

- 中国兽医寄生虫病, 2000, 8(4): 49-50.
- [4] Smith AM, Dowd AJ, Mc Gonigle S, *et al.* Purification of a cathepsin L-like proteinase secreted by adult *Fasciola hepatica* [J]. Mol Biochem Parasitol, 1993, 62(1): 1-8.
- [5] Berasain P, Carmona C, Frangione B, *et al.* *Fasciola hepatica* parasite-secreted proteinases degrade all human IgG subclasses; determination of the specific cleavage sites and identification of the immunoglobulin fragments produced[J]. Exp Parasitol, 2000, 94(2): 99-110.
- [6] Dalton JP, Mc Gonigle S, Rolph TP, *et al.* Induction of protective immunity in cattle against infection with *Fasciola hepatica* by vaccination with cathepsin L proteinases and with hemoglobin [J]. Infect Immun, 1996, 64(12): 5066-5074.
- [7] Cornelissen JB, Gaasenbeek CP, Borgsteede FH, *et al.* Early immunodiagnosis of fasciolosis in ruminants using recombinant *Fasciola hepatica* cathepsin L like protease[J]. Int J Parasitol, 2001, 31(7): 728-737.
- [8] Kesik M, Jedlina-Panasiuk L, Kozak-Cieszczyk M, *et al.* Enteral vaccination of rats against *Fasciola hepatica* using recombinant cysteine proteinase (cathepsin L1)[J]. Vaccine, 2007, 25(18): 3619-3628.
- [9] Reszka N, Cornelissen JB, Harmsen MM, *et al.* *Fasciola hepatica* procathepsin L3 protein expressed by a baculovirus recombinant can partly protect rats against fasciolosis [J]. Vaccine, 2005, 23(23): 2987-2993.
- [10] Rodrigues AC, Garcia HA, Ortiz PA, *et al.* Cysteine proteases of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: Cathepsin L-like gene sequences as targets for phylogenetic analysis, genotyping diagnosis[J]. Parasitol Int, 2010, 59(3): 318-325.
- [11] 李晓娟. 肝片吸虫重组 GST、CatL 蛋白及其 DNA 核酸联合免疫初步研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2009.
- [12] 黄轶, 华超, 徐江英, 等. 透析袋电洗脱法在蛋白质回收和纯化中的应用[J]. 南京军医学院学报, 2003, 25(1): 33-34.
- [13] 冉旭华, 李晓娟, 李树东, 等. 肝片吸虫谷胱甘肽 S-转移酶基因的克隆表达及活性分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(9): 891-894.
- [14] 闻晓波, 冉旭华, 王春仁, 等. 肝片形吸虫重组谷胱甘肽-S-转移酶对 SD 大鼠的免疫原性分析 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(1): 46-48, 53.
- [15] Gaasenbeek CP, Moll L, Cornelissen JB, *et al.* An experimental study on triclabendazole resistance of *Fasciola hepatica* in sheep [J]. Vet Parasitol, 2001, 95(1): 37-43.
- [16] Roberts JA, Widjayanti S, Estuningsih E. Acquired resistance of merino sheep against *Fasciola gigantica*[J]. Parasitol Res, 1996, 82(8): 743-746.
- [17] Dewilde S, Ioanitescu AI, Kiger L, *et al.* The hemoglobins of the trematodes *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum epiclitum*: a molecular biological, physico-chemical, kinetic, and vaccination study[J]. Protein Sci, 2008, 17(10): 1653-1662.
- (收稿日期: 2014-01-24 编辑: 瞿麟平)

