):879-883.
- [38] Ho LC, Singh M, Suresh K, et al. A study of the karyotypic patterns of *Blastocystis hominis* by pulsed-field gradient electrophoresis. *Parasitol Res*, 1994, 80(7):620-622.
- [39] Carbajal JA, del Castillo L, Lanuza MD, et al. Karyotypic diversity among *Blastocystis hominis* isolates. *Int J Parasitol*, 1997, 27(8):941-945.
- [40] Kukoschke KG, Muller HE. SDS-PAGE and immunological analysis of different axenic *Blastocystis hominis* strains. *J Med Microbiol*, 1991, 35(1):35-39.
- [41] Muller HE. Four serologically different groups within the species *Blastocystis hominis*. *Zentralbl Bakteriol*, 1994, 280(3):403-408.
- [42] Boreham PF, Upcroft JA, Dunn LA. Protein and DNA evidence for two demes of *Blastocystis hominis* from humans. *Int J Parasitol*, 1992, 22(1):49-53.
- [43] Gericke AS, Burchard GD, Knobloch J, et al. Isoenzyme patterns of *Blastocystis hominis* patient isolates derived from symptomatic and healthy carriers. *Trop Med Int Health*, 1997, 2(3):245-253.
- [44] Mansour NS, Mikhail EM, el Masry NA, et al. Biochemical characterisation of human isolates of *Blastocystis hominis*. *J Med Microbiol*, 1995, 42(4):304-307.
- [45] Kaneda Y, Horiki N, Cheng XJ, et al. Ribodemes of *Blastocystis hominis* isolated in Japan. *Am J Trop Med Hyg*, 2001, 65(4):393-396.
- [46] Bohm-Gloning B, Knobloch J, Walderich B. Five subgroups of *Blastocystis hominis* from symptomatic and asymptomatic patients revealed by restriction site analysis of PCR-amplified 16S-like rDNA. *Trop Med Int Health*, 1997, 2(8):771-778.
- [47] Yoshikawa H, Nagono I, Yap EH, et al. DNA polymorphism revealed by arbitrary primers polymerase chain reaction among *Blastocystis* strains isolated from humans, a chicken, and a reptile. *J Eukaryot Microbiol*, 1996, 43(2):127-130.
- [48] Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, et al. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res*, 2004, 92(1):22-29.
- [49] Yoshikawa H, Nagano I, Wu Z, et al. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes*, 1998, 12(3):153-159.
- [50] Init I, Mak JW, Lokman Hakim S, et al. Strain differences in *Blastocystis* isolates as detected by a single set of polymerase chain reaction primers. *Parasitol Res*, 1999, 85(2):131-134.
- [51] Abe N. Molecular and phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from various hosts. *Vet Parasitol*, 2004, 120(3):235-242.
- [52] Noel C, Dufernez F, Gerbod D, et al. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(1):348-355.
- [53] Thathaisong U, Worapong J, Munghin M, et al. *Blastocystis* isolates from a pig and a horse are closely related to *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol*, 2003, 41(3):967-975.
- [54] Tan TC, Suresh KG. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. *Parasitol Res*, 2006, 98(3):189-193.
- [55] Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev*, 1996, 9(4):563-584.

(收稿日期:2006-09-11)

(本文编辑:刘悦)