

我国新发现的并殖类吸虫和并殖类 研究应注意的一些问题

陈 心 陶

(生物系)

并殖吸虫主要分布于东亚各地,如中国、日本、朝鲜、越南、泰国、菲律宾、印度、锡兰、马来亚、印尼及南洋各岛屿等。国内分布很广泛,除靠近黄河以北的几个省区以外,几乎都有并殖吸虫的踪迹,其中不少还造成人病流行区。近年来由于对并殖病流行区的范围有了进一步的了解,因此对该病的危害性也有了较深的认识。这是并殖吸虫的研究能够引起全国注意的重要原因。

本文着重介绍最近发现的种类,并对并殖研究中的一些关键性问题进行了讨论。

一 新发现的并殖种类

我国并殖吸虫到了1961年止已报告了四种,即威氏并殖(*Paragonimus westermani*), 怡乐村并殖(*P. iloktsuenensis*), 大平并殖(*P. ohirai*)及斯氏并殖(*P. skrjabini*)。最后三种均首先在广东发现,而斯氏并殖在四川还是一个重要人体的并殖吸虫(陈心陶, 1961, 1962)。在这之前四川的并殖吸虫一直被认为只有*Paragonimus westermani*一种,斯氏并殖在四川人体的发现首次证明了我們以前估计寄生于人体的并殖吸虫,不只是*P. westermani*一种是正确的(陈心陶, 1960)。

在进行研究斯氏并殖生活史的同时,我们又发现了二种以前未见过的并殖类吸虫(陈心陶, 1962a)。一种属于*Paragonimus*属,因其睾丸特大,命名为*P. macrorchis* Chen, 1962(巨睾并殖);另一种,因其特征和*Paragonimus*属的有所不同,特建立新属*Euparagonimus*包括之,并将新种命名为*E. cenocopiosus* Chen, 1962(三平正并殖)。现将这两种的特征简单介绍如下:

1. *Paragonimus macrorchis* Chen, 1962, 成虫大小和其他并殖相似,压扁标本为 8×3.7 毫米,腹吸盘位于体中部前。体棘群生,在口、腹吸盘之间及腹吸盘与体末之间,以二、三个一群为最常见。睾丸位于肠支第三弯的内侧,每个分6—7支,向后伸展的支干越过肠支的第三弯,因此其所占的范围甚大,左睾大小为 2.236×1.118 毫米,右睾为 3.096×0.946 毫米(图1)。贮精囊中部卷曲作环状。卵巢分支细,大小为 0.980×0.946 毫米,位于腹吸盘的后方。受精囊未见。虫卵尚未完全成熟。囊蚴壁单层,似怡乐村并殖。第二中间寄主为*Potamon sinensis*,孳生于山溪。喂食大白鼠后,要经两个月才刚刚成熟。

巨睾并殖在某些方面颇似怡乐村并殖,如囊壁单层,体棘群生等,但有以下若干特

点: (1) 辜丸巨大, 分支如带, 中心体不明显, (2) 中间寄主的孳生环境为山溪, (3) 喂食大白鼠后成长较慢。怡乐村并殖的辜丸只略大于卵巢, 其中心体比较明显, 孳生环境为沿海平原的稻田、水沟、河涌等地, 在终末寄主发育成长最多不超过一个月。

