



李赵睿羿, 王朝, 王辉, 谢跃. 弓首属3种蛔虫卵体外发育的形态观察[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(11):94-101.

LI Zhaoruiyi, WANG Zhao, WANG Hui, XIE Yue. Morphological observations of the egg developments of three *Toxocara* spp. *in vitro*[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(11):94-101.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.11.10

弓首属3种蛔虫卵体外发育的形态观察

李赵睿羿 王朝 王辉 谢跃*

(四川农业大学 动物医学院, 成都 611130)

摘要 弓首蛔虫病是一种严重危害动物和人健康的全球性线虫病, 虫卵是该病的主要感染源。为研究弓首蛔虫卵的体外发育形态学变化, 本研究采用彩色显微图像智能识别系统对体外培养的弓首蛔虫3个常见种: 犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫虫卵进行连续21 d的观察和记录。结果表明: 1) 犬弓首蛔虫和犊弓首蛔虫虫卵存在12个体外发育阶段, 包括1细胞期、2细胞期、3细胞期、4细胞期、早期桑葚期、晚期桑葚期、囊胚期、肠胚期、1期幼虫前期、1期幼虫期、2期幼虫前期和2期幼虫期; 猫弓首蛔虫卵因5细胞期的出现而存在13个体外发育阶段。2) 比较观察发现, 弓首蛔虫卵在培养24 h后出现卵裂, 进入2~5细胞期, 随后虫卵第3~5天陆续进入桑葚期、囊胚期、肠胚期; 猫弓首蛔虫卵第6天出现1期幼虫(2.2%), 第7天出现感染性2期幼虫(2.1%); 犬弓首蛔虫卵第7天出现1期幼虫(22.5%), 第8天出现感染性2期幼虫(10.7%); 犊弓首蛔虫卵第6天出现1期幼虫(1.9%), 第9天出现感染性2期幼虫(0.9%); 由此可见, 猫弓首蛔虫卵是弓首属发育速度最快的虫卵。以上研究结果补充和完善了弓首蛔虫卵体外发育的形态学基础信息。

关键词 弓首蛔虫; 人畜共患病; 虫卵; 发育形态学

中图分类号 S852.65

文章编号 1007-4333(2024)11-0094-08

文献标志码 A

Morphological observations of the egg developments of three *Toxocara* spp. *in vitro*

LI Zhaoruiyi, WANG Zhao, WANG Hui, XIE Yue*

(College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract Toxocariasis caused by the species of *Toxocara* is a global disease with significant threats to human and animal health, and the embryonated egg is the main source of infection for the occurrence and prevalence of this zoonotic disease. To study the morphological changes of *Toxocara* eggs, an intelligent color microscopic image recognition system was used to track and record the complete developmental processes of eggs from three common *Toxocara* species including *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxocara vitulorum* within a continuous 21-day egg culture *in vitro*. The results showed that: 1) The complete development of eggs from either *T. canis* or *T. vitulorum* was divided into 12 development stages including one-cell, two-cell, three-cell, four-cell, early-morula stage, late-morula stage, blastula, gastrula, pre-L1 (the first-stage larva), L1, pre-L2 (the second-stage larva) and L2 stages; in contrast, *T. cati* eggs was divided into 13 developmental stages because of the presence of the five-cell stage. 2) Comparative observations revealed that *Toxocara* eggs started with cleavage and entered the two-to-five cell stages after 24-hour culture, followed by the morula, blastula and gastrula stages after 3 day to 5 day

收稿日期: 2024-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(32273028)

第一作者: 李赵睿羿(ORCID:0009-0009-2890-7644), 硕士研究生, E-mail: tango23lz@163.com

通讯作者: 谢跃(ORCID:0000-0001-9062-6928), 教授, 主要从事动物寄生虫病抗药性与防控技术研究, E-mail: xyue@sicau.edu.cn

culture. Further, 2.2% *T. cati* egg developed into the L1 stage on the 6th day and 2.1% *T. cati* egg developed into the infective L2 stage on the 7th day. Correspondingly, 22.5% *T. canis* eggs developed into the L1 stage on the 7th day and 10.7% *T. canis* eggs developed into infective L2 stage on the 8th day; 1.85% *T. vitulorum* eggs developed into the L1 stage on the 6th day and 0.9% *T. vitulorum* eggs developed into the infective L2 stage on the 9th day, thus it was notable that the *T. cati* egg had the fastest development rate among *Toxocara* species. These results updated the basic knowledge on developmental morphology of *Toxocara* eggs *in vitro*.

