

贾第虫病免疫学诊断方法及其应用研究进展

章乐生^{1,2}, 王燕娟¹, 曹建平^{1*}

[摘要] 蓝氏贾第鞭毛虫(简称贾第虫)是一种重要的肠道致病原虫,人体感染后可引起腹泻等症状。目前,贾第虫感染诊断主要有病原学、免疫学及分子生物学等方法;其中免疫学诊断技术因快速、简便、敏感性高、特异性强等优点,具有良好的应用前景。本文主要就常用贾第虫感染免疫学诊断技术及其应用情况作一综述。

[关键词] 蓝氏贾第鞭毛虫病;免疫诊断;对流免疫电泳;免疫印迹法;免疫荧光技术;酶联免疫吸附试验;免疫层析法

[中图分类号] R531.7 **[文献标识码]** A

Progress and application of immunodiagnostic methods of giardiasis

ZHANG Le-sheng^{1,2}, WANG Yan-juan¹, CAO Jian-ping^{1*}

1 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health; WHO Collaborating Centre for Tropical Diseases; National Center for International Research on Tropical Diseases, Ministry of Science and Technology, Shanghai 200025, China; 2 Anhui Institute of Schistosomiasis Control, China

* Corresponding author

[Abstract] *Giardia lamblia* is an important intestinal protozoan which can cause diarrhea in humans. The detection of *Giardia* infection is performed through the detection methods of pathogen, immunoassay and molecular biology. Currently, the immunodiagnostic methods have good application and development prospect because of high sensitivity and specificity, simple and convenient, and time saving. In this article, we review the main progress and application of immunodiagnostic methods for *Giardia* infection.

[Key words] Giardiasis; Immunodiagnosis; Counterimmunoelectrophoresis; Western blotting; Immunofluorescence technique; Enzyme-linked immunosorbent assay; Immunochromatographic test

蓝氏贾第鞭毛虫(*Giardia lamblia*),简称贾第虫,主要寄生于人和某些哺乳动物的小肠^[1-3],常引起腹泻、腹痛和消化不良等症。由于在旅游者中感染甚常见,故贾第虫感染又称“旅游者腹泻”^[4]。贾第虫呈全球性分布^[5],在我国流行也相当广泛^[6-7],各地感染率在1%~10%^[8]。贾第虫病已被列为全球危害人类健康的10种主要寄生虫病之一^[9]。近年来,随着贾第虫合并HIV感染及其在同性恋者中流行的报道不断增多^[10],该病的严重性和危害性日益受到重视。

目前,贾第虫感染诊断主要有病原学、免疫学及分子生物学等方法;其中免疫学诊断技术因快速、简便、敏感性高、特异性强等优点,具有良好的应用前景。本文主要就常用贾第虫感染免疫学诊断技术及其应用情况作一综述。

1 对流免疫电泳(CIE)

Craft等^[11]用贾第虫包囊免疫家兔获得抗血清,并以CIE法

检测粪便样本中贾第虫抗原的敏感性为98.5%(65/66)。卢思奇等^[12]用贾第虫滋养体进行超声破碎后制备的抗原免疫家兔,获得抗血清检测粪样的敏感性为94%(33/35)、特异性为100%(104/104),且CIE法可用于贾第虫病疗效考核。CIE法作为定性检测方法,虽然有较高的敏感性和特异性且操作也较简单,但在实际应用中,抗原抗体浓度比例不适合时,均不能出现明显可见的沉淀线,且仅靠肉眼主观判断存在一定误差。

2 免疫印迹法(IBT)

IBT法是一种将电泳和免疫化学分析技术相结合的技术,常用于疾病诊断^[13-14],其结果能保存较长时间,以利于前后结果的直观判断。该法亦可用于贾第虫病抗体检测^[15-16]。Jiménez等^[17]对治疗前后的贾第虫病患者血清IgA抗体进行检测,发现贾第虫抗原14、122 kD和137 kD蛋白条带在治疗前

[基金项目] 国家公益性卫生行业科研专项(201502021);国家重点研发计划(2016YFC1201900)和上海市公共卫生第四轮三年行动计划(15GWZK0101/GWIV-29)

