

文章编号:1002-2694(2009)12-1129-06

日本血吸虫幼虫在钉螺及感染外睾 吸虫钉螺发育的比较 *

唐崇惕¹, 卢明科¹, 郭 跃¹, 陈 东²

摘要:湖北钉螺先感染外睾吸虫后再感染日本血吸虫,血吸虫幼虫在其体内被击杀(唐崇惕等,2008;2009),本文用日本血吸虫毛蚴分别接触已感染外睾吸虫21d的钉螺和阴性钉螺,观察血吸虫幼虫在此2组实验钉螺体内发育情况。从感染外睾吸虫钉螺再感染血吸虫的28个(73.7%)阳性螺,查获4~82d血吸虫幼虫共300条(侵入率26.74%),全部虫体结构异常停留在早期母胞蚴阶段。从单独感染血吸虫的25粒(69.4%)阳性螺,查获5~61d正常血吸虫母胞蚴67条(侵入率13.96%)和许多不同发育期子胞蚴,感染后75d阳性螺含血吸虫成熟子胞蚴和尾蚴。单独感染血吸虫钉螺的血淋巴细胞增生情况与双重感染外睾吸虫和血吸虫的钉螺存在差异。

关键词:湖北钉螺;外睾类吸虫;生物控制;日本血吸虫幼虫;发育异常

中图分类号:R383.3 文献标识码:A

Comparison between the developments of larval *Schistosoma japonicum* in *Oncocelania hupensis* with and without pre-infection by larval *Exorchis*

TANG Chong-ti¹, LU Min-ke¹, GUO Yue¹, CHEN Dong²

(1. Parasitology Research Laboratory, Xiamen University, Xiamen 361005, China;
2. Synthetic Bio-manufacturing Center, Utah State University, Logan, Utah 84341, USA)

ABSTRACT: Larvae of *Schistosoma japonicum* could be blocked in *Oncocelania hupensis* with pre-infection by larval *Exorchis* trematodes (Tang et al., 2008, 2009). The present manuscript reports the result of comparison between the two different developments of larval *S. japonicum* in *O. hupensis* snails with and without pre-infection by larval *Exorchis* trematodes. Of 300 (invader rate 26.74%) abnormal larvae of *S. japonicum* for 4-82 days old were found from 28 (73.7%) *O. hupensis* snails which were pre-infected with *Exorchis* eggs, their body structure were unusual and developed astray at early mother sporocyst stage. From 25 (69.4%) *O. hupensis* snails without pre-infection by larval *Exorchis*, 67 (invader rate 13.96%) normal mother sporocysts of *S. japonicum* for 5-61 days old in different development stages and many early or middle stage daughter sporocysts were found, in the 75th day after infection many mature daughter sporocysts and cercariae of *S. japonicum* were found. Different increase of lymphocyte in body tissues of snails were found from the two experimental *O. hupensis* snail groups.

KEY WORDS: *Oncocelania hupensis*; *Exorchis* trematodes; biological control; larval *Schistosoma japonicum*; dysplasia

所有吸虫生活史都需要某些贝类作为中间宿主进行其无性生殖幼虫期发育。诸多学者在各自然环境中常见到1种贝类是数种吸虫的中间宿主,但该贝类的每一个体通常只存在1种吸虫各期幼虫的现象,作为日本血吸虫病媒介的湖北钉螺(*Oncocelania hupensis*)也是这样情况^[1,3,5,7]。作者曾人工试验证实,钉螺吞食了鮰鱼(*Parasilurus asotus*)肠道外睾类吸虫(*Exorchis*)的虫卵后数天再感染日本血吸虫毛蚴,血吸虫幼虫在其体内受攻击不能发育^[1,11]。这试验结果说明自然界中1个贝类体只存在1种吸虫各期幼虫不都是偶然现象,而是有某些

