

十二指肠钩虫和美洲钩虫 生态学的比较研究

蒋华 强慧琴

(中国医学科学院寄生虫病研究所)

早年学者的研究已积累了不少有关人体两种钩虫的基本生物学知识,其中也涉及到某些不同的生态特征。但有些论断,特别是寄生期的生态,大都以临床症状加以推测。1960年后才陆续见有两种钩虫在动物体内发育和移行路线的报道。近年来,国内外一些学者从不同方面指出,两种钩虫的种间生物学差异不仅影响着它们的流行病学特点,而且与防治对策有着密切关系。为此,对两种钩虫在实验动物体内的生态习性及其差异进行了比较观察。

材料与方 法

一、自由生活期 分别取十二指肠钩虫和美洲钩虫单一感染者粪便,经铜筛滤去粗渣、沉淀、弃去上清液,用改良洪氏虫卵计数法计算每毫升粪液内虫卵数。幼虫培养用 Hsieh (1963) 试管滤纸培养法,但以大指管代替试管。

将培养管分别置于6.5、16、28、33、37和43°C中,逐日各取出2管检查虫卵发育情况。每隔4、8、12、24、48、和72小时分别自6.5和43°C中取2管移至28°C,培养7天检查第3期幼虫的孵出情况。根据第3期幼虫在培养管内由滤纸向培养液移动的习性,观察幼虫在28、33和37°C等温度中的移动速度,比较两者的活动能力。此外,用饱和盐水漂浮法分别收集两种虫卵,清水洗涤3次,加水成3厘米左右高的水悬液置于28°C中,计算每毫升悬液中的虫数。每日取1毫升虫卵悬液检查虫卵发育情况。

二、寄生期 将培养的第3期幼虫经分离、浓集后计算每毫升幼虫数备用。用直接钻肤、经口灌服或胶囊吞服以及剖腹后将幼虫注入胃和十二指肠等4种方法感染幼龄仓鼠,以前两种方法接种幼犬。每鼠接种400~600条幼虫,每犬接种3,000~5,000条。钻肤时间为45~60分钟。感染后3~7天解剖,检查肺和小肠内虫体。另用钻肤法接种仓鼠和

犬, 定期解剖, 比较两种钩虫的钻肤率和皮肤、肌肉、肺脏以及小肠内虫体的出现、消失和发育移行情况。

结 果

一、自由生活期 6种温度中两种钩虫卵除6.5和43°C外, 都能发育到第3期幼虫。28、33和37°C中虫卵发育速度一致, 即24小时已孵化为第1期幼虫、48小时发育为第2期幼虫, 96小时除28°C有8.9%美洲钩虫仍在第2期外, 均同步发育为第3期幼虫。孵化率无明显差异。16°C中两种虫卵发育速度明显缓慢, 第3天孵化, 发育到第3期幼虫, 十二指肠钩虫需15天、美洲钩虫需20天。6.5°C中存放12小时, 十二指肠钩虫卵孵化率为49.1%、美洲钩虫为28.6%; 存放24小时则分别为27.2%和14.4%; 存放48小时为1.3%和0%。43°C中存放8小时其孵化率分别为35.9%和0.3%; 存放24小时则两者均不能孵化。

两种钩虫卵在28°C水悬液内经24小时均有97.5%已孵化为第1期幼虫, 72小时为第2期幼虫, 直至第10天幼虫仍处于第2期, 且开始大量死亡。其后逐日检查至第19天, 幼虫死亡率, 十二指肠钩虫在86.0~92.0%、美洲钩虫在99.1~100%。但自第11天开始每天都能看到少数美洲钩虫第3期幼虫, 其平均数量占检查虫数(包括死虫)的1.3%。第20天检查全部虫卵悬液共获美洲钩虫幼虫124条, 占原来悬液4,019个虫卵的0.308%, 十二指肠钩虫为12条, 占原来悬液内3,012个虫卵的0.0039%。