[作者单位] 1 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、世界卫生组织热带病合作中心、科技部国家级热带病国际联合研究中心(上海 200025);2 安徽省血吸虫病防治研究所

[作者简介] 章乐生,男,硕士研究生,主管技师。研究方向:寄生虫病诊断
* 通信作者 E-mail: caojpedc@163.com

[数字出版日期] 2017-06-12 10:25

[数字出版网址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1374.R.20170612.1025.002.html>

后有所改变,提示治疗前后患者血清中IgA抗体有所变化。Boone等^[18]通过检测贾第虫阳性粪便发现,相较于酶联免疫吸附试验(ELISA),IBT法仅检测出9份阳性样本中的8份;其中检测阴性的一份样本ELISA法检测阳性且吸光度(A)值 <0.5 ,提示样本中抗原含量较少,从而导致IBT法漏检。IBT法需要对样本进行电泳、转印、孵育和洗涤等处理,操作较繁琐且耗时,故此法仅适用实验室验证检测,不适用于现场应用。

3 免疫荧光技术(IF)

IF是在组织化学及蛋白质技术基础上发展起来的一项新技术,是一种将免疫学技术和荧光染色法结合的新方法。该法具有高度敏感性、特异性和重复性,为当前国内外检测贾第虫感染的常用技术之一。

3.1 直接免疫荧光法(DFA) 该方法是最早的免疫荧光技术,是用已标记了荧光素的特异性荧光抗体直接滴在含有相应抗原的载玻片上进行孵育,在荧光显微镜下观察检测结果。Baig等^[19]采用DFA法对150份儿童粪样进行贾第虫检测,敏感性和特异性分别为92.2%和92.7%,均高于碘染色显微镜检法。研究发现,该方法对于长期保存的粪便样本亦具有良好的检测效果^[20-21]。

3.2 间接免疫荧光法(IIA) IIA法可用于检测抗原和抗体。该法有两种抗体相继作用,一抗为针对抗原的特异性抗体,二抗(荧光抗体)为针对一抗的抗体。本法敏感性高,而且在不同抗原检测中仅需应用一种荧光抗体。Guimarães等^[22]在贾第虫病流行区的一家公共日托中心,采用IIA法检测147份0~6岁儿童血清中抗贾第虫抗体;结果显示,其中93份(63.3%)血清阳性,检测敏感性为82%,特异性为70%。虽然IIA法较ELISA法灵敏、省时,但该技术必须要有荧光显微镜、试剂价格较高且镜检较耗时,限制了其现场应用。

4 ELISA

ELISA法是免疫学试验中应用最普遍、适用范围最广的一种免疫酶标检测技术,具有较高敏感性、特异性、稳定性和重复性。ELISA法是目前贾第虫病检测的常用方法,常用于贾第虫感染的流行病学筛查^[23-25]。此法可对样本进行批量检测、检测结果可采用机器判读且技术稳定可靠。

4.1 斑点-ELISA(Dot-ELISA) 该方法以硝酸纤维素(NC)多孔薄膜作为固相载体,预先将抗贾第虫抗体点涂于NC膜上,以吸附粪便样本中的抗原,阳性反应在NC膜上呈现有色斑点。Nagaty等^[26]用Dot-ELISA法对200例有临床症状和30例正常人进行检测,共查出49例贾第虫感染阳性病人,检测敏感性和特异性分别为100%和93.8%。该法操作简单、反应快速,肉眼判断结果直观且可保留结果以利复查,适于现场调查。

4.2 间接法-ELISA 庞杏林等^[27]检测HIV感染者/艾滋病患者血清抗体,抗贾第虫抗体IgG阳性率为16.2%(73/450),高于正常人(11.7%,21/180),提示HIV感染者/艾滋病患者较正常人易感染贾第虫。陈思礼等^[28]利用贾第虫虫体可溶性抗原建立ELISA方法,其检测65份成人贾第虫病血清阳性率为84.62%,检测20份 <10 岁儿童贾第虫病人血清无阳性结果,提示贾第虫感染产生的体液免疫反应存在年龄依赖性,而ELISA法检测抗体用于贾第虫病免疫诊断具有一定局限性。

