

结膜吸吮线虫在终宿主体内发育过程及生殖机能的实验观察*

王增贤 杨兆莘

(安徽医科大学寄生虫学教研室,合肥 230032)

摘要 以结膜吸吮线虫的感染期幼虫和当天自然感染犬眼的小童虫,植入实验动物眼结膜囊内,经平行观察,证明发育到成虫产幼所需最短时间为 35—36 天。除对感染期幼虫进行大小测定和形态特征描述外,还对不同发育时间的虫体与相应的形态变化过程进行阐述。同时观察到本虫食管与体长比值随生长时间延长而逐渐变小的关系,以此为依据结合虫体其他特征,作为对终宿主眼内虫体寄生时间的估测指标,这对寄生于人眼的本虫鉴定和病史分析以确定感染时间都具有一定意义。本文还指出了该虫产幼能力、生殖特点及本虫寿命等生理方面有关问题。

在证实我国结膜吸吮线虫(*Thelazia calliopaeda*)的中间宿主为变色纵眼果蝇(*Amiota variegata*)的基础上,近几年我们对本虫在终宿主眼内发育过程、生殖机能等生理学方面的问题进行实验观察。

材 料 和 方 法

(一) 感染期幼虫的来源 于 1989 年 6 月和 1990 年 8 月在安徽淮北流行区捕获变色纵眼果蝇计 737 只,经解剖检出结膜吸吮线虫感染期幼虫 59 条,除固定保存 10 条外,其余分别接种 4 只兔和 2 只幼犬眼结膜囊内。

(二) 1 日龄小童虫和近日感染的小童虫来源 选流行区居民家养幼犬 5 只,每天用生理盐水冲洗两眼,从冲洗液中检虫。冲洗后的犬任其自由活动。在连续 5 天冲洗检查中,先后获得当天自然感染的结膜吸吮线虫童虫 4 批共计 98 条,除每批中留置固定液保存作形态学观察共 20 条外,其余分别植入 3 只兔的双眼内。此后间隔 3—5 天再冲洗犬眼 1 次,先后又获得近日感染的童虫 3 批计 217 条,植入另 3 只兔的双眼内。

(三) 方法 定期观察实验动物眼内植入

虫体的生长发育过程,测定虫体生长速度、发育过程的形态变化和每天定时检查成虫产在兔眼分泌物中的幼虫数,观察本虫产幼能力、生殖特点及本虫寿命等。

结 果

(一) 感染期幼虫发育为成虫的过程

1. 感染期幼虫和 1 日龄童虫的形态 通过各 10 条虫体的测量和形态学比较观察,结果表明二者之间较为相似。感染期幼虫平均大小为 $2.755 \times 0.076 \text{mm}$,食管平均长为 0.288mm 。1 日龄童虫平均为 $2.584 \times 0.095 \text{mm}$,食管长平均为 0.366mm 。神经环位于食管中部。在食管末端前后的腹侧有一长柱状生殖原基。口囊较小呈方形,口囊壁角化程度不高,折光性较弱,体表环纹在光镜下(10×40)明显可见。其肠管内常见一些大小不等的油滴样物(图 1—2)。

2. 发育中各龄虫体形态学变化 经定期观

* 本研究获国家自然科学基金资助。上海昆虫研究所范滋德教授帮助鉴定变色纵眼果蝇并提供部分资料;五河县卫生防疫站韩锡鹏副主任和本教研室郑南才、汪学龙、朱家成、江宝玲、陈树仁、李家泉和校摄影室陈印相等同志曾协助工作,特此致谢。

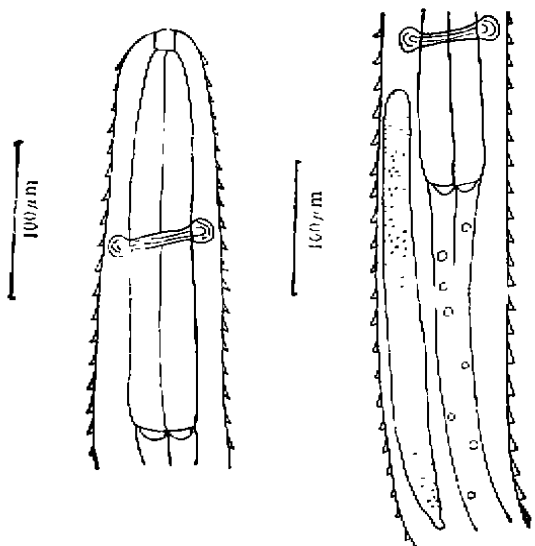


图 1—2 结膜吸吮线虫 1 日龄童虫的前段

1. 示口囊、神经环及食管关系 2. 示生殖原基

察虫体在实验动物限内生长发育中变化，每次观察虫数 5—10 条。2—4 日龄童虫较前变粗，食管长度增加，肠管发育较快，有时见有波状弯曲，虫体长度增加不显，在虫体的食管后段腹侧或远离食管末端的腹侧，仍有一并较前增长的生殖原基，其位置有明显的前后之分，可能是雌雄虫体性别的标志。此时（约在 4 日龄）有的虫体表皮环纹变浅，口囊壁变得模糊，其内壁表面和头端表面不光滑似在进行蜕皮。5—7 日龄童

虫大小为 $3.500-5.340 \times 0.135-0.162\text{mm}$ ，生殖原基较前粗大。10 日龄虫体除继续增大外，生殖器官有部分开始形成管状结构。15 日龄虫体性别已明显可辨，生殖器官基本形成。在雌雄性的生殖管内出现细小颗粒，多数的雄虫尾部向腹面卷曲，长短交合刺均已形成。有的虫体表皮环纹再次出现变浅，虫体表面和口囊内有破碎的膜样物粘附。此时雌虫平均大小为 $7.960 \times 0.222\text{mm}$ ，雄虫为 $7.721 \times 0.227\text{mm}$ 。20 日龄虫体的生殖管内颗粒物增多变大，经解剖后涂片镜检证明，雄虫体内的颗粒物为精细胞，呈短椭圆形，大小为 $11.2-14.9 \times 9.3-11.2 \mu\text{m}$ ，其后部有 1 锥形短尾。在雌虫的 2 根细长生殖管内，存在较多的椭圆形颗粒物，大小约为 $26.0 \times 18.6 \mu\text{m}$ ，在以后渐粗的生殖管内含有大量的长椭圆形卵细胞和包有薄膜样卵壳的卵，大小为 $33.5-37.2 \times 14.9-22.3 \mu\text{m}$ 。第 35—36 日龄雌虫，有的开始产出初产蚴。表明虫体雌雄性已完全成熟，口囊似碗盂状，壁较厚呈透明状，头端的内、外环乳突在光镜下隐约可见。表皮环纹后缘锐利，前后呈叠瓦状排列。雌虫阴孔开口于神经与食管末端之间的腹侧。其尾部钝直，末端亚腹侧有一对丘状突起尾感器。雄虫尾部向腹侧强度卷曲，肛前乳突 8—10 对，肛后

表 1 终宿主眼内各日龄虫体增长发育的观察

虫体龄	虫体的特征	虫体与食管增长比较		
		虫长 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	食管长 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	食管: 虫长
1 日龄童虫	除较感染期蚴稍粗短外,其余相似,体表环纹清楚,神经环位于食管中部,口囊小呈方形,可见一柱状生殖原基。	2.584 ± 0.273	0.367 ± 0.032	1:7.0
10 日龄童虫	虫体经 4 日龄时的蜕皮,增长较快。生殖器官已有部分形成管状结构,虫体经染色处理似可区分性别。	5.698 ± 0.091	0.477 ± 0.024	1:11.9
15 日龄♀童虫	生殖器官基本形成,虫体经第 2 次蜕皮后,口囊、体表环纹较前清楚。	7.960 ± 0.150	0.555 ± 0.195	1:14.3
♂童虫	尾部向腹面明显卷曲,长短交合刺均已形成,肛前、后乳突可见。	7.721 ± 0.179	0.465 ± 0.022	1:16.6
36 日龄♀成虫	口囊呈碗盂状,其壁角化明显,体表环纹后缘锐利,阴孔开口于神经环与食管末端之间虫体腹面,有的开始产蚴,生殖道内充满大量虫卵、胚胎和幼虫。	14.730 ± 0.566	0.708 ± 0.024	1:20.8
♂成虫	口囊、体表环纹同雌虫,肛前后乳突和长短交合刺发育完全,尾部向腹面强度卷曲。	10.860 ± 0.574	0.616 ± 0.035	1:17.6
1 年龄♀虫	除虫体较前增大外,其余特征同 36 日龄♀成虫。	17.129 ± 0.940	0.740 ± 0.074	1:23.1
♂虫	同 36 日龄♂成虫特征。	14.017 ± 0.775	0.694 ± 0.048	1:20.2

注: \bar{X} 为几何均数。

4对,在尾端亚腹侧也有一对较大的与雌虫相同的尾感器。虫体较前又有增大,以后随存活时间延长仍逐渐增长,而唯有食管长度增加缓慢,故食管与虫体长度比值不断缩小(见表1)。

虫体在发育中,随体长的增加体表环纹数量也随之增多,环纹的后缘逐渐变得锐利。经计数测定,感染期幼虫和1日龄童虫的体表环纹数为450—530个。发育到40天的成虫环纹数可达1745—2173个。

(二) 雌虫产幼虫的能力

1. 产幼虫的数量 选实验兔眼内由同批虫体发育成虫开始产幼虫的雌虫和雄虫各5条,雌、雄虫配对分别转植人2只兔双眼和1只犬左眼

内,每天早中晚定时检查产于兔、犬眼分泌物内的幼虫,经50天连续观察,各虫产幼情况见表2。

2. 雌虫产幼虫的间歇性 将同批由童虫刚发育成的雌雄虫3对,分别植入3只兔左眼内,自产幼虫开始日起,从其中2只兔左眼取出雄虫,使成单性雌虫寄生,进行产幼观察。观察时间分别为186天和236天。其中前者在产幼的93天过程中,间歇4次。以后的93天一直未再见产幼。后者产幼97天后,间歇8天,此时再配上同龄雄虫1条,于配雄虫后的第24天又继续大量产幼长达107天之久。第3条雌虫一直有雄虫伴随,经92天观察在产幼过程中间歇13次,其中一次间歇长达15天。这些结果结合表2中的观察,一致表明本虫产幼虫存在间歇性。间歇天数不等,在接近长间歇期之前13—30天中,产幼虫明显减少,间隔天数逐渐增多。

(三) 结膜吸吮线虫寿命的进一步观察

1985年6月用经证明为近日感染的小童虫移植实验兔眼内,定期观察本虫的寿命,进一步证实了本虫约有半数的寿命为一年,最长者可达2年半以上(见表3)。

表2 5条雌虫产幼经50天观察结果

虫体号	产物总数	日产幼 ($\bar{x} \pm SD$)	间歇次数	间歇最多天数
1	1447	16.1 \pm 3.5	2	1
2	1531	16.8 \pm 3.7	6	1
3	1604	14.1 \pm 4.1	2	2
4	1174	13.7 \pm 3.3	1	2
5	762	6.3 \pm 4.4	5	8
总 $\bar{x} \pm SD$	1260.1 \pm 1.4	12.7 \pm 4.0	2.6 \pm 2.1	2.0 \pm 2.3

注: \bar{x} 为几何均数。

表3 结膜吸吮线虫寿命的实验观察

动物编号	植入虫数	不同时间虫体存活数及占百分比									
		6个月		12个月		18个月		24个月		30个月	
		虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%
1号兔	左眼	35	30 85.7	20 57.1	15 42.9	10 28.6	6	17.1			
	右眼	35	28 80.0	15 42.9	13 37.1	0 /	/	/			
2号兔	左眼	35	30 85.7	19 54.3	10 28.6	5 14.3	2*				
	右眼	40	32 80.0	20 50.0	8 20.0	0 /	/	/			
3号兔	左眼	32	25 78.1	20 62.5	14 43.8	0 /	/	/			
	右眼	40	32 80.0	22 55.0	17 42.5	2 5.0	2 (1周后消失)	5.0			
小计		217	177 81.6	116 53.5	77 35.5	17 7.8	8	3.7			

* 于25个月实验兔死亡,取出2条雄虫固定液保存。

讨 论

结膜吸吮线虫在终宿主眼内发育过程中的形态学变化和虫体增长速度,以往缺乏系统研究。经本次研究了解到该虫感染期幼虫进入终宿主后发育至成虫产幼虫全过程以及虫体形态学变化,同时观察到感染期幼虫的形态特征与1日龄小童虫相比较除略细长外,其他均相似。1日龄童虫食管占虫体长度平均约为1/7。其后食管增长缓慢,至15日龄时约占体长1/15。36日龄成虫后,食管仅约占虫体长的1/19。食管长度较1日龄时只增长约2倍。但是虫体在发育中增长较快,增加幅度大,1年龄的成虫较感染期幼虫的长度增长5—7倍(见表1)。根据本虫食管与体长的比值,随发育时间而逐渐变小的观察结果,我们认为以此为依据,结合其他形态特征,可以作为对本虫寄生时间长短的估测指标。应用该指标对病人眼内本虫鉴定和分析病史病程都具有一定的实际意义。

本虫在感染终宿主后第2—4天,大小为 $3.180-3.740 \times 0.131-0.140\text{mm}$ 和第15天左右,雌童虫大小平均为 $7.960 \times 0.222\text{mm}$,雄童虫平均为 $7.721 \times 0.227\text{mm}$,童虫先后出现2次体表环纹变浅,表皮成管状或片状脱落,口囊表面附有破碎样膜性物。从收集到的童虫蜕下表皮碎片进行观察,但其环纹难于察见。可能是蜕皮过程中表皮环纹被蜕皮液溶解等作用所致。综上所述,初步认为这是本虫在终宿主眼内蜕皮过程的一些表现。值得指出的在大量童虫中仅观察到极少虫体有此表现,由此说明本虫蜕皮过程较为短暂。据此推测本虫自感染期至成虫期有2次蜕皮。这与永田良胤(1959)报告中提到的成虫2次蜕皮时的雌虫体长为4—9mm,雄虫长为3—6mm比较接近。

至于本虫的感染期幼虫侵入终宿主眼部发育至成虫产幼虫所需时间,经多次的感染实验进一步证明感染后所需最短时间为35—36天,与作

者以前的观察一致。

本次研究我们经用5条产幼期的雌虫,分别与雄虫配对植入犬、兔眼内,经50天连续观察,各虫之间产幼虫能力有差别(见表2)。日产幼虫最少为1条,最多为202条。同时对3条白童虫刚发育为产幼雌虫,经92—236天的连续观察,发现每虫在产幼过程中都有4—13次的天数不等的间歇。有1雌虫间歇8天后,再配上1雄虫又继续经24天间歇后,再次开始大量产出幼虫。结果显示本虫雌虫产幼虫存在着间歇的特点。

本虫产幼虫,在1年内不管何种季节,也不分白昼和夜间都可进行。在1天中可以继续多次排幼。我们通过动物模型观察,有的雌虫生活2年时仍能产出幼虫,只是产幼数量较前减少。2年半时的雌虫不再具有产幼能力。我们还观察到从实验犬或兔眼的一块很小分泌物内,常见有大量幼虫密布其中。表明雌虫在较短时间内一次可连续产出较多幼虫。如此集中在眼分泌物中的幼虫,当被其中间宿主——变色纵眼果蝇食入,易于感染甚至造成重度感染,这在本寄生虫的流行病学和传播上具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 王增贤等 1985 结膜吸吮线虫的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。
- 2 ——— 1985 结膜吸吮线虫成虫和初产幼虫扫描电镜的观察 安徽医学院学报 20(3):1—4。
- 3 ——— 1988 结膜吸吮线虫童虫的发育过程及终宿主的研究 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 中华预防医学会寄生虫学会学术交流论文摘要特辑 130—131。
- 4 ——— 1989 变色纵眼果蝇为结膜吸吮线虫中间宿主在我国发现 安徽医科大学学报 24(4):318。
- 5 赵慰先主编 1983 人体寄生虫学 712—717页 人民卫生出版社。
- 6 余秉锜主编 1990 人体寄生虫学 187—188页 人民卫生出版社。
- 7 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。
- 8 永田良胤 1959 眼虫 *Thelazia callipaeda* Railliet et Henry (1910) の舌が国だすげで発見上その分布はつてVII 发育環につて。日本兽医学杂志 21(6):62。

EXPERIMENTAL OBSERVATION ON DEVELOPMENT AND REPRODUCTION OF *THELAZIA CALLIPAEDA* IN DEFINITIVE HOST

WANG Zengxian YANG Zhaoxin

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

ABSTRACT The infective larvae of *Thelazia callipaeda* collected from naturally infected *Amiota variegata* were inoculated into the conjunctiva sac of laboratory rabbits and puppies. The infective larvae were 2.5 to 3.0 mm long and morphologically similar to 1st day old larvae gotten from eyes of naturally infected dogs. All worms observed had grown to sexual maturity, the females were about 14 mm and male about 10 mm in length. The second generation of larvae were found after 35th day of inoculation. The maximum number of newborn larvae laid were amounted to 202 per day. The longest life-span of the *T. callipaeda* was more than 30 months.