

我国结膜吸吮线虫在中间宿主——变色纵眼果蝇体内发育过程的研究*

王增贤 杨兆莘

(安徽医科大学寄生虫学教研室,合肥 230032)

摘要 以结膜吸吮线虫产在家兔眼分泌物内的初产幼和解剖雌虫子宫内的幼虫,喂饲实验室繁殖的变色纵眼果蝇进行感染,证明了变色纵眼果蝇可作为我国结膜吸吮线虫的中间宿主。以终宿主眼分泌物中的初产幼喂饲感染果蝇,结果在感染后第 16 天,于存活的 11 只果蝇中,在 2 只雄蝇的口器和头部检出感染期幼虫 9 条。用取自雌虫体内的幼虫,平均每蝇 5 条幼虫的比例喂饲感染 608 只果蝇,结果检出阳性蝇 106 只,其感染率为 17.4%。并发现幼虫在果蝇体内发育主要侵入雄蝇睾丸外层组织和雌蝇的血腔壁形成“虫泡囊”,幼虫在囊内发育至腊肠幼虫 1 次皮,进入感染前期发育阶段,再行第 2 次蜕皮,而发育成感染期幼虫。发育速度与外界温度密切相关,当外界温度为 26.1—31.8℃,发育到感染期幼虫最早天数需要 17 天。

我国是世界上发现结膜吸吮线虫人体病例最早的国家(Stuckey, 1917; Trimble, 1917),据蒋则孝等(1991)人体病例最多的也是中国。但是,我国对该寄生虫的生活史尚不清楚,因而对此种寄生虫病的传播途径也未能阐明。我们在研究本虫生活史过程中,从安徽淮北地区捕获的变色纵眼果蝇(*Amiota variegata*),并从其蝇体内检出结膜吸吮线虫感染期幼虫,经犬、兔动物实验而获得结膜吸吮线虫成虫,因此证明变色纵眼果蝇可作为我国结膜吸吮线虫的中间宿主。此后,又以结膜吸吮线虫初产幼(newborn larvae)对变色纵眼果蝇进行感染性实验,并对幼虫在该种果蝇体内发育过程作了观察。

材料和方法

(一)实验室繁殖第二代变色纵眼果蝇

我们于 1990 年 6 月至 10 月,诱捕自然界的变色纵眼果蝇,带回实验室笼内饲养,将其繁殖出的该种果蝇幼虫,收集于另一专供其发育的蝇笼内,由蛹羽化出第二代变色纵眼果蝇,用作实验感染结膜吸吮线虫的观察。

(二)结膜吸吮线虫的虫源 从流行区家犬眼内采集结膜吸吮线虫雌、雄虫体,混合后移植

到 3 只家兔双眼内,每眼植入 20—30 条成虫,以提供实验虫源。

(三)感染果蝇和观察方法 取结膜吸吮线虫产于兔眼分泌物内的初产幼和解剖雌虫取其子宫及阴道内的幼虫,移入盛有生理盐水和果汁混合液的凹玻片中,置 24×15×15cm 的蝇笼内,笼外置潮湿黑布遮光,仅在放置有幼虫的凹玻片处留一小透光区,藉以吸引禁食长达 10 小时的变色纵眼果蝇,集中到凹玻片上取食幼虫。如此喂饲 5 小时以进行感染。随后定时进行检查果蝇,观察果蝇感染情况和幼虫在果蝇体内发育过程、形态学变化,并对实验获得的部分感染期幼虫,进行接种兔、犬眼的实验观察。

结果

(一)兔眼分泌物中结膜吸吮线虫初产幼对变色纵眼果蝇的感染性 于 1990 年 7 月用含初产幼的兔眼分泌物,进行感染实验室繁殖的变色纵眼果蝇 51 只,在感染后第 16 天解剖存活及当天死亡的 11 只果蝇,于 2 只雄性果蝇的头部

* 1. 本项研究是国家自然科学基金(83)生准字第 188 号资助项目,1989 年得到安徽省教委部分资助。2. 本工作得到五河县、卫生防疫站、韩锡鹏副主任医师、蒋勇、陈印相及李家泉同志协助,谨此致谢。

