

水牛枯氏住肉孢子虫在犬体内 发育史的研究

肖兵南 龚振芳 李益 张长弓 曾德年* 汪明**

(湖南省畜牧兽医研究所,长沙 410131)

摘要 10只一月龄幼犬用于研究水牛枯氏住肉孢子虫的内生发育史,其中9只接种包裹,1只不接种作对照。感染后12—24小时,缓殖子进入小肠绒毛内形成大配子(4.73×3.82μm)和小配子(5.20×3.92μm),2—5天发育成卵囊;8—12天卵囊孢子化;18天卵囊孢子化完成。成熟卵囊内含2个孢子囊。孢子囊15.24×9.95μm,内有4个子孢子和成团或散状的残余体。整个发育过程在小肠绒毛(尤其是回肠上段)的基底膜与固有层的带虫空泡内进行。

住肉孢子虫的发育史直到70年代才为人知晓。Rommel和Heydorn等1972年用绵羊住肉孢子虫包裹喂猫,从猫粪中检查出卵囊^[1]。Heydorn和Rommel(1972)^[2]、Fayer(1974)^[3]、Munday等(1975)^[4]、Becker et al (1979)^[5]、Speer et al (1980)^[6]、Hilali等(1982)^[7]、Jain和Shah(1986)^[8]先后研究了牛、羊、猪、鹿、骆驼等家畜的住肉孢子虫在犬、猫体内的发育史。作者(1984)在湖南水牛肌肉内发现一种小包裹,试验感染犬成功,经电镜对包裹的超微结构研究和交叉感染试验,证实为枯氏住肉孢子虫^[9],本试验对其在犬体内的发育史进行了研究。

材料与方 法

10只未吃过生肉的一月龄幼犬,隔离喂养,每天用蔗糖溶液漂浮检查粪便,观察半个月,无球虫卵囊。从屠宰场采集含枯氏住肉孢子虫包裹的水牛食道肌,去掉结缔组织后,用绞肉机打碎,加入适量胃蛋白酶与稀盐酸制成肉泥。9只犬每只喂给150克制备的肉泥,在2小时内分作两次喂完。另一只不喂作对照。

分别在感染后12小时、1、2、3、5、8、10、12和18天宰杀一只感染犬,对照犬于第18天剖

检,将小肠分7段,第1和第7段分别从距离幽门和迴盲口5cm处剪下,其余平均分开。每段肠管从中部取2cm长组织,置10%福尔马林磷酸缓冲液固定,石蜡包埋,制出6μm厚的切片,HE或姬姆萨液染色,光镜下观察。

结 果

在9只犬的肠粘膜发现配子体和卵囊,其中以迴肠上段最多,其次是空肠后段、迴肠中段和后段,空肠中段较少,十二指肠和空肠上段极少或无。对照犬未检查出虫体。配子与合子多寄生于肠绒毛的中后部,多见于小肠绒毛的上皮细胞或基底膜内,有时见于固有层;卵囊则多见于绒毛的上部,位于基底膜或固有层内。

配子发育 感染后12小时,缓殖子进入小肠绒毛上皮或固有层,多见于绒毛的中后部,有时见于基部。虫体变胖,呈长椭圆形,2.4—3.6×4.6—6.0μm。绝大多数虫体有一个大的圆形或椭圆形核,呈嗜强硷性染色,HE染色紫黑色,姬姆萨染色呈深兰色;胞浆嗜弱硷性染色,HE染色浅紫褐色,姬姆萨染色呈浅兰色,此类虫体

* 湖南天心总公司畜禽防检站。

** 北京农业大学兽医学院。

进而发育为大配子(图1见封2,下同)。另有极少数虫体,核呈分叶状,大小为 5.27×3.76 ($4.66-5.80 \times 3.18-3.82$) μm ,以后可能发育成小配子。