Soliman等^[29]认为,在贾第虫病流行区,人群早期连续反复感染贾第虫,导致机体抗体一直处于较高水平,但机体的抗体水平与寄生虫在身体内的消长关系无相关性^[30-31]。

4.3 双抗体夹心ELISA 由于单抗制备技术的进步以及贾第虫特异抗原分子的发现^[32-33],双抗体夹心ELISA法已逐步应用于贾第虫病诊断。由于双抗体夹心ELISA法中与固相结合的单克隆抗体与靶抗原中的特异表位相结合,使得该法在实际检测中减少了与其他病原体感染的交叉反应性,提高了检测特异性。双抗体夹心ELISA法是目前检测贾第虫感染的常用方法之一。Jahan等^[34]利用双抗体夹心ELISA法对1680份出现腹泻或其他胃肠道症状的病人粪便样本检测发现,有380份样本贾第虫粪抗原阳性,检测敏感性和特异性分别为100%和91.5%。宋百军等^[35]利用制备的单克隆抗体建立双抗体夹心ELISA法对122份犬粪样本进行检测,贾第虫感染阳性率为36.9%。

4.4 生物素-亲和素ELISA(ABC-ELISA) ABC-ELISA法是一种借助亲和素和生物素之间极强的亲和力将免疫结果级联放大的免疫学诊断方法。该方法既具有免疫反应的特异性,又较常规标记物的灵敏度提高数倍,有助于低抗体水平患者诊断。Jiménez等^[17]收集委内瑞拉首都加拉加斯城郊地区的364份儿童血清样本,对其中190例感染患儿用ABC-ELISA法检测塞克硝唑治疗前后的血清中IgA抗体变化,发现治疗后A值较治疗前有降低趋势(0.94 ± 0.96 vs. 1.16 ± 0.99 , $P = 0.032$),且女孩较男孩下降明显。ABC-ELISA法较其他常用ELISA法灵敏,但其标记物昂贵,在提高阳性反应率的同时亦有可能提高本底反应,因此易导致假阳性结果。

5 免疫层析法(IC)

该方法无需昂贵实验设备,较显微镜检查省时、省力,可同时进行多人份检查,重复性较好,试验结果能够长期保存。Elsafi等^[36]用一种商用IC试剂盒检测148份粪便样本,其检测贾第虫感染敏感性、特异性分别为95.2%和99.2%,具有较好的检测效果,且具有操作简便、省时和快速等优点。Sadaka等^[37]发现,利用IC法制备的一种试剂盒检测90份粪样,贾第虫检出率为17.8%,检测敏感性和特异性分别为100%和94.9%。与显微镜镜检和ELISA法相比,该法结果更易判读且耗时短,目前已发展到同时对样本进行多虫种检测,具有较高的应用优势。

6 结语

病原学检测方法即检测样本中贾第虫包囊和滋养体是诊断贾第虫感染的“金标准”。然而该法对粪便样本进行镜检时费时费力、劳动强度大、检出率低,且敏感性不高,在感染率或/和感染度较低时极易出现漏检^[38];在出现疫情暴发或流行时,病原学检测方法也无法满足在短时间内进行大量样本检测的需求。近年来,随着分子生物学^[39-40]和免疫学诊断方法研究的不断深入,其在贾第虫感染检测方面取得了长足进展,逐渐应用于现场常规筛查,从而成为病原学诊断方法不可或缺的辅助手段。

