

【实验研究】

文章编号: 1000-7423(2003)-05-0303-04

日本血吸虫幼虫在钉螺体内发育起点温度的研究

孙乐平¹ 周晓农² 洪青标¹ 黄軼昕¹ 杨国静¹ 奚伟萍¹ 姜玉骥¹

【摘要】 目的 研究环境温度对血吸虫幼虫在钉螺体内生长发育进程的影响程度。 **方法** 采集无血吸虫感染的钉螺,以钉螺与毛蚴 120 比例感染,感染后置于 30℃、27℃、24℃、21℃和 18℃环境中饲养,计算钉螺体内血吸虫的尾蚴开放前期和发育速度,分析尾蚴开放前期和发育速度与环境温度间的相关关系。 **结果** 21℃、24℃、27℃、30℃时血吸虫的尾蚴平均开放前期分别为(128.89±16.05)d、(95.00±21.03)d、(71.93±12.74)d和(62.74±14.19)d。尾蚴开放前期与环境温度的回归方程为 $y = 730.68x^{-0.8918}$ ($r = 0.9976$, $P < 0.01$)。血吸虫发育速度与环境温度的回归方程为 $y = 0.0235\ln(x) - 0.0639$ ($r = 0.9973$, $P < 0.01$)。从此方程中推算出日本血吸虫幼虫在钉螺体内的发育起点温度为 15.17℃±0.43℃。 **结论** 环境温度降低,钉螺体内血吸虫幼虫发育速度减慢。

【关键词】 日本血吸虫; 尾蚴; 钉螺; 发育速度; 起点温度; 开放前期

中图分类号: R383.24

文献标识码: A

Initial Temperature for the Development of *Schistosoma japonicum* Larvae in *Oncomelania hupensis*

SUN Le-ping¹, ZHOU Xiao-nong², HONG Qing-biao¹, HUANG Yi-xin¹,YANG Guo-jing¹, XI Wei-ping¹, JIANG Yu-ji¹

(1 Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi 214064;

2 Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200025)

【Abstract】 Objective To study the impact of environmental temperature on the development of *Schistosoma japonicum* larvae within the *Oncomelania hupensis*. **Methods** *Oncomelania* snails, collected from the field and free of *S. japonicum* infection, were exposed to miracidia of *S. japonicum* in a ratio of 120 and raised at 30℃, 27℃, 24℃, 21℃ and 18℃, respectively. The prepatent period of larvae within the *Oncomelania hupensis* and the developmental velocity were determined, of which the relationship with the temperature was analysed. **Results** The average prepatent period of cercariae in snail was (128.89±16.05) d, (95.00±21.03) d, (71.93±12.74) d and (62.74±14.19) d at 21℃, 24℃, 27℃, 30℃, respectively. The regression formulation between prepatent period and temperature was $y = 730.68x^{-0.8918}$ ($r = 0.9976$, $P < 0.01$). And the regression formulation between developmental velocity of *S. japonicum* larvae in snail and temperature was $y = 0.0235\ln(x) - 0.0639$ ($r = 0.9973$, $P < 0.01$). It was derived that the initial temperature for the development of *S. japonicum* within the snails was 15.17℃±0.43℃. **Conclusion** The development of *S. japonicum* larvae within the *Oncomelania* snails declines with the decrease of temperature.

【Key words】 *Schistosoma japonicum*, cercaria, *Oncomelania hupensis*, developmental velocity, initial temperature, prepatent period

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 300070684)

随着全球气候的不断变暖,近年已有学者提出了全球气候变暖对血吸虫传播影响的可能性,并阐述了开展相关研究的必要性^[1]。本研究在不同温度条件下,观察了血吸虫幼虫在钉螺体内发育的生物学指标,包括尾蚴开放前期和发育速度,依此推算出血吸虫幼虫在钉螺体内发育的起点温度理论值,为预测温度变化对我国血吸虫病传播的影响程度提供科学依据。

材料与方法

1 钉螺

湖北钉螺指名亚种(*Oncomelania hupensis hupensis*),于 2001 年 11 月上旬采自江苏邗江新坝(E119.53°, N32.28°)江滩,选取活力好的当年成螺,