复杂的科学规律在螺体中支配。这一问题的深入研究在生命科学理论方面及吸虫类病害贝类媒介生物控制应用上均具有重要意义。

为了要进一步深入探讨上述的科学问题,作者

*国家科学技术部863项目(No.2006AA2Z407)、国家自然科学基金项目(No.30872200)及福建省科技创新平台建设项目(No.2008N2005)联合资助

通讯作者:唐崇惕,Email:cctang@xmu.edu.cn

陈东,Email:donge@cc.usu.edu

作者单位:1.厦门大学寄生动物研究室,厦门 361005;

2. Synthetic Bio-manufacturing Center, Utah State University, Logan, Utah 84341, USA

想在同样条件下比较观察外睾吸虫阳性钉螺再感染日本血吸虫和阴性钉螺单独感染日本血吸虫这2组实验钉螺体内,螺体血淋巴细胞出现情况及血吸虫幼虫各期发育情况。结果显示:单独感染日本血吸虫的钉螺血淋巴细胞无明显增加,血吸虫幼虫期发育正常,75d左右出现成熟尾蚴。而外睾吸虫阳性钉螺再感染血吸虫,螺体内血淋巴细胞增生显著,血吸虫幼虫结构异常,时间长达82d仍不能发育。现报告如下。

1 材料与方法

人工感染的日本血吸虫阳性小白鼠预先饲养在实验室中,准备随时可获取血吸虫成熟虫卵孵化毛蚴。2006年12月在湖南省汉寿县西洞庭湖区收集湖北钉螺和鲶鱼肠内的外睾吸虫,12月末在现场把从外睾吸虫子宫剔出的虫卵搅拌一些面粉后饲食约2000个钉螺,它们和另外2000多个阴性钉螺一起被带回厦门,在室温25~30℃实验室内饲养。单独感染外睾吸虫的实验钉螺,部分经切片检查,阳性率达96%(157/163),均出现血淋巴细胞增生^[1]。38个已感染外睾吸虫21d的阳性钉螺作日本血吸虫的再次感染,每螺各放在含40条血吸虫毛蚴小皿水中3h,在血吸虫感染后3~82d中分批用10%福尔马林溶液固定;36个单独感染日本血吸虫的钉螺,每螺各放在含20条血吸虫毛蚴小皿水中3h;感染后3~75d中亦分批用10%福尔马林溶液固定。所有固定钉螺作石蜡连续切片染色制片,显微镜检查所有切片断面;观察查到的全部血吸虫幼虫的结构,计数,数码相机拍照并储存。2组实验钉螺经切片观察,均无其它吸虫幼虫天然感染。

2 结果

2.1 日本血吸虫幼虫感染钉螺及外睾吸虫阳性钉螺的感染率比较 钉螺单独感染日本血吸虫(20条毛蚴/1只螺)其感染率为69.4%(25/36);外睾吸虫阳性钉螺再感染日本血吸虫(40条毛蚴/1只螺)其血吸虫感染率为73.7%(28/38)(见表1)。外睾吸虫阳性钉螺感染血吸虫毛蚴数比钉螺单独感染血吸虫多一倍,感染率只比其高4.3%。

2.2 天然钉螺及外睾吸虫阳性钉螺日本血吸虫幼虫感染强度的比较 单独感染日本血吸虫的25个阳性钉螺,每个接触血吸虫毛蚴20条共500条;感染后75d的1个阳性螺已全部充满血吸虫成熟子胞蚴,无以计算母胞蚴数;从24个感染后3~61d的螺体内共检出血吸虫母胞蚴67条,见表1,侵入率为13.96%(67/480)。已感染外睾吸虫21d的钉螺再感染血吸虫,在感染后3~82d查获28个血吸虫阳

性钉螺,每螺接触血吸虫毛蚴40条共1120条;从28个血吸虫阳性螺体内检出异常小虫体300条,见表1,侵入率为26.74%(300/1120),说明相当部分血吸虫毛蚴能穿钻过已感染外睾吸虫21d的阳性钉螺体表,并侵入到其体内。

