

三种钩虫成虫、幼虫、虫卵及十二指肠钩虫童虫的扫描电镜观察

黄先翔 尹光跃

(四川省医学科学院寄生虫病防治研究所)

近年来,国内外虽已有不少用电镜观察十二指肠钩虫、美洲钩虫、犬钩虫及其幼虫、虫卵的形态生物学特征的报导,但扫描所用标本均系驱虫后检获的虫体,每有不同程度的损伤,不利于观察虫体的组织结构。1986年我们应用体外培养技术,首次将活体的十二指肠钩虫、美洲钩虫及犬钩虫的成虫、幼虫、虫卵及十二指肠钩虫童虫,进行了扫描电镜观察。结果如下:

材料和方法

标本来源及处理:收集单一种钩虫感染者的粪便,按常规培养、分离感染期幼虫,分别感染幼犬。感染后14天,将犬肠中检获的十二指肠钩虫童虫,以50%犬血清的RPMI 1640培养液培养1月,获得发育成熟的十二指肠钩虫成虫。美洲钩虫成虫系人工感染幼犬50天后,从犬肠内检获。犬钩虫从成犬肠壁收集。

上述虫体经体外培养数日后,分别用0.6%无菌盐水清洗三次,按常规收集虫卵,幼虫,分别滴在Formvar膜上(聚乙烯醇缩甲醛所制),使标本牢固地粘附。标本均用pH7.4磷酸缓冲液洗涤三次,经2.5%戊二醛和1%锇酸分别作固定与后固定,以50~100%酒精—丙酮脱水,异戊酯置换,CO₂临界点干燥后镀金,用日立S-450型扫描电镜进行观察。

结果(图见封三)

一、成虫形态 十二指肠钩虫成虫口孔呈卵圆形,宽大于长,在口囊腹面前缘有两对粗大的钩齿,外侧齿较大,内侧齿略小,内齿的内侧基部有一个很小的副齿(图1),口缘有较厚的角质层环绕,在外缘腹侧面与钩齿相应处可见两对突隆的纵嵴及一对结节状乳突。虫体表皮有较细密的皱纹,而环状条纹很深呈锯齿状,二条纹间距平均为2.2微米(1.8~2.4微米)(图2)。雌虫尾部呈锥状,末端的尾刺清晰可见,长约23微米(图3)。雄虫交合伞内缘上有多对乳突,交合刺长约57微米,末端尖细(图4)。14日龄的童虫较短小,形态与成虫相似,口囊内两对钩齿已形成。虫体表皮较薄,横纹上有不规则纵纹,横状条纹较成虫深且锯齿状明显,二条纹间距平均为1.3微米(1.2~1.4微米)(图5)。

美洲钩虫成虫的口孔几乎成圆形,口缘有较厚的角质层,口囊腹面前缘有一对半月状切板,背面还有一对较小的切板(图6)。头端腹侧缘,有一对乳突明显可见,虫体表皮有较多皱襞,环形条纹直而深,二条纹间距平均为2.6微米(2.5~2.8微米)(图7)。雌虫无尾刺,雄虫交合伞内面有多对乳突,尤以交合伞腹面基部呈“品”字形的乳突最明显,其乳峰甚为突出(图8),乳突上有许多纵形细皱襞,并有规则的条纹向四周扩散。雄虫的交合刺长约44.4微米,末端呈钩状(图9)。

犬钩虫成虫口孔宽大，口囊腹面前缘有三对粗大的钩齿，体表有不规则的皱襞，角皮横纹较直，二条纹间距平均为3.6微米(3~4.2微米)(图10)。雌虫的尾刺长约18.8微米(图11)。

二、感染期钩虫幼虫的形态 扫描三种钩虫幼虫的形态无明显区别，头部的顶端均为蜂窝状结构(图12)，尾端尖细，幼虫的环状皮纹排列整齐，而在虫体两侧从头至尾有一条明显的侧线(纵带)，侧线的宽度及皮纹结构随虫种不同而异(图13、14、15)，十二指肠钩虫、美洲钩虫及犬钩虫幼虫皮纹侧线宽分别为1.7、2.7及2.5微米；横纹间距分别为0.9、1.1及0.7微米。

