日本血吸虫毛蚴存活曲线和期望寿命的实验观察

孙乐平 洪青标 周晓农 奚伟萍 姜玉骥

摘要 目的 准确掌握日本血吸虫毛蚴从虫卵中孵化出后,在脱氯水中的存活时间。方法 采用收集新鲜成熟兔肝虫卵孵化毛蚴,分组、定时、整群在解剖镜下观察的方法,对毛蚴在 20 C和 25 C有光照的两种状态水体中的存活情况进行实验观察。结果 在 20 C时日本血吸虫毛蚴的期望寿命为 10.11 h.最长存活时间为 38 h;在 25 C时日本血吸虫毛蚴的期望寿命为 9.07 h.最长存活时间为 26 h;两种温度状态下,毛蚴存活曲线属 B型曲线。结论 室内进行毛蚴感染钉螺实验时,感染时间应控制在 10 h 内为宜。

关键词 日本血吸虫 毛蚴 存活曲线 期望寿命

OBSERVATION ON SURVIVAL CURVE AND EXPECTED LIFE SPAN OF MIRACIDIA OF

SCHISOTSOMA JAPONICUM Sun Leping, Hong Qinbiao, Zhou Xiaonong, Xi Weiping, Jiang yuqi, Jiangsu Institute of Schistosomiasis, Wuxi 214064

[ABSTRACT] Objective To understand the survival time and movement dynamic of miracidia after merging from eggs of Schistosoma japonicum in fresh water. Methods Miracidia were hatched from eggs of fresh/mature liver of the infected rabbit, then divided into two groups and observed every two hours at 20°C and 25°C, respectively. Results At 20°C, the expected life span of miracidia was 10.11 h, and the longest survival time was 38 hours. At 25°C, the expected life span was 9.07 h, and the longest survival time was 26 hours. The survival curves at two different temperatures belong to B type curve. Conclusion The best period for snail expose to miracidia is less than 10 hours in snail infection experiments in laboratory.

[Key words] Schistosoma japonicum, Miracidium, Survival curve, Expected life span

毛蚴是血吸虫侵入螺蛳中间宿主,并造成其感染的幼虫阶段。自然条件下,水温、水的流速和pH、毛蚴数量和时龄等许多因素可影响血吸虫毛蚴对螺蛳的感染^[1]。在诸多因素中,血吸虫毛蚴的寿命与活力是能否导致螺蛳感染的基础,Chernin 报道曼氏血吸虫毛蚴孵出后 0~7 h 可 100%感染双脐螺,9 h 降为 33%,12 h 仅少量可感染螺蛳^[2]。因此,了解毛蚴的寿命,不仅可以为在实验条件下制定毛蚴感染螺蛳的合理时间,以获得较多的实验用感染性螺蛳,而且可以为开展现场血吸虫病传播动力学的研究提供依据。为此,于 1999 年 5 月,在实验室进行了两种温度状态下,日本血吸虫毛蚴生存曲线和期望寿命的实验观察,结果报告如下。

材料与方法

1 血吸虫虫卵

解剖经人工感染 1 500 条日本血吸虫尾蚴,饲养 45 d 的家兔,取其肝脏,置于捣碎机中捣碎,再把

作者单位:江苏省血吸虫病防治研究所 (无锡 214064)

捣碎的肝组织置于 80 孔/25.4 mm 铜丝筛中,用脱 氯水冲洗,使血吸虫卵通过筛孔洗入 260 孔/25.4 mm 铜丝筛中,收集筛中虫卵,置 4℃冰箱中保存备用。

2 血吸虫毛蚴

取上述虫卵、置于 50 ml 锥形烧瓶中,在烧瓶中加入脱氯水至瓶口,再将烧瓶放入有光照的 25 C生化培养箱中,30 min 取出烧瓶,将烧瓶颈 2 cm 范围内的毛蚴水倒入 20 ml 小烧杯中备用。

