

文章编号: 1002-2694(2010)11-0989-06

日本血吸虫幼虫在先感染外睾吸虫后不同时间钉螺体内被生物控制效果的比较*

唐崇惕¹, 卢明科¹, 郭跃¹, 王逸难¹, 陈东^{1,2}

摘要: 前此实验显示: 21d 外睾吸虫阳性钉螺能使再侵入的全部血吸虫幼虫发育停留在异常早期母胞蚴阶段^[1-3]。本文实验比较观察了感染外睾吸虫后不同时间(21d、35d、55d、70d 及 85d)的钉螺对再侵入的日本血吸虫幼虫生物控制的情况, 发现外睾吸虫和血吸虫双重感染的钉螺, 两者间隔时间愈长, 后侵入的血吸虫幼虫被击毁程度愈强(图 1-20); 不同间隔时间双重感染的各组实验钉螺, 血吸虫幼虫感染率及幼虫侵入率如下: 间隔 21d, 75% (39/52) 和 25.5% (398/1560); 间隔 37d, 77.8% (21/27) 和 35.6% (299/840); 间隔 55d, 44.4% (8/18) 和 11.9% (19/160); 间隔 70d, 100% (15/15) 和 10.6% (143/1350); 间隔 85d, 43.3% (13/30) 和 5.8% (66/1140)。

关键词: 日本血吸虫幼虫; 湖北钉螺; 外睾吸虫; 发育异常; 生物控制效果

中图分类号: R383.3 文献标识码: A

Comparison among the bio-control effects on larval *Schistosoma japonicum* in *Oncomelania hupensis* with pre infection by larval *Exorchis* trematodes at different intervals

TANG Chong-ti¹, LU Ming-ke¹, GUO Yue¹, WANG Yi-nan¹, CHEN Dong^{1,2}

(1. Parasitology Research Laboratory, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

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

ABSTRACT: Larval *Schistosoma japonicum* could be blocked in infected *Oncomelania hupensis* snails which were pre infected with 21 days interval by larval *Exorchis* trematodes. The present manuscript reports the result of comparison between the bio-control effects on larval *S. japonicum* in *O. hupensis* snails which were dually infected with larval *Exorchis* and *S. japonicum* with different intervals. The infection rates and larvae invader rates of *S. japonicum* at different interval *O. hupensis* snails as follows: At 21 days interval, 75% (39/52) and 25.5% (398/1560); at 37d, 77.8% (21/27) and 35.6% (299/840); at 55d, 44.4% (8/18) and 11.9% (19/160); at 70d, 100% (15/15) and 10.6% (143/1350); at 85d, 43.3% (13/30) and 5.8% (66/1140). The attack degrees on larval *S. japonicum* in experimental *O. hupensis* snails dually infected with longer intervals were stronger than that of shorter intervals.

KEY WORDS: *Schistosoma japonicum* larvae; *Oncomelania hupensis*; *Exorchis* trematodes; abnormal development; bio-control effects

一种贝类可作为多种吸虫的中间宿主,但在它们同时存在的生境中,该贝类一个体通常只存在一种吸虫幼虫期;在实验室内也见到 2-3 种吸虫幼虫在它们共同贝类宿主体内有对抗现象^[2,4,6,8]。根据这一现象,作者设想应用“以虫治虫”方法生物控制日本血吸虫(*Schistosoma japonicum*)病原在中间宿主湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*)体内的发育。通过在日本血吸虫病(*Schistosomiasis japonica*)流行区的多年野外调查和人工感染试验,证实了

鲶鱼(*Parasilurus asotus*)肠道的外睾吸虫(*Exorchis* spp.)幼虫期对钉螺有特殊的影响,螺体反应强烈;进入 21d 的外睾吸虫阳性钉螺体内的日本血

* 国家科学技术部 863 项目 (No. 2006AAZZ407)、国家自然科学基金项目 (No. 30872200) 及公益性行业(农业)科研专项项目 (No. 200903036) 联合资助

通讯作者: 唐崇惕, Email: cttang@xmu.edu.cn;

陈东, Email: dongc@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.