与口器内检出感染期幼虫计 9 条(头部 5 条,口器内 4 条)。由此证明终宿主眼分泌物中的初产蚴对变色纵眼果蝇具有易感性。同时表明本虫的中间宿主——变色纵眼果蝇是通过吞食终宿主眼分泌物内初产蚴而感染。

(二) 雌虫子宫内的幼虫对变色纵眼果蝇的感染性及外界气温对幼虫发育的影响 自 8 月 31—10 月 14 日先后以 10 条结膜吸吮线虫雌性成虫体内的幼虫,进行感染实验室繁殖的变色

纵眼果蝇 4 批,计 608 只。4 批的感染方法及饲养条件均基本相同,唯各批蝇所经历时期的气温各有差异。每批果蝇于感染后定期解剖检查,结果检出阳性果蝇 106 只,平均感染率为 17.4%,说明雌虫子宫内成熟幼虫与产于终宿主眼分泌物内初产蚴一样,对变色纵眼果蝇具有易感性。但是每批实验果蝇的感染率和在蝇体内发育成感染期幼虫所需的时间各有不同,结果见下表。

表 1 结膜吸吮线虫幼虫在变色纵眼果蝇体内发育与气温的关系

批号	感染日期 月/日	室 温 °C*		感染蝇数 (只)	阳性蝇数 (只)	阳性率 %	查见感染期幼虫 最早 大 数
		低温	高温				
1	8/31	26.1	31.8	329	30	9.12	17
2	9/10	23.4	29.7	86	46	53.49	14
3	9/21	19.3	25.4	70	12	17.14	19
4	10/14	10.3	15.3	123	18	14.60	50

* 自感染至果蝇头部或口器内查见感染期蚴期间,室内高、低温各自的平均摄氏温度。

从表 1 看到第 2 批果蝇感染率高达 53.49% 为最高,发育成感染期幼虫的时间为 14 天,也是 4 批中最早的 1 批,由此表明,该批果蝇感染后经历的温度 23.4—29.7°C,为本幼虫发育的适宜温度。而于 10 月份感染的果蝇在 10.3—15.3°C 条件下,其体内幼虫发育期长达 50 天。

(三) 本虫幼虫在中间宿主果蝇体内的发育过程 以第一批感染阳性果蝇体内幼虫发育的形态变化为主,阐述本虫在其中间宿主体内的发育过程:

1. 初产蚴脱鞘 于感染后 24 小时内,在 8 只果蝇消化道(胃部)见有脱去鞘膜的初产蚴 14 条。于感染后第 2—3 天剖检 5 只果蝇,未再见胃内有脱鞘幼虫,而在血腔内检出 8 条。同时还在 1 蝇的嗉囊内查见 2 条脱鞘幼虫,其大小与游离于血腔的幼虫相同,较原初产蚴增大约 1 倍,并失去原来的盘曲形态(图 1)。多数幼虫于第 3 天以后,陆续由附着而进入雄性果蝇睾丸外层组织和雌蝇血腔壁组织内,虫体开始变粗短并呈“C”样弯曲,其尾端较前变尖锐(图 2,3)。进入组织的幼虫,在肛外周出现由细小颗粒组成的泡状物(图 3)。

2. 腊肠期蚴 于感染 4 天以后见到幼虫进入果蝇睾丸外层组织和雌蝇血腔壁组织内,在虫体周围逐渐形成泡状囊,随着虫体发育泡状囊由小变大,由半球形变为圆球形,我们称此为“虫泡囊”(图 4,5)。半球形虫泡囊内幼虫仍呈“C”形,虫体显著变粗短,最宽处在肛门或略前方部位。而尾部变尖细,似刺状。幼虫内部结构隐约见到发育不全的消化道,但其末端相当于直肠部位呈明显的泡状膨大,在肛门处仍有一个向外膨出的泡状物(图 6,7)。于感染后第 6—8 天腊肠蚴开始进行蜕皮,所蜕的旧皮尚未脱离虫体(图 7)。