3 毛蚴存活实验及分组

取 6 块 50 孔 U 型孔免疫板,U 型孔深 1 cm,孔径 1.5 cm;用吸管吸取上述毛蚴,在解剖镜下加到免疫板 U 型孔的底部,每孔加入毛蚴 3~5 条,再在每孔中加水补足到 0.5 ml,然后计数每块板的毛蚴数,加盖后分成 2 组,每组 3 块板,将一组置于 25 C 的光照的培养箱中,另一组置于 20 C 有光照的培养箱中,每 4 h 取出计数 1 次,每 8 h 补充脱氯水 1 滴,一直观察到毛蚴全部死亡为止。

4 毛蚴存活观察与判断标准

毛蚴存活观察在双目解剖镜下进行,每次观察 要求在 30 min 内完成;毛蚴存活以毛蚴能移动位置 为标准,每次观察仅计数能活动的毛蚴。

5 寿命表主要指标及其计算公式

以动物寿命表方法^[3]计算两种温度状态下的毛 蚴期望寿命。寿命表中所列各种符号的含义及计算 公式为:

- x 毛蚴时龄的分段
- nx 毛蚴在各时龄段开始时的存活数
- l_x 毛蚴在各时龄段开始时的存活分数
- $l_x = n_x/n_0$
- d_x 毛蚴在各时龄段死亡的个体数
- $\mathbf{d_x} = \mathbf{n_x} \mathbf{n_{x+1}}$
- qx 毛蚴在各时龄段的死亡率
- $q_x = d_x/n_x$
- L、 毛蚴在各时龄段的平均存活数
- $L_{x} = (n_{x} + n_{x+1})/2$
- Tx 由表底向上各时段平均存活数的累加值
- e_x 进入时段的毛蚴尚能存活的平均小时数,即毛蚴的期望寿命

 $e_x = (T_x/n_x) \times$ 时段小时数

6 存活曲线的制作

以毛蚴时龄×作为横坐标,把毛蚴在各时段开始的存活数(n_x),转换成1000个个体开始的各时段毛蚴存活数量作为纵坐标,并以对数标尺作图,再根据存活曲线的类型,分析毛蚴在死亡过程中的变化。

结 果

1 毛蚴寿命表及不同时间存活情况

20 C组共观察毛蚴 450 条,至 40 h 毛蚴全部死亡,其中毛蚴孵出后 4、8、12、16、20、24、28、32 h 和 36 h 的存活数分别为 358、247、177、92、25、10、

表 1 20 C 时毛蚴的寿命(h)表 Table 2 Life table of miracidia at 20 C

×	nχ	l _x	d _x	qx	l _x	Tx	e,
1)	450	1.000	92	0. 204	404.0	1 137.0	10.11
4	358	0.796	111	0.310	302.5	733.0	8.19
8	247	0.549	70	0.283	212.0	430.5	6.97
12	177	0.393	85	0.480	134.5	218.5	4.94
16	92	0.204	67	0.782	58. 5	84.0	3.65
20	25	0.056	15	0.600	17.5	25.5	4.08
24	10	0, 022	9	0.900	5.5	8.0	3.20
28	1	0.002	0	0.000	1.0	2.5	10,00
32	1	0.002	0	0.000	1.0	1.5	6.00
36	1	0.002	l	1.000	0.5	0.5	2.00
10	Ü	0.000			_		

1、1 条和 1 条,推算期望寿命为 10.11 h,最长存活时间为 38 h(表 1)。

25 C 组共观察毛蚴 488 条,至 28 h 毛蚴全部死亡,其中毛蚴孵出后 4、8、12、16、20h 和 24h 的存活数分别为 386、266、165、43、1 条和 1 条,推算期望寿命为 9.07 h,最长存活时间为 26h(表 2)。