吸虫幼虫, 会全部遭攻击, 不能发育, 终至死亡^[1-3, 5, 12]。为了解钉螺先感染外睾吸虫虫卵后, 间隔不同时间再接触日本血吸虫毛蚴, 后侵入的血吸虫幼虫被钉螺体攻击的程度有无差异, 而进行本试验。用外睾吸虫虫卵和日本血吸虫毛蚴双重感染钉螺的间隔时间, 设置为 21d、37d、55d、70d 和 85d 共 5 组, 连续切片比较观察了各组试验钉螺体内血吸虫幼虫存在和发育的状况。结果发现, 所有实验钉螺体内的血吸虫幼虫全部都受到攻击, 而且双重感染间隔时间愈长, 虫体受攻击程度愈加严重, 被击毁的时间愈早。现将结果报告如下。

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, 准备随时获取血吸虫成熟虫卵用以孵化毛蚴。从湖南汉寿西洞庭湖岸边采集 1 千余粒湖北钉螺并在湖中撒网捕捉一批鲢鱼; 从鲢鱼肠管收集到许多外睾吸虫, 取其虫卵与少量面粉相拌后饲食钉螺。感染了外睾吸虫的实验钉螺, 分别在感染后 21d、37d、55d、70d 和 85d, 以日本血吸虫毛蚴与它们接触。每粒钉螺置于 1 个含 20~ 90 条活泼血吸虫毛蚴的清水小平皿 3h。双重感染外睾吸虫和血吸虫的实验钉螺饲养在实验室中。各组实验钉螺在与血吸虫毛蚴接触后不同时间, 分别用 10% 福尔马林溶液固定、石蜡连续切片染色制片。显微镜检查切片的所有断面, 计算查获的所有血吸虫幼虫数目, 观察虫体大小与其结构状况, 数码相机显微照相储存于电脑。实验钉螺经连续切片观察均无其它吸虫幼虫天然感染。

2 结果

2.1 外睾吸虫和血吸虫不同间隔时间双重感染湖北钉螺其血吸虫感染率的比较 试验结果说明, 经外睾吸虫预先感染后的钉螺无论接触多少血吸虫毛蚴, 都有一定比率的钉螺被血吸虫毛蚴穿钻侵入, 它们的感染率如下: 21d 的外睾吸虫阳性钉螺, 再接触日本血吸虫毛蚴(40 条毛蚴/1 只螺), 其血吸虫感染率为 75% (39/52); 37d 的外睾吸虫阳性钉螺, 再接触血吸虫毛蚴(40 条毛蚴/1 只螺), 其血吸虫感染率为 77.8% (21/27); 55d 的外睾吸虫阳性钉螺, 再接触血吸虫毛蚴(20 条毛蚴/1 只螺), 其血吸虫感染率为 44.4% (8/18); 70d 的外睾吸虫阳性钉螺, 再接触血吸虫毛蚴(90 条毛蚴/1 只螺), 其血吸虫感染率为 100% (15/15); 85d 的外睾吸虫阳性钉螺, 再接触血吸虫毛蚴(90 条毛蚴/1 只螺), 其血吸虫感染率为 43.3% (13/30), 见表 1。

2.2 外睾吸虫和血吸虫不同间隔时间双重感染钉螺其血吸虫感染强度的比较 实验结果说明外睾吸虫和血吸虫双重感染的钉螺, 除间隔 37d 组外, 各组血吸虫幼虫存在率呈递减状况(表 1)。各组情况如下: 从间隔 21d 的 52 粒实验螺(40 条血吸虫毛蚴/1 只螺)的 39 粒钉螺中, 查获血吸虫幼虫数在螺体存在率(感染强度)为 25.5% (398/1560); 从间隔 37d 的 27 粒实验螺(40 条血吸虫毛蚴/1 只螺)的 21 粒钉螺中, 查获血吸虫幼虫数在螺体的存在率(感染强度)为 35.6% (299/840); 从间隔 55d 的 18 粒实验螺(20 条血吸虫毛蚴/1 只螺)的 8 粒钉螺中, 查获血吸虫幼虫数在螺体的存在率(感染强度)为 11.9% (19/160); 从间隔 70d 的 15 粒实验螺(90 条血吸虫毛蚴/1 只螺)中, 查获血吸虫幼虫数在螺体的存在率(感染强度)为 10.6% (143/1350); 从间隔 85d 的 30 粒实验螺(90 条血吸虫毛蚴/1 只螺)的 13 粒钉螺中, 查获血吸虫幼虫数在螺体的存在率(感染强度)为 5.8% (66/1140)。

