



野生树鼩肠道蠕虫感染调查及分析

孙晓梅, 仝品芬, 匡德宣, 陈玲霞, 王文广, 陆彩霞, 代解杰

(中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心,
云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118)

【摘要】 目的 调查野生树鼩(*Tupaia belangeri Chinensis*) 感染肠道蠕虫的主要种类并进行鉴定, 为今后树鼩寄生虫检测提供形态学参考, 为实验树鼩寄生虫控制提供依据。**方法** 采集 203 只野外来源的树鼩新鲜粪便, 虫卵采用常规粪便直接涂片以及孵化后显微镜观察; 绦虫采用压片、固定染色, 以及线虫经透明后体视镜观察, 虫卵与成虫相对应鉴定。**结果** 野生树鼩肠道蠕虫的总感染率为 75.86%, 主要感染种类有 3 种, 经鉴定为长膜壳绦虫、奇口线虫和粪类圆线虫, 感染率分别为 27.67%、30.06% 和 51.52%。三种蠕虫的混合感染率为 4.55%。两种线虫虫卵在树鼩粪便中多为含胚胎形态。**结论** 野生树鼩肠道蠕虫的感染率较高。对野外引入的新种源必须隔离检疫, 进行针对性的药物治疗, 才能有效地控制肠道寄生虫病的传播。

【关键词】 树鼩; 肠道蠕虫; 长膜壳绦虫; 奇口线虫; 粪类圆线虫

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 02-0015-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.002.004

Survey of intestinal helminth infection in wild tree shrews (*Tupaia belangeri Chinensis*)

SUN Xiao-mei, TONG Pin-fen, KUANG De-xuan, CHEN Ling-xia, WANG Wen-guang, LU Cai-xia, DAI Jie-jie
(Center of Tree shrews Germplasm Resources, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and
Peking Union Medical College, Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe
Infection Diseases, Kunming 650118, China)

【Abstract】 Objective To analyze and understand the epidemic situation of intestinal helminth infection in wild tree shrews (*Tupaia belangeri Chinensis*), and to provide useful reference and support for prevention and treatment of parasitic infection in tree shrews. **Methods** 203 wild tree shrews were used in this study. Stool ova in the smear from fresh feces and after incubation were observed and identified by routine microscopic examination. Cestodes were observed in press slide after fixation and staining, and nematodes were observed under a stereoscope after clearing. The ova were identified with corresponding adult parasites. **Results** In this survey, we found the total prevalence rate of intestinal helminthes in this wild tree shrew population was 75.86%, mainly including three kinds of important parasites, namely, *Hymenolepis diminuta* 27.67%, *Rictularia* sp. 30.06%, and *Strongyloides stercoralis* 51.52%, respectively. Mixed infection rate of the three species was 4.55%. For *Rictularia* sp. and *Strongyloides stercoralis*, embryonated eggs were often observed in their fresh feces. **Conclusions** Intestinal helminth infection rate is rather high in the wild tree shrews.

[基金项目] 国家科技支撑计划 (2011BAI15B01-21), 云南省科技创新平台建设 (2013DA002)。

[作者简介] 孙晓梅 (1963 -), 女, 研究方向: 实验动物病原学研究。E-mail: sxm@imbcams.com.cn。

[通讯作者] 代解杰 (1961 -), 男, 研究员。E-mail: djj@imbcams.com.cn。

Quarantine inspection is necessary for new intake. Different control measures and surveillance should be taken to control the dissemination of intestinal helminth infection in tree shrews.

【Key words】 Tree shrews; Intestinal helminthes; *Hymenolepis diminuta*; *Rictularia* sp.; *Strongyloides stercoralis*

寄生虫感染不仅危害实验动物健康,对实验结果造成影响,甚至引起人兽共患疾病的传播,在使用实验动物开展生命科学研究过程中必须重视对实验动物寄生虫的控制。近年来,对树鼩(*tree shrew, Tupaia belangeri*)的基因组研究发现,树鼩在神经、代谢和免疫系统等方面与人类具有较高的同源性,特别适合于病毒免疫学、神经生物学和代谢性疾病研究,受到越来越多的科研工作者重视^[1]。作为我国特有的实验动物新品种,开展树鼩标准化种群的饲养繁殖和质量的控制是重要的基础性工作。鉴于昆明郊区野生树鼩种群数量较为丰富,目前已经成为实验树鼩繁育的种源补充来源地,而对此的研究报道又非常有限。因此,清晰了解野生树鼩自身携带的寄生虫感染谱,有利于开展实验树鼩寄生虫质量控制研究和标准化种群建立。