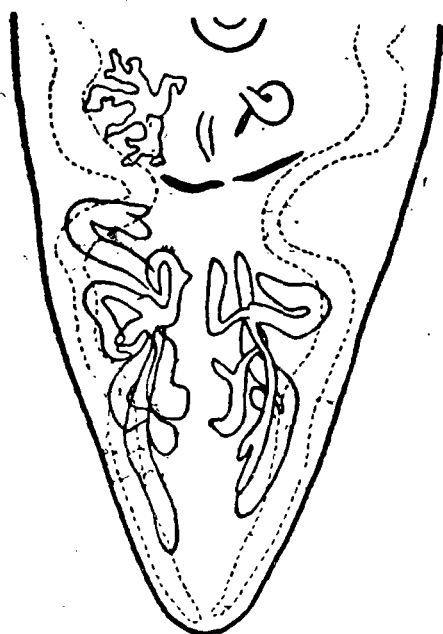


图 1

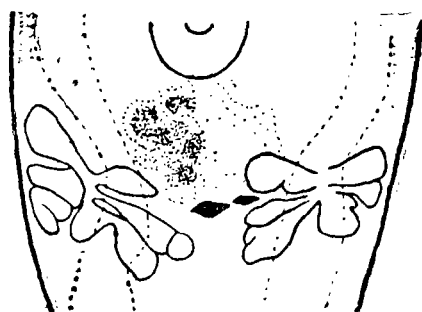


图 4

图 1 巨辜并殖, 腹吸盘以下的虫体, 可以见到巨大的辜丸及略似克氏并殖(*P. kellicotli*)的卵巢。

图 4 三平正并殖、未成熟的成虫的中间部分; 辜丸、卵巢、子宫位于同一水平。

2. *Euparagonimus cenocopiosus* Chen, 1962, 本虫的囊蚴寄生于 *Potamon denticulatus*, 具有以下特点: 囊壁双层 (图 2), 后尾蚴的排泄囊长形, 但只到达腹吸盘水平 (图 3), 腹吸盘位于体前半, 在体长三分之一或四分之一处。喂食家猫后, 虽经四个多月还没有成熟, 但可以看出其结构特点。体长形, 宽度前半较大, 并向后端递减。腹吸盘在体前三分之一处。体棘群生, 卵巢与子宫位于腹吸盘后方。两个辜丸相对, 位于肠支第三弯开始处, 几与卵巢平, 占肠支内侧与外侧位置 (图 4)。排泄囊和后尾蚴一样, 只到达腹吸盘水平。

这个属与种的特点主要在于排泄囊较短, 辜丸与卵巢等几在同一水平, 以及辜丸占肠支内外侧位置。其他形态如囊蚴的一般结构, 成虫的形状及一般形态均与并殖属的吸虫大同小异, 因此我们认为本属和并殖属是同属于并殖科 *Paragonimidae* 的。

我们在 1940 年 (陈心陶, 1940) 曾把并殖吸虫分为平原型与丘陵型二类。所谓平原型包括怡乐村并殖与大平并殖, 所谓丘陵型包括当时的威氏并殖与克氏并殖。新报告的种类, 如斯氏并殖、巨辜并殖和三平正并殖也是属于丘陵型的。此外, 我们当时还根据囊蚴壁把生活史已明确的种类, 分为具有单层囊壁的怡乐村并殖及双层囊壁的威氏并殖、克氏并殖及大平并殖等。新的资料显示巨辜并殖属于单层囊壁类, 斯氏并殖及三平正并殖则属于双层囊壁类; 有趣的是具有单层囊壁壁的巨辜并殖, 竟出现于丘陵地带的山溪中。

根据我们手上的材料, 我们拟出下面的国内六种并殖类的检索表作为参考。

1. 后尾蚴及成虫的排泄囊只到达腹吸盘水平, 雌雄生殖腺与子宫并排在腹吸盘后缘..... *E. cenocopiosus*
后尾蚴及成虫排泄囊到达肠分支处, 两个睾丸并排在卵巢后方..... 2
2. 睾丸特大, 约等于体长之三分之一, 体棘群生, 多为2—3个一群..... *P. macrorchis*
睾丸与卵巢大小相差不大, 体棘单生或群生..... 3
3. 体宽长比例为1:2.6左右, 腹吸盘在体前三分之一处, 卵巢分支细而多, 位于腹吸盘后方..... *P. skrjabini*
体宽长比例为1:2至1:2.2左右, 腹吸盘在体中部前, 卵巢常位于腹吸盘的一侧..... 4
4. 体棘单生, 卵壳厚薄不均匀..... *P. westermani*
体棘群生, 卵壳厚薄均匀
(1) 吸盘间及睾丸间的体棘大多数为4—5个一群, 囊蚴壁单层..... *P. iloktsuenensis*
(2) 吸盘间及睾丸间的体棘大多数为8—9个一群, 囊蚴壁双层..... *P. ohirai*