2.3 外睾吸虫和血吸虫不同间隔时间双重感染钉螺其体内血吸虫幼虫结构比较 在外睾吸虫和血吸虫不同间隔时间双重感染的钉螺中, 与间隔 21d 的相比, 在间隔 37~ 85d 的各组钉螺体内, 血吸虫幼虫受损害更严重, 感染后多天的虫体其大小与初侵入螺体早期幼虫的大小相近, 并会逐渐缩小, 它们大小停留在 20~ 50 × 20~ 40 μm, 仅个别狭窄虫体长度达 70~ 120 μm; 大部分血吸虫幼虫结构损坏(图 5-20), 显示它们受攻击严重。5 组实验钉螺情况如下: 从间隔 21d 的 52 粒实验螺中 39 粒螺, 查获 3~ 82d 的异常血吸虫幼虫 398 条, 虫体还是轮廓清晰结构结实(图 1-4), 虫体大小达 70~ 220 × 7~ 110 μm。从间隔 37d 的 27 粒实验螺中 21 粒螺, 查获 5~ 19d 的异常血吸虫幼虫 299 条, 虫体结构松散模糊(图 5-8)。从间隔 55d 的 18 粒实验螺中 8 粒螺, 查获 1~ 58d 的异常血吸虫幼虫 19 条, 大部分虫体结构毁坏近解体(图 9-12), 仅个别在螺围心腔附近的虫体尚清晰结实(图 12)。从间隔 70d 的 18 粒实验螺中选 15 粒螺, 查获 2~ 32d 的异常血吸虫幼虫 143 条, 大部分虫体结构毁坏近解体(图 13-16); 少数虫体虽有轮廓, 但体内充满异样杆状物体(图 14、16)比间隔 21d 的实验螺体内异常血吸虫幼虫体的结构更加异常。从间隔 85d 的 30 粒实验螺中选 13 粒螺, 查获 5~ 26d 的异常血吸虫幼虫 66 条, 虫体全部已毁坏解体, 大部分呈空腔状(图 17-20)。

