

# 不同数量毛蚴对不易感钉螺种群感染性的研究

孙乐平<sup>1</sup>, 洪青标<sup>1</sup>, 周晓农<sup>2</sup>, 黄轶昕<sup>1</sup>, 杨国静<sup>1</sup>, 张仪<sup>2</sup>, Georg M. Davis<sup>3</sup>

**[摘要]** 目的 进一步了解安徽省广德流洞山丘指名亚种钉螺与江苏省无锡地区日本血吸虫的相容程度。方法 采集广德流洞现场无感染钉螺,用无锡地区血吸虫毛蚴,以钉螺毛蚴 1:10、1:20、1:40、1:80 比例进行人工感染试验,并用江苏省邗江新坝钉螺作对照,观察各组钉螺感染率的变化,计算和比较尾蚴成熟积温。结果 实验组钉螺毛蚴比 1:10、1:20、1:40、1:80 各组钉螺感染率分别为 0、0.59%、3.39% 和 5.96%,随着感染毛蚴数量的增加,感染率呈升高趋势,其毛蚴感染剂量与钉螺感染率的理论方程为  $y = -7.49 + 2.98 \ln x$  ( $r = 0.9714$ ,  $P < 0.01$ );对照组邗江钉螺感染率为 28.62% (钉螺毛蚴比 1:10),高于广德钉螺的感染率 ( $\chi^2 = 157.16$ ,  $P < 0.01$ );血吸虫在广德流洞和邗江新坝钉螺体内尾蚴成熟的平均积温分别为  $(1\ 756.94 \pm 122.90)$  日度和  $(1\ 729.55 \pm 99.31)$  日度,其发育成熟所需积温差异无显著性 ( $t = 0.2291$ ,  $P > 0.1$ )。结论 广德流洞山丘指名亚种钉螺与无锡地区血吸虫呈低度相容,而两地血吸虫发育成熟所需积温基本一致。

**[关键词]** 日本血吸虫; 钉螺; 易感性; 积温

**[中图分类号]** R383.24

**[文献标识码]** A

**INFECTIVITY OF UNSUSCEPTIBLE *ONCOMELANIA* SNAILS STRAIN INFECTED WITH MIRACIDIA IN DIFFERENT NUMBERS** Sun Leping<sup>1</sup>, Hong Qingbiao<sup>1</sup>, Zhou Xiaonong<sup>2</sup>, Huang Yixin<sup>1</sup>, Yang Guojing<sup>1</sup>, Zhang Yi<sup>2</sup>, Georg M. Davis<sup>3</sup> (1 Jiangsu Institute of Parasitic Diseases Wuxi 214064, China; 2 Institute for Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, China; 3 Academy of Natural Sciences of Philadelphia, U. S. A.)

**[Abstract]** **Objective** To further understand the compatibility between Guangde Liudong mountainous *Oncomelania* sub-strain and *Schistosoma japonicum*. **Methods** The uninfected snails collected from Guangde Liudong were artificially infected with miracidia at the different ratios of snail/miracidia with 1:10, 1:20, 1:40 and 1:80. The snails from Hanjiang were used as control. The infection status of the different groups was observed, and then the infection rates and cercariae growing degree-days were calculated. **Results** The Guangde snail infection rates of the different groups at the ratios of snail/miracidia with 1:10, 1:20, 1:40 and 1:80 were 0, 0.59%, 3.39% and 5.96% respectively. The infection rate was positively related with the number of miracidia. The theoretic formula of the infection rate and number of miracidia was  $y = -7.49 + 2.98 \ln x$  ( $r = 0.9714$ ,  $P < 0.01$ ). The Hanjiang snail infection rate (ratio, 1:10) was 28.62% ( $\chi^2 = 157.16$ ,  $P < 0.01$ ). The average growing degree-days of cercariae in the snail of Guangde Liudong and Hanjiang were  $1\ 756.94 \pm 122.90$  and  $1\ 729.55 \pm 99.31$ , respectively, which had no significant difference ( $t = 0.2291$ ,  $P > 0.1$ ). **Conclusion** The Guangde Liudong mountainous *Oncomelania* sub-strain and *Schistosoma japonicum* has low compatibility.

**[Key words]** *Schistosoma japonicum*; *Oncomelania* snails; Susceptive; Growing degree-days

This investigation received financial support from Chinese National Science Foundation (No. 300070684)

**[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; 3 美国费城自然科学院

**[作者简介]** 孙乐平 (1963—), 男, 大专, 主管医师。研究方向: 血吸虫病防治

钉螺与日本血吸虫的相容性,是寄生于钉螺体内的血吸虫随同分布于各隔离群钉螺的进化并适应各地亚种钉螺的内部环境而形成的钉螺和血吸虫共同演化现象<sup>[1]</sup>。以往研究已表明,各地日本血吸虫对不同亚种湖北钉螺的感染力存在着复杂的虫—螺关