2.3 日本血吸虫幼虫感染钉螺及外睾吸虫阳性钉螺后发育的比较 钉螺单独感染日本血吸虫后3~75d,查到虫体均发育正常,经过早期幼虫、各期母胞蚴、游走在钉螺体内各部位早、中期子胞蚴,子胞蚴成熟生出大量尾蚴(见表1及图1-12)。它们切片标本大小如下:3d虫体34~39×23~29μm(平均36×25μm);5d虫体44~57×31~33×m(51×33μm)(图1);7d早期母胞蚴47~65×29~36μm(56×33μm)(图2);10~19d早中期母胞蚴52~307×34~70μm(167×57μm)(图3-4);29~35d中期母胞蚴195~312×39~65μm(248×50μm)(图5-6);37d后期母胞蚴260~312×57~73μm(286×65μm);41d成熟母胞蚴351~572×57~78μm(460×68μm);47~49d成熟母胞蚴169~450×52~86μm(403×52μm)(图7),它们产出的早、中期子胞蚴36~150×20~31μm(90×25μm);55~60d母胞蚴385~416×60~65μm(395×62μm),从其产出的大量早、中期子胞蚴65~186×26~29μm(111×27μm)分散在螺体所有部位(图8-10);61d母胞蚴残体299~455×26~32μm(399×39μm),螺体各部均有许多中、后期子胞蚴52~246×16~31μm(210×22μm);75d实验螺充满成熟子胞蚴300~3000×33~38μm(1000×36μm)含有尾蚴(图11-12)。

已感染21d的外睾吸虫阳性钉螺再感染日本血吸虫,感染后3~82d查到血吸虫幼虫300条,始终处于早期幼虫及小母胞蚴阶段,虫体结构及体内胚球细胞变异(见表1及图13-21)。它们的状况如下:4~5d的异常虫体内含有特殊的红团块及小颗粒(图13-14);4d异常虫体29~57×18~39μm(平均40×26μm);5d异常虫体23~54×16~39μm(43×22μm)。7~8d异常虫体26~36×13~23μm(33×19μm)(图15-16);10~12d异常早期母胞蚴20~53×18~34μm(37×26μm)(图17);21d异常早期母胞蚴23~56×13~18μm(41×15μm);38d异常早期母胞蚴20~57×16~34μm(40×27μm)(图18);41d异常早期母胞蚴57~169×5~60μm(116×30μm)(图19);52d异常早期母胞蚴99~143×60~65μm(117×63μm)(图20);82d异常虫体130~221×26~117μm(164×67μm)(图21),只有正常血吸虫约10d早期母胞蚴的大小。

表 1 日本血吸虫毛蚴分别感染阴性钉螺与已感染外睾吸虫钉螺的结果

Table 1 Respective results of Schistosoma japonicum miracidia infecting to Oncomelania hupensis with and without pre-infection by Exorchis

