

人体大片形吸虫虫卵孵育特点

方文,陈凤,王尚位,刘宏坤,李云萍

摘要:目的 了解人体大片形吸虫虫卵的孵育特点。**方法** 收取患者服药前1~4 d的全量粪便,采用尼龙袋集卵法收集虫卵。按不同的保存温度和保存时间将虫卵分组孵育:A组,新鲜粪便;B组,4℃下保存10 d、20 d和88 d;C组,室温20~21℃下保存10 d。虫卵置于28℃恒温水浴箱中孵化。**结果** 共收取3位患者的10份粪便。各组虫卵在孵育后第11~16 d孵出毛蚴。**结论** 无论含虫卵的粪便是新鲜,还是保存于4℃下,或是室温下,均不影响其孵化;但虫卵必须在有水的环境及适宜的温度下才能顺利发育并最终孵化出毛蚴。

关键词:大片形吸虫;虫卵;孵育特点

中图分类号:R383.2

文献标识码:C

文章编号:1002-2694(2015)04-0389-02

大片形吸虫虫卵孵化特点已有报道^[1-3],但其虫卵均来自于牛源大片形吸虫的成虫,而人体粪便中大片形吸虫虫卵的孵化特点尚未见报道。大理宾川县于2011年11月至2012年2月爆发26例人体大片形吸虫感染^[4],我们收集其中3例患者的粪便,进行虫卵孵化实验观察,结果如下。

1 材料和方法

1.1 粪便收集 收取大片形吸虫病患者服药前1~4 d的全量粪便,采用尼龙袋集卵法^[5]收集虫卵。

1.2 虫卵孵化 按尼龙袋集卵法收集虫卵,然后将含虫卵的沉渣分次倒入培养皿中,在体视显微镜下吸出虫卵。将虫卵放入小烧杯中,加入去氯水,置恒温水浴箱中孵化,温度定为28℃。自孵化第2 d开始,每天定时吸出虫卵观察发育情况。

1.3 分组 按照粪便及虫卵保存的方法和时间不同分为3个组:A组为新鲜粪便收取后,当日淘洗、吸出虫卵并孵化;B组为粪便收取后,先保存于4℃下7 d,然后淘洗,留取粪渣,再置4℃下保存10 d、20 d和88 d后孵育;C组为粪便收取后,放置于室温下10 d,然后淘洗、吸出虫卵、孵育。

2 结果

收取3例患者共10份粪便,其中1号患者2份,2、3号患者各4份。每日随粪便排出的虫卵数量不一,多的约500个,少的约40个,平均为153个。

3例患者虫卵大小分别为:1号患者(152~161.5) μm×(76~95) μm,平均157.94 μm×86.69 μm;2号患者(152~161.6) μm×(61.75~85.5) μm,平均159.13 μm×72.44 μm;3号患者

(157~172) μm×(66~86) μm,平均163 μm×76 μm。

A组虫卵,收取3号患者当天排出的粪便,共2份大便,经淘洗、吸取虫卵后,当日置于28℃水浴箱中孵化。孵育第3 d可见明显的卵细胞分裂现象,第4 d已具毛蚴雏形,第9 d形成毛蚴,卵内毛蚴的乳突、纤毛、眼点等清晰可见,其眼点呈黑色圆点或x形,活动明显但缓慢。孵育后第12 d,取出孵化瓶置阳光下3 min,毛蚴孵出。

B组虫卵,为1、2号患者的,共6份大便,分8次孵育。孵育前将虫卵吸出置显微镜下观察,均未发现虫卵有发育的迹象。存于4℃下10 d的虫卵为1号患者的1份粪便,孵育第14 d,从水浴箱中取出,见光即有毛蚴孵出;存于4℃下20 d的虫卵有4份,分别是:1号患者1份,2号患者3份,2号患者其中的1份虫卵分两次孵育,间隔2 d。结果1号患者虫卵于第12 d孵化出毛蚴(见光即出)。2号患者的2份各在第11 d和13 d毛蚴孵出;2号患者的同一份、分2次孵育的虫卵则于第14 d和16 d见光后3~6 min毛蚴孵出。置4℃下保存88 d的是2号患者的两份虫卵,其中1份与保存于4℃下20 d的虫卵(于第13 d孵出毛蚴)为同一份,两份虫卵均于第15 d孵出毛蚴:从水浴箱中取出置阳光下6 min毛蚴孵出,28 min后孵出量逐渐增多,至38 min达高峰,再过40 min后逐渐减少直至不再孵出。

C组虫卵,3号患者的两份大便,先在室温(20~21℃)下放置10 d,然后淘洗,吸出虫卵,镜下未观察到虫卵有发育迹象,遂将虫卵置水浴箱中孵育,第13 d取出放在阳光下4~6 min,即有毛蚴孵出。

3 讨论

本实验观察了在恒温孵育的条件下不同保存环境和不同保存时间,人体大片形吸虫卵的发育情况。

结果显示,虫卵保存于4℃下10d、20d和3个月,均能正常孵化出毛蚴;不管含虫卵的粪便是新鲜,还是保存于4℃下,或是室温下,均不影响其孵化。文献报道^[1,3],牛源大片形吸虫虫卵在25~28℃需15~17d孵化出毛蚴,在25~35℃需10~14d。本实验只做了在恒温28℃下人体大片形吸虫虫卵的发育情况观察,即恒温28℃下,孵出毛蚴的时间为11~16d,而相对集中则是第12d和第13d。表明人体和牛体大片形吸虫虫卵孵化所需的温度和时间条件是相似的。