在文献上出现的国内并殖种类实际上不止上述六种, 还有最近报告的云南并殖 (*P. yunnanensis* Ho, et al., 1959) 及四川并殖 (*P. szechuanensis* Chung & Tsao, 1962)。前一种有可能是一个独立种, 但是在作者等的描述中, 除提到其囊蚴较大外, 其他特征, 如体棘、腹吸盘的位置, 虫卵的特点等都无记载。该虫报告者曾提到卵巢的结构似怡乐村并殖, 但从摄影图片看来实无法确定其结构,* 我们极希望原作者或云南方面有关单位能继续对该虫作进一步的研究。至于四川并殖的独立地位问题, 我们曾于另文简单论述 (陈心陶等, 1962b), 现将我们的看法补充如下。

二 四川并殖 (*P. Szechuanensis*) 的独立性問題

1961年春四川寄生虫病防治所寄来一批由人体皮疖取出的并殖吸虫给我们鉴定, 不久北京钟惠澜教授也寄来由四川猫体取出的标本一个, 两批标本经过详细研究后, 均鉴定为斯氏并殖 (陈心陶, 1962)。到了1962年钟惠澜等把以前认为是威氏并殖以及我们鉴定为斯氏并殖的吸虫定为新种, 称为四川并殖 (*P. szechuanensis*)。我们认为这个新种和斯氏是同一种的 (陈心陶等, 1962)。现将我们的补充意见简单说明如下。

(1) 体棘的形状 钟氏谓四川标本的体棘不象斯氏并殖, 远端常较前端为宽些。从钟氏所摄影及描绘的体棘形状看来, 确实有很大的不同, 不过我们认为钟氏等的取材所示体棘之特殊形状, 实由于标本之收缩加上折光关系所致, 因而出现特殊形状。事实

* 作者1961年在北京时曾蒙钟惠澜教授惠允检看云南并殖的成虫标本, 但也看不出其卵巢结构。

上这样的收缩情况,我们也不时在其他并殖吸虫见到。陈氏根据四川的标本,所画的体棘(见《中华医学杂志》外文版图4)和钟氏的不同。我们最近又看到了好多四川标本,也和以前看的一样。

(2) 虫卵形状及大小问题 从陈氏(1962,图11—13)与钟氏等(1962,图47,51—53)的虫卵照片比较看来,无论从虫卵的对称方面及卵壳的厚薄均匀程度和四川标本没有明显差异。我们最近又看到了广东与四川的虫卵,结果还是一样(图5)。陈氏(1960)谓“斯氏并殖虫卵大多数不对称,卵壳厚薄不均匀,但不及威氏并殖那么显著”,而钟氏等(1962)则谓四川并殖虫卵“比较威氏对称些,但不是绝对对称,虫卵厚薄基本上均匀”(译文),显然是一样东西两种说法而已。至于虫卵大小问题,并殖吸虫的大小根据寄主的不同差异是很大的。有时同属一类的寄主大小也不一定相同,这是研究肺吸虫者所熟知的事实,可是,斯氏并殖与四川标本虫卵大小差异根据钟氏等的数字也就是那么一点(斯氏并殖 71×48 微米,四川并殖 80.4×47.7 微米)。有趣的是陈氏所摄影的虫卵图片,广东与四川的虫卵竟是一样,没有一点大小差异。我们最近又看到一批四川标本,证明我们以前的看法是对的。

(3) 体长宽比例 钟氏谓四川标本宽长比例为 $1:2.4—1:3.7$,平均 $1:2.8$,而广东标本只有 $1:2.2$ 。陈氏(1960)的数字 $1:2.2$ 显然是缮写或印刷的错误,因而1961年陈氏把 $1:2.2$ 改正为 $1:2.6$ 。这个数字还是偏低的,因为按陈氏1960年的斯氏并殖画图及綫图看来,其宽长比例约为 $1:2.6—1:3$ 。又再按1962年《中华医学杂志》(外文版)成虫大体标本看来,长宽比例约为 $1:2.4—1:2.9$,陈氏同年在《动物学报》第五图經福馬林固定的标本看来,宽长比例约为 $1:2.4—1:3.7$ 。从上面可以看出广东标本与四川标本宽长比例是一致的。

