

## 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

张澎<sup>1</sup> 蔡欢<sup>2</sup> 闫钰鑫<sup>2</sup> 樊航<sup>1</sup> 娄源航<sup>2</sup> 王国英<sup>1</sup>✉

1. 河南大学 医学院, 河南 开封 475004; 2. 河南大学 民生学院, 河南 开封 475004

**摘要:** (目的) 观察镜检法与人工消化法对旋毛虫成囊前期幼虫的检查效果。(方法) 将10只雌性昆明小鼠随机分为2组, 每组5只。1组, 每鼠经口感染50条旋毛虫肌幼虫, 感染18d剖杀; 2组, 每鼠经口感染50条旋毛虫肌幼虫, 感染20d剖杀。镜检法、人工消化法检查膈肌中的幼虫。(结果) 镜检法检查, 1组、2组膈肌幼虫检出率均为100%; 人工消化法检查, 1组、2组膈肌幼虫检出率均为100%。1组膈肌幼虫每克虫荷均数, 人工消化法显著高于镜检法 ( $t = 4.66$ ,  $P < 0.01$ ); 2组膈肌幼虫每克虫荷均数, 人工消化法高于镜检法 ( $t = 3.59$ ,  $P < 0.05$ )。(结论) 旋毛虫成囊前期幼虫检测, 人工消化法优于镜检法。

**关键词:** 旋毛虫; 成囊前期幼虫; 镜检法; 人工消化法

中图分类号: R383.15

文献标志码: A

DOI:10.15991/j.cnki.41-1361/r.2016.02.007

## Comparison of trichinelloscopy and artificial digestion method for the inspection results of *Trichinella spiralis* pre-encapsulated larvae

ZHANG Peng<sup>1</sup>, CAI Huan<sup>2</sup>, YAN Yuxin<sup>2</sup>, FAN Hang<sup>1</sup>, LOU Yuanhang<sup>2</sup>, WANG Guoying<sup>1</sup>✉

1. Medical College, Henan University, Henan Kaifeng 475004, China; 2. Minsheng College, Henan University, Henan Kaifeng 475004, China

**Abstract:** (Objective) To observe the inspection results of trichinelloscopy and artificial digestion method for on *Trichinella spiralis* pre-encapsulated larvae (PEL). (Methods) Ten male Kunming mice were randomly divided into two test groups (with 5 mice per group). Each mouse of test group No.1 was inoculated orally with 50 muscle larvae of *Trichinella spiralis* and was killed after being infected for 18 days. Each mouse of test group No.2 was inoculated orally with 50 muscle larvae of *Trichinella spiralis* and was killed after being infected for 20 days. Trichinelloscopy and artificial digestion method were used to inspect the *Trichinella spiralis* pre-encapsulated larvae in the diaphragm. (Results) Results got through Trichinelloscopy: group No.1, 2, the PEL rates in the diaphragm were 100% and 100% respectively. Results got through artificial digestion method: No.1, 2, the PEL rates in the diaphragm were 100% and 100% respectively. In terms of the mean worm burden of PEL in the diaphragm in test group No.1 and No.2, artificial digestion method was much more efficient than Trichinelloscopy ( $t = 4.66$ ,  $P < 0.01$ ;  $t = 3.59$ ,  $P < 0.05$ ). (Conclusion) For the inspection results of *Trichinella spiralis* pre-encapsulated larvae, artificial digestion method is more efficient than Trichinelloscopy.

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

旋毛形线虫(*Trichinella spiralis*) 简称旋毛虫, 可以寄生于人与多种哺乳动物, 其所致的旋毛虫病是

危害严重的人畜共患病。轻度感染者可无任何临床症状, 严重感染者可致死亡。世界各国均把屠宰动

收稿日期: 2016-02-10

基金项目: 2014年度河南大学大学生创新创业训练计划项目(14NA020); 河南大学教学改革研究项目(2015133)