系<sup>[2-4]</sup>,并可表示为易感、低度感染和不易感3级<sup>[1]</sup>。作者曾用无锡地区血吸虫对中国大陆9省(市)37个螺点的钉螺进行了易感性测定,发现有6处环境的钉螺属不易感种群<sup>[5]</sup>。为进一步了解这些不易感种群钉螺与日本血吸虫的相容程度,我们选择安徽省广德流洞对无锡地区血吸虫不易感的山丘指名亚种种群钉螺,与不同数量的无锡地区血吸虫毛蚴进行感染试验,现将结果报告如下。

## 材料与方法

### 1 实验钉螺

采集安徽省广德流洞(山丘, E 119.50°, N 31.04°)和江苏省邗江新坝(江滩, E 119.53°, N 32.28°)2地钉螺,在实验室饲养15 d后,2周内各逸蚴1次,确认无自然感染后作为实验用螺。

### 2 血吸虫毛蚴

取用日本血吸虫无锡地理株(E 120.29°, N 31.57°)尾蚴感染45 d的兔肝,捣碎集卵后置于25℃光照条件下孵化,收集毛蚴备用。

### 3 实验分组与钉螺人工感染

实验组:取广德流洞成螺1200只,分成4组,每组300只,置于带绿纱盖的大培养皿中,先加入200 ml脱氯水,再加入上述毛蚴,每组钉螺毛蚴比分别为1:10、1:20、1:40和1:80。对照组:取邗江新坝钉螺300只,钉螺毛蚴比为1:10,在25℃光照条件下感染4 h。

### 4 钉螺现场饲养

取5只口径为35 cm的泥瓦大花盆,加入适量泥土后压平,将感染后的钉螺分别放入盆中,用绿纱盖好扎紧,置于现场养螺沟中饲养。

### 5 现场温度记录

ZJ1-2B型温湿度计置于离地1.5 m的气象专用百叶箱中,连续记录空气中的温度,记录温度的精度为±0.1℃,记录时间精度为每7 d±30 min。

### 6 感染性钉螺确定

自钉螺在现场饲养50 d开始,采用逸蚴法确定感染性钉螺<sup>[6]</sup>,每隔5 d逸蚴1次,至连续3次逸不出尾蚴后解剖全部剩余钉螺。

### 7 资料统计

记录各实验组和对照组逸出尾蚴钉螺的时间和数量,计算钉螺感染率,统计实验期间现场的日平均温度和逐日积温,再根据相应的时间算出日本血吸虫在钉螺体内发育成熟平均积温,比较实验组与对照组间的差异程度。

## 结 果

### 1 钉螺感染率

953只钉螺逸蚴,共逸得感染性钉螺97只,钉螺感染率为10.18%。其中4个广德流洞实验组共逸得感染性钉螺16只,钉螺感染率为2.29%;邗江新坝对照组逸得感染性钉螺81只,钉螺感染率为28.62%,广德流洞钉螺的感染率显著低于邗江新坝钉螺的感染率( $\chi^2=157.16, P<0.01$ )(表1)。

表1 不同数量毛蚴感染广德流洞钉螺的感染率

Table 1 Infective rate of Guangde Liudong snails infected with different amount of miracidia

钉螺采集地点 Site	钉螺毛蚴比例 Snail/miracidium ratio	逸蚴螺数(只) No. snails	逸出感染螺数 (只) Infected snails	钉螺感染率 Infective rate (%)
广德流洞 Guangde Liudong	1:10	173	0	0
	1:20	169	1	0.59
	1:40	177	6	3.39
	1:80	151	9	5.96
邗江新坝 Hanjiang Xinba	1:10	283	81	28.62
合计 Total		953	97	10.18

### 2 尾蚴成熟时间与积温

实验所得97只感染性钉螺,分别在感染后65—80 d获得。血吸虫在广德流洞和邗江新坝钉螺体内尾蚴成熟的平均积温分别为(1756.94±122.90)日度和(1729.55±99.31)日度,血吸虫在2地钉螺体内的发育积温差异无显著性( $t=0.2291, P>0.1$ , 表2)。

### 3 钉螺感染率与感染毛蚴数的关系

用每螺10、20、40、80条毛蚴感染广德流洞钉螺,其钉螺感染率分别为0、0.59%、3.39%、5.96%。随着感染毛蚴数量的增加,钉螺感染率呈升高趋势,且与对数方程 $y=-7.49+2.98 \ln x$ ( $y$ 为钉螺感染率, $x$ 为每螺感染所用毛蚴数量)拟合良好, $r=0.9714, P<0.01$ 。

表 2 不同数量毛蚴感染广德流洞钉螺的尾蚴成熟时间与积温

Table 2 Growing degree-days of cercariae of Guangde Liudong snails infected with different amount of miracidia

