

人工消化法对旋毛虫成囊前期幼虫感染性的影响

常 远, 杨沛文, 张 澎, 陈文辉, 关育栋, 马瑞琳, 李慧霞, 王国英[✉]

河南大学 基础医学院, 河南 开封 475004

摘 要: (目的)观察人工消化法对旋毛虫成囊前期幼虫感染性的影响。(方法)将感染 300 条肌幼虫的小鼠 19 d 后剖杀,应用人工消化法分别消化 30、60、90 min,收集成囊前期幼虫;15 只雌性昆明小鼠随机分为消化 30、60、90 min 组,每组 5 只。收集的成囊前期幼虫分别感染 3 组小鼠,每鼠经口感染 300 条旋毛虫肌幼虫,感染 36 d 剖杀,膈肌压片镜检囊包、鼠体肌肉人工消化收集幼虫。(结果)膈肌压片镜检囊包、鼠体肌肉人工消化收集幼虫,检出率均为 100%。消化 30、60、90 min 组,每克膈肌虫荷均数差异有非常显著性(消化 90 min 组与消化 30 min 组 $q = 5.59$,消化 90 min 组与消化 60 min 组 $q = 5.18$, $P < 0.01$);消化 30、60、90 min 组,每克鼠体肌肉虫荷均数差异均无显著性(消化 90 min 组与消化 30 min 组 $q = 2.89$,消化 90 min 组与消化 60 min 组 $q = 2.76$, $P > 0.05$)。(结论)发育阶段和人工消化法的消化时间对成囊前期幼虫的感染性有较大影响。

关键词: 旋毛虫;成囊前期幼虫;人工消化法;感染性

中图分类号: R383.1+5

文献标志码: A

DOI:10.15991/j.cnki.41-1361/r.2017.04.015

Effect of Artificial Digestion Method on Infectivity of pre encapsulated larvae of *Trichinella spiralis*

CHANG Yuan, YANG Peiwen, ZHANG Peng, CHEN Wenhui, GUAN Yudong, MA Ruilin, LI Huixia, WANG Guoying[✉]

Medical College of Henan University, KaiFeng 475004, China

Abstract: (Objective)To observe the effect of artificial digestion method on infectivity of pre-encapsulated larvae of *Trichinella spiralis*. (Methods)Mice infected with 300 muscle larvae were killed after 19 days, which were respectively digested for 30 min, 60 min, and 90 min with artificial digestion method, and the pre encapsulated larvae were collected. Fifteen female Kunming mice were randomly divided into 30 min digestive group, 60 min digestive group and 90 min digestive group, each of which had 5 mice. Three groups of mice were infected with the collected larvae, each mouse was inoculated orally with 300 pre encapsulated larvae of *Trichinella spiralis*, and was killed after being infected for 36 days; pre encapsulated larvae of *Trichinella spiralis* were examined with the diaphragmatic tablet microscope, the larvae were collected with the mouse body muscle digestion method. (Results) Both detection rates of diaphragm examination and rat muscle artificial digestion of larvae microscopic examination were 100%. the diaphragm of the average number of grams of insects were significantly different ($q = 5.59$ in 90 min and 30 min indigestion groups, $q = 5.18$ in 90 min and 60 min indigestion groups $P < 0.01$) among 30 min digestion group, 60 min digestion group and 90 min digestion group, there existed no significant difference in the mean number of insects per week among the 30 min digestion group, the 60 min group and the 90 min group ($q = 2.89$ 90 min and 30 min indigestion groups, $q = 2.76$ 90 min and 60 min indigestion groups $P > 0.05$). (Conclusion)The time of the developmental stage and the digestive time of the artificial digestion method have the great influence on the infectivity of pre-encapsulated larvae of *Trichinella spiralis*.

收稿日期: 2017-09-30

基金项目: 2016 年度河南大学大学生创新创业训练计划项目(No. 医学院-1B)

作者简介: 常远(1996-),男,河南开封人,本科大学生。

✉通信作者: 王国英(1962-),女,山西运城人,高级实验师,研究方向:寄生虫与流行病学, E-mail: medwgy@163.com。

Key words: *Trichinella spiralis*; pre-encapsulated larvae (PEL); artificial digestion method; Infectivity

旋毛虫病是一种危害严重的人兽共患寄生虫病。该病的自然感染是由于宿主食入了含有旋毛虫活幼虫的肉类及其制品。动物实验常用人工感染,即通过人工消化法收集旋毛虫幼虫,对宿主人工灌胃进行感染。人工消化法是利用胃蛋白酶将肌肉组织消化后,活的旋毛虫幼虫从囊包中释放出来^[1]。旋毛虫成囊前期幼虫对新宿主已具有感染性^[2],人工消化法也可用于成囊前期幼虫的检验和收集^[3],但对成囊前期幼虫的感染性是否有影响,本文进行了实验观察,以期对旋毛虫病研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 旋毛虫虫种

