文章编号：1002－2694(2011)06－0568－06

血吸虫对吡喹酮抗药性监测指标的研究现状

付翠华（综述），宁　安（审校）

中图分类号：R383.2⁺4　文献标识码：A

20世纪70年代中后期吡喹酮的发现是血吸虫病治疗药物的里程碑[1]。吡喹酮具有高效、低毒、广谱、使用方便和价格低廉等优点，使血吸虫病的治疗取得了真正的突破。据此，WHO血吸虫病控制策略的目标已由阻断传播转为疾病控制，以吡喹酮为主的周期性化疗成为当前疾病控制的主要手段[2]。同时我国血吸虫病的防治策略也作了相应的调整。从20世纪80年代至今，我国累计有5 000万例（次）以上血吸虫病患者接受了吡喹酮治疗（包括扩大化疗）[3]。尽管血吸虫病疫苗、药物开发及导致疾病的免疫机制方面的基础研究是国际上近几年的研究热点[4]，可无论是早期的虫体抗原苗、辐射致弱童虫苗，或近十多年来研制的现代生物技术疫苗尚不宜在现场推广应用，或诱导的保护效果不甚理想[5]。目前血吸虫病的防治仍主要依赖于化学治疗[6]。

同一种抗蠕虫药物的过度应用、使用剂量的不足及结合其他因素，往往会导致抗药性的产生[7]：在非洲一些地区，曼氏血吸虫（*Schistosoma mansoni*）对在该地区广泛用于抗虫治疗的口服药海恩酮和奥沙尼喹产生了抗药性[8-9]；Fallon等[10]在实验室采用吡喹酮亚治疗量诱导出了曼氏血吸虫吡喹酮抗性株，证实在药物压力下血吸虫可对吡喹酮产生抗药性。我国是日本血吸虫病流行的主要国家[11-12]，感染宿主体内的日本血吸虫（*Schistosoma japonicum*）在持续药物压力下可能对吡喹酮产生一定的耐受性[13]。尽管现场至今尚未发现日本血吸虫中国大陆株对吡喹酮敏感性下降的证据[14]，但我们仍需密切监测日本血吸虫对吡喹酮是否产生抗药性。本文从现场和实验室两方面就血吸虫对吡喹酮抗药性监测指标进行综述，旨在为研发快速、敏感、简单的日本血吸虫对吡喹酮抗药性现场监测技术提供参考依据。

1　现场监测指标

1.1　治愈率（粪检阴转率）　治愈率的高低在一定程度上可以反映血吸虫对吡喹酮的敏感性。以往的研究业已证明，采用40 mg/kg吡喹酮顿服疗法治疗日本血吸虫病人，可获得97.6%～100.0%治愈率[15]，但采用相同疗法治疗曼氏血吸虫病人，治愈率通常只有60.0%～90.0%[15-16]。由此可以看出日本血吸虫对吡喹酮的敏感性高于曼氏血吸虫。杭盘宇等[17]对不同阶段日本血吸虫对吡喹酮敏感性的研究结果与曼氏血吸虫相比较，日本血吸虫成虫、尾蚴、毛蚴和虫卵对吡喹酮更为敏感，进一步证实了上述观点。梁幼生[14]等现场调查结果显示，采用40 mg/kg吡喹酮一次顿服的治愈率达95.1%，2次的治愈率为100%，由此提示尽管在我国血吸虫病主要流行区采用吡喹酮实施大规模化疗已10余年，但现场尚未发现日本血吸虫中国大陆株对吡喹酮敏感性下降的证据。在非洲北塞内加尔采用标准剂量吡喹酮治疗曼氏血吸虫病的治愈率仅为18%～36%，增加治疗剂量并不能明显提高治愈率[18-19]；继而又在埃及发现部分患者经反复治疗难以治愈[20]。鉴于人群化疗仍是当前血吸虫病防治的一个重要措施，是否出现了吡喹酮抗性虫株的问题引起了科学界的重视[21]。Raso等[22]在治疗曼氏血吸虫病的研究中对223名粪检阳性者采用40 mg/kg的吡喹酮顿服，6 w后评价，治愈率仅为60.9%，接近正常范围底线。Van等[23]报道，在Ndombo，同样的治疗剂量只取得28%的治愈率，即使是中度或轻度感染治愈率也显著低于正常水平。虽然Cryseels等[24]学者认为，在这些流行区应用吡喹酮治疗的治愈率低不单单与抗药性产生有关，可能还与患者体内虫负荷高，频繁的再感染以及治疗时患者体内存在处于对药物不敏感阶段的童虫有关，但是，曼氏血吸虫对吡喹酮的现场抗药性问题必须予以高度的关注。