置实验室 25℃环境饲养 4 wk,每 2 周逸蚴 1 次,确认无血吸虫感染后作为实验用钉螺。

2 血吸虫毛蚴

取无锡地区(E120.29°, N31.57°)日本血吸虫(本所钉螺室保种)尾蚴感染 45 d 后的兔肝,捣碎后收集虫卵,置 25℃光照条件下孵化,收集毛蚴备用。

3 钉螺人工感染

取 750 只实验用钉螺,置带绿纱盖的大培养皿(直径 15 cm)中,先加入 200 ml 脱氯水,再加入一定量的上述毛蚴(钉螺与毛蚴之比为 120),在 25℃光照条件下感染 4 h,取出备用。

基金项目: 国家自然科学基金(No. 300070684)

作者单位: 1 江苏省血吸虫病防治研究所,无锡 214064;

2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,上海 200025

4 实验分组与饲养条件

实验分 5 组, 每组钉螺为 150 只。取 5 只置 25 cm × 30 cm 搪瓷盘, 按奚伟萍等^[6]方法饲养感染后的钉螺, 分别置不同温度 (18 ℃、21 ℃、24 ℃、27 ℃ 和 30 ℃) 带光照的生化培养箱中饲养, 培养箱的温控精度为 ±1 ℃; 另在 24 ℃ 培养箱中放置 1 组未感染毛蚴的钉螺作为对照组, 同法饲养。

5 感染性钉螺确定

对以上不同的温度组, 分别从饲养 30、40、50、60 和 70 d 开始逸蚴, 采用逸蚴法^[7]确定感染性钉螺, 每隔 5 天逸蚴 1 次, 从末次逸出尾蚴开始至连续 3 次不能逸出尾蚴后, 解剖全部剩余钉螺。

6 统计与分析

记录各实验组逸出尾蚴钉螺的时间和数量, 计算不同温度条件下日本血吸虫在钉螺体内发育成熟的最短、最长和平均开放前期。参考邹钟琳等^[8]方法, 用 Excel 分析日本血吸虫幼虫发育速度与环境温度的关

系, 建立回归方程, 并进行趋势分析。

结 果

1 逸蚴时间和钉螺死亡情况

5 个实验组共感染钉螺 750 只, 分别在饲养 30~70 d 后开始逸蚴, 首次逸蚴前共计死亡钉螺 40 只, 各实验组末次逸蚴时间在 115~210 d 之间, 逸蚴期间共计死亡钉螺 379 只, 其中 18 ℃ 组到 210 d 时钉螺全部死亡, 对末次逸蚴后存活的 160 只钉螺进行了解剖观察, 未发现寄生血吸虫子胞蚴或尾蚴的感染性钉螺。对照组 (24 ℃) 50 d 时死亡钉螺 3 只, 至 195 d 钉螺全部死亡 (表 1)。

2 尾蚴开放前期

5 个实验组共逸蚴 710 只钉螺, 获得感染性钉螺 171 只, 其中 18 ℃ 温度组在所有钉螺死亡前未逸到感染性钉螺; 21 ℃~30 ℃ 的温度组内, 血吸虫在钉螺体内尾蚴成熟的最短开放前期为 40 d, 最长开放前期为 165 d, 平均开放前期为 (79.18 ± 25.79) d (表 2)。

表 1 不同实验组逸蚴时间和钉螺死亡情况

Table 1 Time for cercaria emergence and death of snails under different temperatures							
组别 Group	实验温度 (℃) Experimental temperature	首次逸蚴 First emergence of cercariae		末次逸蚴 Last emergence of cercariae		死亡钉螺数 (只) No. dead snails	
		时间 (d) Time	钉螺数 (只) No. snails	时间 (d) Time	钉螺数 (只) No. snails	逸蚴前 Before emergence	逸蚴期间 During emergence
I	18	70	138	210	0	12	138
II	21	60	135	180	20	15	97
III	24	50	145	160	45	5	66
IV	27	40	149	115	50	1	42
V	30	30	143	115	45	7	36
对照 Control	24	50	147	195	0	3	147