1 材料和方法

1.1 动物

203 只野生树鼩来源于昆明西郊,引入后饲养于隔离观察室进行检疫。

1.2 设备及材料

Eclipse 80i Nikon 显微镜, SMZ1500 Nikon 体视镜,美国产 Forma 恒温培养箱;史克肠虫清,卡红,盐酸,乙醇,甘油,载玻片,牙签,试管。

1.3 方法

1.3.1 粪便检查:抓取并保定树鼩,多数树鼩在抓取过程中因紧张而主动排出粪便,对无粪便者可轻轻按摩其腹部使其排便。每只采取豌豆粒大小新鲜粪便标本,置于载玻片上,加生理盐水搅匀涂片,厚度以能透过涂片看清书上字迹为宜。直接显微镜下检查寄生虫虫卵。

1.3.2 幼虫培养:方法同钩蚴培养法^[2]。培养 1 周后体视镜可观察到试管底部有游动的幼虫。用吸管插入试管底部小心地吸出,置载玻片上。

1.3.3 成虫制片:对尸解获得的绦虫进行制片、鉴定。绦虫分别截取头颈部、成节和孕节三段进行压

片;采用卡红染色,制片步骤为先脱水,再染色,然后封片,镜检;卡红染液配制:卡红 4 g,盐酸 2 mL,水 15 mL,85% 乙醇 95 mL。先将卡红溶解在盐酸与水中,煮沸后加 85% 乙醇 95 mL,加热片刻,滴加氨液中和盐酸,过滤后使用^[2]。

对粪便检查到有线虫卵的动物,给予史克肠虫清进行驱虫,次日收集粪便洗出成虫。将线虫和培养后获得的幼虫置载玻片上,加甘油乙醇透明,然后体视镜或显微镜观察^[3]。甘油乙醇溶液:甘油(5~10) mL,加入 70% 乙醇(90~95) mL。

2 结果

2.1 调查结果

203 只野生来源的树鼩肠道粪便中,共检查出 3 种蠕虫虫卵,结合成虫的形态特征进行鉴定,分别为长膜壳绦虫(*Hymenolepis diminuta*)、奇口线虫(*Rictularia* sp.)和粪类圆线虫(*Strongyloides stercoralis*),感染率见表 1。肠道蠕虫的总感染率为 75.86%;粪便中常见到两种或三种蠕虫混合感染的情况,三种混合感染率为 4.55%,奇口线虫和粪类圆线虫混合的概率较高。

2.2 虫卵与成虫形态特征

本次调查中,从长膜壳绦虫孕节和奇口线虫卵巢中获取的虫卵与粪便中排除的虫卵作一一对应鉴定,显示了明显的形态特征,见表 1、图 1~3(见文后彩插 3)。长膜壳绦虫头部特征见图 1b,经卡红染色后,每个成节内含 3 个横列的球形睾丸非常明显,见图 1c;奇口线虫典型特征是在腹部两侧可见梳状盾片,靠身体中后端渐渐稀疏为栉刺,见图 2b;粪类圆线虫单独感染的粪样经过孵化培养,2 d 后能看到游动的幼虫,培养 7 d 后取出鉴定,此时观察到数量较多的丝状蚴,并具有粪类圆线虫的典型形态特征^[3],见图 3b。通常在树鼩粪便中看到的奇口线虫和粪类圆线虫的卵,多为含胚胎的形态,见图 2a、3a。

表 1 野生树鼩携带主要肠道蠕虫形态和感染率

Tab.1 Morphological identification of three intestinal helminthes species and infection rate of the wild tree shrews

寄生虫种类 Parasite species	虫卵形态特征 Morphological characteristics of eggs	成虫形态特征 Morphological characteristics of adult worms	感染率 Infection rate
长膜壳绦虫 <i>Hymenolepis diminuta</i>	近球形,大小为(60~78)×(56~77) μm,黄褐色,卵壳厚,表面高低不平并有许多颗粒,内含六钩蚴	虫体白色,长 10~18 cm,头节小,有 4 个吸盘,圆球形,顶端凹入,其中有顶突,无小钩;成节内睾丸球形,3 个横列,卵巢 2 叶位于节片中央	27.67%
奇口线虫 <i>Rictularia sp.</i>	椭圆形,大小为(40~46)×(28~32) μm,壳稍厚,粪便中排出的卵已孵化为蚴,蚴体长并多段折叠;卵壳和蚴均为无色透明。	虫体粉红色,长 2.2~2.8 cm,腹两侧有梳状盾片伸至整个体长,中后端渐渐稀疏为刺,有口囊,口孔稍偏背侧,口孔边缘有一角质环,口囊基部有齿状突起,阴门开口于食道与肠道交接处,	30.06%
粪类圆线虫 <i>Strongyloides stercoralis</i>	长椭圆形,大小为(50~57)×(31~34) μm,壳薄,无色透明,粪便中排出的卵已孵化为蚴,肥厚,半透明,卷曲成一圈或多卷,并蠕动	幼虫无色半透明,细小,大小(200~600)×20 μm,多为雌虫。角皮上有细横纹。两端尖,尾尖有小叉,头部有 4 个不明显唇瓣,口囊小,食管棒状,食道球下来接肠管,生殖器双管型。	51.52%