1.2　减虫卵率　家畜最常用于检测蠕虫抗药性的方法是比较药物治疗前后粪便中的虫卵减少率，并且已制定出一部用于评价家畜线虫抗药性的标准化方案[25]。在血吸虫病人治疗前、后作虫卵计数，可以观察到药物对不同感染度病人的疗效，补充阴转率的结果[26]。在塞内加尔北部，有些学者[27-31]在研究曼氏血吸虫对吡喹酮抗药性时以虫卵转阴率作为监测指标，并计算了减虫卵率来补充阴转率的结果。

通讯作者：宁安，Email：07046262@163.com
作者单位：江西省南昌县疾病预防控制中心，南昌　330200

其中 Tchuem Tchuente LA[31] 等对该地区 43 例以往经过至少 2 次吡喹酮治疗而粪便中仍能检出曼氏血吸虫卵者予以吡喹酮 40 mg/kg 2 次疗法，2 次间隔 4 w。结果第 1 次治疗后 4 w 复查，虫卵阴转率为 58.1%，虫卵减少率为 60.8%；第 2 次治疗后4 w 复查，阴转率仍为 58.1%，虫卵减少率为56.2%。按感染度分类统计，轻度感染组的虫卵阴转率较高，重度感染组的虫卵阴转率较低，虫卵减少率则相反。

现场监测指标受许多因素的影响，如诊断标准、药物来源、剂量、治疗间隔时间、药效评价时间等[2]，并与再感染密切相关。特别是在血吸虫病重度流行区，再感染率达 15%～55%[32-33]，使治愈率、减虫卵率下降，同时也降低了敏感性监测的准确性。

2　实验室监测指标

2.1　体内检测指标

2.1.1　减虫率(成虫存活率)、减虫卵率(肝卵减少率、粪卵减少率)　吡喹酮敏感性的检测通常是以待检血吸虫虫株感染实验小鼠，在用待检药物进行治疗后检测感染鼠的血吸虫减虫率[10,20,34-35]。梁幼生等[35]对来自北塞内加尔未治愈的曼氏血吸虫病患者体内及由实验室诱导产生的 5 个抗性株和 5 个实验室保存的敏感株在小鼠体内对吡喹酮的敏感性进行了测定，结果发现敏感株的减虫率为 91.8%～100%，而抗性株的减虫率仅为 59.6%～74.4%。由此得出结论：5 个曼氏血吸虫抗性株对吡喹酮的敏感性显著低于 5 个敏感株。石孟芝等[36]从中国湖南省一个未经吡喹酮群体化疗的新发现流行区(感染率为 11%)和一个在 14 年内经吡喹酮多次群体化疗的老疫区(感染率为 8.2%)这 2 个流行区分别采集感染性钉螺逸蚴感染小鼠，采用吡喹酮 600 mg/kg 1 次灌服治疗感染小鼠，治后 3 w 剖检，结果反复化疗的老疫区组与新疫区组小鼠的减虫率分别为 98.2%和 98.7%，肝卵减少率分别为 75.85%、73.10%，粪卵减少率则各为 99.94%、99.64%。提示在反复应用吡喹酮化疗的血吸虫病流行区，吡喹酮治疗日本血吸虫病的效果无明显变化。