Keywords *Toxocara* spp.; zoonotic diseases; eggs; developmental morphology

弓首蛔虫(*Toxocara* spp.)是危害动物和人健康的一类重要寄生性线虫,其常见种类包括犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫、犊弓首蛔虫^[1-4]。这些蛔虫卵广泛存在于环境,一旦发育成熟便可对犬科、猫科、牛科动物及人造成直接感染。在动物体内,含 2 期幼虫的感染性虫卵在小肠孵化,幼虫经血液循环和组织移行,可造成宿主肝、肺等脏器的机械性损伤及炎症;同时部分幼虫还可潜伏于宿主组织,在妊娠期或哺乳期经胎盘或母乳感染年幼动物^[5-8]。在人体内,犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫卵孵出的幼虫可在各组织器官移行,诱发内脏幼虫移行症(VLM)、眼睛幼虫移行症(OLM)、神经幼虫移行症(NLM),造成癫痫、神经性精神障碍及脑退行性病变^[5,7,9]。目前世界各国均有人感染弓首蛔虫的病例报道,其中婴幼儿和学龄儿童是感染本病的主体。流行病学调查数据显示,我国学龄儿童的弓首蛔虫病感染为 12.1%~19.3%,美国学龄儿童的弓首蛔虫病感染为 13.9%,马来西亚学龄儿童的弓首蛔虫病感染为 19.6%,而印度尼西亚学龄儿童的弓首蛔虫病感染更是高达 85%^[5-7];由此,弓首蛔虫病已被美国疾病预防控制中心(CDC)列为全球被忽视的 5 种寄生虫病之一(<https://www.cdc.gov/parasites/npi/>)。

与多数土源性寄生性线虫类似,虫卵是弓首蛔虫病最主要的感染源,这些虫卵经宿主粪便排出体外后在外界环境适宜温度和湿度条件下,经历数十天的发育便可具有感染性^[5,9],因此了解并掌握弓首蛔虫卵的体外发育特征以及发育速度将对弓首蛔虫病的防控具有重要意义。然而遗憾的是,截至目前,有关弓首蛔虫卵体外发育的研究却十分有限,仅个别虫种(如犬弓首蛔虫^[10]、猫弓首蛔虫^[11])的虫卵发育阶段及特征被报道,且缺乏系统性、完整性以及比较分析。基于此,本研究拟采用彩色显微图像智能识别系统分别对 3 种弓首蛔虫——犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫卵进行连续观察、记

录和比较,以期绘制弓首蛔虫卵体外发育完整的形态变化过程及对应特征,为今后弓首蛔虫病的防控工作提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜的疑似犬弓首蛔虫成虫采自四川成都流浪犬收容中心救助的中华田园犬幼犬,猫弓首蛔虫成虫采自四川农业大学教学动物医院医治的苏格兰折耳猫,犊弓首蛔虫成虫采自甘孜州新龙县农民自养的牦牦牛;3 种虫体均为伊维菌素驱虫所得。随机选取各成虫虫体,使用体视显微镜进行头端和前端形态特征观察,参照弓首蛔虫分类鉴别要点做初步形态学鉴定^[7]。

1.2 虫种鉴定

为了进一步确定物种信息,分别截取 3 种宿主源蛔虫虫体部分组织,提取 DNA,使用犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫 ITS-1 特异扩增引物^[12-13]进行 PCR 分子鉴定。PCR 反应体系为 50 μ L:DNA 模板 4 μ L、ExTaq 2 μ L、dNTP 混合液 4 μ L、10 $\times$ PCR 缓冲液(Mg^{2+})5 μ L、ddH₂O 29 μ L、上下游引物各 3 μ L;反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,54 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环扩增 35 次,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物经凝胶电泳和测序分析,确认物种信息。

1.3 虫卵的体外培养

无菌剖解鉴定的犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫雌性虫体,截其子宫后 1/4 处用于收集子宫内的成熟虫卵,虫卵经计数后,使用虫卵培养液 PSABS(含 15 KU/mL 青霉素、15 mg/mL 链霉素和 30 μ g/mL 两性霉素 B)分别对 3 种虫卵进行稀释,稀释虫卵终浓度为 200 枚/mL。吸取每种蛔虫虫卵稀释液 1 mL 依次注入无菌麦克马斯特计数器左右计数室,形成重复。将 3 种弓首蛔虫对应的 3 组麦克

马斯特计数器置于 28℃ 培养箱,恒温培养 21 d,期间每天观察培养液体积,及时补充培养液。

1.4 虫卵的发育观察与形态记录

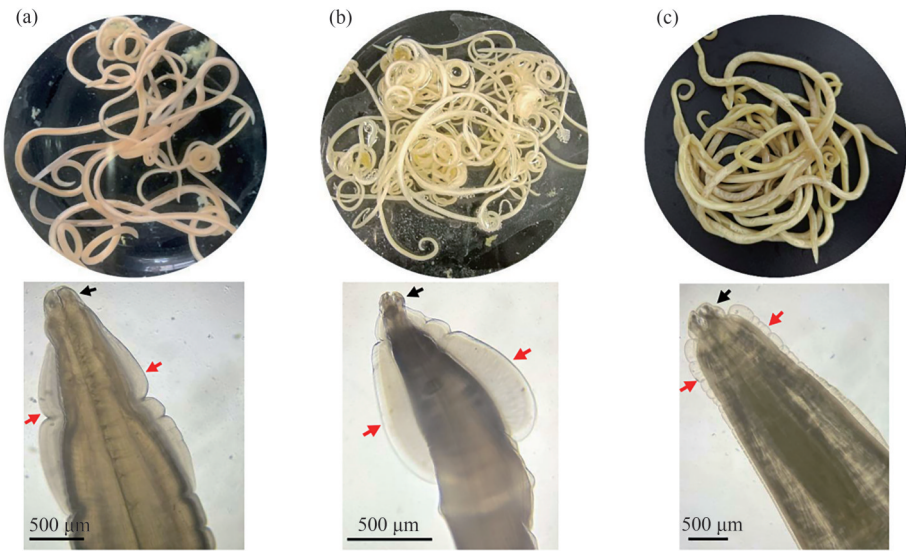
利用彩色显微图像智能识别系统,每 12 h 观察和记录 3 种弓首蛔虫卵的体外发育形态变化情况,并描述其形态特征,统计各蛔虫卵不同发育阶段的占比。