第3期幼虫活动能力的观察表明, 美洲钩虫和十二指肠钩虫在同一温度同一时间(28°C, 96小时)中, 培养液和滤纸上的数量之比分别为0.4:99.6和90.7:9.3($P < 0.01$)。显示后者已大部分自滤纸移动到培养液内。而前者到第6天才只有88.7%进入培养液中。此外, 同在96小时, 但温度不同(28和37°C), 美洲钩虫在培养液和滤纸上数量之比分别为0.4:99.6和54.2:45.8($P < 0.05$), 可以说明美洲钩虫第3期幼虫的活动能力显较十二指肠钩虫为弱, 且其活动速度与温度有关(表1)。

表1 不同温度和时间两种钩虫第3期幼虫在培养液和滤纸上的分布

培养天数	分布位置	28°C		33°C		37°C	
		A, d	N, a	A, d	N, a	A, d	N, a
4	培养液	187(90.7)	1(0.4)	122(86.5)	37(17.8)	174(94.1)	102(54.3)
	滤纸	20(9.3)	283(99.6)	19(13.5)	171(82.2)	11(5.9)	86(45.7)
5	培养液	178(91.3)	71(48.0)	241(98.4)	120(42.4)	90(69.8)	133(53.0)
	滤纸	17(8.7)	77(52.0)	4(1.6)	163(57.6)	38(30.2)	118(47.0)
6	培养液	237(94.4)	268(88.7)	311(99.7)	147(89.6)	183(82.4)	217(73.1)
	滤纸	14(5.6)	34(11.3)	1(0.3)	17(10.4)	39(17.6)	80(26.9)

A, d: 十二指肠钩虫 N, a: 美洲钩虫。括弧内为百分数

二、寄生期 两种钩虫用不同感染方式接种实验动物的结果表明：1.不论何种感染方式都有幼虫经血循环移行至肺这一固有途径。2.经肤感染的美洲钩虫幼虫在肺内检获之虫数较十二指肠钩虫为多；经口感染则相反。3.美洲钩虫幼虫直接注入仓鼠的胃和十二指肠后，肺内亦都能检获幼虫（表2）。

表2 不同感染方式3—7天内两种钩虫在肺内的虫数

感染方式	虫种	动物	平均接种幼虫数	解剖动物数	每只动物平均检获虫数（分布范围）
钻 肤	A、d	鼠	343.4±4	8	2.7 (0~7)
		犬	5694.0±72	3	1.0 (1~3)
	N、a	鼠	416.0±10	4	58.0 (32~101)
		犬	3527.0±17	4	167.0 (0~398)
口 服	A、d	鼠	545.4±22	14	20.8 (0~72)
		犬	4710.0±190	5	13.4 (0~42)
	N、a	鼠	528.5±12	8	1.4 (0~5)
		犬	4880.0±108	4	3.2 (0~11)
胃	A、d	鼠	580.0±42	4	8.2 (1~29)
	N、a	鼠	541.9±17	8	3.8 (0~24)
十二指肠	A、d	鼠	580.0±42	4	18.0 (0~47)
	N、a	鼠	450.0±5	4	4.2 (1~7)

两种钩虫经肤感染仓鼠和犬的发育和移行情况表明：十二指肠钩虫平均钻肤率为82.9%、美洲钩虫为97.7%。感染7天内仓鼠皮肤内检获的幼虫数后者高于前者，但肌肉内相反（表3）。因观察的动物较少，有待继续观察。两种钩虫最早移行至肺都在感染后第2天，消失时间美洲钩虫为第11天、十二指肠钩虫为第25天。前者在肺内逐渐积聚增多，第7天达高峰，而后者并无积聚，始终呈少量分散地通过肺脏，无明显的幼虫高峰可见（表3、4）。同时，美洲钩虫在肺内发生明显的形态变化，此时钩虫体增粗、肠内色素颗粒沉着，假口腔形成。十二指肠钩虫无明显形态变化。美洲钩虫在仓鼠小肠内检获的最早时间在感染后9天，并已发育成第4期幼虫，21天为第5期幼虫，42天粪内检获虫卵。十二指肠钩虫在犬体内进入小肠最早为第4天，第4期幼虫为第5天、第5期幼虫为11天，粪内检获虫卵为24天。美洲钩虫感染幼犬后仅获少量成熟虫体；十二指肠钩虫感染仓鼠后仅能发育到第4期幼虫，感染后25天虫体已被排出宿主体外。