为本实验室引自河南省疾病预防控制中心,用小白鼠传代保种的旋毛虫(*Trichinella spiralis*),实验前以肌幼虫转种小白鼠备用。

1.2 实验分组

35日龄雌性昆明小鼠,体质量(18~22)g,购自郑州大学实验动物中心。30只小鼠被随机分为种鼠组、实验组,每组15只;实验组又分为消化30min组、消化60min组和消化90min组,每组5只。

1.3 成囊前期幼虫收集

种鼠组,每鼠经口感染300条旋毛虫肌幼虫,感染后19d剖杀,15只小鼠剪碎,混合,鼠肉均分为3份肉样,分别人工消化,消化时间分别为30、60、90min。肉样加入人工消化液(胃蛋白酶:1g,盐酸:1mL,蒸馏水:100mL),肉样与消化液的比例为1:25(W/V),置于恒温磁力加热搅拌器上,37℃搅拌消化,过滤、沉淀,无菌生理盐水漂洗3~4次,收集纯净成囊前期幼虫。

1.4 人工消化法对旋毛虫成囊前期幼虫感染的影响

3份阳性鼠肉肉样分别人工消化后,收集的成囊前期幼虫分别人工灌胃消化30、60、90min,3组小鼠,每鼠经口感染300条。各组小鼠接种36d后剖杀,取每只小鼠完整膈肌,称重,压片镜检,计数囊包;并将鼠体其余部分称重,剪碎、消化90min,过滤,收集幼虫,镜检计数。计算每克膈肌虫荷和每克鼠体肌肉虫荷(larvae per gram, LPG)。

1.5 统计学方法

采用统计分析软件SPSS 17.0进行数据处理和统计分析。统计分析方法:单因素方差分析和t检验。

2 结果

2.1 膈肌压片镜检

3组小鼠感染36d后,膈肌压片镜检,检出率均为100%。消化30、60、90min组,每克膈肌虫荷均数差异有非常显著性(消化90min组与消化30min组 $q = 5.59$,消化90min组与消化60min组 $q = 5.18$, $P < 0.01$)。消化30min组与消化60min组,每克膈肌虫荷均数差异无显著性(消化30min组与消化60min组 $q = 0.40$, $P > 0.05$),见表1。

2.2 人工消化鼠体肌肉镜检

3组小鼠感染36d后,去除膈肌,小鼠取全部肌肉,人工消化后镜检,检出率均为100%。消化30、60、90min组,每克鼠体肌肉虫荷均数差异均无显著性(消化90min组与消化30min组 $q = 2.89$,消化90min组与消化60min组 $q = 2.76$, $P > 0.05$);消化30min组与消化60min组,每克鼠体肌肉虫荷均数差异无显著性(消化30min组与消化60min组 $q = 0.12$, $P > 0.05$)。见表1。小鼠感染旋毛虫19d鼠体肌肉人工消化30min后收集的成囊前期幼虫标本见图1A、1B、1C、1D。

2.3 膈肌压片与鼠体肌肉人工消化结果比较

消化90min组,膈肌压片与鼠体肌肉人工消化,每克虫荷均数差异有非常显著性(消化90min组膈肌与鼠体 $t = 4.65$, $P < 0.01$);消化60min组,膈肌压片与鼠体肌肉人工消化,每克虫荷均数差异有显著性(消化60min组膈肌与鼠体 $t = 2.87$, $P < 0.05$);消化30min组,膈肌压片与鼠体肌肉人工消化,每克虫荷均数差异无显著性(消化30min组膈肌与鼠体 $t = 1.80$, $P > 0.05$)。见表1。

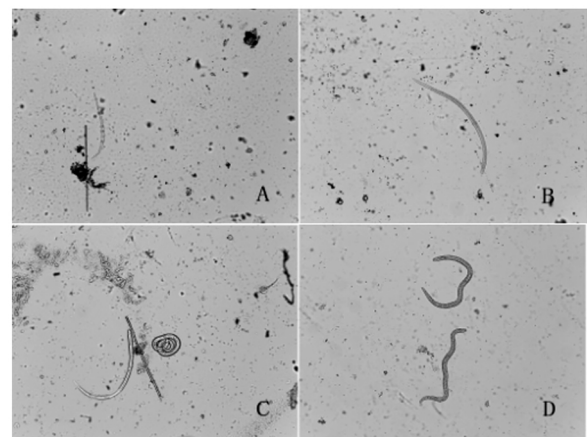


图1 人工消化法收集的旋毛虫感染19d幼虫(100×)