文章编号: 1000-7423(2014)-04-0292-03

【研究简报】

嫩江流域齐齐哈尔段野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染现状

刘继鑫^{1*}, 孙艳宏¹, 张浩¹, 李朝品²

【提要】 于 2013 年 5~11 月从嫩江流域齐齐哈尔段的绰尔河、雅鲁河、乌裕尔河、阿伦河和音河采集野生淡水鱼, 直接压片法检查华支睾吸虫囊蚴感染情况, 人工消化法获取囊蚴。40 只雌性昆明小鼠感染华支睾吸虫囊蚴 (30~40 个/鼠), 36 d 后解剖小鼠, 收集肝胆管内的虫体, 醋酸洋红染色后, 镜下观察。共采集到 9 种 1 175 尾野生淡水鱼, 华支睾吸虫囊蚴总感染率为 51.2% (602/1 175)。除鲢鱼外, 其他鱼种均有不同程度感染, 其中蛇鲡感染率最高, 为 82.7% (91/149); 葛氏鲈塘鳢的感染率最低, 为 7.1% (6/84)。不同鱼种间感染率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。乌裕尔河段野生淡水鱼感染率最高, 为 65.7% (218/332); 阿伦河段和音河段感染率最低, 均为 24.1% (67/278) ($P < 0.05$)。鲫鱼和麦穗鱼全身各部位 (除脑外) 均易感, 蛇鲡的感染部位主要在鱼鳞, 在拉氏鲮的脑组织内首次发现囊蚴感染。感染小鼠实验结果显示, 小鼠肝胆管内发现华支睾吸虫成虫, 感染率为 85.0% (34/40)。镜下清晰可见华支睾吸虫吸盘、消化系统和生殖系统等结构。

【关键词】 嫩江流域; 淡水鱼; 华支睾吸虫; 囊蚴; 感染

中图分类号: R383.22

文献标识码: B

Prevalence of Metacercariae of *Clonorchis sinensis* in Wild Freshwater Fishes from Nenjiang River around Qiqihaer City

LIU Ji-xin^{1*}, SUN Yan-hong¹, ZHANG Hao¹, LI Chao-pin²

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (No. 12521628)

作者单位: 1 齐齐哈尔医学院临床病原生物学教研室, 齐齐哈尔 161006; 2 皖南医学院寄生虫教研室, 芜湖 241002

* 通讯作者, E-mail: ljx_2000_1979@163.com

(1 Department of Clinical Pathogen Biology, Qiqihaer Medical University, Qiqihaer 161006, China; 2 Department of Medical Parasitology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

[Abstract] From May to November 2013, a total of 1 175 wild freshwater fishes were collected from the rivers of Chuoe, Yalu, Wuyuer, Alun, and Yin in Nenjiang River basin Qiqihaer City, and examined for metacercariae by direct compression method. The metacercariae were collected by artificial digestion method. Forty Kunming mice were infected with 30–40 metacercariae of *Clonorchis sinensis*. The mice were sacrificed 36 days after infection, and the adult worms were collected from bile duct, and observed under microscope. The results showed that a total of 1 175 fishes, belonging to nine species were taken from the Nenjiang basin of Qiqihaer region. The infection rate of *Clonorchis sinensis* metacercariae was 51.2% (602/1 175). All the species were infected besides *Silurus asotus*, and the highest prevalence (82.7%, 91/149) was found in *Longnose gudgeon* and the lowest (7.1%, 6/84) in *Perccottus glenii*. Among the rivers, the highest prevalence of metacercariae was in Wuyuer River (65.7%, 218/332), and the lowest was in Alun River and Yin River (24.1%, 67/278) ($P < 0.05$). Each part of the body in the *Carassius auratus* and *Pseudorasbora parva* were susceptible for metacercariae. The main infection site in *Longnose gudgeon* was the fish scales, and *C. sinensis* metacercaria was first discovered in the brain tissue of *Phoxinus lagowskii*. The experimental results showed that the adult worms of *C. sinensis* were found in the hepatic bile duct of the mice, with an infection rate of 85.0% (34/40). The suckers, digestive system and reproductive system of *C. sinensis* were visible clearly.

[Key words] Nenjiang river; Freshwater fish; *Clonorchis sinensis*; Metacercaria; Infection

Supported by the Science and Technology Program from Department of Education, Heilongjiang Province (No. 12521628)

* Corresponding author, E-mail: ljx_2000_1979@163.com

华支睾吸虫病是由华支睾吸虫 (*Clonorchis sinensis*) 寄生于人或动物肝胆管内引起的一种重要的食源性寄生虫病。感染者主要通过生食或半生含华支睾吸虫囊蚴的淡水鱼、虾所致, 现已成为影响中国食品安全和人群健康的重要因素之一。最近, 华支睾吸虫已被分类为 I 型人类致癌生物媒介^[1]。随着经济社会发展, 人群饮食习惯发生明显改变, 导致华支睾吸虫感染人数呈上升趋势^[2,3]。中国作为全球华支睾吸虫感染的高发区^[4,5], 防治形势严峻。全国人体重要寄生虫病现状调查数据显示, 黑龙江省华支睾吸虫感染率已由首次调查的 1.18%^[6] 上升至第 2 次调查的 4.73%^[7], 高居全国第 3 位^[4]。而嫩江作为松花江的最大支流, 盛产淡水鱼虾, 适宜华支睾吸虫中间宿主的繁殖^[8,9]。为了解嫩江流域齐齐哈尔段野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染情况, 本课题组于 2013 年 5~11 月对当地野生淡水鱼进行调查, 现将调查结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 淡水鱼来源 于 2013 年 5~11 月, 选择嫩江流经的泰来县、龙江县和齐齐哈尔市郊周围的乌裕尔河、阿伦河、音河、绰尔河和雅鲁河作为调查点, 联系沿岸渔民, 同一流域不同河段每月采集 3 次野生淡水鱼。由嫩江水产研究所渔业专家鉴定鱼种。