免疫学检测方法由于其特异性好、敏感性强、操作简单、易于推广使用的优点,在医学和生物领域有着不可替代的地

位。将免疫学方法应用到贾第虫感染检测领域,开辟了贾第虫检测的新途径,并展现出了良好的应用和发展前景。近年来,随着单克隆抗体技术的应用,针对特异抗原表位的单克隆抗体具有高特异性、均质性且来源稳定及可大量生产等优点,使得该技术应用于目前的免疫学诊断,大大提高了贾第虫检测的特异性^[35]。目前已有多种贾第虫病免疫学诊断商用试剂盒面市,但大多为进口产品且价格较高。众多试剂盒中,以ELISA法和IC法应用较为常见。操作简便、省时快速、结果易判断、敏感性和特异性较高及产业化生产等特点,使这两种方法较其他方法有着较大优势。虽然免疫学检测方法在诊断贾第虫病上取得了较大成就,但仍存在一些待解决的问题:一是在检测抗体时,很难区分既往感染和现症感染;二是检测粪抗原时,对抗原要求较高,很难区分包囊活性;三是各免疫诊断技术检测具有差异性和不够稳定的问题,实际应用中还应加强技术的改进和标准化;四是寄生虫检测的市场需求限制了检测试剂盒的研发和应用,需要国家对研发和销售的企事业单位进行扶持。

国内对于各种贾第虫病免疫学诊断方法的研究和现场应用情况的评估较少,目前国内主要通过病原学方法检测贾第虫病。一方面,对贾第虫感染的重视度不够,贾第虫感染率较低,其引起的感染为自限性感染,且国内也鲜有贾第虫病免疫学诊断商用试剂盒,阻碍了免疫学诊断试剂的开发和现场应用评估。另一方面,病原学诊断方法的高漏检率也掩盖了贾第虫真实感染情况,从而导致了贾第虫感染防治的忽视。虽然分子生物学方法具有较好的敏感性和特异性,但是存在实验室污染导致假阳性结果的现象,其对于人员技能掌握程度、仪器设备和设施环境均有较高的要求,且成本较高,限制了其应用。随着我国对贾第虫等原虫感染的重视越来越大,国内已加强对贾第虫等机会致病原虫的被动检测和主动监测,同时也正着力于免疫学诊断试剂的开发研制工作,以期制备出敏感性和特异性均较高的免疫学诊断试剂盒用于贾第虫感染诊断。同时,分子生物学、免疫学和病原学等诊断方法的联合应用,将提高贾第虫病流行病学监测水平,有效促进贾第虫病防控。