表 2 25 (* 时毛蚴的寿命(h)表

Table 2 Life table of miracidia at 25 C

x	n _v	l _x	dx	$\mathbf{q}_{\mathbf{x}}$	l _x	T_{\star}	e _x
()	488	1,000	102	0. 209	437. 0	1106.0	9.07
1	386	0.791	120	0.311	326.0	669.0	6.93
8	266	0.545	101	0.380	215.5	343.0	5.16
12	165	0.338	122	0.739	104.0	127.5	3.09
16	43	0, 088	42	0.977	22.0	23.5	2. 19
20	1	0.002	()	0,000	1.0	1.5	6.00
24	1	0.002	I	1.000	0.5	0.5	2.00
28	()	0.000			_	_	-

2 毛蚴的存活曲线

20 C 组换算成 1,000 条 毛蚴时,不同时间 4、8、12、16、20、24、28、32 h 和 36 h 毛蚴的存活数分别为 796、549、393、204、56、22、2、2 和 2 条,存活曲线见图 1。25 C 组换算成 1 000 条 毛蚴时,不同时间 4、8、12、16、20 和 24 h 毛蚴的存活数分别为 791、545、338、88、2 条和 2 条,存活曲线见图 1。两种温度下毛蚴的牛存曲线均呈对角线状,即 B 型曲线。

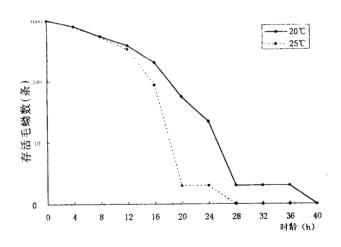


图 1 20 C、25 C 时毛蚴的存活曲线

Fig. 1 Survival curve of miracidia at 20 C and 25 C

讨论

日本血吸虫毛蚴的寿命与水质、水的温度及 pH 等因素有密切的关系[1]。自然情况下毛蚴孵出以后的存活时间很短,且在 10~33 C之间,温度愈高,毛蚴活动愈大,死亡也愈快[4]。本研究在实验条件下对在两种温度状态下的毛蚴寿命观察显示,在 20 C时毛蚴的期望寿命为 10.11 h,最长存活时间为 38 h;在 25 C时毛蚴的期望寿命为 9.07 h,最长存活时间

为 26 h。结果提示实验室毛蚴感染钉螺的理论时间 应控制在 10 h 以内。

本研究发现毛蚴从虫卵中孵出以后,在脱氯水中的存活曲线属 B 型曲线,说明毛蚴在不同时段内的死亡率相近,也就是说一部分毛蚴在孵出后不久就死亡,这可能与成熟虫卵内毛蚴的发育程度相关,有些毛蚴是从刚成熟的虫卵中孵出的,有些毛蚴是从接近死亡的虫卵中孵出的,这有待于进一步观察证实。

本研究仅对脱氯水状态下的毛蚴进行寿命观察,在毛蚴实际感染钉螺时,毛蚴是在有螺蛳的水体中存活。一些研究表明螺蛳能释放出一种被称为毛蚴松的物质,这种物质能刺激毛蚴,改变毛蚴的运动方向与速度^[5]。由于毛蚴的运动方向和速度发生了改变,毛蚴的寿命也将发生变化,因此,毛蚴在有螺

水体中存活时间(期望寿命),即毛蚴感染钉螺的实际有效时间,我们将作进一步观察。

参考文献

- 1 毛守白主編· 血吸虫生物学与血吸虫病的防治· 北京: 人民卫生出版社、1990、72
- 2 Chernin E. Interference with the capacity of Schistosoma mansoni miracidia to infect the mollascan host. J Parasitol. 1968.54:509
- 3 华东师范大学,等合编,动物生态学,上册,北京:高等教育出版社, 1981,128
- 4 赵慰先,高淑芬主编,实用血吸虫病学,北京:人民卫生出版社, 1990.23
- 5 Chernin E. Penetrative activity of Schistosoma manaoni miracidia stimulated by exposure to snail-conditioned water. J Parasitol. 1972, 58, 209

1999-06-15 收稿 1999-10-20 修回 (编辑:奏时君)

IHA 检测初中学生血吸虫抗体水平分析

丁明! 黄友阶² 廖红艳!