感染后24小时,虫体多位于绒毛上皮的基底膜内,虫体体积增大,大配子多呈长椭圆形或亚球形,大小为 4.73×3.82 ($3.60-5.94 \times 3.18-4.66$) μm , $N=22$,核圆形或椭圆形,位于中央或偏心;胞浆紫红色,核深紫红色(HE),或胞浆兰色,核红紫色(姬姆萨染色)(图3)。小配子体,卵圆形至不规则形,大小为 5.20×3.92 ($3.60-6.20 \times 3.39-4.40$) μm , $N=6$,核分叶状(图2)。有的小配子体中央是分叶核,外周是发育的小配子,小配子杆状或弯杆状。

感染后48小时,未见小配子体,大配子体形态结构与24小时的相似,大小为 $3.82-4.24 \times 4.24-6.36\mu\text{m}$ 。

授精与卵囊形成 感染后24小时,少数配子开始受精;此时,可在大配子细胞内见到两个小核。第48小时,授精大配子(合子)呈卵圆形或椭圆形,大小为 $5.72-7.83 \times 4.46-5.30\mu\text{m}$,平均 $6.55 \times 4.78\mu\text{m}$, $N=11$,胞浆紫红色,均质,核为不规则形的浅染核区(呈云状),核区位于中央或边缘(图4);外被一层膜,有的粗糙不甚清楚,有的光滑清晰。

感染后3天,卵囊呈卵圆形或椭圆形, $6.4-9.0 \times 4.0-6.0\mu\text{m}$,平均 $7.72 \times 5.73\mu\text{m}$, $N=24$,核隐约可见,形状多样,呈月牙形,长条形、星形等云状核区,有的则完全不清楚,胞浆淡紫红色,呈大小不一的脂滴状、空泡状或匀质。限制膜浅色透亮,在其一端或两端出现浅红色极帽样加厚(图10)。

感染后5天,卵囊大小为 $8.0-11.0 \times 5.6-8.0\mu\text{m}$,平均 $9.2 \times 7.3\mu\text{m}$, $N=12$,形态结构与第3天相似,胞浆红褐色、匀质或空泡状,核呈云状分散于胞浆中,或不清楚,限制膜呈褐色,极帽样加厚增高(图5)。

孢子发育 感染后8天,卵囊呈椭圆形或球形,大小为 13.65×10.93 ($10.0-12.4 \times 12.0-14.0$) μm , $N=12$;胞浆淡紫红色,呈大小均匀

的泡状;核重新显现。呈条形,圆形或不规则形(图7);壁薄,光滑;有的壁内已形成两个球形孢子囊。两端的“极帽”进一步加厚,一端较高,另一端相对较浅。

感染后10—12天,部分卵囊已孢子化,卵囊 $18.76 \times 13.64-15.35\mu\text{m}$,囊壁淡黄色,薄而光滑,与孢子囊相贴,如薄纸袋,包裹着两个孢子囊。新鲜孢子囊呈卵圆形, $11.94-17.05 \times 7.16-10.91\mu\text{m}$,平均 $15.24 \times 9.95\mu\text{m}$, $N=60$,薄壁,光滑透明;每个孢子囊含4个长卵圆形或黄瓜形的子孢子和一个残余体,内残体成团或散状(图8)。

感染后第18天,绝大部分卵囊已孢子化,未完全成熟的子孢子显红色,成熟子孢子则为淡灰色(图9)。从粪便中分离出的多为孢子囊,均发育成熟,子孢子与残体清晰可见(图6)。

讨 论

1. 根据 Fayer 1974 年报道:黄牛枯氏住肉孢子虫在犬体内的发育,主要发生在空肠后段与迴肠上段,感染后1天形成配子,7天形成卵囊;7—13天卵囊孢子化^[1]。水牛枯氏住肉孢子虫在犬肠道的发育史与其一致,而不同于 Jain 和 Shah 1986 年报道的水牛利文住肉孢子虫 *Sarcocystis levinei* 在犬肠道内无规律分布的特点^[10]。

2. 在卵囊形成过程中,作者注意到核发生的变化:感染后48小时核逐渐变小,最后核质呈云状或均匀弥散于胞浆中,直至第8天孢子化开始时才重新集聚形成一个浓缩核。Fayer 1974 年观察到黄牛枯氏住肉孢子虫在此阶段核变小,但未记叙核质的分散与集聚^[1],这一变化可能是大配子授精后引起的一系列生物学现象。

