

文章编号: 1002-2694(2009)02-0127-04

HL 杀灭湖北钉螺效果观察^{*}

朱 丹¹, 张 仪¹, 刘和香¹, 张功华², 张世清², 操治国², 吴维铎², 李文新³, 许学年¹

摘要:目的 实验室和现场试验评价 HL 杀灭湖北钉螺的效果。方法 实验室采用泥缸喷洒法、烧杯浸杀法和三角沉淀杯上爬法, 观察不同浓度 HL 对湖北钉螺的杀灭和抑制上爬作用。选择在安徽省芜湖县草滩进行现场喷洒试验, HL 剂量分别为 40、80、120 g/m², 以 50% 氯硝柳胺乙醇胺盐可湿性粉剂 (2 g/m²) 为药物对照, 另设清水为空白对照组, 施药后 3、7 和 15 d 检查钉螺存活情况。结果 泥缸喷洒 24、48 和 72h 的半数致死浓度 (LC₅₀) 分别为 269、117、65 g/m²。烧杯浸杀 24、48 和 72h 的 LC₅₀ 分别为 115.4、10.6 和 9.9 mg/L; 24 h 抑制钉螺上爬半数有效浓度 (EC₅₀) 为 55.8 mg/L。现场使用 80 g/m² HL 喷洒 15 d 钉螺死亡率为 84%, 40 g/m² HL 浸杀 3 d 钉螺死亡率为 80%。50% 氯硝柳胺乙醇胺盐可湿性粉剂 2 g/m² 喷洒 15 d 钉螺死亡率为 91%, 2g/m³ 浸杀 3 d 钉螺死亡率为 100%。结论 HL 室内及现场对钉螺均有较好的杀灭效果。

关键词: HL; 湖北钉螺; 植物杀螺剂
中图分类号: R383 **文献标识码:** A

Molluscicidal effect on the plant molluscicide HL against *Oncomelania hupensis*

ZHU Dan¹, ZHANG Yi¹, LIU He-xiang¹, ZHANG Gong-hua², ZHANG Shi-qing²,
CAO Zhi-guo², WU Wei-duo², LI Wen-xin³, XU Xue-nian¹

(1. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Centre for Disease Control and Prevention,
WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China;
2. Anhui Institute of Parasitic, Wuhu 241000, China; 3. Huazhong Normal University, Wuhan 430079, China)

ABSTRACT: The molluscicidal effect of the plant molluscicide HL to *Oncomelania hupensis* in laboratory and field investigation. In laboratory experiment, effect of HL was performed by spray, immersion and climbing test to observe the inhibitory effect of HL on the climbing action of snails. The field spray investigation was done in Wuhu of Anhui province by spray with different concentration of HL (40, 80 and 120 g/m²; and 50 % of niclosamide powder (2 g/m²) and pure water were used as the drug control and blank control. The surviving condition of snails was examined 3, 7 and 15 days after application of medicines. It was found that the 50% lethal concentration (LC₅₀) of HL used in spray method for 24, 48 and 72 hours were 269, 117 and 65g/m² respectively, while by using the immersion method, they were 115.4, 10.6 and 9.9 mg/L. The 50% effective concentration (EC₅₀) of HL to inhibit the climbing of snails 24 hours after usage of drug was 55.8 mg/L. In addition, the death rate of snails sprayed with 80 g /m² of HL 15days after spraying was 84%, and that of the immersion method using 40 g/m² of HL for 3 days was 80%. As to the drug control groups, they were 91% for spray of niclosamide for 15 days and 100% for water immersion for 3 days. From these observations it is evident that plant molluscicide HL has molluscicidal effect on *Oncomelania hupensis*.

