

7-甲基白杨素(0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$)以及槲皮素-3-O-新橙皮糖苷(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)可明显降低 L6 肌管细胞对游离脂肪酸的摄取,与这一理论相符。

总之,本研究结果表明,蜂胶黄酮具有显著的辅助降血脂功能,其作用机制可能包括增强脂质代谢关键酶活性和改善骨骼肌的胰岛素抵抗状况。

参考文献

- [1] Kovalenko V N, Talayeva T V, Shumakov V A, et al. Metabolic disturbances as a factor of the pathogenesis of hypertensive disease and its clinical outcomes[J]. Ter Arkh, 2012, 84(11): 51-58.
- [2] 顾东风. 心血管病预防的现状和展望[J]. 中华预防医学杂志, 2003, 37(2): 75-76.
- [3] 蒋春红, 吕武清, 胡裳洪. 蜂胶的药理作用研究概况[J]. 中国医药指南, 2011, 9(17): 42-43.
- [4] Chen Y F, Li Ying, Wang Y W, et al. Berberine improves free-fatty-acid-induced insulin resistance in L6 myotubes through inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor and fatty acid transferase expressions [J]. Metabolism, 2009, 58(12): 1694-1702.
- [5] Powell D J, Turban S, Gray A, et al. Intracellular ceramide synthesis and protein kinase Czeta activation play an essential role in palmitate induced insulin resistance in rat L6 skeletal muscle cells[J]. Biochem J, 2004, 382(2): 619-629.
- [6] Subauste A R, Burant C F. Role of FoxO1 in FFA-induced oxidative stress in adipocytes [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 293(1): 159-164.
- [7] Peterson J M, Wang Y, Bryner R, et al. Bax signaling mediates palmitate-induced apoptosis in C2C12 myotubes [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008, 295(6): 1307-1314.

- [8] Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, et al. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism [J]. Circulation, 1998, 98(19): 2088-2093.
- [9] Machann J, Thamer C, Schnoedt B, et al. Hepatic lipid accumulation in healthy subjects: a comparative study using spectral fat-selective MRI and volume-localized 1H-MR spectroscopy [J]. Magn Reson Med, 2006, 55(4): 913-917.
- [10] Neumann-Haefelin C, Beha A, Kuhlmann J, et al. Muscle-type specific intramyocellular and hepatic lipid metabolism during starvation in wistar rats [J]. Diabetes, 2004, 53(3): 528-534.
- [11] Barbier O, Torra I P, Duguay Y, et al. Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors in lipid metabolism and atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(5): 717-726.
- [12] Erickson S K, Lear S R, Deane S, et al. Hypercholesterolemia and changes in lipid and bile acid metabolism in male and female cyp7A1-deficient mice [J]. J Lipid Res, 2003, 44(5): 1001-1009.
- [13] Barbara V Howard. Insulin resistance and lipid metabolism [J]. Am J Cardiol, 1999, 84(1): 28-32.
- [14] Zammit V A, Waterman I J, Topping D, et al. Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion and the etiology of insulin resistance [J]. J Nutr, 2001, 131(8): 2074-2077.
- [15] Saltiel A R, Kahn C R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism [J]. Nature, 2001, 414(6865): 799-806.
- [16] Roden M, Price T B, Perseghin G, et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans [J]. J Clin Invest, 1996, 97(12): 2859-2865.
- [17] Boden G. Effects of free fatty acids (FFA) on glucose metabolism: significance for insulin resistance and type 2 diabetes [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2003, 111(3): 121-124.