| 钉螺单独感染血吸虫毛蚴 (20 条/1 只螺) (<i>O. hupensis</i> singly infected by <i>S. japonicum</i> miracidia) (20 miracidia/1 snail) | | | 钉螺感染外睾吸虫后 21d 再感染血吸虫毛蚴(40 条/1 只螺) (<i>S. japonicum</i> miracidia infecting <i>O. hupensis</i> pre-infected by <i>Exorchis</i> for 21d) (40 miracidia/1 snail) | | |
|--|---|---|---|--|---|
| 感染后天数 (days after Infection) (d) | 感染率 (阳性数/检查螺数) (Infect rate) % (Positive No. / examine No.) | 血吸虫母胞蚴数 (No. of <i>Sj</i> Mos) (母胞蚴平均数) (Ave of Mos) (幼虫情况) (Con of Lar) | 感染血吸虫后天数 (The days after <i>Sj</i> infection) (d) | 血吸虫感染率 (阳性数/检查螺数) (<i>Sj</i> Infect rate) % (Positive No. / examine No.) | 血吸虫幼虫数 (No. of <i>Sj</i> Lar) (平均幼虫数) (Av of Lar) (幼虫情况) (Con of Lar) |
| 3-7 | 100 % (5 / 5) | 6 (1.2) (早期幼虫) (Early Lar) | 3-8 | 90.9 % (10 / 11) 9 (2.3) | 95 (9.5) (异常幼虫) (Abnormal Lar) |
| 11-19 | 50 % (4 / 8) | 9 (2.3) (早期母胞蚴) (Early Mos) | 12-16 | 40.0 % (2 / 5) 11 (3.7) | 3 (1.5) (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |
| 23-29 | 75 % (3 / 4) | 11 (3.7) (早、中期母胞蚴) (Early & middle stage Mos) | 21-27 | 50.0 % (3 / 6) 23 (4.6) | 22 (7.3) (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |
| 31-37 | 71.4 % (5 / 7) | 23 (4.6) (后期母胞蚴) (Later stage Mos) | 33-39 | 70.0 % (7 / 10) 16 (2.7) | 105 (15.0) (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |
| 41-59 | (6 / 8) 75 % | 16 (2.7) (成熟母胞蚴、其 残体, 及子胞蚴) (Mature Mos, its Ob, and Das) 2 (2) | 40-59 | 100.0 % (4 / 4) 66 (16.5) | (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |
| 61-75 | 50 % (2 / 4) | 66 (16.5) (母胞蚴残体, 子胞 蚴和尾蚴) (Mos Ob, Das and Cer) | 60-82 | 100.0 % (2 / 2) 9 (4.5) | (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |
| 3-75 共计 (Total) | 69.4 % (25 / 36) | 9 (4.5) 67 (2.8) (母胞蚴、子胞蚴及尾蚴) (Mos, Das and Cer) | 3-82 共计 (Total) | 300 (10.7) 73.68 % (28 / 38) | (异常小母胞蚴) (Abnormal small Mos) |

表中简写英文注解:Ave 平均数;Ob 残体;Cer 尾蚴;Con 情况;Das 子胞蚴;Lar 幼虫;Mos 母胞蚴;No. 数目;Sj 日本血吸虫。

2.4 钉螺及外睾吸虫阳性钉螺感染日本血吸虫幼虫后体内血淋巴细胞增生的比较 软体动物螺类亦有血淋巴细胞。经组织切片检查, 外睾吸虫阳性钉螺体有出现血淋巴细胞大量增加的现象, 而阴性钉螺组织中血淋巴细胞数量极少^[2,11]。本试验比较观察了天然钉螺和已感染外睾吸虫 21d 钉螺分别感染日本血吸虫幼虫后体内血淋巴细胞数量状况。结果: 单独感染日本血吸虫的钉螺血淋巴细胞无明显增生现象, 在螺体各器官组织的不同形状小细胞核中只夹有很少数圆形血淋巴细胞核(图 1-12)。而在外睾吸虫阳性钉螺再感染血吸虫的所有实验螺中

均能见到增生的血淋巴细胞(图 13-21, 短箭头)。增生的血淋巴细胞核均呈圆球状, 有大、中、小三种, 以中等大的数量最多。

3 讨论

生殖类(Digenea)吸虫需要贝类作为它们生活史幼虫期无性生殖世代的中间宿主。一种贝类个体通常都只有一种吸虫幼虫期, 及两种吸虫幼虫在一螺体具有对抗现象经诸多学者所见^[1,3,5-10], 作者通过试验在外睾吸虫阳性钉螺体内查获到被攻击致残的日本血吸虫幼虫^[1,11]。本文亦证实侵入外睾吸虫阳性钉螺的血吸虫幼虫都被攻击致不能发育。