(4) 寄主种类 钟氏认为斯氏并殖的寄主为果子狸,而四川并殖则有山猫、家猫、鼬鼠及犬,因此肯定两种是不同的。寄主的种类一般只能作建立新种的参考,不能作为根据,而且若干年来我们一直没有对斯氏并殖寄主进行调查,怎么可以肯定斯氏并殖的寄主只有果子狸而已。钟氏等的说法实不足以服人。

从以上的比较分析看来,我们认为钟氏等所描述*P. szechwanensis*,无论在其外形,长宽比例,体棘形状,虫卵的形状等各方面是相同的,加上口、腹两个吸盘的位置,卵巢与腹吸盘的距离,卵巢及睾丸的形状,卵黄腺的分布及肠支的情况都是和斯氏并殖一致的,故不能作为新种的根据。当然这并不是否定种别也可以根据生活史的不同而决定的,但在没有生活史的材料比较之前,我们只能根据成虫的材料。

三 并殖吸虫研究方法的一些问题

几年来国内并殖吸虫的分布地区不断有新的发现,而投入并殖吸虫科学研究的人也跟着日多,因此不少各地科学工作者向我们提出有关并殖吸虫的研究方法等问题。这里不拟全面地介绍并殖吸虫的研究方法,只把几个关键性问题,根据我们粗浅的认识与经验简单地提出作为参考。

1. 发现疫区包括一系列的工作程序,如首先要确定患者为肺吸虫病人,其次则追究

其感染時間與地點，最後則在追究到的地點進行病人調查及中間寄主檢查。要確定病人是否有肺吸虫病主要是診斷學問題，寄生蟲學及寄生蟲病學的專書均有詳細資料可作參考，這裡就不談了。追究病人獲得感染的時間與地點有時可以很順利，一問一答可能就解決了，但大多數患者對於以前的事情未必記得很清楚，因此我們必須反復追問，東敲西擊，一方面幫助病人回憶前事，另一方面從中找出線索，直至認為初步目的已達到為止。我們應在此基礎上深入患者所謂獲得感染的地區，向當地醫藥衛生單位了解情況，並進一步對當地居民、保蟲寄主及中間寄主進行仔細調查。

居民調查除注意臨床症狀和檢查痰液，這裡不討論外，應當重點提出的是採用皮內反應方法。自1930年以來國外各地已先後使用這個方法，而在日本自1953年以後更廣泛採用。我國各地自1954年以來也經常用此法。進行普查所用的抗原各地不同。以生理鹽水提煉的成蟲抗原作皮內注射，對華枝睾感染及日本血吸蟲感染有交叉反應。Sadun等（1958）及Sadun等（1959）製備了一種鹼性可溶解的旦白抗原，據謂效果良好，而且對華枝睾感染沒有假陽性反應。

其次為保蟲寄主調查。家畜如犬、貓是調查的主要對象，其他哺乳動物，如虎、豹、狐、山貓、麝貓等也應在調查之列。要指出的是野生動物的感染主要是自然疫源地的問題，並不一定說明人的感染也存在。而犬、貓和人甚為接近，因此它們的感染最少說明傳染源就在附近。

再其次是中間寄主的檢查，這主要是檢查石蟹或蜆蚶，一般不作螺螄檢查，因為前者的感染率較高（一般總有1-2%，常見者在10-30%左右，有的甚至可達100%），而後者卻很低，常要檢查幾千至一萬個以上的螺螄才有一、二個陽性。檢查第二中間寄主可以採取鏡檢或消化方法。囊蚴可以在中間寄主各部位找到，但各地區及各種并殖的情況不一定一樣，如寄生於蜆蚶的威氏并殖囊蚴，以定居於胸部肌肉中為最多，次為足肌，再次為腹部肌肉，最少為內臟。在福建以在石蟹的鰓部、肝臟及肌肉為最常見，而在台灣的蟹類卻以鰓部為最多，次為足肌與胸肌，最少在肝臟。廣東的怡樂村并殖的囊蚴以在肝臟為最多，次為肌肉，偶然在鰓部。從以上看來詳細檢查第二中間寄主的各部位是發現并殖囊蚴的最可靠方法。除鏡檢外還可以採用消化方法，把中間寄主切成小塊並在充分研碎後加水，靜置約五分鐘令其沉淀，然後吸去上清液，如是反復沉淀若干次至液體澄清為止，最後以沉渣倒入人工消化液中（由胃旦白酶0.25gm，氯化鈉0.2gm，鹽酸（比重1.19）1C.C.，蒸餾水100C.C.製成），置於37°C溫箱，每半小時搖勻一次，俟全部消化後（一般一個上午的時間已夠）進行過濾，藉而分開囊蚴與蟹殼，然後加水沖洗若干次，吸去上液檢查沉渣。消化方法能在較短的時間內處理較多的第二中間寄主，但手續較麻煩，同時也不能確定其寄生部位及感染率。一般可以先進行鏡檢，陽性時再進一步採用消化方法。如果沒有消化方法的設備，當然只有依賴鏡檢。