3. 许多学者在研究住肉孢子虫在终末宿主的发育过程中,常不易见到小配子体。第一是因小配子体出现的时间短,一般仅出现在感染后24小时内;第二是数量少。Dubey 1982 报道牛猫住肉孢子虫 36.8% 的虫体为小配子体^[6]。本试验统计60个配子体,仅7个为小配子体。

小配子体的形状与文献记载的羊犬住肉孢子虫和骆驼住肉孢子虫 *S. cameli* 相似^[9,11]。形状不规则,核呈分叶状,含有几个至十几个小杆状的小配子。

小 结

1. 水牛枯氏住肉孢子虫包囊感染犬后,第12—24小时形成大配子与小配子,24小时授精形成合子,感染后第5天发育形成卵囊;第8—12天卵囊孢子化,第18天绝大多数卵囊已完成孢子化。

2. 配子体与卵囊寄生于整个小肠,但主要是迴肠上段,其次是迴肠中段与空肠后段。

3. 整个发育在带虫空泡内进行,配子体多出现于绒毛的中部或基部的上皮细胞和基底膜内,卵囊主要存在于绒毛的上部。

参 考 文 献

[1] 汪明等 1989 中国水牛两种住肉孢子虫包囊超微结构的比较研究 《畜牧兽医学报》 20(4):356—362

[2] 肖兵南等 1988 家畜住肉孢子虫的调查 《中国兽医杂志》 14(10): 12—14

[3] 肖兵南等 1991 枯氏住肉孢子虫在黄牛与水牛之间的交叉感染研究 《动物学杂志》 26(2): 1—3

[4] Becker, B., H. Mehlhorn, and A. O. Heydorn, 1979. Light and Electron Microscopic Studies on Gamogony

and Sporogony of 5 *Sarcocystis* Species in Vivo and in Tissue Cultures. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A.* 244, 394—404.

[5] Dubey, J. P., 1976, A Review of *Sarcocystis* of Domestic Animals and of other Coccidia of cats and dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169(10): 1061—1078.

[6] Dubey, J. P. 1983, Microgametogony of *Sarcocystis hirsuta* in the Intestine of the cat. *Parasitology* 86: 7—9.

[7] Fayer, R. 1974, Development of *Sarcocystis fusiformis* in the small Intestine of the dog. *J. Parasitol.* 60 (4): 660—665.

[8] Heydorn, A. O. und M. Rommel, 1972, Beiträge Zum Lebenszyklus der Sarkosporidien IV. Entwicklungstadien von *Sarcocystis fusiformis* in der Dünndarmschleimhaut der Katze Berl. *Munch. Tierarztl. Wschr.* 85: 333—336.

[9] Hilall, M; E. S. Imam and A. Hassan, 1982, The Endogenous Stages of *Sarcocystis Cameli* (Mason 1910) *Vet. Parasitol.* 11: 127—129.

[10] Jain P. C. and H. L. Shah, 1986, Experimental Study on Gametogonic Development of *Sarcocystis levinei* in the small intestine of dogs. *Indian J. Anim. Sci.* 50(3): 314—318.

[11] Munday, B. L., I. K. Barker, and M. D. Rickard, 1975, The Developmental Cycle of a Species of *Sarcocystis* Occuring in Dogs and Sheep, with Observations on Pathogenicity in the Intermediate host. *Z. Parasitenkd.* 46: 111—123.

[12] Speer, C. A., D. B. Pond; and J. V. Ernst, 1980 Development of *Sarcocystis hemionilarantis* Hudkins and Kistner, 1977 in the Small Intestine of Coyotes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 47(1): 106—113.