钉螺采集地点 Site	钉螺毛蚴比例 Snail/miracidium ratio	不同时间(d)逸得感染性钉螺数量(只) No. of snail in different time of cercariae shedding								尾蚴成熟平均积温 (日度) Average growing degree-days of cercariae
		60 d	65 d	70 d	75 d	80 d	85 d	90 d	95 d	
广德流洞 Guangde Liudong	1:10	0	0	0	0	0	0	0	0	1 756.94±122.90
	1:20	0	1	0	0	0	0	0	0	
	1:40	0	2	3	1	0	0	0	0	
	1:80	0	3	4	1	1	0	0	0	
邗江新坝 Hanjiang Xinba	1:10	0	37	34	9	1	0	0	0	1 729.55±99.31

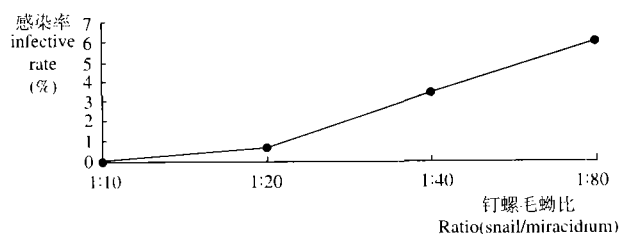


图 1 不同数量毛蚴对广德流洞钉螺的感染率

Fig. 1 Infective rate of Guangde Liudong snails infected with different amount of miracidia

## 讨论

血吸虫和螺蛳间的相容关系,可概括为寄生虫感染和螺蛳易感性两个方面<sup>[7]</sup>。对血吸虫与螺蛳的相容程度的测定,是研究钉螺种内变异和了解各隔离群钉螺间关系的基础。研究血吸虫与螺蛳易感性关系的方法,主要从实验室已建立的螺蛳-吸虫相容性模型和对自然种群螺蛳进行监测两方面着手,再用现代分子生物学技术测定螺蛳种群内酶谱和 DNA 多态变异图谱,找出影响虫-宿主关系的因子,阐明宿主与寄生虫相容性的遗传学基础<sup>[7,8]</sup>。本文对广德流洞山丘指名亚种种群钉螺与无锡地区血吸虫相容程度的测定,为进一步研究影响血吸虫-宿主关系的因子和寻找宿主抗感染基因,建立了钉螺-血吸虫相容性实验模型。

本文对广德流洞山丘指名亚种不易感种群钉螺,通过增加毛蚴感染剂量的进一步实验,结果显示每只钉螺以 10 条尾蚴剂量未能被感染,但随着毛蚴数量的增加,广德流洞的山丘指名亚种钉螺可以被感染,并随着感染毛蚴数量的增加感染率呈升高趋势,其毛蚴感染剂量与钉螺感染率的理论方程为  $y$

$= -7.49 + 2.98 \ln x (r = 0.9714, P < 0.01)$ 。广德流洞的山丘指名亚种钉螺感染率显著低于对照组邗江新坝钉螺的感染率( $\chi^2 = 157.16, P < 0.01$ )。进一步分析血吸虫在螺体内的发育情况显示,血吸虫在广德流洞和邗江新坝钉螺体内尾蚴成熟的平均积温分别为  $(1\ 756.94 \pm 122.90)$  日度和  $(1\ 729.55 \pm 99.31)$  日度,其发育成熟所需积温差异无显著性( $t = 0.2291, P > 0.1$ )。结果表明广德流洞山丘指名亚种钉螺与无锡地区血吸虫呈低度相容。

关于抗血吸虫种群钉螺的确定和抗感染基因的研究,是一个极其复杂的过程,且影响因素较多。本文仅证实了增加毛蚴感染量可使小部分广德流洞山丘指名亚种钉螺感染,对感染成功的钉螺逸出的尾蚴数量及其致病力未进行观察,此有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 毛守白. 血吸虫生物学与血吸虫病的防治[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 206-207.
- [2] 蒋守富, 路增印. 宁乡县西冲钉螺的鉴定及其对日本血吸虫感染性的实验[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1989, 1(1): 57-58.
- [3] 何毅勋, 郭源华, 倪传华, 等. 中国大陆日本血吸虫品系研究 1. 幼虫-钉螺的相容性[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1990, 8(2): 92-95.
- [4] 倪传华, 郭源华. 异地钉螺杂交的后代对安徽日本血吸虫的感受性[J]. 动物学报, 1990, 36(1): 20-23.
- [5] 洪青标, 周晓农, 孙乐平, 等. 不同地区环境类型钉螺对日本血吸虫易感性的测定[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1995, 7(2): 83-86.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 血吸虫病防治手册[M]. 第 2 版, 上海: 上海科学技术出版社, 1982. 40.
- [7] Rollinson D, Southgate VR. Ecology and Genetics of Host-Parasite Interactions [M]. London: Linnean Society of London, 1985. 91-109.
- [8] Richards, CS. Genetic factors in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for different of strains of *Schistosoma mansoni* [J]. Parasitology, 1975, 70(2): 231-241.

[收稿日期] 2003-02-11 [编辑] 黄一心