表 2 不同环境温度下钉螺体内的尾蚴成熟开放前期

Table 2 The prepatent period of cercariae in snails under different environmental temperature						
组别 Group	实验温度 (℃) Experimental temperature	观察钉螺数 (只) No. snails observed	感染性钉螺数 (只) No. infected snails	尾蚴开放前期 (d) Prepatent period of cercariae		
				最短 Min.	最长 Max.	平均 Mean
I	18	138	0	-	-	-
II	21	135	18	110	165	128.89 ± 16.05
III	24	145	34	65	145	95.00 ± 21.03
IV	27	149	57	50	100	71.93 ± 12.74
V	30	143	62	40	100	62.74 ± 14.19

3 尾蚴开放前期与温度的关系

血吸虫幼虫在 21 ℃、24 ℃、27 ℃ 和 30 ℃ 环境下, 钉螺体内尾蚴发育成熟的平均开放前期分别为 (128.89 ± 16.05) d、(95.00 ± 21.03) d、(71.93 ±

12.74) d 和 (62.74 ± 14.19) d。以温度作为自变量 (x), 尾蚴开放前期作为应变量 (y), 尾蚴开放前期随环境温度的变化趋势与曲线方程 $y = 730.68x^{-0.8918}$ 高度拟合 ($r = 0.9976$, $P < 0.01$), 以此方程推算温度在 16 ℃、17 ℃、18 ℃、19 ℃ 和 20 ℃ 时的理论尾蚴成熟

开放前期分别为 393.79、274.30、212.23、173.93 和 147.83 d(图 1)。

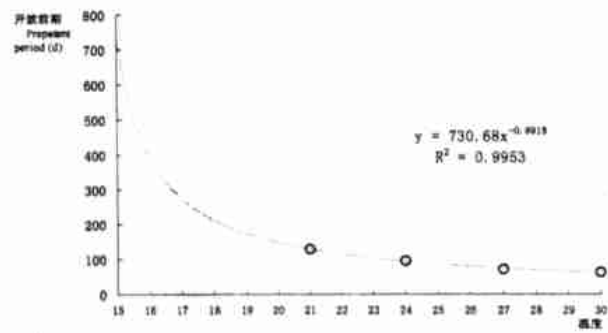


图 1 钉螺体内尾蚴开放前期与温度的关系
Fig.1 The relationship between prepatent period of cercariae within the snails and temperature

4 发育起点温度

昆虫幼虫发育速度 $V=1/N$ (N 为发育成熟时间) 的计算方法^[8], 算出 21 °C、24 °C、27 °C 和 30 °C 时血吸虫幼虫在钉螺体内的发育速度分别为 0.008、0.011、0.014 和 0.016 (1/2), 以温度作为自变量 (x), 血吸虫幼虫发育速度作为应变量 (y), 血吸虫幼虫发育速度随环境温度的变化趋势与曲线方程 $y=0.0235\ln(x)-0.0639$ 高度拟合 ($r=0.9973, P<0.01$), 当血吸虫幼虫发育速度趋向于零时, 得出血吸虫幼虫在钉螺体内的发育起点温度为 15.17 °C±0.43 °C(图 2)。

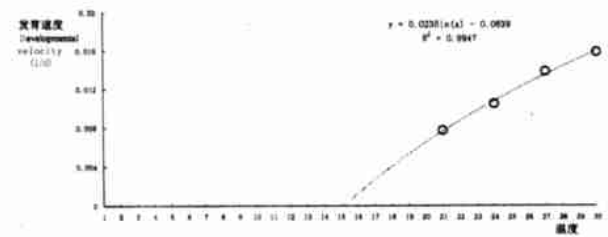


图 2 钉螺体内日本血吸虫发育速度与温度的关系
Fig.2 The relationship between developmental velocity of *S. japonicum* within the snails and temperature

