旋毛虫三个分离株对小鼠感染性与对 阿苯达唑敏感性的初步观察*

陈小宁 王昳星 王 峰 齐延伟 纪正春 陈佩惠 王凤云 黄 松

(承德医学院 承德 067000)

(首都医科大学 北京 100054)

摘要:比较旋毛虫三个分离株对小鼠感染性和对阿苯达唑的敏感性。从幼虫囊包感染鼠肌肉的平均数量的差异 表明美国株(AM)对昆明株小鼠最易感 其次为黑龙江猪株(HP)黑龙江犬株(HD)的感染性最低 三株的感染性有明显不同。从阿苯达唑损伤幼虫囊包的数量(%)差异 显示美国株对该药物最敏感 囊包幼虫的受损率(%)最高 黑龙江猪株对阿苯达唑的敏感性最低 提示旋毛虫对药物的敏感性差异 可作为其虫种或虫株的区分标准之一。

关键词 旋毛虫 美国株(AM) :黑龙江猪株(HP) :黑龙江犬株(HD) 敏感性中图分类号 :R383.1⁺5 文献标识码 :A 文章编号 :0250-3263(2000) 02-04-03

旋毛虫(Trichinella)是人兽共患的重要寄生虫,分布地区广泛,宿主种类繁多,所以分类较复杂。近年国内外学者应用生物学、生物化学及分子生物学等方法,对不同地区和宿主的旋毛虫分类地位进行了富有成效的研究。本文从旋毛虫对宿主的感染性和对药物敏感性方面探讨不同分离株旋毛虫的分类地位。

1 材料和方法

1.1 材 料 旋毛虫分离株由美国芝加哥大学提供 美国株) 黑龙江猪株(黑猪株)和黑龙

江犬株(黑犬株)系东北农业大学动物医学系寄生虫学教研室赠送。

实验动物为昆明株小鼠,体重25~30g。

阿苯达唑(丙硫咪唑)为国内治疗旋毛虫病的首选药物 纯粉(批号:RCM-397-91),由天津史克公司提供;N-N 二甲基甲酰胺,助溶剂,购自北京新光化学试剂厂(批号:910322)。

^{*} 河北省教委科研基金资助 No. 96104;

第一作者介绍:陈小宁(1954~),女,承德人,学士,承德医学院教授 从事寄生虫学研究:

收稿日期:1999-06-04.修回日期:1999-10-08

1.2 方 法

1.2.1 旋毛虫幼虫的收集与感染小鼠 参照 牛春^{1]}的实验方法,每份品株按每只小鼠经口 灌注接种 200 条幼虫。30 天后将小鼠随机分为对照组和用药组。

1.2.2 药物配制 阿苯达唑纯粉用 N-N 二甲基甲酰胺助溶剂配置。用药组小鼠每天按 30mg/kg 药量经口灌注 5 天或 7 天一疗程。

1.2.3 幼虫囊包的观察 取定量(0.05g)受染小鼠的隔肌、腿肌、腹肌 制成玻片压片标本 保存于 70%酒精中 以供测量幼虫囊包的大小及计算受染幼虫囊包的数量 ;部分压片经明矾卡红染色制片以观察幼虫囊包的形态结构。

2 结 果

2.1 三个分离株对小鼠感染情况

2.1.1 幼虫囊包感染性的比较 对感染美国株的 6 只小鼠、感染黑猪株和黑犬株各 3 只小鼠 分别计算其隔肌、腹肌和腿肌的压片中所寄生幼虫囊包的平均数量和总数量。如表 1 所示 幼虫囊包感染最多的部位是隔肌 与前人记录相同²]。比较三株的幼虫囊包总平均数 ,表明美国株最易感 ,黑猪株次之 ,黑犬株的感染性最低 ,与孙庆显等 ³ 的报告一致。

表 1 三株旋毛虫对小鼠感染性的比较

幼虫受	幼虫囊包平均数(个/0.05g 鼠肌)				
染部位	AM	HP	HD		
隔肌	202.16	89.00	45.00		
腿肌	39.00	77.66	23.00		
腹肌	51.13	15.00	41.00		
合计	292.29	181.66	109.00		

2.1.2 幼虫囊包大小的比较 从受染三株旋毛虫小鼠的隔肌、腹肌及腿肌的压片中 随机测量 30 个左右幼虫囊包的长、宽度 ,计算其平均数及囊包总面积平均数 ,用单因素方差分析法作统计学处理 ,结果如表 2 ,可见黑猪株与黑犬株的囊包总面积无显著性差异(P>0.05),而与美国株的总面积相比则均有显著性差异(P<0.05)

表 2 三株旋毛虫幼虫囊包大小的比较(平均数)

虫株	测量 囊包数	长度(mm)	宽度(mm)	总面积(mm²)
AM	27	0.29 ± 0.063	$\textbf{0.13} \pm \textbf{0.028}$	$\textbf{2.29} \pm \textbf{0.826}$
HP	29	0.24 ± 0.047	0.12 ± 0.021	$\textbf{2.39} \pm \textbf{0.662}^*$
HD	30	0.25 ± 0.046	$^{\circ}$ 0.12 \pm 0.014	$\textbf{2.47} \pm \textbf{0.424}^{ *}$
				-