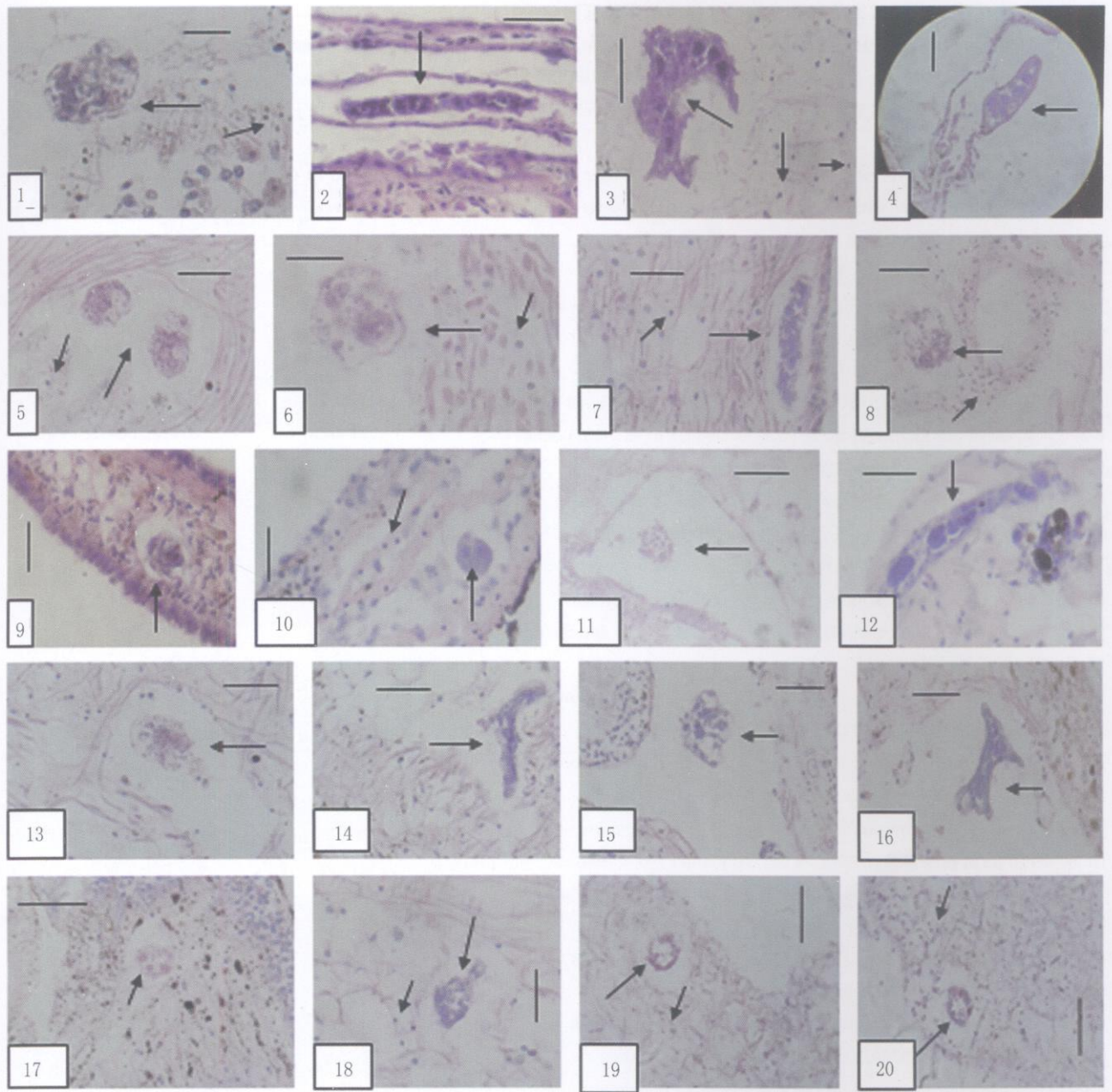


图 1 4 在间隔 21d 先感染外睾吸虫的湖北钉螺体内的不同 d 数异常血吸虫幼虫 (长箭头) 及螺体组织中增生的血淋巴细胞 (短箭头)

Figs. 1 4 Abnormal larval *Schistosoma japonicum* (longer arrow) for different days old in *Oncomelania hupensis* which were pre infected with the eggs of *Exorchis* trematodes at 21d intervals, and the increase of lymphocytes (shorter arrow) in the tissue of snail bodies

图 5 8 在间隔 37d 先感染外睾吸虫的湖北钉螺体内的不同 d 数异常血吸虫幼虫 (长箭头) 及螺体组织中增生的血淋巴细胞 (短箭头)

Figs. 5 8 Abnormal larval *Schistosoma japonicum* (longer arrow) for different days old in *Oncomelania hupensis* which were pre infected with the eggs of *Exorchis* trematodes at 37d intervals, and the increase of lymphocytes (shorter arrow) in the tissue of snail bodies

图 9 12 在间隔 55d 先感染外睾吸虫的湖北钉螺体内的不同 d 数异常血吸虫幼虫 (长箭头) 及螺体组织中增生的血淋巴细胞 (短箭头)

Figs. 9 12 Abnormal larval *Schistosoma japonicum* (longer arrow) for different days old in *Oncomelania hupensis* which were pre infected with the eggs of *Exorchis* trematodes at 55d intervals, and the increase of lymphocytes (shorter arrow) in the tissue of snail bodies

图 13-16 在间隔 70d 先感染外睾吸虫的湖北钉螺体内的不同 d 数异常血吸虫幼虫(箭矢)

Figs. 13-16 Abnormal larval *Schistosoma japonicum* (arrow) for different days old in *Oncomelania hupensis* which were pre infected with the eggs of *Exorchis* trematodes at 70d intervals

图 17-20 在间隔 85d 先感染外睾吸虫的湖北钉螺体内的不同 d 数异常血吸虫幼虫(长箭矢)及螺体组织中增生的血淋巴细胞(短箭矢)

Figs. 17-20 Abnormal larval *Schistosoma japonicum* (longer arrow) for different days old in *Oncomelania hupensis* which were pre infected with the eggs of *Exorchis* trematodes at 85d intervals, and the increase of lymphocytes (shorter arrow) in the tissue of snail bodies

图 1 7d 的异常血吸虫幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 02mm)

Fig. 1 7 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 2 12d 的异常血吸虫幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 02mm)

Fig. 2 12 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 3 41d 的异常血吸虫幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 015mm)