表1 旋毛虫成囊前期幼虫感染3组小鼠36 d检查结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	膈肌压片			鼠体人工消化		
	阳性鼠数	阳性率/%	虫荷 LPG	阳性鼠数	阳性率/%	虫荷 LPG
消化 30 min	5	100	153.89 ± 190.69	5	100	37.94 ± 51.25
消化 60 min	5	100	208.25 ± 159.34	5	100	42.73 ± 33.69
消化 90 min	5	100	904.46 ± 456.58	5	100	145.80 ± 130.52

3 讨论

本实验结果显示,小鼠感染旋毛虫19 d,通过人工消化法分别采用30、60、90 min 3种消化时间,收集的成囊前期幼虫感染实验组小鼠,感染36 d后的检验结果显示,膈肌压片镜检和鼠体肌肉人工消化,检出率均为100%。说明采用3种消化时间所收集的成囊前期幼虫均具有感染性。

理论上消化时间越长,消化液对成囊前期幼虫的感染性影响越大、成囊前期幼虫感染性越低。但实际结果,膈肌压片镜检显示,消化90 min组的每克虫荷均数显著高于消化30 min组和消化60 min组;消化30 min组与消化60 min组的每克虫荷均数差异无显著性。图1所显示的是小鼠感染旋毛虫19 d鼠体肌肉人工消化30 min后收集的成囊前期幼虫标本,图1A、图1B及图1C左侧的虫体较小,未呈现出活动状态;图1C右侧的虫体呈螺旋状、图1D的1条虫体呈弯曲状,呈现出活动状态。

姜鹏等^[4]将感染后18 d的小鼠肌肉经不同时间消化,发现国标-消化法的消化时间较短(0.5~1h),幼虫死亡数较少;ICT-消化法将肌肉完全消化需要4~5 h,而此时有些虫体已断裂成数段而不易被检出。本实验在30 min和60 min的消化时间内,虫体较小(日龄较短)的成囊前期幼虫较少受消化液的影响,得以被收集。因此,在消化30 min和消化60 min所收集的虫体中,既有虫体较小、未呈现出活动状态的成囊前期幼虫,也有虫体较大、呈现出活动状态的成囊前期幼虫。消化90 min时,由于消化时间相对较长,对较小虫体损害较大,虫体可能会断裂、破碎、甚至被消化,因此,被收集的可能大多为活动状态好又较大的虫体(日龄较长)。

周吉礼等^[5]的实验结果表明,旋毛虫感染后17 d(11日龄)及其以后的幼虫具有感染力,且随着时间延长感染力也愈强。说明发育阶段对旋毛虫成囊前期幼虫的感染性有较大影响。

本实验在对实验组灌胃时,成囊前期幼虫是按条计数,并未对虫体大小、活动状态做选择。四张标本图中的成囊前期幼虫显然不在同一发育阶段,可能的原因是,这些成囊前期幼虫是由多条雌虫分批产出,日龄不同。消化30 min和消化60 min时收集的成囊前期幼虫,它们的日龄可能呈现多样化,既有日龄较短的,也有日龄稍长的,灌胃的虫体存在并非同一日龄的情况,存在各种日龄虫体组成的可能性,感染性可能存在无、弱、较强等状况。

相对于消化30、60 min而言,90 min的消化时间,自然淘汰了成囊前期幼虫日龄较短的弱小虫体,日龄稍长的虫体得以保留,其感染性可能存在相对较强的状况。

本实验结果显示,消化90 min组和消化60 min组,每克膈肌虫荷均数高于每克鼠体肌肉虫荷均数,说明膈肌的成囊前期幼虫密度高于鼠体其他部位。结果显示,发育阶段和人工消化法的消化时间对成囊前期幼虫的感染性有较大影响。

参考文献:

- [1] 崔晶,王中全.旋毛虫检疫技术及肉类的安全加工方法[J].中国人兽共患病学报,2006,22(9):871-875.
- [2] 李婷婷,徐冬梅,崔晶,等.旋毛虫成囊前期幼虫感染性观察[J].热带病与寄生虫学,2009,7(2):67-69.
- [3] 张澎,蔡欢,闫钰鑫,等.人工消化法与镜检法检验旋毛虫成囊前期幼虫的效果比较[J].河南大学学报(医学版),2016,35(2):100-102.
- [4] 姜鹏,王中全,崔晶,等.肉类中旋毛虫成囊前期幼虫检验方法及其影响因素[J].中国人兽共患病学报,2009,25(2):169-173.
- [5] 周吉礼,胡雪梅,刘春会,等.成囊前旋毛虫幼虫对宿主的感染力与强度[J].中国人兽共患病杂志,2001,17(1):71-72.

[责任编辑 时红]