【参考文献】

- [1] Liu A, Yang F, Shen Y, et al. Genetic analysis of the Gdh and Bg genes of animal-derived *Giardia duodenalis* isolates in Northeastern China and evaluation of zoonotic transmission potential [J]. PLoS ONE, 2014, 9(4): e95291.
- [2] Zhang W, Shen Y, Wang R, et al. *Cryptosporidium cuniculus* and *Giardia duodenalis* in rabbits: genetic diversity and possible zoonotic transmission [J]. PLoS ONE, 2012, 7(2): e31262.
- [3] Zhang W, Zhang X, Wang R, et al. Genetic characterizations of *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Heilongjiang Province, China and possibility of zoonotic transmission [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2012, 6(9): e1826.
- [4] Brodsky RE, Spencer HC Jr, Schultz M G. Giardiasis in American travelers to the Soviet Union [J]. J Infect Dis, 1974, 130(3): 319-323.
- [5] Kirkpatrick CE, Farrell JP. Feline giardiasis: observations on natural and induced infections [J]. Am J Vet Res, 1984, 45(10): 2182-2188.
- [6] 刘华,沈玉娟,张玉梅,等. 临床腹泻患者贾第虫感染和分子特征研究 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2015, 27(2): 152-155.
- [7] 袁忠英,姜岩岩,何祖安,等. 湖北赤壁市农村儿童感染贾第虫的初步分析 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2015, 42(2): 86-88.
- [8] 许隆祺,蒋则孝,姚民一,等. 我国人体寄生虫的虫种概况 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1997, 15(5): 311-313.
- [9] Sandhu H, Mahajan RC, Ganguly NK. Flowcytometric assessment of the effect of drugs on *Giardia lamblia* trophozoites in vitro [J]. Mol Cellular Biochem, 2004, 265(1-2): 151-160.
- [10] Elmendorf HG, Dawson SC, McCaffery JM. The cytoskeleton of *Giardia lamblia* [J]. Int J Parasitol, 2003, 33(1): 3-28.
- [11] Craft JC, Nelson JD. Diagnosis of giardiasis by counterimmunoelectrophoresis of feces [J]. J Infect Dis, 1982, 145(4): 499-504.
- [12] 卢思奇,王正仪,张月清,等. 对流免疫电泳检测粪内贾第虫抗原诊断贾第虫病 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1987, 5(1): 22-24.
- [13] 胡纪文,马东礼. 免疫印迹法检测血清幽门螺杆菌抗体的应用价值 [J]. 热带医学杂志, 2013, 13(8): 952-953.
- [14] 高劲松,刘约翰,王小根,等. 免疫印渍技术用于斯氏并殖吸虫病抗原检测的研究 [J]. 热带医学杂志, 2002, 2(2): 127-130.
- [15] Hasan SM, Maachee M, Córdova OM, et al. Human secretory immune response to fatty acid-binding protein fraction from *Giardia lamblia* [J]. Infect Immun, 2002, 70(4): 2226-2229.
- [16] Palm JE, Weiland ME, Griffiths WJ, et al. Identification of immunoreactive proteins during acute human giardiasis [J]. J Infect Dis, 2003, 187(12): 1849-1859.
- [17] Jiménez JC, Pinon A, Dive D, et al. Antibody response in children infected with *Giardia intestinalis* before and after treatment with Secnidazole [J]. Am J Trop Med Hyg, 2009, 80(1): 11-15.
- [18] Boone JH, Wilkins TD, Nash TE, et al. TechLab and alexon *Giardia* enzyme-linked immunosorbent assay kits detect cyst wall protein 1 [J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(3): 611-614.
- [19] Baig MF, Kharal SA, Qadeer SA, et al. A comparative study of different methods used in the detection of *Giardia lamblia* on fecal specimens of children [J]. Ann Trop Med Public Health, 2012, 5(3): 163-167.
- [20] El-Shewy KA, El-Hamshary EM. Immunofluorescent detection of both *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* using anti-Cryptosporidium oocyst antibodies [J]. J Egypt Soc Parasitol, 1999, 29(3): 777-786.
- [21] Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, et al. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(2): 623-626.
- [22] Guimaraes S, Sogayar MI. Detection of anti-*Giardia lamblia* serum antibody among children of day care centers [J]. Rev Saude Publica, 2002, 36(1): 63-68.
- [23] Akyar I, Gültekin M. Five year surveillance of *Entamoeba histolytica* and *Giardia* antigen of stool samples by ELISA method [J]. Tur-

- [25] Maragos P. Pattern spectrum and multiscale shape representation [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1989, 11(7): 701-716.
- [26] Dempster AG, Di Ruberto C. Using granulometries in processing images of malarial blood [C]. Proc ISCAS, Sydney, 2001: 291-294.
- [27] Breen EJ, Jones R. Attribute openings, thinnings, and granulometries [J]. Computer Vision and Image Understanding, 1996, 64(3): 377-389.
- [28] Meijster A, Wilkinson M. Fast computation of morphological area pattern spectra [C]//In Proc Int Conf on Image Process, Thessaloniki, 200: 668-671.
- [29] Urbach ER, Roerdink JB, Wilkinson MH. Connected shape-size pattern spectra for rotation and scale-invariant classification of gray-scale images [J]. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell, 2007, 29(2): 272-285.
- [30] Di Ruberto C, Dempster A, Khan S, et al. Segmentation of blood images using morphological operators [C]//In Proc Int Conf Pattern Recognit, Barcelona, 2000: 3401-3404.
- [31] Cosio A, Flores FM, Castaneda JA, et al. Automatic counting of immunocyto-chemically stained cells [C]//In Proc 25th Ann Int Conf IEEE EMBS, Cancun, 2003: 790-793.
- [32] Aimi S, Yusoff M, Zeehaida M. Colour image segmentation approach for detection of malaria parasites using various colour models and k-Means clustering [J]. Wseas Transactions on Biology & Biomedicine, 2013, 10(10): 41-55.
- [33] Viola P, Jones MJ. Robust Real-Time face detection [J]. Int J Comput Vis, 2004, 57(2): 137-154.
- [34] Corentin D, Saumya K, Izzet K. Real time blood image processing application for malaria diagnosis using mobile phones [C]. International Symposium on Circuits System, Victoria, 2014: 2405-2408.
- [35] Mas D, Ferrer B, Cojoc D, et al. Novel image processing approach to detect malaria [J]. Opt Commun, 2015, 350: 13-18.