三、钩虫卵的形态 用扫描电镜观察三种钩虫卵的形态与光镜下一致，均为卵圆形或近球形，表面有一层很薄的膜状结构覆盖，有时可形成皱褶，或在卵壳上出现不规则的浅裂纹，甚至在卵的一端显示明显的缺蚀，其卵的形状象一个有口瓶(图16)，此种结构是否是受精虫卵中幼虫破壳而出后所形成的卵孔，有待进一步研究。

讨论

本文应用体外培养技术，首次对生活的十二指肠钩虫重虫、成虫、卵及幼虫作了扫描电镜观察。童虫通过体外长时间的存活以至发育成熟，其基本形态特征与成虫相似，仅皮纹间距上有所区别，证明我们从童虫至成虫的培养研究是成功的。至于它们各器官的超微结构改变，有待透射电镜观察。

三种钩虫成虫的超微结构，除虫体头部及尾部的形态各有特征外，皮纹结构及条纹间距的差异，也可作为区别虫种的指标。人体两种钩虫的体壁上有对称性乳突分布，以雄虫交合伞最为集中，而美洲钩虫交合伞基部“品”字形乳突的乳峰最明显。而三种钩虫感染期幼虫，特别是在光镜下难于鉴别的十二指肠钩虫幼虫与犬钩虫幼虫，可从虫体皮纹纵带的宽度相区别。

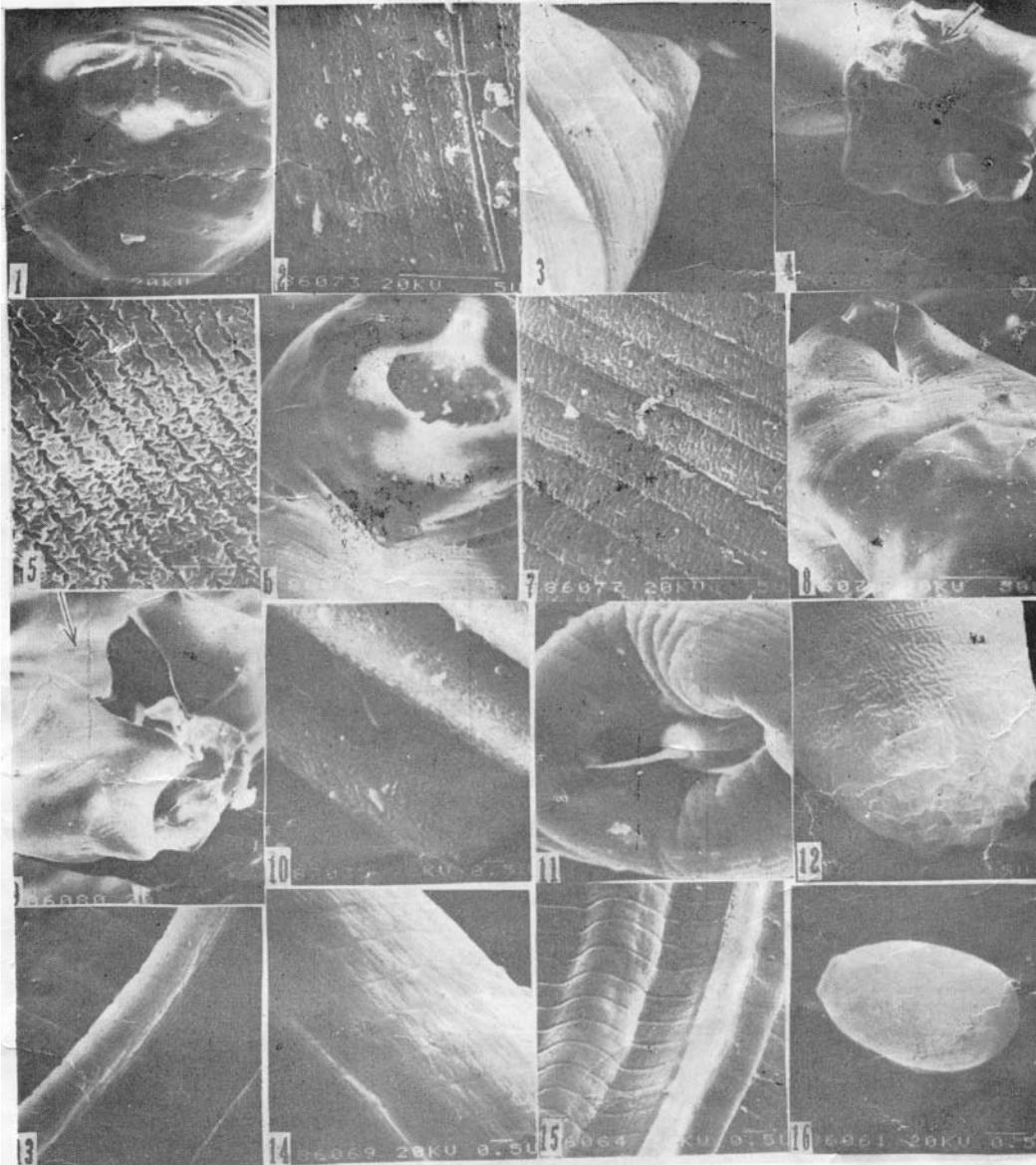
扫描观察三种钩虫卵仍难于区分，但卵壳的表面并非完全光滑无任何结构。虫卵可能为一层膜覆盖，并常常形成皱褶，甚至在卵的一端出现了卵孔，此种结构系虫卵本身存在的孔，还是Viqar Zaman所报告的，由虫卵内幼虫破壳而出的孔，值得进一步研究。