作者简介: 张澎(1994-), 男, 河南开封人, 本科在读, 从事基础医学的研究与学习。

✉通信作者: 王国英(1962-), 女, 山西运城人, 高级实验师, 从事寄生虫流行病学的教学与科研工作。

物的旋毛虫作为首检、必检和强制性的检疫项目<sup>[1]</sup>。旋毛虫成囊前期幼虫对新宿主已具有感染性<sup>[2]</sup>,因此,旋毛虫病感染与食入成囊期幼虫和成囊前期幼虫均有密切关系。本实验采用人工消化法与镜检法对旋毛虫感染早期的成囊前期幼虫进行检验,并对检验结果进行比较,为旋毛虫病的预防和检测提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 旋毛虫虫种及肌幼虫收集

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。每鼠经口感染 200 条旋毛虫肌幼虫,将感染 35 d 的小鼠引颈处死,去皮毛、头、爪、内脏,剪碎;加入人工消化液(胃蛋白酶 1 g,盐酸 1 mL,蒸馏水 100 mL),置于恒温磁力加热搅拌器上,37℃ 搅拌 2 h;待肌肉被完全消化后经过滤,自然沉淀,无菌生理盐水漂洗 3~4 次后,收集纯净的肌幼虫。

### 1.2 实验分组与动物感染

60 d 龄雌性昆明小鼠,体质量 22~26 g,购自郑州大学动物实验中心。将 10 只小鼠随机分为 2 组,每组 5 只。1 组每鼠经口感染 50 条旋毛虫肌幼虫,感染 18 d 剖杀;2 组每鼠经口感染 50 条旋毛虫肌幼虫,感染 20 d 剖杀。

### 1.3 标本采集

小鼠引颈处死。取完整膈肌,置于电子天平称重,记录;将膈肌剪成小块,置于两张载玻片之间挤压,用线在两端扎紧,制成制片,备检。

### 1.4 成囊前期肌幼虫检查

同一小鼠膈肌标本制成的制片首先用镜检法检查并计数,再通过人工消化法收集幼虫,镜检并计数。

1.4.1 镜检法 将制片置于低倍镜(100×)下,按照从上向下,从左向右的顺序镜检全片并计数。计算每克膈肌虫荷(larvae per gram, lpg)。

1.4.2 人工消化法 膈肌剪碎,加入人工消化液(1:3 000 活性胃蛋白酶 1 g,盐酸 1 mL,蒸馏水 100 mL),置于恒温磁力加热搅拌器上,37℃ 搅拌

1 h;过滤、自然沉淀 30 min,弃上清,加无菌生理盐水,自然沉淀 15 min,漂洗 3 次,收集纯净的肌幼虫;镜检并计数,计算每克膈肌虫荷。

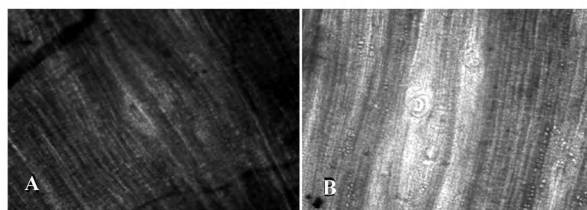
### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行数据处理,两组间差异比较采用 *t* 检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 镜检法检验结果

1、2 组小鼠膈肌压片镜检,均检出幼虫,检出率均为 100%,见表 1。小鼠感染旋毛虫 18 d、20 d 膈肌压片镜检标本,见图 1。

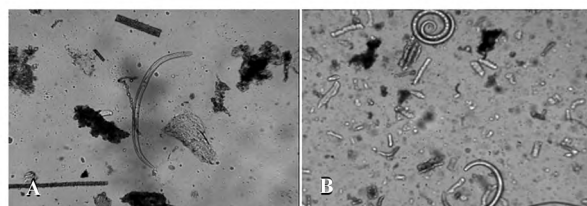


A. 小鼠感染 18 d (100); B. 小鼠感染 20 d (100)

图 1 膈肌压片镜检标本

### 2.2 人工消化法检验结果

1、2 组小鼠膈肌人工消化后镜检,均检出幼虫,检出率均为 100%,见表 1。小鼠感染旋毛虫 18 d、20 d 膈肌人工消化后幼虫标本,见图 2。



A. 小鼠感染 18 d (100); B. 小鼠感染 20 d (100)

膈肌人工消化后幼虫标本

### 2.3 镜检法与人工消化法结果比较

1 组,两种方法比较膈肌每克虫荷均数差异有非常显著性( $t = 4.66, P < 0.01$ );2 组,两种方法比较膈肌每克虫荷均数差异有显著性( $t = 3.59, P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 感染旋毛虫各组小鼠检查结果( $\bar{x} \pm s$ )