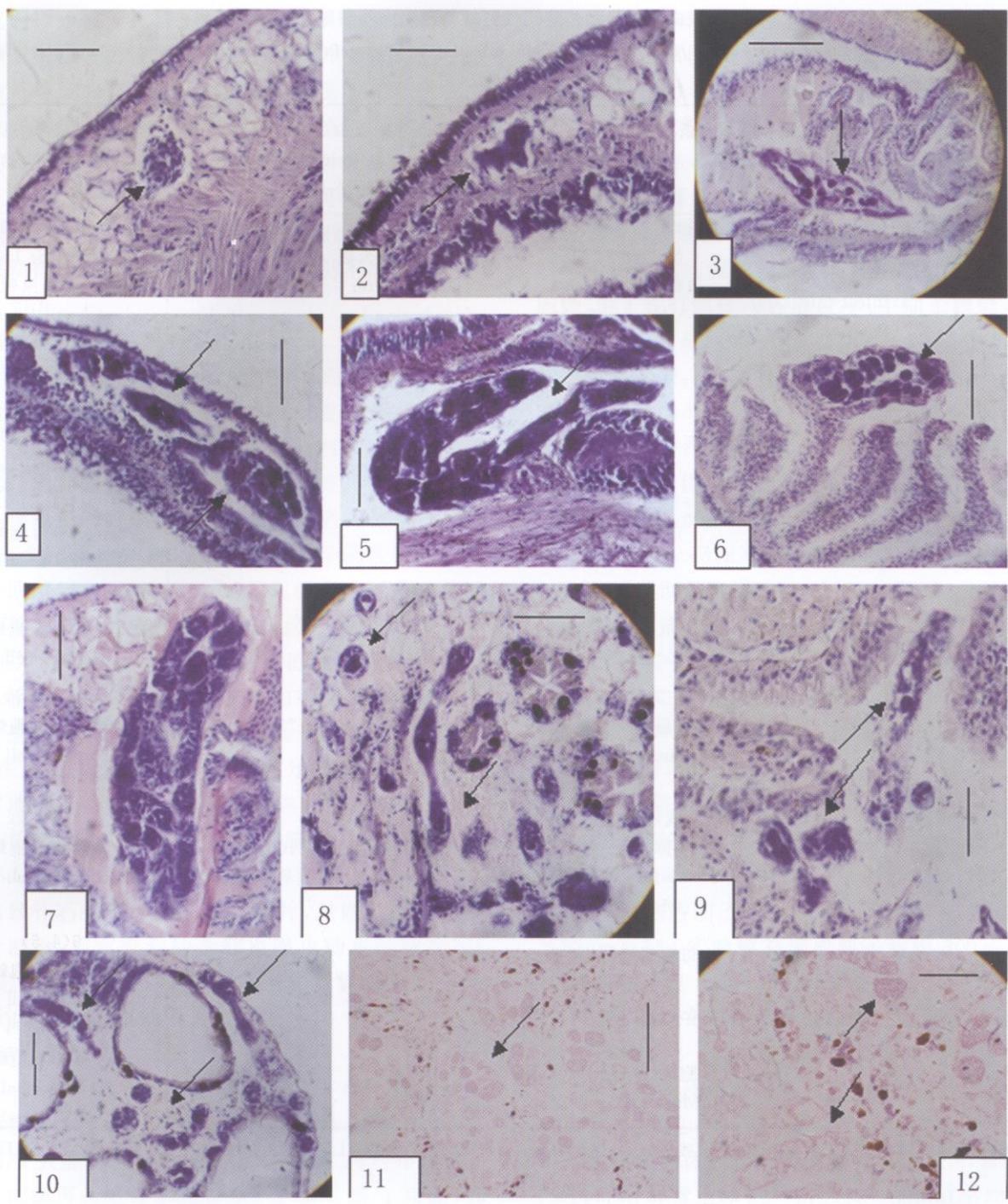


图 1-12 在单独感染日本血吸虫毛蚴的钉螺体内发育正常的血吸虫各幼虫期

Fig. 1-12 Normal larval S. japonicum of different development stages in O. hupensis infected singly with S. japonicum miracidia

图 1 5d 的日本血吸虫幼虫(箭矢)(scale bar = 0.04mm)

Fig. 1 5 days old larva (arrow) of S. japonicum

图 2 7d 的日本血吸虫早期母胞蚴(箭矢)(scale bar = 0.05mm)