Fig. 3 41 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 4 82d 的异常血吸虫幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 07mm)

Fig. 4 82 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 5 5d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 03mm)

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

图 6 12d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 02mm)

Fig. 6 12 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 7 15d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 03mm)

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

图 8 19d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 8 19 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 9 11d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 9 11 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 10 47d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 03mm)

Fig. 10 47 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 11 56d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 11 56 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 12 58d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 03mm)

Fig. 12 58 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 13 2d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 13 2 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 14 10d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 14 10 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 15 21d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 15 21 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 16 32d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 16 32 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 17 5d 的血吸虫异常幼虫(箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 17 5 days old abnormal larva (arrow) of *S. japonicum*

图 18 9d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 03mm)

Fig. 18 9 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 19 17d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 19 17 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

图 20 23d 的血吸虫异常幼虫(长箭矢) (scale bar= 0. 04mm)

Fig. 20 23 days old abnormal larva (longer arrow) of *S. japonicum*

表 1 日本血吸虫幼虫在先感染外睾吸虫后不同 d 数钉螺体内存在情况的比较

Table 1 Comparison among the existence states of the larval *Schistosoma japonicum* in *Oncomelania hupensis* snails which were pre infected by larval *Exorchis* trematodes for different days

实验螺组别 实验及观察内容	先感染外睾吸虫 21d 的钉螺 (各螺接触血吸虫 毛蚴 40 条)	先感染外睾吸虫 37d 的钉螺 (各螺接触血 吸虫 40 条)	先感染外睾吸虫 55d 的钉螺 (各螺接触血吸虫 毛蚴 20 条)	先感染外睾吸虫 70d 的钉螺 (各螺接触血吸虫 毛蚴 90 条)	先感染外睾吸虫 85d 的钉螺 (各螺接触血吸虫 毛蚴 90 条)
血吸虫幼虫龄(d)	3-8d	5-8d	1d	2-7d	5-9d
实验螺数	14	9	1	6	14
阳性螺数(接触毛蚴数)	13 (520)	7 (280)	0	6 (540)	7 (630)
检出血吸虫数(%)	116(22.3%)	120(42.9%)	0 (0.0%)	82 (15.2%)	53(8.4%)
感染率%(平均虫数)	92.8% (8.9)	77.8% (17.1)	0% (0)	100% (13.7)	50% (7.6)
血吸虫幼虫龄(d)	12-16d	12-15d	11-19d	10d	11-17d
实验螺数	9	13	3	5	7
阳性螺数(接触毛蚴数)	4 (160)	9 (360)	2 (40)	5 (450)	1 (90)
检出血吸虫数(%)	9 (5.6%)	122 (33.9%)	2 (5.0%)	39 (8.7%)	3 (3.3%)
感染率%(平均虫数)	44.4% (2.3)	61.5% (13.5)	66.7% (1)	100% (7.8)	14.3% (3)
血吸虫幼虫龄(d)	21-27d	19d	24d	21-25d	21-26d
实验螺数	10	5	2	3	9
阳性螺数(接触毛蚴数)	6 (240)	5 (200)	2 (40)	3 (270)	5 (450)
检出血吸虫数(%)	44 (18.3%)	55 (27.5%)	2 (5.0%)	13 (4.8%)	10 (2.2%)
感染率%(平均虫数)	60.0% (7.3)	100% (5.5)	100% (1)	100% (4.3)	55.6% (2)
血吸虫幼虫龄(d)	33-40d		31-49d	32d	
实验螺数	17		9	1	
阳性螺数(接触毛蚴数)	14 (560)	/	1 (20)	1 (90)	/
检出血吸虫数(%)	220 (39.3%)		2 (10.0%)	9 (10.0%)	
感染率%(平均虫数)	82.4% (15.7)		11.1% (2)	100% (9)	
血吸虫幼虫龄(d)	82d		56-58d		
实验螺数	2		3		
阳性螺数(接触毛蚴数)	2 (80)	/	3 (60)	/	/
检出血吸虫数(%)	9 (11.2%)		13 (21.7%)		
感染率%(平均虫数)	100% (4.5)		100% (4.3)		
血吸虫幼虫龄(d)	3-82d	5-19d	1-58d	2-32d	5-26d
实验螺数	52	27	18	15	30
阳性螺数(接触毛蚴数)	39 (1560)	21 (840)	8 (160)	15 (1350)	13 (1140)
检出血吸虫数(%)	398 (25.5%)	299 (35.6%)	19 (11.9%)	143 (10.6%)	66 (5.8%)
感染率%(平均虫数)	75.0% (11.3)	77.8% (14.2)	44.4% (2.4)	100% (9.5)	43.3% (5.1)