大片形吸虫虫卵在28℃恒温水浴箱中孵化,当卵内毛蚴发育成熟,从水浴箱中取出见光0~6min,即有毛蚴孵出,因此,我们认为大片形吸虫毛蚴有较强的趋光性。另外,毛蚴成熟后,如果不将孵化瓶从水浴箱中取出见光,即毛蚴成熟后仍放在水浴箱中避光,则毛蚴不会孵化而出。这两点均与王冬英^[2]观察的结果有异。

本实验结果表明,虫卵在低温下可长时间保存而不失活性;虫卵在粪便中无论以何种方式保存都不能发育,虫卵必须在有水的环境及适宜的温度下才能顺利发育并最终孵化出毛蚴。

参考文献:

- [1] Lin YG, Sun YL, Chen CR, et al. Studies on the development of *Fasciola Gigantica* cobbolt in its snail host and the epidemiology

of Fascioliasis of cattle in Tsinchiang region, Fukien[J]. Acta Zoologica Sinica, 1974, 20(4): 378-390. (in Chinese)

林宇光,孙毓兰,陈存瑞,等.大片形吸虫的发育史和二种片形吸虫的流行学研究[J].动物学报,1974,20(4):378-390.

- [2] Wan DY. The epidemiology of Guangxi, life cycle in intermediate host and taxonomy of *Fasciola* spp[D]. Nanning: Guangxi University, 2006. (in Chinese)

王冬英.广西片形吸虫流行情况,在中间宿主体内的发育与分类学的初步研究[D].广西大学,2006.

- [3] Ma L. Research on the cultivation of *Fasciola* metacercariae and kinetics of specific antibodies in rabbits experimentally infected with *Fasciola*[D]. Nanning: Guangxi University, 2002. (in Chinese)

马丽.片形吸虫囊蚴培养及感染家兔后特异性抗体的动力学研究[D].广西大学,2002.

- [4] Chen MX, Ai L, Xu XN, et al. Twenty six cases of human *Fasciola giganaca* infection in Dali, Yunnan province[J]. Chin J Endemol, 2012, 31(6): 595-598. (in Chinese)

陈木新,艾琳,许学年,等.云南省大理州大片形吸虫群体感染26例分析[J].中国地方病学杂志,2012,31(6):595-598.

- [5] Chen PH, Kong DF, Li HZ, et al. Experimental technology of human parasitology[M]. Beijing: Science Press, 1988: 119-120. (in Chinese)

陈佩惠,孔德芳,李慧珠,等.人体寄生虫学实验技术[M].北京:科学出版社,1988, 119-120.

收稿日期:2014-07-30;修回日期:2014-11-03

(上接第379页)

- [16] Cifuentes JO, Lee H, Yoder JD, et al. Structures of the procapsid and mature virion of Enterovirus 71 strain 1095[J]. J Virol, 2013, 87(13): 7637-7645. DOI: 10.1128/Jvi.03519-12

- [17] Cao YG, Li ZH, Yue YY, et al. Construction and evaluation of a novel *Bacillus subtilis* spores-based enterovirus 71 vaccine[J]. J Appl Biomed, 2013, 11(2): 105-113. DOI: 10.2478/v10136-012-0032-9

- [18] Chen HL, Huang JY, Chu TW, et al. Expression of VP1 protein in the milk of transgenic mice: A potential oral vaccine protects against enterovirus 71 infection[J]. Vaccine, 2008, 26 (23): 2882-2889. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.03.041

- [19] Kiener TK, Premanand B, Kwang J. Immune responses to baculovirus-displayed enterovirus 71 VP1 antigen[J]. Expert Rev Vaccines, 2013, 12(4): 357-364. DOI: 10.1586/Erv.13.18

- [20] Meng T, Kolpe AB, Kiener TK, et al. Display of VP1 on the surface of baculovirus and its immunogenicity against heterologous human Enterovirus 71 strains in mice[J]. PLoS One, 2011, 6 (7): e21757-e21757. DOI: 10.1371/journal.pone.0021757

- [21] Sivasamugham LA, Cardosa MJ, Tan WS, et al. Recombinant Newcastle disease virus capsids displaying enterovirus 71 VP1 fragment induce a strong immune response in rabbits[J]. J Med Virol, 2006, 78(8): 1096-1104. DOI: 10.1002/Jmv.20668

- [22] Guang D, Foo W, Alonso S, et al. Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of Enterovirus 71 using synthetic peptides[J]. Virus Res, 2007, 125(1): 61-68. DOI: 10.1016/j.virusres.2006.12.005

- [23] Lim XF, Jia Q, Chow VTK, et al. Characterization of a novel monoclonal antibody reactive against the N-terminal region of Enterovirus 71 VP1 capsid protein[J]. J Virologic Methods, 2013, 188(1-2): 76-82. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.11.038

- [24] Lim XF, Jia Q, Khong WX, et al. Characterization of an isotype-dependent monoclonal antibody against linear neutralizing epitope effective for prophylaxis of enterovirus 71 infection[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29751.

- [25] Chen HF, Chang MH, Chiang BL, et al. Oral immunization of mice using transgenic tomato fruit expressing VP1 protein from enterovirus 71[J]. Vaccine, 2006, 24(15): 2944-2951. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.12.047

- [26] Zhu F, Xu W, Xia J, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China[J]. N Engl J Med, 2014, 370(9): 818-828.

- [27] Li R, Liu L, Mo Z, et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children[J]. N Engl J Med, 2014, 370(9): 829-837. DOI: 10.1056/NEJMoa1303224

收稿日期:2014-08-31;修回日期:2015-01-30