Fig. 2 7 days old early mother sporocyst (arrow) of S. japonicum

图 3 10d 的日本血吸虫早期母胞蚴(箭矢)(scale bar = 0.09mm)

Fig. 3 10 days old middle stage mother sporocyst (arrow) of S. japonicum

图 4 19d 的日本血吸虫中期母胞蚴(箭矢)(scale bar = 0.05mm)

Fig. 4 19 days old middle stage mother sporocyst (arrow) of S. japonicum

图 5 29d 的日本血吸虫后期母胞蚴(箭矢)(scale bar = 0.04mm)

Fig. 5 29 days old later stage mother sporocyst (arrow) of S. japonicum

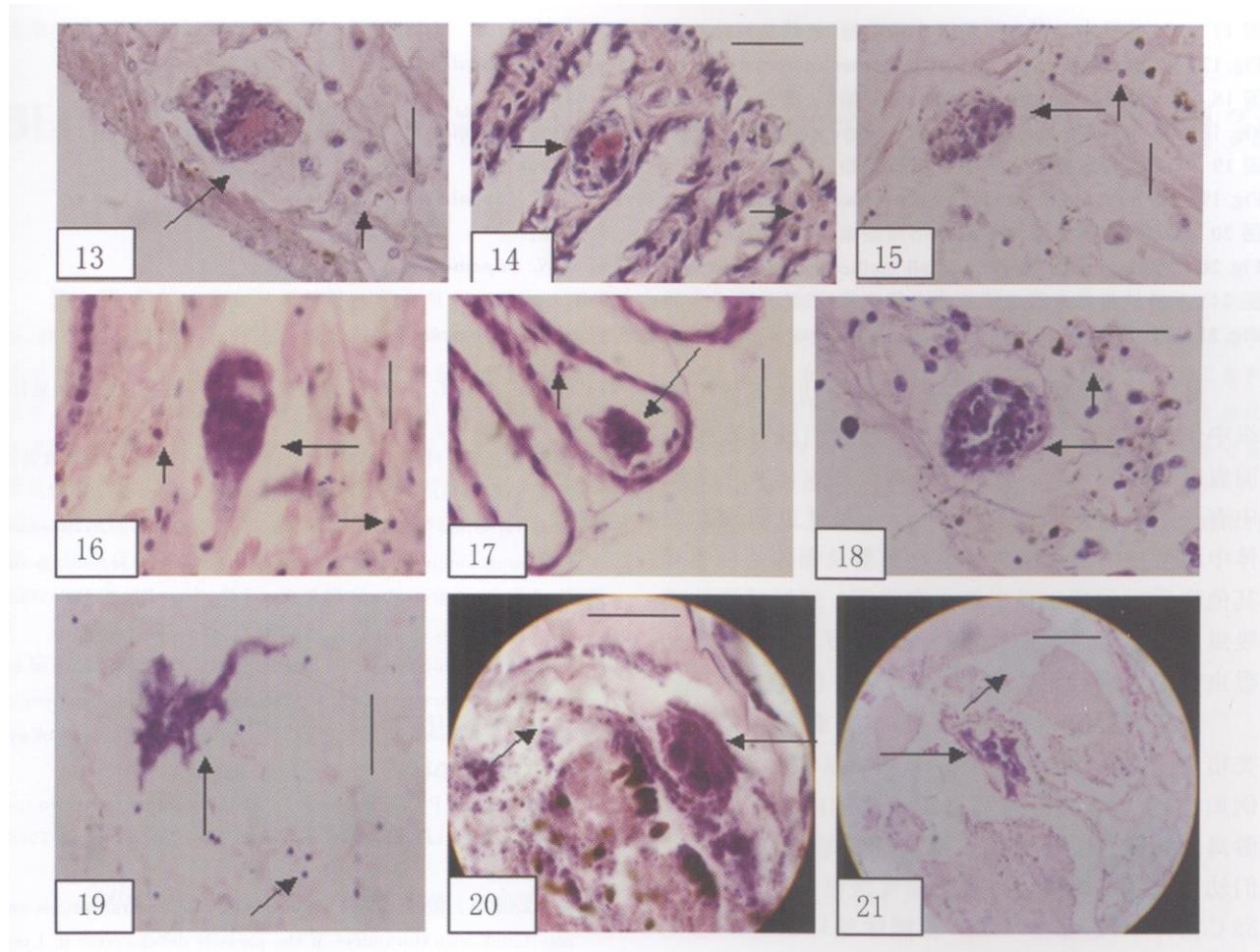


图 6 35d 的日本血吸虫中期母胞蚴(箭矢)在螺鳃丝中(slide bar = 0.05mm)

Fig. 6 35 days old middle stage mother sporocyst (arrow) of *S. japonicum*

图 7 49d 的日本血吸虫成熟母胞蚴(箭矢)(slide bar = 0.06mm)

Fig. 7 49 days old mature mother sporocyst (arrow) of *S. japonicum*

图 8 感染后 57d 的日本血吸虫早、中期子胞蚴(箭矢)(slide bar = 0.06mm)

Fig. 8 Early and middle stage daughter sporocysts (arrow) of *S. japonicum* in 57th day after infection

图 9 感染后 59d 的日本血吸虫早、中期子胞蚴(箭矢)(slide bar = 0.05mm)

Fig. 9 Early and middle stage daughter sporocysts (arrow) of *S. japonicum* in 59th day after infection

图 10 感染后 61d 的日本血吸虫早、中期子胞蚴(箭矢)(slide bar = 0.05mm)

Fig. 10 Early and middle stage daughter sporocyst (arrow) of *S. japonicum* in 61st day after infection

图 11 感染后 75d 的日本血吸虫成熟子胞蚴(箭矢)(slide bar = 0.05mm)

Fig. 11 Mature daughter sporocysts (arrow) of *S. japonicum* in 75th day post-infection

图 12 感染后 75d 的日本血吸虫成熟子胞蚴及尾蚴(箭矢)(slide bar = 0.05mm)

Fig. 12 Mature daughter sporocysts and cercariae (arrow) of *S. japonicum* in 75th day post-infection

图 13 21d 在外睾吸虫阳性钉螺体内发育的日本血吸虫各时间的不正常幼虫(长箭矢)及螺体组织中增生的血淋巴细胞(短箭矢)