2 结果与分析

2.1 弓首蛔虫的虫种鉴定

形态学观察结果显示,犬源蛔虫成虫呈乳白色,头端具 3 片唇,虫体前端两侧有向后延伸的颈翼膜;猫源蛔虫成虫呈白色,头端具 3 片唇,但虫体前端两侧颈翼膜宽而短,似箭头;牦牛源蛔虫成虫粗大,呈淡黄色,头端具 3 片唇,虫体颈翼膜不明显(图 1)。

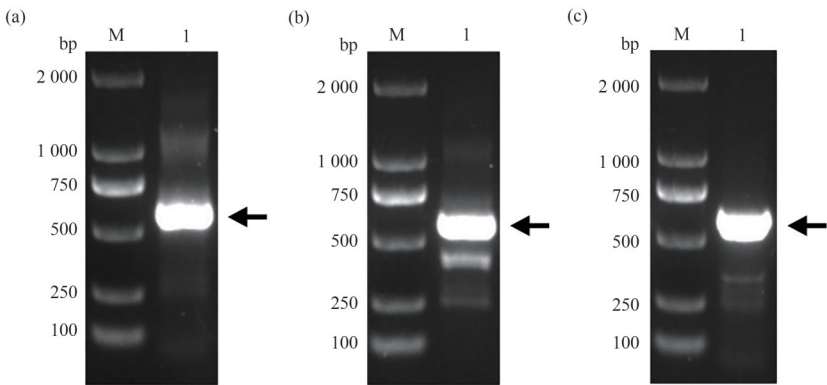
PCR 扩增结果表明,3 种蛔虫均在 560 bp 左右出现特异扩增目的条带(图 2),与预期的片段大小一



黑色箭头指示 3 片唇,红色箭头指示颈翼膜。
(a)犬源弓首蛔虫成虫及成虫头端形态;(b)猫源弓首蛔虫成虫及成虫头端形态;(c)牦牛源弓首蛔虫成虫及成虫头端形态。
The black arrow indicates the three lips, and the red arrow indicates the cervical alae.
(a) The dog-derived *Toxocara* adult and its cephalic extremity; (b) The cat-derived *Toxocara* adult and its cephalic extremity; (c) The yak-derived *Toxocara* adult and its cephalic extremity.

图 1 弓首蛔虫形态学鉴定

Fig. 1 Morphological identification of *Toxocara* spp.



M:D2000 DNA 相对分子质量标准;1. 模板为弓首蛔虫 DNA。黑色箭头指示目的扩增条带(约 560 bp)
(a)基于核糖体 *ITS-1* 的犬源弓首蛔虫 PCR 鉴定;(b)基于核糖体 *ITS-1* 的猫源弓首蛔虫 PCR 鉴定;(c)基于核糖体 *ITS-1* 的牦牛源弓首蛔虫 PCR 鉴定。
M: D2000 DNA marker; Lane1: the DNA templates of *Toxocara* spp. The black arrows indicate the target bands (about 560 bp in size).
(a) The identification of the dog-derived *Toxocara* using the ribosomal *ITS-1*-based PCR amplification; (b) The identification of the cat-derived *Toxocara* using the ribosomal *ITS-1*-based PCR amplification; (c) The identification of the yak-derived *Toxocara* using the ribosomal *ITS-1*-based PCR amplification.

图 2 基于核糖体 *ITS-1* 的弓首蛔虫 PCR 鉴定

Fig. 2 PCR identification of *Toxocara* spp. based on the ribosomal *ITS-1* gene

致^[12-13]。经测序并与 BLAST 序列比对分析表明,犬源蛔虫与犬弓首蛔虫(GenBank 登录号 AJ002435.1)序列相似性为 100%;猫源蛔虫与猫弓首蛔虫(GenBank 登录号 OM822767.1)序列相似性为 99.98%;牦牛源蛔虫与犊弓首蛔虫(GenBank 登录号 EU220232.1)序列相似性为 100%,证明本研究从中华田园犬、苏格兰折耳猫、牦牛所得蛔虫分别为犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫,且各蛔虫雌虫分离虫卵可用于后续弓首蛔虫卵体外发育形态学观察。

2.2 弓首蛔虫卵发育的形态学变化

与猫弓首蛔虫卵 13 个体外发育阶段(含 5 细胞期)不同,犬弓首蛔虫卵和犊弓首蛔虫卵仅包含 12 个发育阶段,包括 1 细胞期、2 细胞期、3 细胞期、4 细胞期、早期桑葚期、晚期桑葚期、囊胚期、肠胚期、1 期幼虫前期、1 期幼虫期、2 期幼虫前期和 2 期幼虫期(图 3);详细的弓首蛔虫卵体外阶段发育形态特征如表 1 所示。从虫卵发育速度来看,猫弓首蛔虫