KEY WORDS: HL; *Oncomelania hupensis*; plant molluscicide

钉螺是日本血吸虫的惟一中间宿主, 控制钉螺是防治血吸虫病的有效措施之一。目前国内常用的灭螺剂主要为化学类药物, 由于其对环境有污染、对非靶生物有毒性, 使用受到限制, 因而研制和开发天然植物类灭螺药受到重视^[1]。HL 是华中师范大学从 300 余种甾体生物碱植物中筛选出的植物所制成的可湿性杀螺剂, 实验室初步试验显示有较好的灭螺效果, 达到 WHO 对植物杀螺药物的要求^[2]。为

进一步将植物源灭螺剂用于血吸虫病防治, 参照 WHO 推荐的方法^[3] 进行实验室和现场试验, 综合

^{*} 国家“863”血吸虫病防治研究专项资助项目 (2004AA2Z3550)
通讯作者: 许学年, Email: xxn2000@yahoo.com
作者单位: 1. 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 卫生部寄生虫病重点实验室, 上海 200025;
2. 安徽省寄生虫病防治研究所, 芜湖 241000;
3. 华中师范大学, 武汉 430079

评价其杀灭钉螺的效果。

1 材料与方法

1.1 杀螺剂 HL(含量为 93%的可湿性粉剂),由华中师范大学提供;50%氯硝柳胺乙醇胺盐(批号为 0505174),安徽省寄生虫病防治研究所提供。

1.2 钉螺 湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*),7~8 旋成螺,采自安徽省贵池市草滩。

1.3 实验室条件 实验室温度为 $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $65\%\pm 10\%$ 。

1.4 室内实验

1.4.1 泥缸喷洒试验 取直径 14 cm×高 7 cm 的玻璃缸 6 只,铺垫风干细土 500 g,加水压紧抹平后冲去浮土,测定含水量为 20%~30%时进行试验。每缸均匀投放钉螺 100 只,适应 1 h 后,用倍比稀释法将 HL 配制成 5、10、20、40 和 80 g/L 5 个梯度浓度的药液,用喷雾器均匀喷洒泥缸(药液量为 $1\ 000\text{ ml/m}^2$)。同时设等量清水为空白对照组。于施药 24、48 和 72 h 后用机械抽样法分别检出 30 只钉螺,清水洗净、甩干,静置 48 h 后加入少许清水放置 2 h,开扉活动者检出,不活动者用敲击法检查钉螺死活情况。试验重复 3 次。计算半数有致死浓度(LC_{50}),95%可信区间(CI)及 95%致死浓度(LC_{95})。

1.4.2 烧杯浸杀试验 用倍比稀释法配制浓度为 100、50、25、12.5、6.25 mg/L 的药液各 300 ml,同时设等量清水为空白对照组。分别置 250 ml 玻璃烧杯中,每杯投放 30 只钉螺,盖上 U 型不锈钢网盖,纱网在液面下 1 cm 左右以阻止钉螺爬出水面。于浸杀 24、48 或 72 h 后分别倒去药液,清水冲洗数次、甩干,静置 48 h。结果检查方法,同喷洒试验。试验重复 3 次。计算 LC_{50} 、95%CI 及 LC_{95} 。

1.4.3 三角沉淀杯上爬试验 用倍比稀释法配制浓度为 100、50、25、12.5 和 6.25 mg/L 的 HL 药液各 500 ml,分别倒入 500 ml 三角沉淀杯中,同时设等量清水为空白对照组。水深度约 17 cm。每杯投放 30 只钉螺,观察 24 h 内钉螺上爬情况(以螺体脱离水面为准)。试验重复 3 次。计算药物抑制钉螺上爬的半数有效浓度(EC_{50})、95%CI 及 95%有效浓度(EC_{95})。

1.5 现场试验

1.5.1 现场喷洒试验 2005 年 4 月 20 日至 5 月 6 日(春季涨水前)选择安徽省芜湖县方村试点,河滩草洲地貌,试验期间气温为 $14\sim 31\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。试点钉螺密度 >10 只/框(0.11 m^2)。试验分为 5 组,每组地块大小均为 $10\text{ m}\times 10\text{ m}$,组间用人工挖出 $10\text{ cm}\times$