2. 顯微鏡技術為決定并殖種類的關鍵，如掌握得不好，很容易產生錯覺而造成指鹿為馬的錯誤。首先當然要肯定所謂顯微鏡技術基本上是以一般吸蟲學的知識及技術作為基礎。我們要討論的是關於研究并殖吸蟲的特殊技術，擬分以下幾方面討論：（1）囊蚴脫囊，（2）活體檢查，（3）成蟲制片及（4）體棘檢查。

（1）活體檢查 并殖吸蟲生活史的各期如毛蚴、尾蚴、后尾蚴等不容易以一般染色

方法表现出其詳細形态。只有通过活体观察或染色与活体检查相结合的方法（即所谓活体染色）才能把内部形态看得清楚。这是所有搞吸虫生活史者一定要掌握的技术。常用的活体染色的染料有好多种，其中效果較好的有 Neutral red, Nile blue sulphate, brilliant cresyl blue 等。先以活体染料加蒸馏水制成 1% 溶液，用时加以稀释。染色前，以幼虫和水或生理盐水置于玻片上，加上玻盖，先在显微镜下观察一段时间；必要时，再以一滴稀释的染料加于玻盖边缘，任其逐渐渗入，经过数分钟后幼虫开始染上颜色。活体染色成功的关键在于一方面要幼虫在少量的水份下长久维持其生活力，另一方面又要足够、但又不能过多的染料溶液逐渐渗入体内，这就要经过反复试验才能成功。头腺及其腺管，神经节等在经过活体染色后看得很清楚；焰细胞及排泄系统一般不用活体染色也看得清楚。

（2）囊蚴脱囊 有的囊蚴如怡乐村并殖等，因囊壁薄，常自行脱囊，但有的如威氏并殖等由于囊壁較厚，必须经过一定的处理后才能脱囊。最简单的方法莫如以鋒利的解剖针刺破囊壁，然后再以針輕压囊体，使后尾蚴从伤口处逸出。消化液处理方法也是常用的。先以囊蚴置于胃消化液，经二小时后转入胰消化液或人工胆汁（由 Sodium taurocholate 1、碳酸盐钠 0.1、蒸馏水 100 配成），半小时内开始脱囊（吳光等，1943）。以上均置于 37°C 温箱内。另一方法为把 Tyrode 氏液的氢离子浓度提高到 PH8—9 并加温到 40—43°C。在该液内的囊蚴就能够在 3—10 小时内脱囊而出。

（3）成虫制片 成虫制片虽是一般技术问题，但对于并殖吸虫的特点有必要加以适当的注意。本虫体肥厚，如加以压扁，则其内部器官位置可能变为不正常，不加以压扁，则又看不清楚。連續切片是解决这个矛盾的一个好方法，但切片手續麻煩，而且一个虫体的連續切片要占約 100 块玻片的数量，因此贮存与保管都不方便。在我们的研究室里除了描述新种一定要有一套完整的連續切片作为参考外，其余的均为压平标本（当然也可以叫做压扁），所谓压平并不是象处理羌片虫标本那样要用尽平生气力把虫体压成薄片，而是把虫体的凸凹面压到两面平为止。封片时，在虫体的左右两边各加一块厚約 1.0 毫米的碎玻片，然后加香胶再加上玻盖。经过这样处理的标本，其内部器官既能保存一定的立体观，又能大部分或甚至全部看得清楚。我们认为除个别情况外，所有并殖吸虫标本都应当采取这个方法制片。