讨 论

气温是影响血吸虫病流行和传播的重要因素之一^[9]。气候变暖对血吸虫病传播的影响, 主要有两个方面, 一是温度的升高加速了血吸虫幼虫在钉螺体内的发育速度^[2], 血吸虫病传播周期缩短; 二是温度的升高使血吸虫幼虫在钉螺体内最低发育温度线的北移^[1], 造成血吸虫病流行范围扩大。这两个方面的共同影响将导致血吸虫病流行区流行程度加重, 并有可能产生新的血吸虫病流行区。因此, 研究温度对血吸虫幼虫生长发育的影响程度和血吸虫幼虫在钉螺体

内发育起点温度, 对预测血吸虫病流行区内发生感染的高危季节, 掌握和丰富血吸虫病流行病学生态学, 以及全球气候变暖对血吸虫病的影响具有重要的意义。

动物学研究已经证实, 在一定温度范围内, 变温动物的生长发育随温度的升高而加快, 随温度的降低而减慢。当某种动物随着温度的逐步下降而生长发育趋于停止时, 这时的温度称为这种动物的发育起点温度, 即生物学零度^[6]。日本血吸虫幼虫在钉螺体内的生长发育同样遵循以上法则, 当温度处于生物学零度之上时, 随温度的升高, 血吸虫幼虫发育至成熟尾蚴逸出阶段所需的时间就缩短。血吸虫幼虫在钉螺体内的生长发育是一个移行的过程, 不但要穿越钉螺不同的器官, 还要在移行的过程中完成母胞蚴、子胞蚴和尾蚴三个阶段, 已有实验证实, 并非所有进入钉螺体内的毛蚴都能发育至尾蚴, 进入钉螺体内的毛蚴能否发育至逸出尾蚴, 受环境温度、钉螺的螺龄、寿命和钉螺相容性的直接影响^[5]。从本研究结果看, 日本血吸虫幼虫在钉螺体内的发育至尾蚴逸出的起点温度为 15.17 °C±0.43 °C, 这一结果是根据血吸虫在钉螺体内发育至尾蚴开放前期而推算出来的, 比以往通过解剖钉螺直接观察幼虫发育状况所得出的 10 °C 以下血吸虫幼虫将停止发育要准确。原因为以往的研究是将感染有血吸虫幼虫的钉螺从适宜温度下直接移入 10 °C 以下环境, 对幼虫发育过程中的母胞蚴或子胞蚴的某一阶段的发育状态观察而得出的, 并未对 10 °C 左右钉螺体内尾蚴的成熟和自然逸出情况进行观察。而本研究则强调了血吸虫幼虫在钉螺体内发育至尾蚴逸出的全过程, 在血吸虫病的流行与传播中的意义更大。

本研究的实验温度范围选择了血吸虫幼虫在钉螺体内适宜的 18 °C~30 °C 温度, 实验所用培养箱温控精度在±1 °C, 在实验过程中设立了 1 个对照组, 对钉螺的自然死亡情况进行跟踪观察, 确保了实验的准确性。从实验结果看, 实验组钉螺在首次逸蚴前的钉螺死亡率为 5.33%, 与钉螺自然死亡情况基本一致, 各实验组钉螺在实验过程中的死亡数随温度的升高而增加, 相同温度下钉螺的生存期限实验组要短于对照组; 实验组中的 18 °C 组在实验观察至 210 d 时钉螺全部死亡, 在钉螺死亡前未逸到感染性钉螺, 与统计分析结果所推算出的 18 °C 时血吸虫幼虫在钉螺体发育到逸蚴开放前期需 212.23 d 的结果相吻合, 因此本研究所取得的结果较为准确。

温度对血吸虫幼虫发育的影响包括在低温区、适宜温度区、高温区三个区域, 本文仅对血吸虫幼虫在低温区的发育起点温度进行了研究, 关于血吸虫幼虫在高温状态下有无发育抑制现象, 以及血吸虫幼虫的高

温发育抑制温度有待进一步研究。另外,本研究所用钉螺和血吸虫分别采自江苏邳江和无锡 2 地,由于中国大陆的钉螺和血吸虫为一超种复合体(superspecies complex),并存在着明显的种内和品系间的变异^[7],不同地区血吸虫在不同地区钉螺体内生长发育的起点温度是否有差异有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 周晓农,杨国静,孙乐平,等.全球气候变暖对钉螺传播血吸虫病的