为了探索血吸虫病疫区初中生血吸虫特异性抗体水平的动态变化,分析血吸虫病流行趋势,为今后防治工作提供依据。我们于1997年10月在血吸虫病疫区义和中学,应用间接血凝试验(IHA)检测初中生血吸虫特异性抗体,结果如下:

1 材料与方法

- 1.1 调查对象 以在校初中 1~3 年 级学生共 835 人为调查对象·最大年龄 16 岁·最小年龄 12 岁。
- 1.2 调查方法 对以上对象进行间接血凝试验(IHA),操作方法与判断标准均按卫生部地病司 1990 年版《血吸虫病防治手册》执行,血清抗体滴度≥1;10 为阳性。冻干血吸虫病诊断血球由湖北省血吸虫病研究所提供。同时对阳性者从接触疫水时间、次数、地点、方式进行疫水接触情况调查。

2 结果与分析

2.1 不同性别学生 IHA 的检测结果 本次共调查学生 835 名, 男生 426 人, 女生 409 人。查出阳性者 80 人, 阳性率 为 9.58%, 其中男生阳性 59

作者单位:1 湖北省应城市义和血吸虫病防治站(应城 432400);2 湖北省应城市血吸虫病防治办公室

人,阳性率为 13. 85%,女生阳性 21 人,阳性率为 5. 13%,男性阳性率明显高于女生。

- 2.2 不同年级学生 IHA 的检测结果 835 名学生中,一年级 310 人,阳性者 26 人,阳性率 8.39%:二年级 291 人,阳 性者 27 人,阳性率 9.28%;三年级 234 人,阳性者 27 人,阳性率 11.54%。结果 表明,年级越高,IHA 阳性率越高。
- 2.3 IHA 阳性学生居住地与离易感地带远近关系 对查出的 80 名阳性者所在村离易感地带汉北河远近划分,居住地离汉北河<1500 m,阳性者 63 人,占78.75%,离汉北河 1500~3000 m,阳性者有11人,占13.75%,离汉北河>3000 m,阳性者6人,占7.5%。同时对居住在离汉北河不到100 m的王台村41 名在校学生单项统计,阳性者9人,阳性率高达21.9%。
- 2.4 IHA 阳性与接触疫水史的关系对阳性者进行接触疫水情况调查,28 名学生当年曾接触疫水,占 35%,年频率为 2.5 次,其余 52 名学生为往年曾接触疫水。接触疫水方式为游泳嬉水(46. 25%)、摸虾(15.0%)、割泥 蒿(16. 25%)、放牧(17.5%),其它方式为 5%。接触疫水时间在 5~10 月,占 95.0%。

接触疫水地点均在汉北河。

3 讨论

义和镇原是一个血吸虫病重疫区、1989 年血吸虫病粪 检阳性率为 21. 88%,通过 10 年防治工作,血吸虫病疫情得到有效控制,由于疫区人群血吸虫病感染率和感染度下降,近 2 年来,粪检很难查到血吸虫虫卵阳性的病人。但本次调查结果,仍有部分学生可检出血吸虫,说明当地血吸虫病的流行仍未阻断,这就提示我们要加强学生血防知识宣传教育工作,增强个人防护意识,尤其是暑期要采取措施防止学生接触疫水。

本次调查结果表明居住地是影响 IHA 阳性率的一个重要因素,离易感地 带越近,则学生感染血吸虫的机率越高。 提示对居住在易感地带汉北河沿线的村 庄,要搞好查螺、灭螺工作。

此次查出的 80 名阳性学生,往年曾服药治疗仅有 15 人,占 18.75%。由于查治病时,学生在校上学,出现漏查漏治,加之家长普遍认为孩子在校上学,不会得血吸虫病,使之成为查、治病的一个薄弱环节,在今后的查、治病工作中要引起重视。

1999-12-15 收稿 (编辑:沈怡平)