* P<0.05(系 HP、HD 分别与 AM 比较)

2.2 阿苯达唑对三株幼虫囊包的作用 光镜下观察阿苯达唑作用的三株幼虫囊包的染色标本形态结构的变化。正常的幼虫囊包呈现虫体形态结构完整,半透明,囊壁无损,幼虫弯曲自然,用药组则表现有不同程度受损,囊包外形不规则,幼虫常出现空泡,虫体变形,有的虫体断裂,甚至仅存残骸。比较药物作用5天和7天的幼虫囊包受损的数量(%),见表3。显示美国株对阿苯达唑敏感性最高,黑猪株的敏感性最低;三株旋毛虫对阿苯达唑的敏感程度有明显不同,但对照组的幼虫囊包形态构造均完整无损。

表 3 受药物损伤的幼虫囊包的数量(%)比较

虫株	5天		7天	
出休	受损囊包数	受损幼虫数	受损囊包数	受损幼虫数
AM	62.40	54.76	93.60	85.30
HP	17.50	9.10	45.50	57.50
HD	41.30	24.30	89.70	75.40

本实验尚对美国株感染的小鼠,在用药 5 天(4 只鼠)和 7 天(5 只鼠)分别取等量隔肌作压片,计算所含幼虫囊包的平均数。结果为 5 天的幼虫囊包平均数是 1317.5(5270幼虫/4 只鼠),7 天为 694.6(3473/5)。表明随药物作用时间增长,幼虫囊包的损伤更严重,与上述表 3 的结果一致。

3 讨论

90 年代初,寄生虫学工作者曾从不同领域对旋毛虫分类进行较详细而系统的研究,取得较大进展。特别是 Rosa 等 41 和 Pozio 等 51 ,通过分子生物学和生物学方面的研究,提出将所有旋毛虫分为 8 个种,其中 Ts(T. spiralis)宿主为家畜型(猪体)。 Tn(T. nativa)为森林哺

乳动物型。国内也有陆续报道,王虹等 6]和何忠平等 7]先后应用限制性酶切片段长度多态性(RFLP)和随机扩增的 DNA 多态性(RAPD)技术,对我国不同地区和宿主的旋毛虫分离株进行初步分析提出,我国旋毛虫(Trichinellaspiralis)分为两群,一群是猪体旋毛虫,另一群是犬、猫体旋毛虫。近年,许汴利等 8]和诸欣平等 9]以旋毛虫的国际标准株 Ts、Tn 和 Tne(T. nelsoni)等虫株,用 RAPD 或 RFLP 方法对我国不同地区和宿主的旋毛虫虫株进行比较与鉴定,认为我国的猪株系国际标准株 Ts,犬株系 Tn。本研究结果进一步证实猪株与犬株的差异。

此外,从囊包总面积的比较(表 2)表示美国株与黑犬株均有显著性差异,而黑猪株和黑犬株无显著性差异(P>0.05),可能由于测量的幼虫囊包数量较少(30个左右),但也说明形态学研究方法不如分子生物学方法的特异性高。

致谢 首都医科大学刘学宗教授协助统计学处理。张德副教授从美国赠送美国株旋毛虫虫株 特此致谢。

参考文献

- [1] 牛 春,何忠平,王凤云等.我国猪、猫旋毛虫繁殖力指数的初步研究.动物学杂志,1997,32(4):1~2.
- [2] 陈心陶. 人体寄生虫学. 北京:人民卫生出版社, 1960, 391
- [3] 孙庆显 周源昌 李淑声.哈尔滨地区猪狗旋毛虫对大小鼠的感染性研究.中国兽医杂志 1992 18(11)3~4.
- [4] La. Rosa G. E. Pozio P. Rossi et al. Allozyme analysis of Trichinella isolates from various host species and geographical regions. J. Pararsitology ,1992 ,78(4):641 ~ 646.
- [5] Pozio E. G. La Rosa P. Rossi et al. Biological charact erization of Trichinella isolates from various host species and geographical regions. J. Parasitolgy 1992 78(4) 647~653.
- [6] 王 虹 涨月清,吴赵永等.对我国五株旋毛虫基因组 DNA限制性片段长度多态性的研究.中国人兽共患病 杂志,1994,10(5).9~11.
- [7] 何忠平,陈佩惠,谢 毅等. 我国7株旋毛虫基因组 DNA的研究. 寄生虫与医学昆虫学报,1995,2(4):248 ~256.
- [8] 许汴利, 崔兆麟, 张玉林等. 我国首次发现乡土旋毛虫的研究报告. 中国寄生虫与寄生虫病杂志, 1997, 15(3)257~262.
- [9] 诸欣平,刘明远,王凤云等.用 DNA 限制性片段长度多态性鉴定中国旋毛虫3个分离株.寄生虫与医学昆虫学报,1998.5(2):101~105.