潜在影响[J].中华流行病学杂志,2002,23:83—86.
[2] 奚伟萍,姜玉骥,孙庆祺.泥土混合饲料饲养钉螺的实验观察[J].中国血吸虫病防治杂志,1997,9:46—47.
[3] 中华人民共和国卫生部编.血吸虫病防治手册[M].上海科学技术出版社,1982:40—41.
[4] 邹钟琳.昆虫生态学[M].上海科学技术出版社,1983:31—38.
[5] 毛守白主编.血吸虫生物学与血吸虫病防治[M].北京:人民卫生出版社,1990:88—102,624—625.
[6] 伊藤嘉昭,村井实著.祥光,张志庆译.动物生态学研究法[M].北京:科学出版社,1986:55—78.
[7] 何毅勋.中国大陆日本血吸虫品系的研究Ⅲ.总结[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1993,11:93—104.

(收稿日期:2003-03-24 编辑:伯韦)

文章编号:1000-7423(2003)-05-0306-01

【简报】

开封市初中生蠕形螨感染情况调查

刘英杰¹ 刘艳红² 刘云¹

中图分类号:R384.423 文献标识码:D

2000~2002 年,我们在每年的 11、12 月份,对开封市的部分中学生进行了蠕形螨感染调查。

1 调查对象

开封市 6 所中学的学生,共 1 390 人(男 740 人,女 650 人),其中初一年级 480 人,年龄 13~14 岁;初二年级 490 人,年龄 15~16 岁;初三年级 420 人,年龄 17~18 岁。

2 方法

2.1 挤压涂片法 用拇指挤压受检者两侧鼻翼及鼻尖部,将溢出皮脂用沾水笔尖端挑下置于滴有甘油滴的载玻片上,涂匀,加盖玻片,镜检。

2.2 透明胶纸粘贴法 将透明胶带剪为 7 cm × 1.8 cm 大小,贴于一洁净载玻片上。嘱受检者夜晚睡前洗净面部,将胶带贴于鼻尖及两侧鼻翼部,次晨洗脸前将胶带取下粘于载玻片上,注意将胶纸贴平,镜检。

3 结果

检查 1 390 人,累计阳性人数 650 人。受检学生总感染率为 46.8%(650/1 390)。男、女生感染率分别为 45.9%(340/740)和 47.7%(310/650),两者差异无显著性意义($\chi^2=0.43$,

$P>0.05$)。共检查 3 次,每周 1 次。第 1 次用挤压涂片法,第 2、3 次用透明胶纸法对 1、2 次检查中的原阴性者进行检查,检查 1、2、3 次的累计阳性人数分别为 520、620 和 650 人,累计阳性率分别为 37.4%(520/1 390)、44.6%(620/1 390)和 46.8%(650/1 390)。不同检查次数的阳性率间差异有非常显著性意义($\chi^2=27.2$, $P<0.01$)。

初一、初二、初三年级的感染率分别为 25.0%(120/480)、55.1%(270/490)和 61.9%(260/420),3 个年级间的感染率差异有非常显著性意义($\chi^2=143.17$, $P<0.01$)。初三年级男、女生感染率分别为 50.0%(130/260)和 81.3%(130/160),两者间差异有非常显著性意义($\chi^2=41.01$, $P<0.01$)。

受检者中,共用洗具者感染率为 46.0%(640/1 310),独用洗具者感染率为 12.5%(10/80)。

4 讨论

蠕形螨感染的检出率与检出次数有一定关系。本次调查,1 次检查阳性者占总阳性人数的 80.0%(520/650),2 次检查累计阳性人数占总人数的 93.4%(620/650)。因此,1 次检查结果为阴性者,可考虑增加检查次数,以提高检出率。调查发现,共用洗具者感染率大大高于独用洗具者,因此应对中学生加强健康教育,使他们了解预防蠕形螨的知识,以防自身受染。

(收稿日期:2003-04-16 编辑:庄兆农)

作者单位:1 河南大学医学院细胞与分子免疫学实验室,开封 475001;
2 开封市卫生防疫站,开封 475001