《水牛枯氏住肉孢子虫在犬体内发育史的研究》

一文之附图

(正文见第1页)

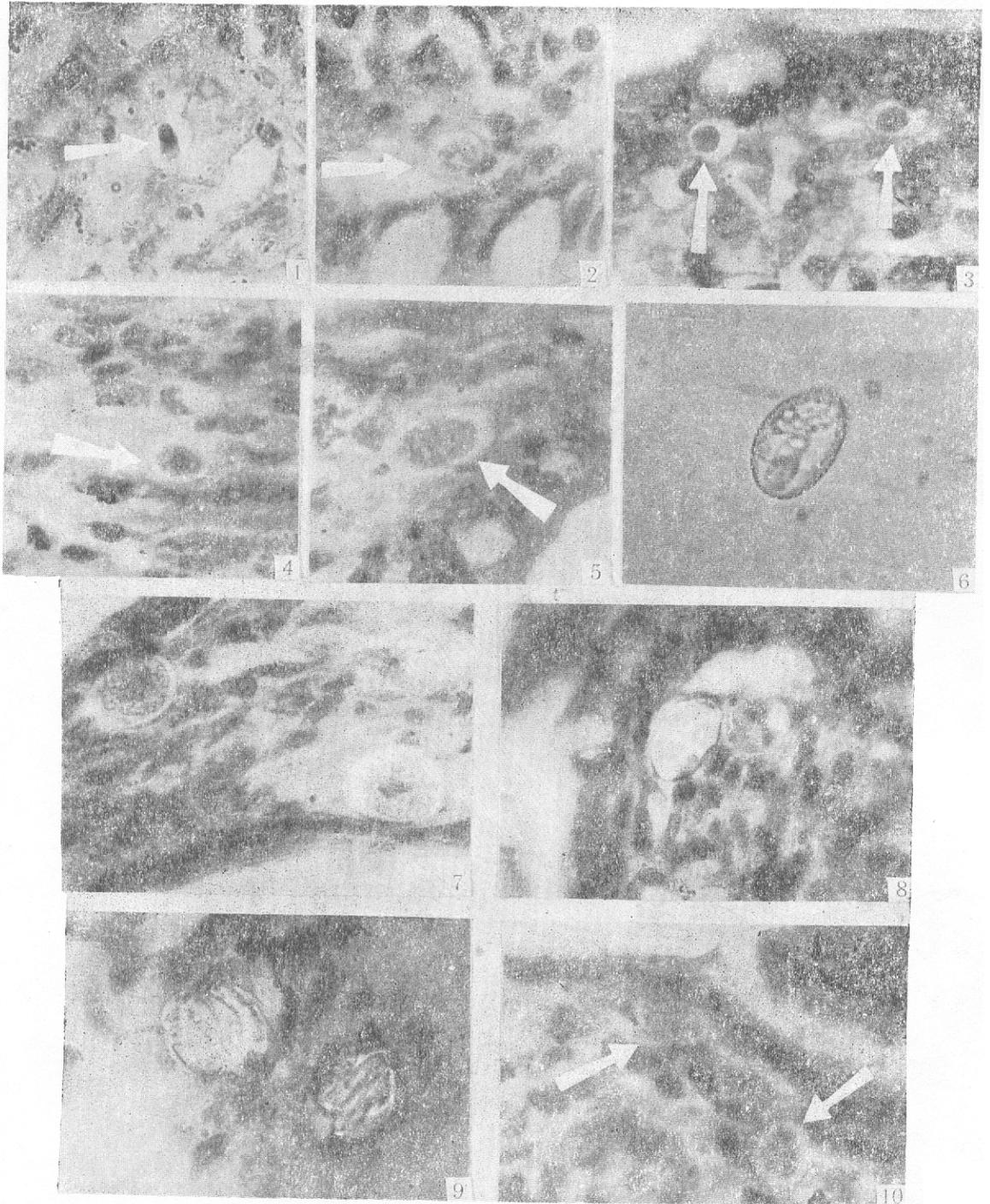


图 1. 第12小时的滋养体。10×100 图 2. 第 24 小时的小配子体。10×100 图 3. 第 24 小时的大配子。10×100 图 4. 第 2 天的合子。10×100 图 5. 第 5 天的卵囊。10×100 图 6. 粪便中分离的孢子囊。10×100 图 7. 第 8 天的卵囊。10×100 图 8. 第 12 天的孢子化卵囊。10×100 图 9. 第 18 天的孢子化卵囊。10×100 图 10. 第 3 天的卵囊。10×100