【收稿日期】 2017-02-09 【编辑】 邓瑶

(上接第387页)

- kiye Parazitol Derg. 2012, 36(1): 12-16.
- [24] Anim-Baidoo I, Narh CA, Oddei D, et al. *Giardia lamblia* infections in children in Ghana [J]. Pan Afr Med J, 2016, 24: 217.
- [25] Elswaifi SF, Palmieri JR, El-Tantawy N, et al. Comparison of microscopic and immunoassay examination in the diagnosis of intestinal protozoa of humans in Mansoura, Egypt [J]. J Parasitic Dis, 2016, 40(3): 580-585.
- [26] Nagaty IM, Hegazi MM. Dot-ELISA copro-antigen and direct stool examination in diagnosis of giardiasis patients [J]. J Egypt Soc Parasitol, 2007, 37(2): 641-648.
- [27] 庞杏林, 陈守义, 高凯, 等. HIV/AIDS 合并感染机会性致病原虫血清流行病学分析 [J]. 热带医学杂志, 2015, 15(10): 1425-1428.
- [28] 陈思礼, 陈强, 袁媛, 等. 用酶联免疫吸附试验诊断蓝氏贾第鞭毛虫病免疫价值的研究 [J]. 华中师范大学学报: 自科版, 2004, 38(4): 497-500.
- [29] Soliman MM, Taghi-Kilani R, Abou-Shady AFA, et al. Comparison of serum antibody responses to *Giardia lamblia* of symptomatic and asymptomatic patients [J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 58(2): 232-239.
- [30] Gilman RH, Brown KH, Vivesvara GS, et al. Epidemiology and serology of *Giardia lamblia* in a developing country: Bangladesh [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1985, 79(4): 469-473.
- [31] Islam A, Stoll BJ, Ljungström I, et al. *Giardia lamblia* infections in a cohort of Bangladeshi mothers and infants followed for one year [J]. J Pediatr, 1983, 103(6): 996-1000.
- [32] Campbell JD, Faubert GM. Recognition of *Giardia lamblia* cyst-specific antigens by monoclonal antibodies [J]. Parasite Immunol, 1994, 16(4): 211-219.
- [33] Stibbs HH. Monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for *Giardia lamblia* antigen in human stool [J]. J Clin Microbiol, 1989, 27(11): 2582-2588.
- [34] Jahan N, Khatoon R, Ahmad S. A comparison of microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Giardia lamblia* in human faecal specimens [J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(11): DC04-DC06.
- [35] 宋百军, 刘原源, 宫鹏涛, 等. 双抗夹心 ELISA 检测犬粪贾第虫抗原方法的建立及应用 [J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(10): 902-904.
- [36] Elsafi SH, Al-Maqati TN, Hussein MI, et al. Comparison of microscopy, rapid immunoassay, and molecular techniques for the detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* [J]. Parasitol Res, 2013, 112(4): 1641-1646.
- [37] Sadaka HA, Gaafar MR, Mady RF, et al. Evaluation of ImmunoCard STAT test and ELISA versus light microscopy in diagnosis of giardiasis and cryptosporidiosis [J]. Parasitol Res, 2015, 114(8): 2853-2863.
- [38] Burke JA. The clinical and laboratory diagnosis of giardiasis [J]. CRC Crit Rev Clin Lab Sci, 1977, 7(4): 373-391.
- [39] 卢潍媛, 袁忠英, 沈玉娟, 等. 环介导等温扩增技术检测蓝氏贾第鞭毛虫 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2010, 37(3): 145-147.
- [40] Liu H, Shen Y, Yin J, et al. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon*, *Giardia* and *Cyclospora* in diarrheal outpatients in China [J]. BMC Infect Dis, 2014, 14: 25.

【收稿日期】 2017-03-31 【编辑】 汪伟