3. 感染前期幼虫 感染后第 9—10 天幼虫完成第一次蜕皮后虫体变成长柱状,消化道已具锥形,虫体尾端尖细刺状物消失而变为锥状突起(图 8)。于感染后第 11—12 天幼虫发育较快,虫体细长呈线状,消化道基本形成,体表环纹于高倍镜下已可察见,口囊较细小,虫体大小约 $1421 \times 93 \mu\text{m}$ (图 9)。感染后第 13 天虫体较前更细长,体表环纹和口囊较前清楚,口囊略呈方形,食道、肠管及神经环等结构已可见。幼虫开始第 2 次蜕皮,其旧皮仍有部分粘附于虫体,此时虫泡囊内的幼虫大小约为 $2244 \times 93 \mu\text{m}$ (图 10)。

4. 感染期幼虫(感染期蚴) 感染后第 14—

17天完成2次蜕皮的幼虫,发育成典型细长形,体表环纹和口囊较前更为清楚,消化道完整,食道球和肛门都清晰可见,食道后方虫体腹侧还可见生殖原基。虫体极为活跃,卷曲在虫泡囊内不停的活动,最后钻破虫泡囊而游离于果蝇血腔,然后经胸部、头部到达口器(图12)。经对到蝇头

部和口器内10条感染期幼虫的测量,大小为 $2524-3156 \times 91-98 \mu\text{m}$ (图11)。此外,在同批感染果蝇头部、口器内查见感染期幼虫的同时,仍能在果蝇睾丸外层及血腔壁的虫泡囊内检出腊肠期幼虫和感染前期幼虫,表明本虫的幼虫在中间宿主体内发育过程并非完全同步。

