

华支睾吸虫囊蚴的保存实验

李秉正 曹颖林 王思荣 刘铁联

(中国医科大学)

寻求适宜的保存液,为离体华支睾吸虫囊蚴创造较长时间的存活条件,对进行华支睾吸虫病的实验性研究和提供教学用活标本都是十分必要的。我们从1980年11月进行了这项实验研究。

材料和方法

将从麦穗鱼体内分离出的新鲜华支睾吸虫囊蚴分别放在阿尔塞弗溶液(Alsever's 溶液)¹⁾和复方氯化钠溶液²⁾中,置于4—5℃冰箱中保存。定期从各保存液中分别取出25个囊蚴,在

40℃温箱中,先用人工胃液³⁾孵化1小时,后移入人工肠液⁴⁾中孵化2小时,以脱囊孵出活动的后尾蚴作为囊蚴在保存液中存活的指标。同时从各保存液中再分别取出30个囊蚴,经口感染家兔,经一定时间解剖,检查成虫,计算在家兔体内的成活率。

实验结果

一、囊蚴保存

1. 阿尔塞弗溶液 在 Alsever's 溶液中保存15—210天之各批囊蚴,在人工胃液中孵化

表1 华支睾吸虫囊蚴在两种保存液中的存活时间

保存天数	阿尔塞弗溶液			复方氯化钠溶液		
	脱囊数 (%)			脱囊数 (%)		
	1小时	2小时	3小时	1小时	2小时	3小时
15	0	24(96)	25(100)	0	23(92)	24(96)
30	0	23(92)	24(96)	0	22(88)	22(88)
45	0	23(92)	25(100)	0	25(100)	25(100)
60	0	25(100)	25(100)	0	21(84)	25(100)
75	0	23(92)	23(92)	4(16)	20(80)	20(80)
90	0	22(88)	22(88)	0	17(68)	17(68)
105	0	25(100)	25(100)	24(96)	24(96)	24(96)
120	0	23(92)	23(92)	25(100)	—	—
135	0	24(96)	24(96)			
150	0	24(96)	24(96)			
180	0	22(88)	22(88)			
210	0	20(80)	22(80)			
240	0	7(28)	7(28)			
270	0	0(0)	2(8)			

1小时无脱囊现象,在人工肠液中孵化2小时脱囊率达80—100%。保存至240天时脱囊率明显降低,为28%,后尾蚴活动力减弱,排泄囊颜色变浅,有的后尾蚴排泄囊内色素颗粒消失。保存至270天时,大部分囊蚴内部构造混浊不清,仅有8%孵出后尾蚴,后尾蚴活动力极弱,

- 1) 阿尔塞弗溶液 葡萄糖2.05克;枸橼酸钠0.80克;氯化钠0.42克;枸橼酸0.055克;蒸馏水100毫升。
- 2) 复方氯化钠溶液 氯化钠0.85克;氯化钾0.03克;氯化钙0.033克;蒸馏水100毫升。
- 3) 人工胃液 胃蛋白酶1.0克;盐酸0.4毫升;蒸馏水100毫升。
- 4) 人工肠液 猪胆汁粉1.0克;胰蛋白酶1.0克;氯化钠0.4克;碳酸钠0.2克;蒸馏水100毫升。

排泄囊中色素颗粒大部分消失(见表1)。

2. 复方氯化钠溶液 在复方氯化钠溶液中保存15—120天之各批囊蚴的孵化率,除第90天者外,均在80—100%之间。但保存至90天以后之囊蚴,外形变长或不规整,孵出之后尾蚴活动力也开始减弱,有的排泄囊颜色变浅,甚或色素颗粒消失。保存至135天之囊蚴全部自然脱囊(见表1),后尾蚴大部分不活动,其余仅有微弱活动。

二、感染家兔

1. 在阿尔塞弗溶液中保存15天、30天、75天、90天、105天、120天、135天、150天、180天、210天之囊蚴,经口感染家兔,经一定时间(30—114天)解剖,获得成虫数最少为4只,最多为12只(13.3—40.0%),保存至240天之囊蚴接种家兔仅获1只成虫(3.3%),保存至270天之囊蚴接种家兔未获成虫。保存45天和60天之囊蚴接种家兔,因感染后不久死亡,未获阳性结果(见表2)。

表2 保存不同时间的华支睾吸虫囊蚴接种家兔后之成活率

保存天数	阿尔塞弗溶液	复方氯化钠溶液
	成虫数(%)	成虫数(%)
15	9(30.0)	12(40.0)
30	5(16.7)	—
45	—	—
60	—	0(0)
75	12(40.0)	0(0)
90	5(16.7)	0(0)
105	9(30.0)	0(0)
120	10(33.3)	0(0)
135	11(36.7)	
150	5(16.7)	
180	4(13.3)	
210	4(13.3)	
240	1(3.3)	
270	0(0)	

“—”,接种后家兔死亡。

2. 在复方氯化钠溶液中保存之囊蚴,只有保存至15天者接种给家兔获得成虫12只(40.0%),其余直至保存到120天之各批囊蚴接种家兔,皆为阴性,保存至135天之囊蚴,因自然脱囊,未进行接种(见表2)。

讨论与小结

用阿尔塞弗溶液保存华支睾吸虫囊蚴,其中80%存活7个月,28%存活8个月,8%达9个月之久。将保存半个月至7个月(15—210天)之各批囊蚴接种家兔后,其成活率最低为13.3%,最高为40.0%,保存至8个月(240天)之囊蚴尚有3.3%在家兔体内发育为成虫,用此液保存囊蚴不仅存活时间较长,而且接种家兔成活率也较高。可惜,当实验进行到8个月以后,时逢盛夏季节,由于冰箱性能欠佳,温度上升到6—8℃,随着温度上升,囊蚴代谢增强,排泄囊的颜色明显变浅,色素颗粒消失加快,若能排除温度变化的影响,则囊蚴的存活时间将会更长些。而用复方氯化钠溶液保存华支睾吸虫囊蚴至3个月时,外形开始变长或不规整,且孵出之后尾蚴的活动力也开始减弱,保存至4个半月时全部自然脱囊。同时,除了保存至15天的一批囊蚴接种家兔获成虫12只外,其余保存至30天以后之各批囊蚴接种家兔均未获成虫。

由此可见,阿尔塞弗溶液保存华支睾吸虫囊蚴的存活时间远较保存于复方氯化钠溶液中者为长。这种差异可能是因为后者缺少囊蚴生存所需的必要营养成分,如葡萄糖等,至于在复方氯化钠溶液中,囊蚴为何变形,以致最后全部自然脱囊?尚有待进一步探讨。因此,可以认为阿尔塞弗溶液是保存华支睾吸虫囊蚴的一种较好的保存液,用它保存的华支睾吸虫囊蚴可应用于有关的科研和教学中去。