Fig. 13 21d Abnormal larval *S. japonicum* for different days old (longer arrow) in *O. hupensis* snails which were pre-infected with the eggs of *Exorhynchus trematode*, and the increase of lymphocytes (shorter arrow) in the tissue of snail bodies

图 13 4d 的日本血吸虫不正常幼虫(长箭矢)(slide bar = 0.02mm)

Fig. 13 4 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 14 5d 的日本血吸虫不正常幼虫(长箭矢)(slide bar = 0.02mm)

Fig. 14 (5 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 15 7d 的日本血吸虫不正常幼虫(长箭矢)(slide bar = 0.02mm)

Fig. 15 7 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 16 8d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(slide bar = 0.014mm)

Fig. 16 8 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

图 17 12d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(scale bar = 0.01mm)

Fig. 17 12 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

图 18 38d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(scale bar = 0.02mm)

Fig. 18 38 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

图 19 41d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(scale bar = 0.015mm)

Fig. 19 41 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

图 20 52d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(scale bar = 0.1mm)

Fig. 20 52 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

图 21 82d 的日本血吸虫不正常小母胞蚴(长箭矢)(scale bar = 0.07mm)

Fig. 21 82 days old abnormal small mother sporocyst (longer arrow) of *S. japonicum*

外睾吸虫阳性钉螺再感染血吸虫幼虫其体内组织中仍然有增加的血淋巴细胞,但它们没有直接包围血吸虫幼虫(图 13 - 21),只有个别虫体所在空腔中有少数血淋巴细胞(图 19)。外睾吸虫阳性钉螺体中增生血淋巴细胞的种类和数量及螺体是否还有其他物质对致残血吸虫幼虫有作用?钉螺感染外睾吸虫后再感染血吸虫的间隔时间长短与螺体击杀血吸虫能力大小有无关系?均有待进一步观察。