20 cm 的小沟隔离,试验前进行查螺。设 3 个实验组,分别按 40、80、 120 g/m^2 剂量进行喷洒,以 50%氯硝柳胺乙醇胺盐可湿性粉剂(2 g/m^2)为药物对照,另设清水空白对照组。药液量均为 1 kg/m^2 。于施药后第 3、7 和 15 d 用棋盘式抽样法每块抽取 10 框进行查螺,捕获钉螺带回实验室常规饲养,24 h 后敲击法检查钉螺存活情况,计算死亡率或校正死亡率。

1.5.2 现场浸杀试验 选取沟壁钉螺密度 >10 只/框(0.1 m^2)的小型沟渠,等距分割成 6 块,每块水体体积约 $2\sim 5\text{ m}^3$,每块分吊放螺袋 12 袋,每袋 30 只本地钉螺,其中 4 块作为试验组,按 10、20、40、 80 g/m^3 剂量进行施药,一条为药物对照组(氯硝柳胺 2 g/m^3),施药后搅匀。一条作为对照组不做任何处理。施药后于第 1、2、3 和 5d,各取 3 个螺袋,带回室内常规饲养检查及用敲击法检查钉螺死亡和存活数。

1.6 统计分析 采用 EXCEL 2003 软件进行各项指标统计分析。

2 结果

2.1 室内试验结果

2.1.1 泥缸喷洒试验 钉螺接触药物后活动明显受到抑制,各试验组钉螺死亡率均随着药物剂量的增大和施药时间的延长而增加,空白对照组钉螺死亡率小于 5%。3 次试验的回归方程差异无统计学意义($\chi^2<7.72$, $P>0.05$)。24 h 喷洒试验 LC_{50} 为 269 g/m^2 ,95% CI 为 $205\sim 354\text{ g/m}^2$, LC_{95} 为 $2\ 364\text{ g/m}^2$;48 h LC_{50} 为 117 g/m^2 ,95% CI 为 $92\sim 148\text{ g/m}^2$, LC_{95} 为 777 g/m^2 ;72 h LC_{50} 为 65 g/m^2 ,95% CI 为 $56\sim 75\text{ g/m}^2$, LC_{95} 为 201 g/m^2 (表 1)。

2.1.2 烧杯浸杀试验 试验组钉螺死亡率随着药物浓度的增大和施药时间的延长而增加,空白对照组钉螺死亡率小于 5%。3 次试验的回归方程差异无统计学意义($\chi^2<2.75$, $P>0.05$)。24 h 浸杀试验 LC_{50} 为 115.4 mg/L ,95% CI 为 $42\sim 319\text{ mg/L}$, LC_{95} 为 $12\ 311\text{ mg/L}$;48 h 浸杀试验的 LC_{50} 为 10.6 mg/L ,95% CI 为 $4.5\sim 24.9\text{ mg/L}$, LC_{95} 为 548 mg/L ;72 h 浸杀试验的 LC_{50} 为 9.9 mg/L ,95% CI 为 $7.1\sim 13.9\text{ mg/L}$, LC_{95} 为 46.9 mg/L ,浓度为 100 mg/L 时钉螺死亡率达 100%(表 2)。

2.1.3 三角沉淀上爬试验 24 h 抑制钉螺半数上爬的有效浓度(EC_{50})为 55.8 mg/L ,95% CI 为 $54.4\sim 57.3\text{ mg/L}$, EC_{95} 为 68.4 mg/L ,高于浸杀有效浓度。HL $<25\text{ mg/L}$ 时,有刺激钉螺上爬作用。当药液浓度高于 50 mg/L 时,有抑制钉螺上爬作用(表 3)。

2.2 现场试验 通过基线调查钉螺密度大于 10 只/框,期间气温为 14~31℃,4 月 30 日至 5 月 2 日为阵雨天气其余均为阴到晴天。

2.2.1 喷洒试验结果 HL 80 g/m² 和 120 g/m² 喷洒 3 d 后钉螺死亡率达到 80%左右各组 3 d、7 d

和 15 d 间差异有统计学意义($\chi^2<2.51, P>0.05$); 剂量组 40 g/m² 和 80 g/m² 组间的差异有统计学意义($\chi^2>5.12, P<0.05$),见表 4;HL 各组 and 氯硝柳胺组间 3 d、7 d 和 15 d 喷洒结果间的差异有统计学意义($\chi^2>7.3, P<0.05$)。