1.2 实验动物 10 周龄雌性昆明小鼠 40 只, 体重约 26 g, 购自齐齐哈尔医学院实验动物中心。

1.3 直接压片法检查华支睾吸虫感染情况 每尾鱼分别在嘴、脑、腮、眼内容物、前背肌肉、中背肌肉、后背肌肉、腹部肌肉、背鳍、胸鳍、腹鳍、臀鳍和尾鳍等部位取黄豆粒大小组织 3 份, 压成薄片, 两侧鱼鳞各取 8 片, 两侧鱼皮各取 3 cm×3 cm 大小 3 份, 解剖镜下查找华支睾吸虫囊蚴。

1.4 感染动物实验 将压片法检出囊蚴的鱼, 去除头、骨、

皮和内脏后, 将鱼肉直接放入绞肉机内搅成肉酱, 按 1:10 的比例加入消化液 (胃蛋白酶 7.0 g, 盐酸 1.0 ml, 溶于 1 000 ml 生理盐水), 置 37 °C 恒温箱中消化过夜, 其间搅拌数次。经 80 目网筛过滤后, 滤液经生理盐水冲洗数次, 去除杂质, 镜检分离囊蚴, 保存于本室配制的阿尔塞弗液中备用^[10]。将同一鱼种所收集的囊蚴灌胃小鼠, 每鼠感染 30~40 个囊蚴, 36 d 后解剖小鼠, 收集肝胆管内的虫体, 固定, 染色, 镜下观察成虫形态。

1.5 统计学方法 用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 数据采用卡方检验, 检验水平为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同鱼种华支睾吸虫囊蚴感染情况 共采集到 9 种野生淡水鱼 1 175 尾, 分别为鲫鱼 (*Carassius auratus*)、麦穗鱼 (*Pseudorasbora parva*)、翘嘴红鲌 (*Erythroculter ilishaeformis*)、蛇鮈 (*Longnose gudgeon*)、拉氏鲢 (*Phoxinus lagowskii*)、葛氏鲈塘鳢 (*Perccottus glenii*)、中华鲮 (*Rhodeus sinensis*)、棒花鱼 (*Abbottina rivularis*) 和鲶鱼 (*Silurus asotus*)。华支睾吸虫囊蚴总感染率为 51.2% (602/1 175)。除鲶鱼外, 其他淡水鱼均有不同程度感染, 其中, 蛇鮈感染率最高, 为 82.7% (91/149); 葛氏鲈塘鳢的感染率最低, 为 7.1% (6/84)。不同鱼种间感染率差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1)。

2.2 不同河流野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染情况 乌裕尔河段中淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染率最高, 为 65.7% (218/332); 阿伦河段和音河段最低, 均为 24.1% (67/278) ($P < 0.05$)。绰尔河段 (54.4%, 142/261) 与雅鲁河段 (57.6%, 175/304) 感染率间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 野生淡水鱼不同部位囊蚴感染情况 不同鱼种感染部位差异较大。鲫鱼和麦穗鱼全身各部位 (除脑外) 均易感, 肌肉

表1 齐齐哈尔地区嫩江段9种野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染情况

鱼种	检查尾数	阳性尾数	感染率/%
鲫鱼 <i>Carassius auratus</i>	98	45	45.9
麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>	281	117	41.6
翘嘴红鲌 <i>Erythroculter ilishaeformis</i>	56	20	35.7
蛇鲇 <i>Longnose gudgeon</i>	110	91	82.7
拉氏鲌 <i>Phoxinus lagowskii</i>	145	108	74.5
葛氏鲈塘鳢 <i>Perccottus glenii</i>	84	6	7.1
中华鲟 <i>Rhedeus sinensis</i>	210	126	60.0
棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>	149	89	59.7