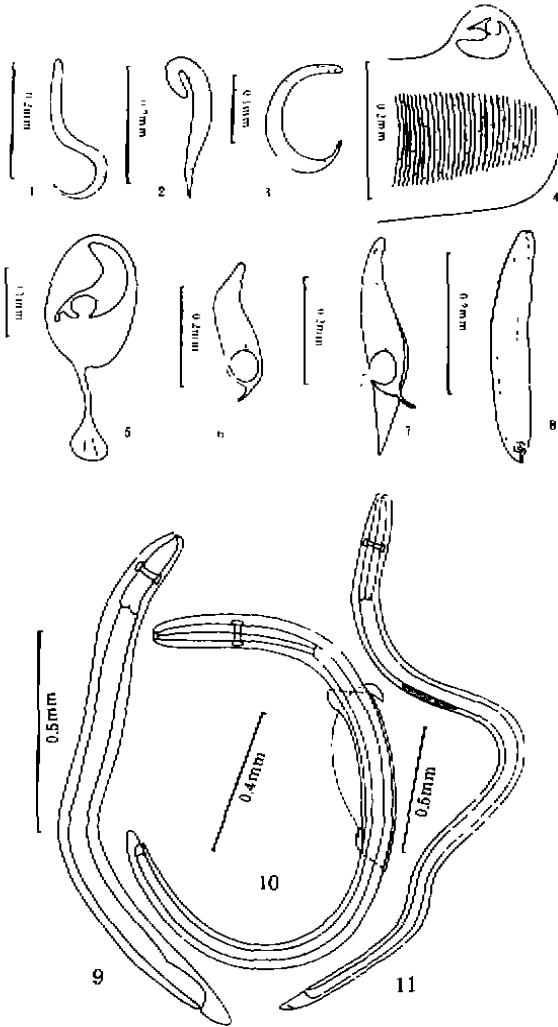


图1 脱上鞘膜的幼虫,游离于果蝇血腔内;图2 附着果蝇睾丸表面的幼虫;图3 进入果蝇睾丸外层组织不久的幼虫,肛门开始泡状物;图4 幼虫进入果蝇睾丸外层组织而形成“虫泡囊”;图5 幼虫进入雌蝇血腔壁组织,形成的“虫泡囊”;图6 “虫泡囊”内幼虫发育成粗短形状腊肠幼虫;图7 腊肠幼虫进行蜕皮,旧皮尚未离开虫体;图8 发育不久的感染前期幼虫,肛门的泡状物消失,尾端呈锥状突起;图9 发育中的感染前期幼虫,其消化道全部形成;图10 蜕皮的感染前期幼虫,部分旧皮仍粘附于虫体;图11 钻破“虫泡囊”之后的感染期幼虫,除消化道,还可见到生殖原基;图12 感染期幼虫移行抵达变色纵眼果蝇的头部和口器 $\times 40$

还观察到于10月份感染的果蝇,在室温下经过冬季至次年5月,检查存活蝇24只,于3只蝇的头部和口器内,检出感染期幼虫4条。表明

结膜吸吮线虫幼虫能在越冬果蝇体内存活。

自实验感染本虫的变色纵眼果蝇体内,先后取感染期幼虫68条,以其中50条接种3只幼犬

和 18 条接种 3 只家兔的左眼内,经隔离饲养 18—39 天,以冲洗法检查,于 3 只犬左眼检出童虫 4 条和成虫 12 条,计 16 条(♀4,♂12)。于兔左眼检获童虫 6 条和成虫 2 条,计 8 条(♀3,♂5)。在其中 1 犬于感染后 35 天,从其眼分泌物内检出成虫产下的初产幼。犬、兔右侧对照眼全部阴性。

讨 论

关于我国结膜吸吮线虫的中间宿主问题,一直是寄生虫学界长期关注而未解决的问题。国内有些报告认为结膜吸吮线虫的中间宿主是家蝇(光化县人民医院五官科等,1976;单庆祝,1988)。我们为了研究本虫生活史,也曾从 2 万余只家蝇体内检出大量线虫丝状幼,先后以其中 220 条对 3 只犬和 13 只家兔眼内接种,结果全未成功。同时将其丝状幼与结膜吸吮线虫童虫作形态学比较观察,二者差异较大。表明家蝇体内的线虫幼虫不是结膜吸吮线虫。此后,扩大蝇种调查对象,终于从变色纵眼果蝇体内检出结膜吸吮线虫感染期幼虫,经动物实验获得成功。由此证明,结膜吸吮线虫在我国的中间宿主和日本、苏联的报告相同,也是变色纵眼果蝇而不是家蝇。

关于本虫在中间宿主体内发育过程中,在虫体周围形成“虫泡囊”,这与日本的 Nagata (1960)报告幼虫侵入果蝇睾丸,在其表面形成瘤状物基本一致。Christopher (1982)报告以牛为终宿主的大口吸吮线虫(*Thelazia gulosa*)在秋家蝇(*Musca autumnalis*)体内发育,于感染后第 3 天所有活的幼虫见于附着在蝇体壁的囊内,而死的无虫囊的幼虫,游离在血体腔。我们在对感染结膜吸吮线虫的变色纵眼果蝇观察中,见到发育中的幼虫均在“虫泡囊”内。从而认为“虫泡囊”是本虫幼虫在中间宿主体内发育所必要的生理条件。至于囊的形成机理尚有待研究。

本虫在果蝇体内发育的速度与外界温度有密切关系。本次实验观察,当温度在 19.3—31.8℃都可感染果蝇,而 23.4—29.7℃时感染率最高,幼虫发育最快,为较适宜的温度。这与我

们对安徽淮北流行区幼犬感染本虫的调查发现传播季节为 5—10 月,高峰季节为 6—9 月的情况基本一致。当温度在 10.3—15.3℃时,本虫虽可感染该种果蝇,但幼虫在果蝇体内发育缓慢,形成感染期幼虫至少需要 50 天。在 10 月份实验感染的果蝇于次年 5 月,剖检其经过越冬存活的果蝇时仍能检出本虫的感染期幼虫,证明前一年感染的幼虫能在越冬果蝇体内存活。提示感染本虫的越冬果蝇仍有传播此种寄生虫病的可能。