论著

化学保藏剂对离体中华枝睾吸虫囊蚴生命力的影响

姜元欣, 卫萍, 盛金凤, 刘小玲

(广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004)

摘要:目的 探究柠檬酸、乙酸、氯化钠、亚硝酸钠和乙醇5种化学保藏剂对离体中华枝睾吸虫囊蚴生命力的影响。方法 从感染中华枝睾吸虫的鱼肉中消化分离出中华枝睾吸虫囊蚴, 吸取一定数量的囊蚴置于添加有不同食品化学保藏剂的PBS缓冲液中, 观察其活动能力及形态结构随时间的变化。结果 柠檬酸、氯化钠、亚硝酸钠对中华枝睾吸虫囊蚴的致死效果微弱, 浓度>5%的乙酸溶液及浓度>10%的乙醇溶液能够使囊蚴失去活动力而死亡, 但作用时间较长。低浓度乙醇则会刺激囊蚴、囊蚴内幼虫, 使其活动加剧, 但随时间延长, 活动力减弱。结论 化学保藏剂对中华枝睾吸虫囊蚴的致死效果微弱, 其他非热处理方式及作用效果仍值得进一步研究探讨。

关键词:中华枝睾吸虫; 囊蚴; 化学保藏剂

中图分类号: R145; TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-8456(2013)03-0229-04

收稿日期: 2013-04-06

基金项目: 广西自然科学基金项目(桂科自2011GXNSFC018010)

作者简介: 姜元欣 男 博士生 研究方向为食品安全 E-mail: 631553385@qq.com

通信作者: 刘小玲 女 教授 研究方向水产品加工及安全控制 E-mail: xiaolingliu@hotmail.com

Effects of chemical preservative on the viability of *Clonorchis sinensis* metacercariae in vitro

Jiang Yuanxin, Wei Ping, Sheng Jinfeng, Liu Xiaoling

(College of Light Industry and Food, Gangxi University, Guangxi Nanning 530004, China)

Abstract: Objective Effects of four chemical preservatives, acetic acid, citric acid, sodium chloride and sodium nitrite on the viability of *Clonorchis sinensis* metacercariae in vitro were studied. **Methods** Freshwater fish meat infected by *Clonorchis sinensis* metacercariae was digested and metacercariae were isolated from hydrolysis extract. Metacercariae were quantitatively imbibed into PBS buffer containing different concentrations of food preservation chemicals. The viability and morphological structure of metacercariae in different chemicals were studied. **Results** The results showed that there was no significant effect from citric acid, sodium chloride or sodium nitrite on the viability of encysted metacercariae. 5% of acetic acid and 10% of alcohol solution could affect the movement of encysted metacercariae and eventually cause their death while it costed a long time treatment. Low concentration of alcohol could stimulate metacercariae and larvae activity, but vitality reduced with prolonged treatment. **Conclusion** Other non-heated treatment methods and their effects were still worth further study.

Key words: *Clonorchis sinensis*; metacercariae; chemical preservative

中华枝睾吸虫(*Clonorchis sinensis*),简称华枝睾吸虫,又称肝吸虫。人类食用感染中华枝睾吸虫的食物可能引起中华枝睾吸虫病。我国已开展了大量的中华枝睾吸虫病的流行病学调查工作,目前已知全世界约有3 500万人感染中华枝睾吸虫病,我国感染人数有1 249万,广西约有300万人感染^[1-2]。广西呈现出中华枝睾吸虫病流行区扩大、人群感染率升高、感染度加重的趋势^[3]。

中华枝睾吸虫囊蚴不耐高温,加热可使其失去感染力。人类感染中华枝睾吸虫病主要是由于食用未经充分热处理的含有中华枝睾吸虫囊蚴的鱼、虾螺等淡水产品而造成。为了解在不同环境下中华枝睾吸虫囊蚴的抵抗能力,有学者比较了中华枝睾吸虫囊蚴在不同二氧化氯浓度、酒精度、氯化钠浓度下的存活情况^[4],分析胺对中华枝睾吸虫囊蚴的影响^[5],研究超高压处理对中华枝睾吸虫囊蚴杀灭作用^[6]以及采用 γ 射线来控制中华枝睾吸虫囊蚴的感染性^[7-8]。本研究对采集到的含中华枝睾吸虫囊蚴的淡水鱼进行消化处理,研究柠檬酸、乙酸、氯化钠、亚硝酸钠和乙醇5种化学保藏剂对离体中华枝睾吸虫囊蚴生命力的影响,为摸索鱼片非热处理方式提供前期的研究支持。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