组织内最多可见囊蚴84个。拉氏鲌全身各部位均有囊蚴感染,但多数部位仅见1~2个囊蚴,呈零星散在分布,其脑组织内发现少量囊蚴。蛇鲇的感染部位主要集中于鱼鳞,其余部位鲜见。中华鲟仅在肌肉内查见囊蚴,以前背肌肉居多,其他部位亦未见感染。

2.4 动物感染实验结果 40只昆明小鼠灌胃华支睾吸虫囊蚴36 d后,34只小鼠感染成功,感染率为85.0%。在肝胆管内发现华支睾吸虫成虫(6~24条),经醋酸洋红染色后,吸盘、消化系统和生殖系统等结构清晰可鉴(图1)。



图1 华支睾吸虫成虫(×40)

3 讨论

本次调查结果显示,嫩江流域齐齐哈尔段野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴的总感染率为51.2%,低于辽西地区野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴的感染率(55.8%),但高于淮南地区(15.9%)和广西柳江河段(10.5%)^[11-13]。尽管麦穗鱼和鲫鱼的华支睾吸虫囊蚴感染率不是最高,但鱼体内囊蚴数量最多,对人危害较大;蛇鲇感染率最高,但囊蚴只分布于鱼鳞部位,亦可通过接触后经口引起感染。5条河流中,扎龙自然保护区芦苇湿地所在的乌裕尔河流经区域人口最多,自然感染机会也较多,因此感染率最高;齐齐哈尔市郊的阿伦河、音河因离市区最近,许多中国重工业基地对周边河流有一定的污染,对华支睾吸虫尾

蚴生长产生一定影响,因此野生淡水鱼囊蚴感染率较低。本次调查中,首次在拉氏鲌脑组织内发现囊蚴感染,推测华支睾吸虫尾蚴被淡水鱼吞食后,经其血液循环或淋巴循环分布于鱼体内不同部位发育为囊蚴。动物感染实验结果显示,小鼠感染率较高,且价格便宜,操作方便,适宜作为华支睾吸虫感染的动物模型。

齐齐哈尔作为嫩江水域的重要区段,江河纵横,盛产大量淡水鱼、虾,适宜华支睾吸虫发育的中间宿主种类繁多,且产量大,水域周围野生渔村“杀生鱼”被视为招待贵宾佳肴,当地烧烤小型鱼类(如鲫鱼、麦穗鱼和拉氏鲌等)较为盛行,使人群感染机会大大增高。因此,了解嫩江水域齐齐哈尔段华支睾吸虫囊蚴的感染现状和特征,建立适用于流行区的华支睾吸虫病社区群防群治、查治和健康教育等不同预防控制措施,对于减少华支睾吸虫病对嫩江流域人民健康的危害、保护劳动力、增进人民健康和经济可持续发展具有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents [J]. Lancet Oncol, 2009, 10(4): 321-322.
- [2] World Health Organization. First WHO report on neglected tropical diseases 2010: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases[R]. Geneva: WHO, 2010.
- [3] 钱门宝,周晓农,方悦怡,等. 加强中国华支睾吸虫病研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(3): 211-214.
- [4] 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(Suppl5): 332-340.
- [5] 方悦怡,陈颖丹,黎学铭,等. 我国华支睾吸虫病流行区感染现状调查 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(2): 99-103.
- [6] 纪卓,段淑梅,马全海. 黑龙江省人体寄生虫的种类、感染率及防治[J]. 医学动物防制, 1999, 15(1): 597-598.
- [7] 葛涛,袁爽,纪卓. 黑龙江省人体重要寄生虫病现状调查 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(1): 13.
- [8] 张晓玲,陈根元,唐斌,等. 淡水鱼虾华支睾吸虫囊蚴感染情况调查[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(5): 183-185.
- [9] 叶春艳,王子见,吴秀萍,等. 白城地区市售淡水鱼华支睾吸虫感染情况调查[J]. 现代预防医学, 2009, 36(1): 127-127.
- [10] 李朝品. 人体寄生虫学实验研究技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 52-56.
- [11] 刘孝刚,刘刚,张文雯. 辽西地区野生淡水鱼华支睾吸虫囊蚴感染情况[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(2): 157-159.
- [12] 蔡茹,李朝品,王健,等. 淮南地区淡水鱼感染华支睾吸虫囊蚴的调查[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(1): 19-39.
- [13] 申海光,周振座,何曲波,等. 广西柳江河鱼类华支睾吸虫囊蚴感染情况 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(2): 157-159.

(收稿日期: 2014-01-08 编辑: 张争艳)