讨 论

人体钩虫生态习性的研究多见于自然环境对虫卵生存和发育的影响。可是多数报道未指明虫种，故有将两种钩虫混淆之可能。Schad(1971)在西孟加拉现场对两种钩虫卵发育的温度分别作了观察。本实验结果显示美洲钩虫卵不能孵化的上限温度均较前者为

表3 两种钩虫经肤感染仓鼠后不同时间不同器官内检获的虫数

解剖时间	虫数	皮肤	肌肉	肺	小肠
		虫数/动物数(平均虫数)	虫数/动物数(平均虫数)	虫数/动物数(平均虫数)	虫数/动物数(平均虫数)
立即	A, d	199/2 (99.5)	20/2 (10.0)	—	—
	N, a	207/2 (103.5)	5/2 (2.5)	—	—
~4小时	A, d	58/2 (29.0)	15/2 (7.5)	—	—
	N, a	99/2 (49.5)	4/2 (2.0)	—	—
~1天	A, d	77/2 (38.5)	15/2 (7.5)	0/2	—
	N, a	162/2 (81.0)	2/4 (0.5)	0/4	—
~3天	A, d	16/4 (4.0)	21/4 (5.3)	3/4 (0.8)	—
	N, a	94/4 (23.5)	—	88/4 (22.0)	—
~7天	A, d	0/2	4/5 (0.8)	17/6 (2.8)	—
	N, a	1/4 (0.25)	0/2	234/4 (58.5)	0/2
~15天	A, d	0/4	4/5 (0.8)	4/5 (0.8)	0/8
	N, a	0/12	0/12	7/8 (0.9)	71/10 (7.1)
~25天	A, d	—	0/5	15/13 (1.2)	8/9 (0.9)
	N, a	0/4	0/4	0/8	75/10 (7.5)
~40天	A, d	—	—	0/5	0/17
	N, a	—	—	0/5	125/21 (6.0)

表4 两种钩虫经肤感染幼犬后不同时间检获的虫数

解剖时间(天)	虫种	肺		肠	
		虫数/动物数	平均虫数	虫数/动物数	平均虫数
3~7	A, d	3/4	0.8	3/4	0.8
	N, a	877/5	175.4	0/5	—
8~15	A, d	16/6	2.7	370/6	61.7
	N, a	5/4	1.5	5/4	1.3
16~32	A, d	0/3	—	195/3	65.0
	N, a	0/4	—	3/5	0.6

低,但90%以上虫卵孵化率的温度范围较前者为大。一致的结果是两种钩虫卵对温度的适应范围有异。此当为导致它们的流行病学和地域分布差异的原因之一。此外,实验观察两种钩虫,特别是美洲钩虫卵在水内少数可发育成第3期幼虫,这在流行病学上有一定意义。

文献记载十二指肠钩虫更适宜于经口感染,美洲钩虫以经肤感染为佳。其理由归纳

为; 美洲钩虫钻肤率高于十二指肠钩虫, 且可引起更严重的皮炎; 美洲钩虫具备更发达的钻肤器官——食道矛; 推测美洲钩虫生活史必须经过肺脏, 并可能在肺内有一生长期; 以及美洲钩虫更易被宿主胃液杀死, 故不宜经口感染。本观察结果表明其主要原因是美洲钩虫在肺内须有一生长发育阶段。据Nagahana和Yoshida (1965), 十二指肠钩虫经口感染可不经移行在小肠内直接发育为成虫。但作者用三种经口感染的方法都能找到经血液循环移行至肺内的幼虫。看来 Nagahana 等的实验也不能避免此一情况的存在。因此对其结果的可靠性产生疑问。据报道, 与十二指肠钩虫同一属的犬钩虫和锡蓝钩虫都适宜于经口感染, 故它们与美洲钩虫的差异可能反映了两个属的生物学特性。此外, 本文观察的两种钩虫在感染宿主后的虫卵开放前期均较短, 特别是十二指肠钩虫侵入幼犬后24天即在粪内检获虫卵, 此为以往报道中最短的记录。

