

# 贾第虫同工酶研究进展\*

阎 歌

(首都医学院寄生虫学教研室,北京 100054)

Bertram 等(1983)<sup>[1]</sup>首次应用淀粉凝胶电泳技术开展了蓝氏贾第鞭毛虫(*Giardia Lamblia* 简称贾第虫)同工酶的研究工作。此后,这一领域的研究一直受到人们的重视,而且进展很快。现将近年来这方面的研究做一概述。

## (一)贾第虫同工酶与虫株致病性的关系

人体感染贾第虫后,临床症状表现如腹痛、腹泻和消化不良等;有的则无明显症状或无症状,仅排出贾第虫包囊。因此,从虫株同工酶的分析研究入手,探讨贾第虫是否有可能作为鉴别“致病株”与“非致病株”依据之一,是当前贾第虫研究的重要课题之一。

Cedillo-Rivera 等(1989)<sup>[2]</sup>从墨西哥的 19 例贾第虫患者(其中有症状患者 5 例,无症状患者 14 例),分离滋养体并对它们 8 种酶的同工酶进行分析。其中包括乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱

氢酶(MDH)、L-苹果酸:辅酶 I 氧化还原酶(ME)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)、己糖激酶(HK)、葡萄糖磷酸异构酶(GPI)和磷酸葡萄糖变位酶(PGM)。结果显示:前 7 种酶的同工酶都具有一条相同的区带,而根据 PGM 的同工酶之区带差异可将 19 株贾第虫分为 3 种不同的酶株群(Zymodemes)。其中酶株群 I 为一条区带,含 15 个贾第虫分离株(包括来自有症状患者 4 例,无症状患者 11 例);酶株群 II 也为一条区带,但迁移率比酶株群 I 快,它包括 3 个分离株(1 分离株来自有症状患者,2 分离株来自无症状患者);酶株群 III 有 2 条区带,包括 1 个分离株(来自无症状患者)。由此看来,

---

\* 本文经卢思奇副研究员审阅,特此致谢。

分离自有症状患者与无症状患者的贾第虫同工酶谱并无明显差异。Proctor 等(1989)<sup>[1]</sup>应用薄层淀粉凝胶电泳(thin-layer starch electrophoresis)研究了贾第虫同工酶谱与其致病性的关系。结果同样显示:在同一酶株群中,既包括从有症状患者分离的贾第虫株,也有从无症状患者分离的贾第虫株,二者具有相同的同工酶谱。Abaza 等(1991)<sup>[4]</sup>应用等电聚焦电泳(IFE)也证实了这一结论。综上所述,根据目前对贾第虫同工酶的研究结果,尚不能区别贾第虫的“致病株”或“非致病株”<sup>[8]</sup>。

## (二)同工酶研究在贾第虫流行病学中的应用

贾第虫可寄生于人和多种动物。感染人和动物的贾第虫是否为同一种属?人和动物之间是否存在交叉感染?贾第虫虫株有无地域性差异?这些是贾第虫流行病学尚未解决的问题。

Meloni 等(1988)<sup>[9]</sup>对从人和猫科动物分离的 30 株贾第虫做了同工酶研究。其中包括 EST(酯酶)、G6PD、GOT(谷草转氨酶)、GPI、HK、MDH、ME、PGM、6PGD(6-磷酸葡萄糖脱氢酶)和 NP(核苷酸磷酸化酶)等 10 种酶的同工酶。根据电泳分析结果可将它们分为 13 种酶株群。其中每种同工酶都存在 3 种或 3 种以上的酶株群。从猫分离的虫株(BAC<sub>1</sub> 和 P<sub>1</sub>)与从人分离的虫株(BAH<sub>1</sub> 和 BAH<sub>2</sub> 等),其同工酶谱相似或一致,属于同一酶株群。据此,作者认为贾第虫虫株似无明显的宿主特异性,人和动物之间可能存在交叉感染,即贾第虫有动物储存宿主的可能。还有一些学者对从人、猪、兔和豚鼠等动物分离的虫株进行了同工酶研究,结果表明,尽管它们的同工酶图谱存在一定的差异,但大多数虫株的主带相同或者相似<sup>[5, 7, 10, 11, 15, 14]</sup>。这一结果支持上述结论。

Proctor 等(1989)对 32 株贾第虫同工酶的分析结果表明,可将分离于人(18 株)、狗(2 株)和羊(2 株)的贾第虫的同工酶分为 12 个酶株群,其中酶株群 C<sub>6</sub> 包括 11 株,其余 11 个酶株群各包括 1 或 2 株贾第虫。酶株群 C<sub>2</sub> 与 C<sub>6</sub> 和 C<sub>3</sub> 相比,9 种同工酶完全不同,而 C<sub>2</sub>、C<sub>6</sub> 和 C<sub>8</sub> 三个

酶株群中都包括从河狸分离的虫株。C<sub>6</sub> 和 C<sub>8</sub> 相比,有三种酶即 NP 和 PGM 的同工酶图谱不同。因此这二个酶株群可能存在基因差异,属于不同的虫株。说明河狸和人均可接受不同贾第虫株的感染。

此外, Meloni 等(1988)提出,从同一地理环境分离的虫株,其同工酶可能属于不同酶株群,如分离自澳大利亚西部 Kununurra 的 BAH<sub>14</sub> 和 BAH<sub>15</sub>;而从不同地理区域分离的虫株,其同工酶图谱却属于同一酶株群,如 BAH<sub>13</sub> 和 BAH<sub>17</sub>,前者分离自澳大利亚西部,后者分离自澳大利亚南部。由此可以看出,从不同地理环境的人和动物分离的贾第虫株,其同工酶图谱可无明显差异。<sup>[12]</sup>

## (三)同工酶研究在贾第虫生物化学分类学中的应用

目前,贾第虫的分类尚未完全得以解决。Baveja 等(1986)<sup>[6]</sup>认为不同种、株贾第虫的同工酶酶谱存在着一定的差异。因此,可依据特异性同工酶图谱对贾第虫进行分类。

Andrews 等(1989)<sup>[15]</sup>应用电泳技术分离自澳大利亚的 29 株贾第虫及其 48 个克隆化株同工酶的研究结果显示,共有 26 种酶的同工酶位点可做为分类的基因标志,并以此将所研究的贾第虫虫株分为四组。第 I 组包括 20 个贾第虫虫株和 47 个克隆化株,第 II 组包括 7 个贾第虫虫株和 1 个克隆化株,第 III、IV 组各包括 1 个贾第虫虫株。第 I 组和第 II 组相比,在 26 个基因位点中有 8 个基因位点不同,占 31%,而与第 III、IV 组相比,分别有 20、17 个基因位点不同,各占 77%和 65%;第 II 组与第 III、IV 组相比,分别有 19 个和 18 个基因位点不同,各占 73%和 69%;第 III 组和第 IV 组比较,有 6 个基因位点不同,占 23%。根据贾第虫各组之间等位基因的差异和多态性现象,作者认为贾第虫是一个至少包括 3 个或 4 个潜在株的种属,它们之间的基因差异比利什曼原虫要大。

Meloni 等(1988)研究了 30 株贾第虫株,并根据各自的同工酶图谱将它们分为 13 种不同的酶株群,其中酶株群 I (M<sub>1</sub>) 包括 11 株,酶株群

IV ( $M_4$ ) 包括 7 株, 其余酶株群包括 1 或 2 个贾第虫株。依照酶株群之间的聚类关系, 使用欧几里得距离 (euclidean distance) (即根据各酶株群之间存在相同同工酶带的比例, 来断定基因之间的联系) 可将 13 个酶株群分为三组;  $M_1-M_6$  为 I 组,  $M_7-M_{12}$  为 II 组,  $M_{13}$  为 III 组。分析结果表明, I 组和 III 组之间的同工酶图谱完全不一致; 在 I 组和 II 组的 10 种同工酶中, 有 3 种相一致, II 组和 III 组的 10 种同工酶中, 有 4 种相一致。由此得出, 贾第虫可能存在广泛的遗传异种性 (genetic heterogeneity)。

#### (四) 贾第虫亲、子代以及抗药株的同工酶谱特点

Andrews 等 (1989)<sup>[15]</sup> 对贾第虫亲代及其子代克隆化株, 以及抗药株的同工酶分别进行了分析比较。对 4 株亲代贾第虫及其 48 个克隆化株的同工酶分析结果显示, 绝大多数克隆化株及其亲代的同工酶谱是相同的, 即它们的基因位点是一致的, 属于同一组。但仅一株 (BRIS/83/HEPU/99) 与其克隆化株的同工酶谱存在差异。亲代 BRIS/83/HEPU/99 株同工酶谱属于 I 组, 其余 4 株属 II 组。作者还检测了 3 株贾第虫抗药性的同工酶, 结果表明 BRIS/83/HEPU/106 21D<sub>10</sub> 和 BRIS/83/HEPU/106 21A<sub>10</sub> 两株抗灭滴灵株 (可在灭滴灵存在的环境下存活 66 周) 的同工酶谱均属于同一组; 而 Ad-2 株, 抗灭滴灵、呋喃它酮 (furaltadone) 和 1-2-甲基-5-硝基咪唑 (tinidazole) 三种药物, 其同工酶图谱则属于另一组。鉴于目前所观察的虫株数量尚不够多, 故还不能肯定不同的抗药株是否具有特殊的基因特征。因此, 只有对大量抗药株进行研究之后, 才能得出满意的结论。