3 讨论

本次开展的野外来源的树鼩肠道蠕虫调查,共发现 3 个优势虫种,分属于绦虫纲和线虫纲,虽种类不多但感染率非常高,达到 75.86%,混合感染较普遍,三种混合感染的占 4.55%,大型虫体-长膜壳绦虫的最大感染强度达到单只动物感染 12 条。本研究主要采用粪便直接涂片检查虫卵,结合尸解、驱虫以及幼虫培养方法,获得成虫,进行一一对应的鉴定,掌握了昆明西郊栖息的树鼩携带的主要肠道蠕虫感染谱,为今后针对性开展树鼩寄生虫病的预防措施提供了重要的参考数据,为实验树鼩寄生虫的控制提供了依据。其次,在现有的树鼩肠道寄生虫研究报道中,作者很少提供可供借鉴的形态鉴定特征图片。

野生树鼩多有肠道蠕虫的感染,原因与它在野外的栖息环境和食性密切相关。昆明西郊多以次生林和山地森林为主,是野生树鼩天然的栖息地,种群数量比较丰富,树鼩为杂食性,以昆虫、果实和谷物为主,更偏向于昆虫。长膜壳绦虫属绦虫纲膜壳科(Hymenolepididae)膜壳属(*Hymenolepis*)绦虫,为世界性分布,多寄生于鼠类小肠,也寄生于人体,是重要的人兽共患寄生虫病原,感染该寄生虫动物表现为营养不良、贫血、体重减轻,甚至肠阻塞。长膜壳绦虫的生活史必须要经过中间宿主才能完成,中间宿主包括蚤类、甲虫、鳞翅目等 20 余种昆虫,常见的有大黄粉虫、谷蛾、印度客蚤;树鼩喜食昆虫,尤其是黄粉虫^[4],树鼩易携带长膜壳绦虫,可能是

通过食入带有长膜壳绦虫似囊尾蚴的昆虫而被感染。我们在尸解的一只树鼩小肠中最多取出 12 条长膜壳绦虫,虫体长 10~18 cm、宽 0.3~0.4 cm,虫体塞满整个小肠和结肠,已造成三段肠套叠和肠阻塞,导致动物死亡,事实表明长膜壳绦虫可严重感染树鼩并致病,是树鼩的寄生虫病病原。以往报道的长膜壳绦虫虫体长多为(20~60) cm,而我们测量到的较短,可能与树鼩体型小有关。

本次调查显示,野生树鼩感染奇口线虫的感染率为 30.06%,与田保平等^[5]报道的 36% 的感染率结果较为接近,在有限的树鼩寄生虫调查研究中都有树鼩携带奇口线虫的报道^[6],证明树鼩是除了啮齿类动物以外奇口线虫的自然宿主。其最明显的特征是在虫体腹侧有两行明显的栉刺贯穿全身,病理发现它会造成小肠慢性炎症病变。

粪类圆线虫虫体非常细小,虫体分杆状的自由生活型和丝状的寄生型,主要宿主是人,虫卵在小肠粘膜内发育孵化,随粪便排出的有虫卵和杆状蚴,作者在粪便检测中也常看到活动的杆状蚴,与虫卵培养出来的幼虫一致,它能引起肠粘膜卡他性发炎,严重时粘膜损害处有如蜂窝,感染机体一般有腹泻、消瘦及其他症状。

本次对树鼩检出的三种主要肠道蠕虫种类都属于啮齿类动物肠道寄生虫感染谱范围之内^[7],这是否跟树鼩与啮齿类动物具有相同的生活环境和习性相关? 还需要进一步的研究来证实;它们对树鼩均具有一定的致病性,形态特征也比较明显。因

(下转第 21 页)