（4）体棘检查 体棘在并殖吸虫分类上是很重要的。报告新种不把体棘特征包括在内是不合规格的。的确在好些並殖吸虫，体棘观察并不很容易，主要关键在于控制光源，要把显微镜的隔光环反复放大及縮小直至体棘看到为止。必须注意的有两点：其一是表皮下的肌束有时頗似体棘，但长短差别很大，稍为留心就不会被魚目混珠产生错觉；其二是一些表皮呈收缩的标本可以使体棘的远端呈奇形。多看几个标本就可以看出正常与奇形体棘的区别。此外，我们也可以采用剥皮方法观察体棘，把虫体从侧面分割为背面与腹面两块，然后在双目显微镜下，細心把内部組織及器官括取殆尽，只剩表皮一层；最后经过透明，封片，可以永久保存。这个方法的缺点在于极費时间，同时又要折損一个好标本。但如果全虫标本观察不清楚的话，这样的处理方法还是必要的。

3. 动物感染试验是非常重要的，这里只谈一下喂食囊蚴问题。具有双壁的囊蚴可以用一般方法喂食动物，但具有单壁的囊蚴不容易通过肠胃而感染寄主（事实上在喂食时囊

壁多早已破裂), 因此必須採取其他措施: 如以导管插入十二指腸內, 然后把囊蚴注入, 并在取出导管前用少量水冲洗該管以免囊蚴粘附在管壁上; 或把阳性蟹組織全部喂食实验动物。两个方法各有优缺点。最近我們以怡乐村并殖囊蚴接种到体腔內也获得成功。

小 結

本文报告了最近从广东省发现的并殖类三种, *Paragonimus skrjabini* Chen, 1959, *P. macrorchis* Chen, 1962及*Euparagonimus cenocopiosus* Chen, 1962, 并附我国各并殖类的检索表。

对所謂 *Paragonimus szechuanensis* Chung, et al., 1962的独立性問題本文以具体材料証明該种的建立是毫无根据的。

对研究并殖类吸虫研究的方法作者提出了一系列关键性的問題, 如发现疫区的步骤, 显微鏡技术的掌握和动物感染方法等。

参 考 文 献

- [1] 陈心陶: 1940. Morphological & developmental studies of *Paragonimus iloktsuensis* with some remarks on other species of the genus (Trematoda: Troglotremitidae, Lingnan Sc. J. 19(4): 429—530
- [2] 陈心陶: 1960. 并殖吸虫分类上的特点, 包括斯氏并殖 (*P. skrjabini*) 的补充报导。动物学报 12(1): 27—36
- [3] 陈心陶: 1961. 斯氏并殖 (*Paragonimus skrjabini* Chen, 1959) 的外部形态特征的进一步观察。中山大学学报, 自然科学版 1961, (2): 1—8
- [4] 陈心陶: 1962 The etiologic agent of human paragonimiasis in China. Chinese Med. J. 81(6): 345—353.
- [5] 陈心陶: 1962 a. 中国并殖(肺吸虫)类吸虫的新属新种(摘要)。中山医学院1962年校庆科学討論会报告摘要, 63—64頁。
- [6] 陈心陶、劳綺云: 1962. 四川并殖 (*Paragonimus szechuanensis* Chung, et al.) 的独立性問題。中山医学院1962年校庆科学討論会报告摘要, 64頁。
- [7] 吳光、許邦宪: 1943. Notes on the excystation of *Paragonimus metacercaria* in vitro. Chinese Med. J. 62: 335—340.
- [8] 鍾惠瀾、曹維霽: 1962. *Paragonimus westermani* (Szechuan variety) and a new species of lung fluke—*Paragonimus szechuanensis*. Part I. Studies on morphology and life history of *Paragonimus szechuanensis*. Chinese Med. J. 81: 354—378.
- [9] Sadun, E.H., A.A. Buck & B.C. Walton: 1958. The use of purified antigens in the immunodiagnosis of paragonimiasis in human and experimental animals. 日本寄生虫学杂志 7(3): 263
- [10] Sadun, E.H., A.A. Buck, B.K. Lee, C.H. Moon & J.C. Burke: 1959. Epidemiologic studies for paragonimiasis and clonorchiasis by the use of intradermal tests. Amer. J. Hyg. 69: 68—77.