卵的发育速度似乎最快,仅 7 d 便可发育为感染性虫卵;犬弓首蛔虫卵次之,需 8 d 才能发育为感染性虫卵;而犊弓首蛔虫卵则最慢,第 9 天才仅有 0.93% 的虫卵发育为感染性虫卵(图 4)。在虫卵发育形态变化方面,3 种弓首蛔虫卵存在着相似阶段形态发育特征,即新鲜弓首蛔虫卵呈球形或卵球形,胞质占据整个虫卵,经 6~12 h 培养,虫卵胞质开始浓缩,并与卵内壳间形成一条明显的间隙,从而整个虫卵呈现出标准的 1 细胞期形态,在随后培养的 24 h 后,部分虫卵开始出现卵裂现象(图 3)。本研究发现,犊弓首蛔虫卵的卵裂速度最快,猫弓首蛔虫卵次之,犬弓首蛔虫卵最慢;如培养的前 2 d,犊弓首蛔虫卵已发育至 2、3、4 细胞期,甚至约 45% 虫卵发育至早期桑葚期;猫弓首蛔虫卵虽然出现与犊弓首蛔虫卵相似的发育阶段,但仅 5% 的早期桑葚期;而犬弓首蛔虫卵仅出现 2、3、4 细胞期(图 4)。在虫卵发育中期(3~6 d),猫弓首蛔虫卵的发育速度加

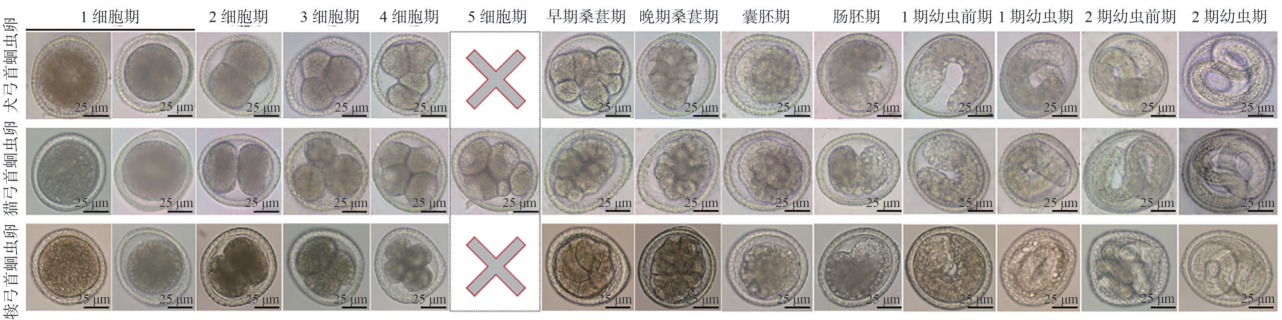


图3 犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫、犊弓首蛔虫虫卵体外发育形态变化比较
Fig. 3 Comparison of morphological changes of *T. canis*, *T. cati* and *T. vitulorum* eggs

表 1 弓首蛔虫卵体外发育形态变化特征

Table 1 Developmental and morphological change features of *Toxocara* eggs *in vitro*

阶段 Stage	发育特征 Developmental feature
细胞期	虫卵内可见 1~5 个细胞；
早期桑葚期	虫卵内可见 6~10 个细胞；
晚期桑葚期	虫卵内可见更多数量细胞；
囊胚期	虫卵内细胞分裂不再明显,可见一层颜色较浅的球形细胞围绕胚胎四周形成一个假液体填充腔；
肠胚期	虫卵内可见一层球形细胞围绕胚胎一侧形成“肾形样”凹陷；
1 期幼虫前期	虫卵内出现类似幼虫,形态呈现“U 字形”；
1 期幼虫	虫卵内出现类似幼虫,形态呈现“6 字形”；
2 期幼虫前期	虫卵内幼虫外形清楚,体壁结构模糊,可在光线刺激下呈“8 字形”运动；
2 期幼虫	虫卵内幼虫体壁结构清晰,具金属光泽,虫体变细长,在光线刺激下,有 1~5 min 的延迟运动反应。