参 考 文 献

- 上海寄生虫病研究所虫病研究室 1973 丙乙胺羟基萘酸盐、盐酸四咪唑及双萘萘酸四咪唑对十二指肠和美洲钩虫的疗效比较。中华医学杂志, 8:490.
- Chandler, A. 1929 "Hookworm disease: Its distribution, biology, epidemiology, pathology, diagnosis, treatment and control". Macmillan New York
- Chandler, A. 1935 A Review of recent work on rate of acquisition and loss of hookworms. *Am. J. Trop. Med.*, 15: 357.
- Davis, A. 1973 Drug treatment in intestinal Helminthiases. *WHO Geneva* 52—92.
- Hoagland, K. and G. Schad 1978 *Necator americanus* and *Ancylostoma duodenale*: Life history parameters and epidemiological implications of two sympatric hookworm of humans. *Exp. Parasit.*, 44 (1): 36.
- Hsieh, H. 1963 Test-tube filter-paper method for the diagnosis of *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*. *WHO Techn. Rep. Ser.*, 255:27.
- Hsieh, H. 1972 Distribution of *Necator americanus* and *Ancylostoma duodenale* in Liberia. *WHO*, 47 (3): 317.
- Lumsden, W. et al. 1979 *Advances in Parasitology*. 17: 321—325.
- Nagahana, M. and Yoshida, Y. 1965 Complete development and migratory route of *Ancylostoma duodenale* in Young dogs. *J. Parasit.*, 51: No. 2, Sec. 2, 52 (abstr.)
- Schad, G. 1969—1970 Report of the Johns Hopkins Center for Medical Research and Training. 5.
- Svensson, R. 1926 Observations on the development and longevity of hookworm larvae in different temperature conditions. *China Med. Jour.*, 39:1.
- Yanagisan, R. 1966 The epidemiology of hookworm disease. In "progress of medical parasitology in Japan". *Mengmo Parasitological Museum Tokyo*, 3: 287.
- Yashida, Y. 1978 *Illustrated human parasitology nanzando CO Litol Tokyc*, 88—89.

COMPARATIVE STUDIES ON THE ECOLOGY OF
ANCYLOSTOMA DUODENALE AND
NECATOR AMERICANUS

Jiang Hua Qiang Huibin

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences)

Comparisons between the development of eggs and larvae of *A. duodenale* and that of *N. americanus* were studied experimentally. The eggs of both species, maintained between 28°—37°C, developed concurrently to the third stage larvae in 4 days. However, maintaining at 16°C, the time required for developing eggs of *A. duodenale* was less than of *N. americanus*, being 15 and 20 days respectively. No larvae of either species, maintaining below 6.5°C or above 43°C were found but the eggs of *A. duodenale* were more tolerant of the low temperature. In water, both types of eggs (over 97.5%) could develop to the second stage larvae, and only a few were able to reach their third stage. The average percentage was 0.0039% in *A. duodenale* and 0.308% in *N. americanus*. The movement of the third stage larvae of *A. duodenale* was more active, which moved from the filter-paper to the culture solution within the culture tubes were more rapid, than that of *N. americanus* at same temperature. There are two routes of infection open to the hookworms, orally or by skin, the former is appropriate for *A. duodenale*, the latter for *N. americanus*, although it is no matter with which route they get by to establish the infection in hosts. After invasion, both kinds of larvae were carried by blood stream to the host's lung from which they migrated to the intestine where they lived for life long. However no larvae found, developed directly in the intestine even if they were infected orally. *N. americanus* took a developing period in the lung, while *A. duodenale* did not. Thus the larvae of *A. duodenale* took only 4 days from invasion to reaching intestine, while *N. americanus* required 9 days, and the earliest time needed to reach maturity was 24 days for *A. duodenale* in dogs and 42 days for *N. americanus* in golden hamsters.

Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDB