

卫氏并殖吸虫童虫回收和体外 保存的实验研究

蔡士椿 沈一平

(南京医学院寄生虫学研究室)

摘要 将实验感染卫氏并殖吸虫囊蚴的 21 只小鼠和 25 只大鼠的组织碎片,分别浸于 37℃ 林格氏液中,不同时间内共检获游离的童虫 3026 条,其中 93.6% 及 98.5% 以上的童虫是于浸泡 2 及 4 小时检获的,提示此法浸泡 2—4 小时即可回收绝大多数的虫体。对检获的活虫保存在 4—8℃ 的灭菌生理盐水,林格氏液或囊蚴保存液中,至少可活 5 天,个别童虫在囊蚴保存液中可活 39 天以上,而同液保存在 20—25℃ 或 37℃ 中,1—2 天即有童虫死亡,5—10 天全部死尽。

卫氏并殖吸虫 (*Paragonimus westermani*) 在小鼠和大鼠等转续宿主体内难以正常发育为成虫,而多以童虫期在此等宿主体内窜移。检获童虫一般是将剪切成碎片的宿主组织浸泡在 37℃ 林格氏液中,使虫体游离而出。但用这种方法究竟浸泡多少时间可以分离出较多的活虫,则未见实验比较。本文进行了鼠体回收童虫最适浸泡时间的观察,并对获取的童虫做了几种不同保存条件的比较实验,以寻求自转续宿主获得较多虫体的方法和体外短期保存活虫的较佳条件。

材 料 和 方 法

(一) 自皖南山区采集溪蟹,研碎蟹组织,检取具活力的卫氏并殖吸虫囊蚴。

(二) 囊蚴经灭菌生理盐水清洗后,以经口或经腹腔注入的方式,感染小鼠和大鼠各 30 只。感染囊蚴数每只小鼠为 50 个,大鼠为 200 个。

(三) 感染后 33—45 天解剖实验鼠。将每只鼠的肌肉切成厚约 0.5 厘米的薄片,心、肝、肺等组织剪成碎片,胃肠两端结扎以及皮毛,分别放在盛有林格氏液的烧杯中浸泡,于 37℃ 孵箱内不同时间后取出烧杯,逐块取出鼠组织,经同液清洗一次后,再置于另一烧杯内的林格氏液中,于 37℃ 下继续浸泡。检查和计数各次浸泡液和清洗液中的虫数,进行比较。

(四) 将检获的活动童虫每 10 条为 1 组,分别置放于含灭菌生理盐水、林格氏液和囊蚴保存液各 10ml 的小玻皿中。每种溶液又设 3 组,分别放在 4—8℃ 冰箱、20—25℃ 室温和 37℃ 孵箱中。每日检查虫体死活并换液一次,记录虫体死亡情况。虫体触之不活动,内部结构出现不清晰者,即判为死亡。囊蚴保存液的配方为: NaCl 6.5g, KCl 0.14g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.16g, NaHCO_3 0.20g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.39g, 葡萄糖 2g, 蒸馏水 1000ml。

结 果 与 讨 论

(一) 童虫自鼠体游离的时间

本实验共解剖感染小鼠 21 只,大鼠 25 只,

计检获卫氏并殖吸虫童虫 3026 条。其中小鼠获虫 473 条,感染囊蚴的回收童虫率为 45.05%,大鼠为 2553 条,回收童虫率为 51.06%。检获的童虫均以肌肉内为多,各分别占检获总虫数的 85.41% (404/473) 和 98.63% (2518/2553),而脏器内检获的虫体则较少,小鼠的占 14.38% (68/473),大鼠的为 1.37% (35/2553)。

小鼠的组织碎片浸于 37℃ 林格氏液中 1 小时,虫体游离率即达 91.32%,2 小时累计达 95.98%,4 小时累计达 98.73%,浸泡 6 小时以后即未再发现虫体。大鼠的组织浸泡 2 小时,虫体检获率为 93.62%,4 小时累计达 98.99%,以后则检获虫体很少,浸泡 8 小时仅查到童虫 2 条,占 0.07%。(表 1)这个结果提示,用 37℃ 林格氏液浸泡法,自鼠体等转续宿主回收卫氏并殖吸虫童虫,浸泡 4 小时即可检获绝大多数的虫体,虫体活力皆很强,所需时间较少,利于工作安排。以往,我们曾采用浸泡过夜的方法回收虫体,由于时间过长,鼠组织在 37℃ 下易分解腐败,恶臭袭人,虫体也易死亡溃烂,既费时又收效差。

(二) 体外存活童虫的效果

实验工作中常需集中使用同批较多的虫体,对逐日所获活虫加以短期保存。我们比较了灭菌生理盐水、林格氏液和囊蚴保存液在三种温度条件下,卫氏并殖吸虫童虫存活的情况。结果显示,三种溶液存活虫体的效果差别不大,而保存的温度至关重要。在 37℃ 孵箱和 20—25℃ 室温中,三种溶液保存 1—2 天以后即有个别童虫死亡,至第 5 或第 8 天即全部死亡。而在 4—8℃ 冰箱中保存,童虫在三种溶液中至少 5 天内未见死亡,至第 13 天均尚有半数或半数以上的虫体存活;在盐水或林格氏液中的虫体,在第 18 或 19 天以后才全部死亡,而在囊蚴保存液中,个别童虫可存活 39 天以上,其中有 1 条童虫于保存后第 27—33 天,在体外形成一层薄而透明的类圆形胶状膜,包裹在内的虫体结构清晰,与膜分离,可以转动,但活动减少,至第 83 天后才死亡,此情形甚为罕见(见图 1)。

从图 1 中所示的结果可以看出,保存在温

表 1 卫氏并殖吸虫童虫自鼠体游离的时间

实验鼠 (只)	解剖阳性 鼠数(只)	检获童虫 总数(条)	不同时间(小时)游离的虫数及所占百分比(%)														
			肌 肉					内 脏					合 计				
			1	2	4	6	8	1	2	4	6	8	1	2	4	6	8
小鼠	21	472	370	16	12	6	0	61	6	1	0	0	431	22	13	6	0
			91.58	3.96	2.97	1.49		89.01	9.89	1.10			91.32	4.66	2.75	1.27	
大鼠	25	2553	—	2357	135	24	2	—	33	2	0	0	—	2390	137	24	2
				93.61	5.36	0.95	0.08		94.29	5.71				93.62	5.37	0.94	0.07

注: 小鼠皮内查获 1 条童虫未列入表内统计。

虫放在囊蚴保存液内, 于 4—8℃ 冰箱中保存, 逐日换液一次, 可以达到短期间存活虫体的目的, 所需条件和操作也很简易。

小 结

本文通过实验观察到, 检取小鼠和大鼠体内的卫氏并殖吸虫童虫, 用 37℃ 林格氏液浸泡宿主组织 4 小时, 即可使这些转续宿主体内约 99% 的虫体游离出来, 不仅回收率高, 而且虫体活力好。回收的童虫放在囊蚴保存液等三种溶液中保存, 温度高则死亡快; 在 4—8℃ 下, 至少 5 天内未见虫体死亡, 半数以上虫体可存活 12 天以上, 这可用于卫氏并殖吸虫童虫体外短期保存的目的。

参 考 文 献

- [1] 章子豪等 1983 卫氏并殖吸虫在大鼠体内的发育及吡喹酮治疗的观察 寄生虫学与寄生虫病杂志 1(1): 53
- [2] 波部重久 1978 ウエステルマニ 肺吸虫の感染経路に關する实验的研究 日本寄生虫学杂志 27(3): 261

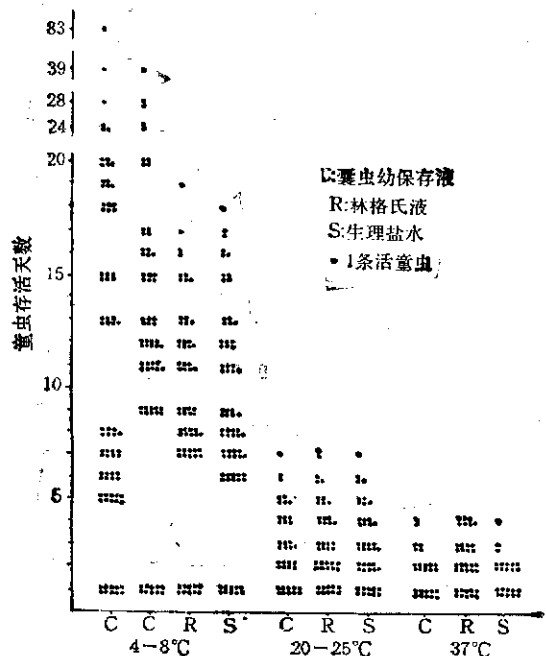


图 1 卫氏并殖吸虫在不同温度和保存液中存活的时间

度高的条件下, 卫氏并殖吸虫童虫死亡快。在实验的温度条件下, 以 4—8℃ 冰箱中保存的效果最好。故在一般实验室中, 对所检获的活童