实验组	实验鼠数	阳性鼠数	膈肌镜检		膈肌人工消化	
			阳性率/%	虫荷/lpg	阳性率/%	虫荷/lpg
1 组	5	5	100	29.29±16.94	100	169.83±81.36
2 组	5	5	100	171.75±62.53	100	476.12±222.29

### 3 讨论

旋毛虫的检测方法主要有镜检法、消化法和血清学检测<sup>[3]</sup>。镜检法、消化法通过样本检测病原,属于直接法,是旋毛虫感染的确诊依据。镜检法是将小块肌肉置于两张载玻片之间挤压(或两端用线扎紧)在光镜低倍镜下检查,国内常用此种方法;人工消化法(Artificial digestion method,简称消化法)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<sup>[4]</sup>。

旋毛虫成囊期幼虫形态典型,成熟幼虫卷曲于横纹肌内的囊包中,囊包可呈梭形、椭圆形或类圆形<sup>[5]</sup>。采用镜检法,在光镜低倍镜下即能观察到成囊期幼虫的囊包及囊内幼虫。通过人工消化法,将成囊期幼虫从囊包中释放出来,可收集脱囊幼虫。光镜低倍镜下,将幼虫置于4℃时,镜下观察,虫体蜷曲呈螺旋状;将幼虫置于37℃时,镜下观察,虫体呈屈曲样运动,运动活泼<sup>[6]</sup>。镜检法和人工消化法用于成囊期幼虫的检测效果较好,本实验的目的是观察这两种方法检测成囊前期幼虫的效果,并对检验结果进行比较。

通过镜检法、人工消化法实验结果显示,小鼠感染18 d、20 d的1组、2组实验鼠均检测到虫体。小鼠感染旋毛虫18 d,人工消化法收集幼虫的每克虫荷均数显著高于膈肌压片镜检的每克虫荷均数;小鼠感染旋毛虫20 d,人工消化法收集幼虫的每克虫荷均数高于膈肌压片镜检的每克虫荷均数。结果说明,对旋毛虫感染18 d、20 d的成囊前期幼虫的检测,人工消化法的检出率高于镜检法。

原因可能为,小鼠感染旋毛虫膈肌压片镜检标本,低倍镜(100×)下观察,旋毛虫感染18 d、20 d,幼

虫尚未形成囊包,较大的幼虫可看到虫体大体轮廓,与周围组织可进行辨识,用镜检法易检;而较小的幼虫,由于虫体太小,与周围肌纤维没有明显区别,无法辨识。因此,在低倍镜(100×)下镜检法易漏检。通过人工消化法,成囊前期较大的幼虫体及较小的幼虫体均能被分离出来,检出率较高。

本实验结果只是为旋毛虫病的预防和检测提供基本的实验依据。文献<sup>[7]</sup>报道,人工消化法对成囊期幼虫的检测受多种因素的影响,如样本肌肉碎块的大小、消化时间、沉降温度和沉降时间等,这些因素对成囊前期幼虫的检测均有一定的影响,还需要进一步探讨和研究。

#### 参考文献:

- [1] 柏亚铎,韩春来,蒲静,等.旋毛虫检验检疫技术研究进展[J].中国动物检疫,2008,25(12):60-62.
- [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] Gottstein B, Pozio E, Nockler K. Epidemiology, diagnosis, treatment and control of Trichinellosis [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2009, 22(1): 127-145.
- [4] 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.
- [5] 杨丁,皮本伟,牛利娜,等.一种旋毛虫肌幼虫囊包标本的单染制作方法[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2012,30(6):498-499.
- [6] 王国英,都景芳,顿国庆,等.人工消化法检验旋毛虫效果及其对肌幼虫的影响[J].中国血吸虫病防治杂志,2011,23(2):211-213.
- [7] 吴秀萍,王迪,李庶东,等.消化法检验旋毛虫病最适条件的筛选[J].中国动物检疫,2015,32(3):62-65,69.

[责任编辑 时红]