制了成脂诱导培养基 II, 配方中除有地塞米松、IBMX、胰岛素外还包括泛酸、生物素及罗格列酮, 其中的罗格列酮与 PPAR 受体结合增加脂肪细胞对胰岛素的敏感性。泛酸和生物素是维生素 B 族, 在脂肪合成过程中起重要作用^[8]。在既往研究中, 有研究者应用与成脂诱导培养基 II 成分类似的成脂诱导培养基诱导前脂肪细胞, 采用不同诱导时间和步骤, 导致不同的诱导效果^[9]; 也有研究者比较了与本实验中成脂诱导培养基成分不同的其它培养基诱导月经血干细胞的成脂分化能力^[10]。采用本实验中成脂诱导培养基 I 和 II 分别诱导 hADSCs 和 rADSCs 的比较研究尚未见报道。将 hADSCs 分别用这两种诱导培养基诱导分化, 培养 10 d 后油红 O 染色, 镜下观察和吸光度检测均证实成脂诱导培养基 II 诱导细胞成脂分化能力明显好于成脂诱导培养基 I, 因此 hADSCs 更适宜用成脂诱导培养基 II 诱导。rADSCs 分别在两种诱导培养基中培养后虽然针对其油红 O 染色的吸光度检测结果经统计学分析表明成脂分化能力没有明显差异, 但镜下观察细胞在成脂诱导培养基 II 中培养形成的脂滴较诱导培养基 I 中形成的脂滴更为饱满, 脂滴团较大, 比较而言 rADSCs 也适宜用成脂诱导培养基 II 诱导。因此, 通过比较成脂诱导培养基 II 优于成脂诱导培养基 I, 更适宜 hADSCs 和 rADSCs 成脂诱导。

参考文献:

- [1] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies [J]. *Tissue Eng*, 2001, 7: 211–228.

- [2] Nakajima I, Muroya S, Chikuni K. Growth arrest by octanoate is required for porcine preadipocyte differentiation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309: 702–708.
- [3] 何旭, 杨旭芳, 张丽红, 等. 人脂肪干细胞的形态学特征 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2011, 28: 337–341.
- [4] Green H, Kehinde O. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion [J]. *Cell*, 1975, 5: 19–27.
- [5] Hauner H, Entenmann G, Wabitsch M, et al. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium [J]. *J Clin Invest*, 1989, 84: 1663–1670.
- [6] Russell TR, Ho R. Conversion of 3T3 fibroblasts into adipose cells; triggering of differentiation by prostaglandin F2alpha and 1-methyl-3-isobutyl xanthine [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73: 4516–4520.
- [7] Lopez MJ, Spencer ND. In vitro adult rat adipose tissue-derived stromal cell isolation and differentiation [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 702: 37–46.
- [8] Crossno JT Jr, Majka SM, Grazia T, et al. Rosiglitazone promotes development of a novel adipocyte population from bone marrow-derived circulating progenitor cells [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 3220–3228.
- [9] Lee MJ, Wu YY, Fried SK. A modified protocol to maximize differentiation of human preadipocytes and improve metabolic phenotype [J]. *Obesity*, 2012, 20: 2334–2340.
- [10] Khanmohammadi M, Khanjani S, Edalatkhah H, et al. Modified protocol for improvement of differentiation potential of menstrual blood-derived stem cells into adipogenic lineage [J]. *Cell Prolif*, 2014, 47(6): 615–623.

[修回日期]2014-11-03

(上接第 17 页)

此, 对野外引入的新种源必须隔离检疫, 开展针对性的药物驱虫, 才能有效地控制肠道寄生虫病的传播。

致谢: 衷心感谢云南省畜牧兽医研究院黄德生研究员在寄生虫鉴定方面给予的悉心指导!

参考文献:

- [1] 许凌, 范宇, 蒋学龙, 等. 树鼩进化分类地位的分子证据 [J]. *动物学研究*, 2013, 34(2): 70–76.
- [2] 张西臣, 李建华, 主编. 动物寄生虫病学 [M]. 北京: 科学出版社, 2010. 1.
- [3] 余森海, 许隆祺, 主编. 人体寄生虫学彩色图谱 [M]. 中国科

学技术出版社. 2009: 363–365.

- [4] 彭燕章, 叶智彰, 邹如金, 等. 树鼩生物学 [M]. 云南科技出版社, 1991, 154–155.
- [5] 田保平, 彭燕章, 侯意谛. 中国树鼩的寄生虫调查研究 [J]. *动物学研究*, 1989, 10: 90–91.
- [6] 吕龙宝, 马玉华, 邹丰才, 等. 驯养中缅树鼩的消化道寄生虫监测及寄生蠕虫驱虫效果 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(6): 522–524.
- [7] Malsawmtluangi C, Tandon V. Helminth parasite spectrum in rodent hosts from bamboo growing areas of Mizoram, North-east India [J]. *J Parasit Dis*. 2009, 33(1&2): 28–35.

[修回日期]2014-10-24