本次研究结果,有力证明变色纵眼果蝇可作为我国结膜吸吮线虫的中间宿主,它通过吞食含初产幼的终宿主眼分泌物而感染。本虫幼虫于果蝇睾丸表层组织和雌蝇血腔壁形成虫泡囊,在囊内发育为感染期幼虫。此后它冲破虫泡囊,移行抵达果蝇口器,当变色纵眼果蝇再次飞到终宿主眼部取食时,感染期幼虫即从果蝇口器进入终宿主眼结膜囊,经 35 天发育成虫,由此完成它的全部生活史。

参 考 文 献

- 1 王增贤 杨兆莘 1990 变色纵眼果蝇为结膜吸吮线虫中间宿主在我国的发现 安徽医科大学学报 24(4):31K.
- 2 王增贤 杨兆莘 1985 结膜吸吮线虫生物学特征及对家兔致病性的实验观察 寄生虫学与寄生虫病杂志 3(2):128—130.
- 3 王增贤 杨兆莘 1992 结膜吸吮线虫终宿主调查和实验动物宿主的研究 中国人兽共患病杂志 8(6):33—34.
- 4 光化县人民医院五官科等 1976 光化县结膜吸吮线虫病调查报告 武汉医学院学报(4):18—22.
- 5 单庆祝 1988 山东曲阜结膜吸吮线虫病 7 例报告 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 6(1):56.
- 6 蒋则孝等 1991 我国人体结膜吸吮线虫病 中国寄生虫病防治杂志 4(1):48—51.
- 7 Christopher, J. G. et al 1982 Development of Thebovine eye-worm, *Thelazia gulosa* (Railliet and Henry), In experimentally infected, Female *Musca autumnalis* De Geer J. Parasitol 68 (2):287—293
- 8 Kozlov, D. P., The life cycle of the nematode, *Thelazia callipaeda* parasitic in the eye of man and carnivores. Dokl Akad Nauk SSSR 1962, 142:732—733.
- 9 Nagata, R., 1960 The discovery of an "Eye-worm", *Thelazia callipaeda* Railliet and Henry in Japan and its distribution. X. Its life history Jap. J. Vet. Sci 22:475.

**STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF
THELAZIA CALLIPAEDA LARVAE
IN THE INTERMEDIATE HOST *AMIOTA VARIEGATA* IN CHINA**

WANG Zengxian YANG Zhaoxin

(Department of Parasitology, Anhui medical University, Hefei 230032)

ABSTRACT The newborn larvae of *Thelazia callipaeda* were collected from the rabbit's eyes of experimental infected with *T. callipaeda* adults or from the uteri of the adult worms by dissection. The newborn larvae were fed to laboratory-reared *Amiota variegata* in experimental infection.

11 *A. variegata* were fed the newborn larvae collected from rabbit's eyes. Of these, 2 *A. variegata* infected with infective larvae of *T. callipaeda* were found on the 16th day. 106 (17.4%), within 608 *A. variegata* which were fed the newborn larvae collected from uteri of *T. callipaeda* adults, were successfully parasitized.

Development of *T. callipaeda* larva was observed in experimentally infected *A. variegata*. Newborn larvae shed their sheath in the first day in the stomach of *A. variegata*, after which they penetrated the alimentary tract and reached the hemocoel of *A. variegata*. Most of the larvae entered into the testis of male *A. variegata* and the wall of hemocoel of female. Developing larvae were always found in the capsules located in tissues of *A. variegata*. The developmental process of *T. callipaeda* larvae in *A. variegata* included three successive stages, namely, sausage stage (sausage-shaped larva), pre-infective stage and infective stage. There was a molt of cuticle between the two stages. The infective larvae migrated through the hemocoel to the head and proboscis of *A. variegata*. The growth rate of *T. callipaeda* larvae was closely related to the seasonal change of temperature. In the body of *A. variegata*, newborn larva of *T. callipaeda* required 17 days for developing into the infective stage under the condition of 26.1—31.8°C.