电热恒温培养箱、显微镜(体视)、立式压力蒸汽杀菌锅、电热鼓风干燥箱、IX51显微镜(倒置)。

乙醇、氯化钠、亚硝酸钠、柠檬酸、乙酸、盐酸均为化学纯,胃蛋白酶(上海嘉和生物科技有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 囊蚴消化分离

将采集到含有中华枝睾吸虫囊蚴的麦穗鱼(横县乡村开放式鱼塘, -18℃冰箱保存待用)取肉置于打浆机中,加入10倍体积的胃蛋白酶消化液(每1 000 ml溶液含7~9 g蛋白酶、10 ml盐酸)绞碎,鱼肉绞碎后放入37℃恒温箱中消化4 h,用100目网过滤掉残渣,滤液用V型烧杯加纯净水静置5 min,倒去上清液,多次重复操作,直到水变澄清后倒去上部分水,将下层约10 ml液体富集,在解剖镜下再次除去残渣,将离体囊蚴富集到已消毒的瓶中,再加入已灭菌的PBS缓冲液,放在4℃冰箱保存待用。为了延长囊蚴的存活时间,每隔5 d换一次PBS缓冲溶液。

1.2.2 化学处理对离体囊蚴的影响

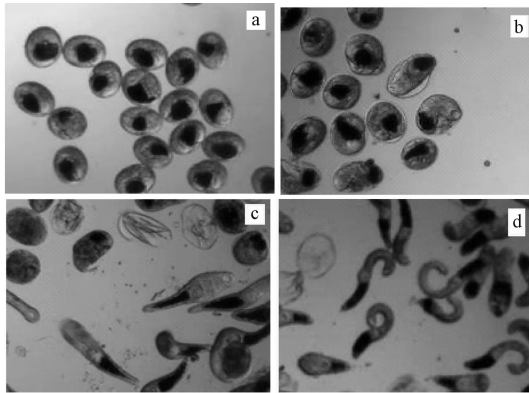
采用不同浓度的柠檬酸、乙酸、氯化钠、亚硝酸钠、乙醇溶液分别置于24孔培养板中(各浓度设3个孔、每孔约3 ml),每孔溶液中加入20~25个分离得到的囊蚴,放入囊蚴的时间间隔为5 min,以放置于PBS缓冲液中的囊蚴作为空白对照组。在倒置显微镜下每隔5 min观察不同孔板中囊蚴活动数、排泄囊清晰数、脱囊数、囊完整数,记录处理30 h后的变化(以均值表示)。

1.2.3 囊蚴生命力的表征及参数

中华枝睾吸虫囊蚴在受到外界刺激或不利因素作用下,其生命力减弱或丧失,可用以下参数表征囊蚴的生命力。活动率:体视显微镜下连续观察90 s,视野中活动的囊蚴数与观察囊蚴总数的比值。囊完整率:处理后囊结构完整的个数与观察囊蚴总数的比值。脱囊率:处理后囊蚴囊壁破裂的个数与

2.4 离体囊蚴在不同处理条件下形态变化

离体囊蚴形态变化如图1所示。由图1(a)可看出,离体囊蚴在未经任何处理的空白对照组(PBS缓冲溶液),囊蚴结构完整,排泄囊聚集在一起,清晰明显,幼虫弯曲盘卷在囊内,幼虫在囊内旋转活动正常。图1(b)显示了囊蚴在酸、盐等刺激下,囊蚴内幼虫活动频繁,排泄囊出现离散现象,囊结构的完整性下降。图1(c)显示出在强烈刺激下,囊内幼虫在囊内旋转撞击囊壁,囊外幼虫前后伸缩活动剧烈;囊壁与囊内幼虫出现分离;图1(d)囊蚴脱囊后的幼虫状态,脱囊后幼虫活动减弱直至死亡。



a: 对照, b-d: 化学保藏剂处理的不同阶段

图1 不同处理条件下囊蚴形态变化(×40)