表 1 HL 喷撒灭螺的室内结果
Table 1 HL spraying test result in lab

施药时间(h) Exposure time(h)	钉螺死亡率(%) Mortality of <i>Oncomelania hupensis</i> (%)						LC ₅₀ (95%CI) (g/m ²)	LC ₉₅ (g/m ²)
	160	80	40	20	10	空白对照		
	g/m ²	g/m ²	g/m ²	g/m ²	g/m ²	Blank C.		
24	45.6	13.3	4.4	2.2	1.1	0	269(205~354)	2364
48	70.0	31.1	7.8	3.3	0	1.1	117(92~148)	777
72	91.1	65.6	20.0	7.8	2.2	2.2	65(56~75)	201

表 2 HL 浸杀灭螺的室内结果
Table 2 HL immersion test result in lab

施药时间(h) Exposure time(h)	钉螺死亡率(%) Mortality of <i>Oncomelania hupensis</i> (%)						LC ₅₀ (95%CI) (mg/L)	LC ₉₅ (mg/L)
	100	50	25	12.5	6.25	空白对照		
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	Blank C.		
24	46.7	36.7	33.3	23.3	13.3	0	115(42~319)	12311
48	86.7	66.7	63.3	63.3	40.0	3.3	10.6(4.5~24.9)	548
72	100	96.7	83.3	56.7	40.0	6.6	9.9(7.1~13.9)	46.9

表 3 HL 抑制钉螺上爬试验结果

Table 3 META-li snail-climbing test result in lab						
药物浓度(mg/L)	钉螺上爬率(%)			Escaped rate(%)		
Dosage(mg/L)	1h	2h	4h	16h	24h	
100	0	0	0	0	0	
50	6.7	18.9	25.6	71.1	77.8	
25	24.4	51.1	78.9	98.9	98.9	
12.5	56.7	74.4	91.1	97.8	100.0	
6.25	46.7	64.4	82.2	98.9	100.0	
对照组 Blank C.	27.8	51.1	71.1	92.2	95.6	

2.2.2 浸杀试验结果 HL 各组浸杀 1、2d 后钉螺死亡率小于 20%,浸杀 3d 后钉螺死亡率达 80%,2d 和 3d 的钉螺死亡率差异有统计意义($\chi^2>118, P<0.01$)。氯硝柳胺 1d 浸杀钉螺死亡率即可达 97%以上。从浸杀浓度方面分析显示浸杀 3d 各剂量组间钉螺死亡率差异无统计学意义($\chi^2<0.04, P>0.05$)(表 5)。

3 讨论

杀灭钉螺是预防和控制血吸虫病流行的重要举措之一。目前主要的灭螺方法有生态灭螺、物理灭

表 4 现场灭螺实验结果

Table 4 Result of META-li spray test in the field															
施药时间 (d) Exposure time(d)	HL 40g/m ²			HL 80g/m ²			HL 120g/m ²			氯硝柳胺(2g/m ²) Niclosamide(2g/m ²)			清水对照 Blank C.		
	总螺数	死螺数	死亡率	总螺数	死螺数	死亡率	总螺数	死螺数	死亡率	总螺数	死螺数	死亡率	总螺数	死螺数	死亡率
	(只)	(只)	(%)	(只)	(只)	(%)	(只)	(只)	(%)	(只)	(只)	(%)	(只)	(只)	(%)
	Snail No.	Death No.	Death rate(%)	Snail No.	Death No.	Death rate(%)	Snail No.	Death No.	Death rate(%)	Snail No.	Death No.	Death rate(%)	Snail No.	Death No.	Death rate(%)
3	197	142	72	254	206	81	119	100	84	119	110	92	217	43	20
7	198	142	72	120	91	76	180	147	82	183	175	96	179	34	19
15	154	108	70	141	118	84	125	105	84	138	125	91	288	41	14