外睾属吸虫(*Exorchis* spp.)生活史及其与贝类宿主间关系都比较奇特,未见于其他种类吸虫。例如:外睾类吸虫毛蚴在贝类宿主体内会产生大量游离的胚细胞由螺循环系统输送到螺体各部位;它们幼虫期在螺体内发育时间非常缓慢,在室温 25~35 条件下,感染后 103d,在螺体循环系统中还见到虫体胚细胞和只有 3~12 个细胞的雷蚴胚体,感染后 7 个月才有尾蚴产出;外睾吸虫阳性钉螺长时间存在增生的血淋巴细胞及一些特殊分泌物^[1-2,4,11]。这些特性均与血吸虫等其他吸虫不同,这与外睾吸虫阳性钉螺能强烈攻击再侵入的血吸虫幼虫是否有关,亦有待深入研究。这些情况的了解,对认识外睾吸虫生物控制钉螺抑制血吸虫的机理和应用实施,可能会有所帮助。

(在野外采集工作期间,得到湖南省汉寿县畜牧水产局彭晋勇副局长给予的很多帮助,在此致以衷心的感谢!)

参考文献:

- [1] 唐崇惕,彭晋勇,陈东,等.湖南洞庭湖钉螺血吸虫病原生物控制资源调查及感染试验[J].中国人兽共患病学报,2008,24(8):689-695.
- [2] 唐崇惕,舒利民.外睾吸虫幼虫期的早期发育及贝类宿主淋巴细胞的反应[J].动物学报,2000,46(4):457-463.

[3] 唐崇惕,唐仲璋.中国吸虫学[M].福州:福建科学技术出版社,2005:298-822.

[4] 唐崇惕,王云.叶巢外睾吸虫幼虫期在湖北钉螺体内的发育及生活史的研究[J].寄生虫与医学昆虫学报,1997,4(2):83-87.

[5] Hata H, Orido Y, Yokogawa M, et al. *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus ohirai*: Antagonism between *S. japonicum* and *P. ohirai* in *Oncomelania nosophora* [J]. Exp Parasitol., 1988, 65(1):125-130.

[6] Jourdane J, Mounkassa JB, Imbert-Establet D. Influence of intramolluscan larval stage of *Echinostoma liei* on the infectivity of *Schistosoma mansoni* cercaria [J]. Journal of Helminthology, 1989, 64(1):71-74.

[7] Lie KJ, Basch PF, Umathevy T. Antagonism between two species of larval trematodes in the same snail [J]. Nature, 1965, 206:422.

[8] Moukrim A, Rondelaud D. Chronology of visceral lesions and correlation with the course of the parasite development in *Lymnaea truncata* in single and dual infections by three trematode species [J]. Research and Reviews in Parasitology, 1993, 53(1-2):39-45.

[9] Noda S, Loker ES. Phagocytic activity of hemocytes of M-line *Biomphalaria glabrata* snails: effect of exposure to the trematode *Echinostoma parvum* [J]. Journal of Parasitology, 1989, 75(2):261-269.

[10] Sasaki Y, Furuta E, Kirinoki M, et al. Comparative studies on the internal defense system of schistosome resistant and susceptible amphibious snail *Oncomelania nosophora*. 1. Comparative morphological and functional studies on hemocytes from both snail [J]. Zoological Science, 2003, 20(10):1215-1222.

[11] Tang CT(唐崇惕), Lu MK, Chen D, et al. Development of larval *Schistosoma japonicum* was blocked in *Oncomelania hupensis* by pre-infection with larval *Exorchis* sp. [J]. Journal of Parasitology, 2009, 95(6):2055.1. Volume preprint DOI: 10.1645/Ge-2055.1

收稿日期:2009-09-05;修回日期:2009-09-29