参 考 文 献

- 吉田幸雄 1977 函说人体寄生蟲學，93，南山堂，日本。
- 许世铨等 1983 十二指肠钩虫、美洲钩虫和犬钩虫的成虫及其虫卵和钩蚴的扫描电镜观察。汕头医专学报(7)：1—5。
- Yukio Yoshida et al . 1974 Scanning electron microscopy of hookworms 1 . Adults and infective-stage larvae of *Necator americanus*(Stiles . 1902) , Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 5 (4) : 510-514 .
- Yukio Yoshida et al . 1974 Scanning electron microscopy of hookworms 2 . Adults and infective-stage larvae of *Ancylostoma duodenale*(Dubini , 1843) . Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 5(4) : 515—518 .
- Viqar Zaman 1987 Scanning microscopy of helminth ova . Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 18(1) : 1—13 .

《三种钩虫成虫、幼虫、虫卵及十二指肠钩虫童虫的扫描电镜观察》

一文之附图(正文见第9页)



1. 十二指肠钩虫成虫口囊—腹面前缘两对钩齿及副齿($\times 320$); 2. 十二指肠钩虫成虫—皮纹($\times 3400$); 3. 十二指肠钩虫雌虫—尾刺($\times 600$); 4. 十二指肠钩虫雄虫—交合伞乳突及交合刺($\times 140$); 5. 十二指肠钩虫童虫—皮纹($\times 3000$); 6. 美洲钩虫成虫口囊—腹面前缘两对半月状切板($\times 540$); 7. 美洲钩虫成虫—皮纹($\times 3400$); 8. 美洲钩虫雄虫—交合伞基部“品”字形乳突($\times 280$); 9. 美洲钩虫雄虫—交合刺末端成勾状($\times 180$); 10. 犬钩虫成虫—皮纹($\times 6000$); 11. 犬钩虫雌虫—尾刺($\times 480$); 12. 十二指肠钩虫感染期幼虫—头部蜂窝状结构($\times 6000$); 13. 十二指肠钩虫感染期幼虫—皮纹($\times 6000$); 14. 美洲钩虫感染期幼虫—皮纹($\times 6000$); 15. 犬钩虫感染期幼虫—皮纹($\times 6000$); 16. 钩虫卵—表面有不规则裂纹, 卵的一端缺蚀, 似卵孔($\times 14000$)