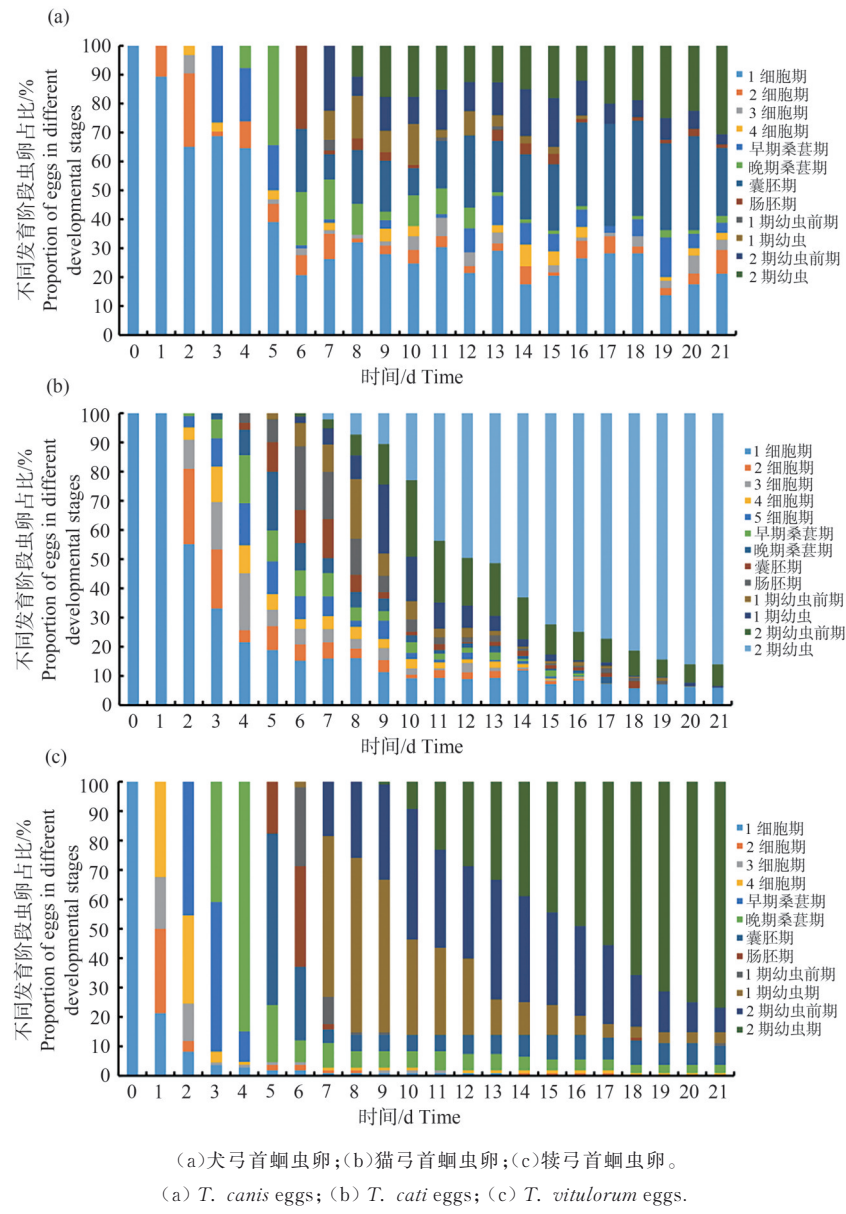


图4 弓首蛔虫卵体外发育各阶段变化规律

Fig.4 Change trends of various developmental stages of *Toxocara* eggs *in vitro*

快,成为最早出现囊胚期和肠胚期的虫卵(第4天),其次是犊弓首蛔虫卵(第5天)和犬弓首蛔虫卵(第6天)。在虫卵发育晚期时,犬弓首蛔虫卵的发育速度明显增快,成为发育速度第二快的弓首蛔虫卵,具体为猫弓首蛔虫卵在第7天出现感染性2期幼虫、犬弓首蛔虫卵在第8天出现感染性2期幼虫,而犊弓首蛔虫卵在第9天出现感染性2期幼虫。3种蛔虫卵出现的1期幼虫前期、1期幼虫和2期幼虫前期时间差异不明显。

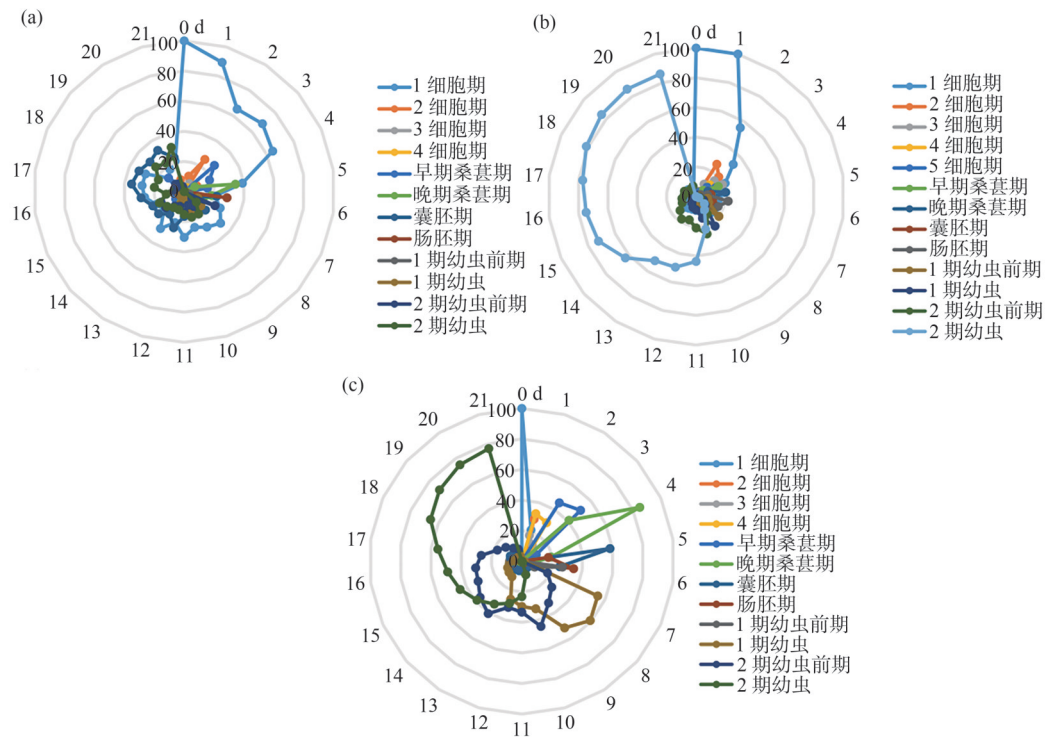
2.3 弓首蛔虫卵发育的各阶段比例变化

在整个弓首蛔虫卵发育过程中,本研究发现所有

阶段均可持续出现,且在特定时间内,多个发育阶段的虫卵占比可同时达到峰值(图5),如犬弓首蛔虫卵培养第2天的2和3细胞期以及第7天的1期幼虫前期和2期幼虫前期;猫弓首蛔虫卵培养第4.5天的5细胞期和早期桑葚期;犊弓首蛔虫卵培养第1天的2、3、4细胞期以及培养第6天的肠胚期和1期幼虫前期。进一步对阶段占比比较发现,猫弓首蛔虫卵和犊弓首蛔虫卵发育高峰为前7 d,而犬弓首蛔虫卵整个培养过程前8 d为其发育高峰期(图5)。相较犬弓首蛔虫卵,猫弓首蛔虫卵和犊弓首蛔虫卵每天均有超过16%的虫卵发育至新的阶段,且新发育阶段占比在进入新阶段的第2~

7 天达峰值。例如,猫弓首蛔虫卵第 4 天的 3 细胞期(19.5%)、第 5 天的晚期桑葚期(20.2%)、第 9 天的 1 期幼虫期(35.3%)和第 17 天的感染性 2 期幼虫期(78.3%),以及犊弓首蛔虫卵第 1 天的 2 细胞期(28.7%)、3 细胞期(17.6%)和 4 细胞期(32.4%)、第 3 天的早期桑葚期(50.9%)、第 4 天的晚期桑葚期(84.9%)、第 5 天的囊胚期(58.3%)、第 7 天的 1 期幼

虫期(54.6%)和第 10 天的 2 期幼虫前期(44.4%)(图 5)。相反,犬弓首蛔虫卵每天仅有 10% 的虫卵发育至新阶段,但它们可在进入新阶段当天达到占比峰值,如第 2 天的 2 细胞期(25.4%)、第 3 天的早期桑葚期(26.6%)、第 5 天的晚期桑葚期(34.4%)、第 6 天的肠胚期(28.7%)、第 7 天的 2 期幼虫前期(22.5%)以及第 21 天的感染性 2 期幼虫期(30.6%)。



(a)犬弓首蛔虫卵;(b)猫弓首蛔虫卵;(c)犊弓首蛔虫卵。

(a) *T. canis* eggs; (b) *T. cati* eggs; (c) *T. vitulorum* eggs.

图 5 弓首蛔虫卵体外发育各阶段占比比较

Fig. 5 Pairwise comparisons of proportions of various developmental stages of *Toxocara* eggs *in vitro*

3 讨 论

众所周知,虫卵是弓首蛔虫病最主要的感染源,然而目前有关弓首蛔虫卵体外发育过程的研究却较为缺乏,对于弓首属不同种类间虫卵体外发育相似性与差异性更是知之甚少。为此,本研究首次通过对弓首属 3 个常见种——犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫和犊弓首蛔虫的虫卵连续 21 d 的体外培养与观察,共记录到 12~13 个不同发育阶段,其中猫弓首蛔虫卵包括 1 细胞期、2 细胞期、3 细胞期、4 细胞期、5 细胞期、早期桑葚期、晚期桑葚期、囊胚期、肠胚期、1 期幼虫前期、1 期幼虫期、2 期幼虫前期和 2 期幼虫期等 13 个发育阶段,犬弓首蛔虫卵和犊弓首

蛔虫卵因缺失 5 细胞期而仅有 12 个发育阶段,该结果与张艺琳等^[10]的研究结果一致;而与猪蛔虫卵^[14]的 9 个发育阶段(1 细胞期、2 细胞期、3 细胞期、4 细胞期、8 细胞期、16 细胞期、囊胚期、蝌蚪期及成熟幼虫期)相比,新增了 5 细胞期、1 期幼虫前期、1 期幼虫和 2 期幼虫前期 4 个阶段,进而补充了弓首蛔虫乃至蛔目蛔虫卵体外发育形态变化数据的系统性和完整性。值得注意的是,与同属犬弓首蛔虫和猫弓首蛔虫卵相比,猫弓首蛔虫卵多一个 5 细胞期,其是否与虫种本身有关尚需进一步研究确认,但是考虑到猫弓首蛔虫卵卵裂速度介于犊弓首蛔虫卵与犬弓首蛔虫卵之间,或许将进一步缩短观察和记录的时间间隔(0.25 d/次)可以帮助确认该推测。另

外,本研究结果显示,相较犬弓首蛔虫卵,猫弓首蛔虫卵体外发育速度更快,仅需7 d便可发育形成感染性2期幼虫,暗示其可能更易造成潜在的公共卫生危害,该发现提示兽医及相关防疫人员应重视对该蛔虫病的监测和关注。此外,本研究还发现3种弓首蛔虫卵均存在体外发育不同步性,即不同发育阶段可在相同时间点出现,甚至部分已发育至感染性2期幼虫期,但仍有绝大部分虫卵却还处于细胞期,再一次印证张艺琳等^[10]和Azam等^[15]的结论。