Figure 1 Metacercariae morphological changes under different condition

3 结论

离体的中华枝睾吸虫囊蚴由于失去了鱼肉蛋白、脂肪、体液等的保护,暴露于溶液中,对外界环境条件的变化更敏感。当其处于不利的环境条件

时,囊蚴的生命力减弱直至死亡。不同的介质对离体囊蚴的影响不同。

本研究采用的因素设置水平在其合理的使用范围内。从试验效果看,对微生物起较好抑制作用的化学保藏剂对中华枝睾吸虫囊蚴的致死效果微弱,消费者不能凭借在生食鱼肉制品时饮酒或使用醋、盐等调味品将其中感染的中华枝睾吸虫囊蚴杀死。为更好地保障消费者食用鱼片的安全性,其他的非热处理方式及其作用效果仍值得进一步去研究探讨。

参考文献

- [1] Kawanaka M. Investigation on the epidemiological factors of *Clonorchis sinensis* infection in an area of south China [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2005, 36 (5): 1114-1117.
- [2] Lun Z R, Gasser R B. Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China [C] // China Association for Science and Technology, Beijing: Proceedings of the Xixth International Congress of Zoology, 2005, 1 (5): 31-41.
- [3] 阮延清,黎学铭,张鸿满,等. 广西人体华支睾吸虫病流行现状分析与防治对策[J]. 热带病与寄生虫学, 2006, 4 (2): 71-74.
- [4] 王颖,顾其芳,周培君,等. 用正交试验分析肝吸虫囊蚴在不同二氧化氯浓度、酒精度、氯化钠浓度中的存活情况[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10 (1): 21-22.
- [5] ZHANG H M, Lee C H, LI S Y, et al. Lethal effect of ammonia on metacercariae of *Clonorchis sinensis* [J]. Parasitol Res, 2003, 90 (5): 421-422.
- [6] 孙秀琴,刘爱芹,苏晶,等. 超高压对肝吸虫囊蚴杀灭情况的研究初报[J]. 肉品卫生, 1996, 6 (4): 1-3.
- [7] 段芸芬,宋昌存,寿干城,等. γ 射线控制华支睾吸虫囊蚴感染性的效果[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1993, 11 (1): 48-49.
- [8] Lee S H. The effects of gamma irradiation on the survival and development of *Clonorchis sinensis* metacercariae [J]. Kisaeng-chunghak Chapchi, 1989, 27 (3): 187-195.

《华南预防医学》2013年征稿征订启事

《华南预防医学》于1960年创刊,是中华预防医学会系列杂志、中国科技核心期刊,由广东省疾病预防控制中心、中华预防医学会主办,是集学术性和实用性于一体的综合性预防医学学术期刊。国内外公开发刊,国际标准刊号ISSN 1671-5039,国内统一刊号CN 44-1550/R。本刊被中国科技论文统计源期刊、中国核心期刊(遴选)数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国期刊全文数据库来源期刊、中国生物医学文献数据库来源期刊,中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)来源期刊等数据库收录。

本刊设有专家论坛、述评、论著、综述、流行病学研究与调查、实验研究、检验技术、临床研究、卫生监督监测、卫生管理、工作交流、讲座、会议报道、信息等专栏。

《华南预防医学》杂志为双月刊,大16开100页,逢双月20日出版,自办发行,免收订户邮寄费。杂志订价:每期10元,全年60元。经广东省继续医学教育委员会批准(粤继医教[2008]12号文),本刊已经被列为广东省继续医学教育推荐教材。2013年本刊将举办继续医学教育项目——“食品安全”(Ⅱ类学分5分)。学员报名方法:即日起报名,截止日期2013年9月30日。收费标准:学费70元(已含全年杂志书费60元)。汇款时请注明“刊授报名”。

邮局汇款 地址:广东省广州市番禺区大石街群贤路160号,邮政编码:511430。

银行转帐 单位名称:广东省公共卫生研究院 开户行:工行广州市怡乐支行

帐号:3602088709200021474 联系电话:020-31051582 邮箱:hnyfyx@cdep.org.cn