#### (五) 贾第虫的感染性、宿主排囊量与同工酶的关系

Abaza 等 (1991)<sup>[4]</sup> 观察了不同贾第虫株的同工酶与受染长爪沙鼠排囊量的关系。实验中用 4 株贾第虫, 即 EGY (分离于埃及), VA 和 UNO (分离于美国) 以及 WB (分离于阿富汗) 分别各感染 5 只长爪沙鼠。观察结果表明, 仅一只沙鼠在感染 EGY 后的第 8 天, 于粪便内查到包囊, 解

剖后在小肠内未发现滋养体; 感染 UNO 的 5 只沙鼠, 在受染后第 3—6 天全部排囊, 排囊量为  $4.3 \times 10^3 - 370 \times 10^3$  个/只/天不等, 解剖证实只有 3 只沙鼠的小肠内有滋养体; 感染 WB 的有 4 只, 在第 6—7 天开始排囊, 持续至第 20 天, 排囊量为  $5 \times 10^3 - 844 \times 10^3$  个/只/天不等, 在 4 只沙鼠的小肠内查到滋养体; 感染 VA 株的有 3 只, 在第 6—10 天开始排囊, 共持续 22 天, 排囊量为  $5 \times 10^3 - 1.9 \times 10^5$  个/只/天不等, 有 3 只小肠内有滋养体。根据电泳, 可将这四株贾第虫的同工酶图谱分为三个酶株群, EGY 属酶株群 I, 其感染性和排囊量均低于属于酶株群 II 的 WB 和 VA; 而 UNO 株的感染性和排囊量则处于两者之间, 属于酶株群 III。以上结果显示, 各株贾第虫的感染性和排囊量之异同似与其同工酶图谱有一定关系。

#### 参考文献

- Bertram M. A., E. A. Meyer, Lile J. D. et al. 1983 A comparison of isozymes of five axenic *Giardia* isolates. *J Parasitol* **69**: 793-801
- Cedillo-Rivera R., J. A. Enciso-Moreno, A. M. Martinez-Palomo. et al 1989 *Giardia* *Lambia*: isoenzyme analysis of 19 axenic strains isolated from symptomatic and asymptomatic patients in Mexico. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **83**: 644-646
- Proctor E. M., J. L. Isaac-renton, J. Boyd. et al. 1989 Isoenzyme analysis of human and animal isolates of *Giardia Duodenalis* from British Columbia Canada. *Am J Trop Med Hyg* **41**: 411-415
- Abaza S. M., J. J. Sullivan, G. S. Visvesvara. 1991 Isoenzyme profiles of four strains of *Giardia Lambia* and their infectivity to Jirds. *Am J Trop Med Hyg* **44**: 63-68
- Boreham P. F. L., J. A. Upcroft, P. Upcroft. 1990 Changing approaches to the study of giardia epidemiology: 1681-2000. *J Parasitol* **20**: 479-487
- Thompson R. C. A 1991 *Echinococcus* and *Giardia*: variation on a theme. *Int J Parasitol* **21**: 291-297
- Korman S. H., S. M. Blancq, D. T. Spira. et al. 1986 *Giardia Lambia*, identification of different strains from man. *Parasitol Res* **72**: 173-180
- Baveja U. K., A. S. Jyoti, M. Kaur. et al. 1986 Isoenzyme studies of *Giardia Lambia* isolated from symptomatic cases. *Aust J Exp Biol Med Sci* **64**: 119-126
- Meloni B. P., A. J. Lymbery, R. C. A. Thompson. 1988

- Isoenzyme electrophoresis of 30 isolates of *Giardia* from human and felines, *Am J Trop Med Hyg* **38**:65- 73
10. Strandan A. M. , J. Eckert. , P. Kohler. 1990 Electrophoresis characterization of *Giardia* isolated from human, cattle, sheep, and a dog in Switzerland, *J parasitol* **76**:660 -668
11. Meloni B. P. , A. Lymbery. , R. C. A. Thompson. 1989 Charaterization of *Giardia* isolates using a non-radiolabeled probe, and correlation with the results of isoenzyme analysis, *Am J trop Med Hyg* **40**:620 - 637
12. Kasprza K. W. and Z. Pawlowski. 1989 Zoonotic aspects of *Giardiasts*: A Review, *Vet Parasitol* **32**: 101 -108
13. Isaac-Renton J. L. , S. K. Byrne. , R. Prameya. 1988 Isoelectric focusing of strains of *Giardia Duodenalis*, *J parasitol* **74**: 1054 - 1056
14. Thompson R. C. , B. P. Meloni. , A. J. Lymbery. 1988 Human and cats have genetically-identical forms of *Giardia*: evidence of a zoonotic relationship, *Med J Aust* **148**:207 - 209
15. Andrews R. H. , M. Adams. , P. F. L. Boreham. et al. 1989 *Giardia intestinalis*; electrophoretic evidence for a species complex, *Int J Parasitol* **19**:183--190