本研究发现弓首蛔虫卵各发育阶段形态特征与猪蛔虫卵^[14]极为类似,一定程度上说明蛔虫卵发育过程存在相似性和保守性。然而,就发育特征而言,相较蛔属蛔虫(如猪蛔虫),弓首属蛔虫卵的体外发育早期似乎更活跃,其不仅各阶段持续时间短,而且进入新阶段的虫卵数量也比蛔属蛔虫卵多。结合2个属蛔虫卵结构特征来看^[16-17],这或许与弓首属蛔虫特有的自我保护行为有关。在形态结构上,蛔属蛔虫卵拥有厚厚的蛋白外壳,而弓首属蛔虫卵壳却较薄,因此当面对外界不利环境因素(如光照、干旱、微生物感染)时,弓首属蛔虫卵更快的体外发育速度可以间接增加虫卵的环境抗逆性。另外,3种弓首蛔虫的感染性2期幼虫表现出对光刺激敏感性降低的现象(存在1~5 min的延迟),推测这可能一方面与感染性2期幼虫体型过长致使活动受虫卵腔室限制有关;另一方面也可能与幼虫进入“休眠”(又称滞育)状态有关。已有研究表明,多数寄生性线虫为增加其虫卵幼虫的环境存活时间,其会主动降低物质和能量代谢,进而表现出活动力较少的现象^[18-19]。与此同时,部分研究表明,相较2期幼虫,弓首蛔虫感染性虫卵亦包含3期幼虫,但本研究并未发现2期幼虫存在卵内蜕皮或幼虫体表附“鞘”的现象,这或许受限于现有光学显微镜无法实现实时画面记录的影响,相信随着将来可实现实时画面记录寄生虫离体培养装置的研发和使用,该结论将会得到进一步确认。此外,本研究还发现,弓首蛔虫卵存在感染性2期幼虫自然孵化现象,这种虫卵自然孵化的现象也可在猪蛔虫卵体外发育观察研究中发现^[14],所以一些研究人员认为虫卵发育全过程还应包括幼虫的孵化这一阶段^[20-21],但该说法目前仍然存在争议。

本研究使用经伊维菌素驱虫所得犬弓首蛔虫、猫弓首蛔虫、犊弓首蛔虫虫体子宫剖解虫卵为研究

对象,有效避免了阿苯达唑等驱虫药物对虫卵后续发育的影响^[22-23]。同时本研究采用麦克马斯特计数器作为虫卵培养容器,不仅实现对同一虫卵的实时观察和记录,而且其腔室薄薄一层培养液也增加虫卵与环境氧气的接触几率,保障弓首蛔虫卵的正常发育以及所得发育数据的准确性。除此之外,本试验使用的虫卵培养液PSABS因替代传统5%福尔马林培养液,较好地规避先前实验人员因高频率观察而带来吸入福尔马林的潜在危险,因此该方法可进一步推广应用于其它寄生虫虫卵及其幼虫的实验室外培养,为更好开展兽医寄生虫研究提供参考。

4 结 论

本研究采用彩色显微图像智能识别系统对弓首属3种蛔虫卵的体外发育过程进行了全面系统的观察和描述,证实弓首蛔虫卵存在12~13个体外发育阶段;然而相较犬弓首蛔虫、犊弓首蛔虫卵,猫弓首蛔虫卵虽多出5细胞期发育阶段,但其仍是弓首属发育速度最快的虫卵,这些发现不仅丰富和完善了弓首蛔虫卵发育形态学变化的基础知识,而且为今后该人畜共患病的防控工作提供了理论依据,具有重要的公共卫生意义。

参考文献 References

- [1] Ma G X, Holland C V, Wang T, Hofmann A, Fan C K, Maizels R M, Hotez P J, Gasser R B. Human toxocarosis[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2018, 18(1): e14-e24
- [2] Rostami A, Riahi S M, Hofmann A, Ma G X, Wang T, Behniafar H, Taghipour A, Fakhri Y, Spotin A, Chang B C H, MacPherson C N L, Hotez P J, Gasser R B. Global prevalence of *Toxocara* infection in dogs[J]. *Advances in Parasitology*, 2020, 109: 561-583
- [3] Zheng W B, Zou Y, Zhu X Q, Liu G H. *Toxocara* “omics” and the promises it holds for medicine and veterinary medicine[J]. *Advances in Parasitology*, 2020, 109: 89-108
- [4] Xie Y, Wang L D, Chen Y J, Wang Z, Zhu P C, Hu Z, Han X F, Wang Z S, Zhou X, Zuo Z C. The complete mitogenome of *Toxocara vitulorum*: Novel in-sights into the phylogenetics in Toxocaridae[J]. *Animals*, 2022, 12(24): 3546
- [5] Holland C V, Smith H V. (Eds.) *Toxocara: The Enigmatic Parasite* [M]. Wallingford: Centre for Agriculture and Bioscience International Publishing, 2006
- [6] Maciag L, Morgan E R, Holland C. *Toxocara*: Time to let *cati* ‘out of the bag’[J]. *Trends in Parasitology*, 2022, 38(4): 280-289
- [7] Yoshida A, Hamilton C M, Pinelli E, Holland C V. Toxocarosis[C]. In: Bruschi F. *Helminth Infections and Their Impact on Global Public Health*. Cham: Springer, 2022: 569-605
- [8] Biswas H, Roy B C, Dutta P K, Hasan M M, Parvin S, Choudhury D K, Begum N, Talukder M H. Prevalence and risk factors of *Toxocara vitulorum* infection in buffalo calves in coastal, northeastern and