3 讨论

用外睾吸虫卵与不同数量日本血吸虫毛蚴在不同间隔时间双重感染湖北钉螺, 实验结果显示间隔时间愈长血吸虫感染率有下降的趋势, 但有例外, 如 37d 组感染率 77.8% 高过 21d 组的 75.0%, 70d 组的感染率达 100%, 见表 1, 这可能与所用的血吸虫毛蚴活性及数量等条件有关。血吸虫幼虫在实验钉螺存在率(感染强度)方面, 除 37d 组外其他各组显

示, 间隔时间愈长血吸虫在钉螺体的存在率显著递减, 见表 1。本实验显示在外睾吸虫和血吸虫双重感染的钉螺, 后侵入的血吸虫幼虫受钉螺体攻击强度和虫体结构毁坏程度与双重感染间隔时间的长度成正比。

外睾吸虫幼虫在钉螺体内的发育十分缓慢, 感染后 103d 其发育仍处于散在的早期胚细胞繁殖期, 极少数达到由 3~12 个细胞组成的早期雷蚴胚体,

它们都还在钉螺的循环系统中^[3]。本文实验结果说明,在间隔 21d~ 85d 的双重感染中,间隔时间愈长,钉螺体攻击后侵入的血吸虫幼虫的能力愈强。其机制虽然可以有多方面推测,但尚是目前科学上未知的问题,有待继续深入详细研究。

关于贝类免疫系统血淋巴细胞,在血吸虫类贝类宿主双脐螺(*Biomphalaria*)和钉螺(*Oncomelania*)的血淋巴细胞情况曾经有学者观察^[3, 10-11];但是钉螺被外睾吸虫感染后螺体增生大量血淋巴细胞和特殊分泌物^[1, 3, 12],在外睾吸虫和日本血吸虫不同间隔时间双重感染的钉螺体内,它们分别对血吸虫幼虫体被攻击的关系如何,亦有待继续详细观察。

参考文献:

- [1]唐崇惕,卢明科,陈东,等.日本血吸虫幼虫在钉螺及感染外睾吸虫钉螺发育的比较[J].中国人兽共患病学报,2009,25(12):1129-1134.
- [2]唐崇惕,彭晋勇,陈东,等.湖南目平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.
- [3]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.
- [4]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.
- [5]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.
- [6]Hata H, Orido Y, Yokogawa M, et al. *Schistosoma japonicum*

and *Paragonimus ohirai*: Antagonism between *S. japonicum* and *P. ohirai* in *Oncomelania nosopgora* [J]. Exp Parasitol, 1988, 65(1): 125-130.

- [7]Jourdane J, Mounkassa JB, Imbert Establet D. Influence of intramolluscan larval stage of *Echinostoma liei* on the infectivity of *Schistosoma mansoni* cercaria [J]. J Helminthol, 1990, 64(1): 71-74.
- [8]Joe LK, Basch P F, Umthavy T. Antagonism between two species of larval trematodes in the same snail[J]. Nature, 1965, 206(982): 422-423
- [9]Moukrim A, Rondelaud D. Chronology of visceral lesions and correlation with the course of the parasite development in *Lymnaea truncates* in single and dual infections by three trematode species [J]. Res Rev Parasitol, 1993, 53(1-2): 39-45.
- [10]Noda S, Loker ES. Phagocytic activity of hemocytes of M-line *Biomphalaria glabrata* snails: effect of exposure to the trematode *Echinostoma paruensi* [J]. J Parasitol, 1989, 75(2): 261-269.
- [11]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]. Zoolog Sci, 2003, 20(10): 1215-1222.
- [12]Tang CT, Lu MK, Chen D, et al. Development of larval *Schistosoma japonicum* was blocked in *Oncomelania hupensis* by preinfection with larval *Exorchis* sp. [J]. J Parasitol, 2009, 95(6): 1321-1325.

收稿日期:2010-06-15;修回日期:2010-07-23