表 5 现场 HL 浸杀钉螺试验结果
Table 5 Result of META-Li immersion test in the field

施药时间(d)	钉螺死亡率(%)Mortality of Oncomelania hupensis(%)				
Exposure time	HL	HL	HL	氯硝柳胺(2g/m ²)	清水对照
(d)	20(g/m ³)	40(g/m ³)	80(g/m ³)	Niclosamide(2g/m ²)	Blank C.
1	1.1	0.0	0.0	97.8	0.0
2	3.3	6.7	17.8	100.0	0.0
3	78.9	80.0	80.0	100.0	4.4

螺及药物灭螺, 药物灭螺包括植物药物灭螺和化学药物灭螺。植物药物灭螺系指对于某些含有杀螺有效成分的植物资源, 利用一定的分离手段提取其根、茎、叶、花、果和籽中的有效成分, 用于杀灭钉螺。植物灭螺药物具有价廉、低毒和易降解等优点而日益受到重视。国内报道有一定杀螺作用的植物灭螺药约有 50 余种^[4]。10 g/L 枫杨和土大黄及 1g/L 夹竹桃浸杀 5 d, 钉螺死亡率为 80~85%^[5]。赤桉树叶乙醇提取物浸泡钉螺 48h 和 72h 后的 LC_{50} 分别为 19.4mg/L 和 15.5mg/L^[6]; 富贵草浸出液浸泡钉螺 24、72 h 的 LC_{50} 分别为 42.28、7.20 mg/L^[7]; 博落回茎和一把伞南星块茎制剂浸泡钉螺 48 h 的 LC_{50} 为 0.11%和 0.107%^[8]; 盾叶薯蓣制剂浸泡钉螺 72h 的 LD_{50} 为 8.3 mg/L^[9]。本项试验结果显示, HL 室内浸杀钉螺 48 h、72 h 的 LC_{50} 分别为 10.6、9.9 mg/L, 剂量为 100 mg/L 时钉螺死亡率达 100%; 与富贵草和盾叶薯蓣的灭螺效果相似, 优于其他植物杀螺剂。HL 为可湿性粉剂, 现场使用方便, 现场使用 80 g/m² 喷洒 7d 钉螺死亡率达到 80%, 使用 40 g/m³ 浸杀 3d 的钉螺死亡率达到 80%, 具有现场推广应用价值^[3]。HL 是具有药用功能的草本植物, 在我国钉螺孳生地区资源丰富、适宜种植, 符合我国对植物杀螺剂提出的筛选要求^[3]。

HL 属于有较好开发前景的杀螺剂, 在杀螺有效成分分析和提高有效成分含量等方面值得进一步研究。

参考文献:

[1]WHO Expert Committee. The control of schistosomiasis. WHO technical report series 728[M]. Geneva: WHO, 1985. 58-60.
[2]WHO. 1983. Report of a scientific working group on plant molluscicide and guidelines for evaluation of a plant molluscicide[C]. Geneva:WHO, 1983.TDR/SCH-SWE4/83.3
[3]Mott K. E (ed). Plant Molluscicides [M]. New York: John Wiley & Sons, Ltd. 1987; 251-288.
[4]李洁, 钱万红, 黄轶昕, 等. 植物灭螺药物研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(1): 67-69.
[5]陈全胜, 杨毅, 王万贤, 等. 枫杨、夹竹桃、土大黄及其组合灭螺效果研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2000, 22(1): 84-87.
[6]洪青标, 周晓农, 韩英, 等. 赤桉提取物杀灭钉螺效果的观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(1): 18-20
[7]王莹莹, 李文新, 王庆, 等. 富贵草杀灭钉螺效应研究[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(3): 294-297.
[8]柯文山, 陈世俭, 杨金莲, 等. 5 种药用植物水浸液的杀螺效果[J]. 现代预防医学, 2007, 34(1): 5-8
[9]刘汉成, 陈伟, 糜留西, 等. 盾叶薯蓣制剂杀灭湖北钉螺的药效[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2001, 19(2): 126-127.

收稿日期: 2008-08-22; 修回日期: 2008-10-14