- northwestern regions of Bangladesh [J]. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2021, 26: 100656
- [9] Holland C V. Knowledge gaps in the epidemiology of *Toxocara*: the enigma remains[J]. *Parasitology*, 2017, 144(1): 81-94
- [10] 张艺琳, 张森棹, 古小彬, 杨光友, 谢跃. 犬弓首蛔虫卵体外发育的形态观察[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2019, 37(4): 486-489
- Zhang Y L, Zhang S Z, Gu X B, Yang G Y, Xie Y. Morphological observations of *Toxocara canis* egg development *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2019, 37(4): 486-489 (in Chinese)
- [11] 胡遵, 王涵, 朱鹏辰, 谢跃. 人畜共患猫弓首蛔虫卵的体外发育形态观察[J]. *中国动物传染病学报*, 2024, Doi: 10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20231017.001
- Hu Z, Wang H, Zhu P C, Xie Y. Developmental and morphological observations of the zoonotic *Toxocara Cat* eggs *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2024, Doi: 10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20231017.001(in Chinese)
- [12] Fogt-Wyrwas R, Mizgajska-Wiktor H, Pacion J, Jarosz W. Intraspecific variation between the ITS sequences of *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* from different host species in south-western Poland[J]. *Journal of Helminthology*, 2013, 87(4): 432-442
- [13] Chamuah J K, Raina O K, Sakhrie A, Gama N. Molecular identification of *Mecistocirrus digitatus* and *Toxocara vitulorum* in the mithun (*Bos frontalis*) from north-east India[J]. *Journal of Parasitic Diseases*, 2017, 41(3): 734-738
- [14] Cruz L M, Allanson M, Kwa B, Azizan A, Izurieta R. Morphological changes of *Ascaris* spp. eggs during their development outside the host [J]. *The Journal of Parasitology*, 2012, 98(1): 63-68
- [15] Azam D, Ukpai O M, Said A, Abd-Allah G A, Morgan E R. Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae[J]. *Parasitology Research*, 2012, 110(2): 649-656
- [16] Uga S, Matsuo J, Kimura D, Rai S K, Koshino Y, Igarashi K. Differentiation of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs by light and scanning electron microscopy[J]. *Veterinary Parasitology*, 2000, 92(4): 287-294
- [17] Ashour, Omar H M, Wanas M Q. Scanning electron microscopy of the egg and the second stage larva of *Toxocara vitulorum* [J]. *Qatar University Science Journal*, 1996, 16(2): 303-305
- [18] Ogawa A, Streit A, Antebi A, Sommer R J. A conserved endocrine mechanism controls the formation of dauer and infective larvae in nematodes[J]. *Current Biology: CB*, 2009, 19(1): 67-71
- [19] Vlaar L E, Bertran A, Rahimi M, Dong L M, Kammenga J E, Helder J, Goverse A, Bouwmeester H J. On the role of dauer in the adaptation of nematodes to a parasitic lifestyle [J]. *Parasites & Vectors*, 2021, 14(1): 554
- [20] Brunaská M, Dubinský P, Reiterová K. *Toxocara canis*: Ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs[J]. *International Journal for Parasitology*, 1995, 25(6): 683-690
- [21] Bowman D D. The anatomy of the third-stage larva of *Toxocara canis* and *Toxocara cati*[J]. *Advances in Parasitology*, 2020, 109: 39-61
- [22] Boes J, Eriksen L, Nansen P. Embryonation and infectivity of *Ascaris suum* eggs isolated from worms expelled by pigs treated with albendazole, pyrantel pamoate, ivermectin or piperazine dihydrochloride [J]. *Veterinary Parasitology*, 1998, 75(2/3): 181-190
- [23] Sulik M, Antoszczak M, Huczyński A, Steverding D. Antiparasitic activity of ivermectin: Four decades of research into a “wonder drug”[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 261: 115838

责任编辑: 秦梅



第一作者简介: 李赵睿羿,男,四川成都人,四川农业大学动物医学院预防兽医学在读硕士研究生。主要研究方向为动物寄生虫。曾获得“优秀学生”“优秀大学毕业生”等荣誉称号。



通讯作者简介: 谢跃,博士,教授,博士生导师,四川农业大学动物医学院预防兽医学系副主任,国家肉牛牦牛产业技术体系常见病研究与诊疗岗位成员,国家科技特派团员,四川智慧农业科技协会理事及专家顾问委员会委员,四川省学术和技术带头人后备人选。主要从事动物寄生虫病抗药性与防控技术研究,主持国家自然科学基金面上项目、四川省国际科技合作项目等国家级、省部级项目 7 项;以第一或通讯作者在 *Lancet Infect Disease*、*Emerging Infectious Disease* 等期刊发表 SCI 论文 60 余篇;主编/副主编学术专著 2 部;制定并颁布寄生虫病检测技术标准 2 项目;获梁希林业科技进步二、三等奖各 1 项,四川省科技进步三等奖 2 项;获国家(国际)发明专利 10 项。