2.1.2　半数有效量(ED_{50})　ED_{50}是判断微生物及寄生虫抗药性的重要指标。Ismail 等[37] 和 Bennett[38]在埃及尼罗河三角洲从经吡喹酮反复治疗 3 次仍未治愈的患者粪便中分离虫卵建立虫株，并感染小鼠进行虫株的药物敏感试验。结果有 80%的虫株 ED_{50}(123～680 mg/kg)明显高于 1 次治愈患者体内分离虫株的 ED_{50}(80～104 mg/kg)。Cioli 等[39]测定了曼氏血吸虫敏感株(未经吡喹酮作用)和抗性株(实验室诱导或现场多次治疗失效)的 ED_{50}，结果，抗性株的 ED_{50} 均大于 100 mg/kg，且抗性株的 ED_{50} 约为敏感株的 3 倍，作者认为 100 mg/kg 可作为区分敏感性的 ED_{50} 的界值。但是，该项指标仍需在今后更多的虫株敏感性测定中加以验证。当然，也有学者提出，仅仅靠 ED_{50}的高低，尚不足以作为评价抗性的依据。关键要看在药物压力下，能否选择出可以遗传的抗性表型以及随着反复传代，在种群中抗性表型能否扩大化从而对人类构成威胁[40-41]。

2.1.3　病理指标

2.1.3.1　虫体皮层损伤程度　梁幼生等[42]用曼氏血吸虫对吡喹酮敏感株及抗性株尾蚴分别感染小鼠，感染后第 57 d，以 300 mg/kg 微粒化吡喹酮悬液对小鼠作灌胃治疗；在灌药后 10、30min 和 1、12、24 h 后剖杀感染小鼠，门静脉灌注收集成虫，按常规方法制成扫描电镜标本，扫描电镜下观察成虫体表的变化。结果表明，在用同等剂量的吡喹酮治疗时，敏感株虫体体表受损程度明显重于抗性株虫体，且雄虫体表的损害又较雌虫的为重。William 等[43]用曼氏血吸虫吡喹酮抗性株和敏感株作体外实验观察吡喹酮对虫皮层的损害，亦获得相同的结果。

2.1.3.2　虫卵肉芽肿面积　虫卵导致的肉芽肿是血吸虫病的基本病理变化，它能造成组织持久性的结构与功能破坏，在临床上有重要的意义。梁幼生等[44]用曼氏血吸虫抗性株与敏感株尾蚴感染小鼠，在感染第 58、59、60 d 每日以 200 mg/kg 微粒化吡喹酮悬液灌胃治疗小鼠，治后 35 d 剖杀小鼠取小鼠肝脏做石蜡切片进行 HE 染色，显微镜下作病理学观察，以图像分析仪定量测定虫卵肉芽肿的面积。结果敏感株未治疗组虫卵肉芽肿由大量炎性浸润细胞及少量间质成纤维细胞组成；治疗组则由少量炎性浸润和大量间质成纤维细胞组成；未治疗组肉芽肿的面积明显大于治疗组，两者间差异具有非常显著性。但抗性株治疗组和未治疗组虫卵肉芽肿均由大量炎性浸润细胞和少量间质成纤维细胞组成，两组虫卵肉芽肿的面积差异无显著性。研究表明鼠体内吡喹酮的治疗对曼氏血吸虫吡喹酮敏感株和抗性株肝脏虫卵肉芽肿的形成影响作用具有显著差异；在肝组织中，敏感株虫卵对吡喹酮的敏感性高于抗性株。

2.1.4　生物学特性指标

2.1.4.1　对宿主螺的易感性和产尾蚴量指标　梁幼生等[45]以曼氏血吸虫抗性株与敏感株毛蚴和尾蚴定量感染光滑双脐螺和 CD1 小鼠，宿主体内观察比较曼氏血吸虫吡喹酮抗性株和敏感株生物学特

性。结果:单只螺暴露于单个毛蚴 2 h,抗性株与敏感株对螺感染率为 19.8%和 8.9%,两者间差异有统计学意义($P=0.006$);逸蚴期间,塞内加尔抗性株感染螺存活率高于敏感株;用塞内加尔抗性株和敏感株毛蚴感染所获阳性螺产尾蚴量(尾蚴/螺)为 6 875 条和 14 611 条,抗性株和敏感株的尾蚴逸出量间差异有统计学意义;3 个塞内加尔抗性株尾蚴开放前期平均为32.2 d,而 3 个敏感株尾蚴的为 27.7 d,两者间差异有统计学意义。塞内加尔抗性株与敏感株间的虫卵开放前期及虫卵孵化率间的差异则被认为是曼氏血吸虫不同地理株间的差异。

2.1.4.2 对小鼠的易感性及排卵量指标 梁幼生等[46]采用浸尾法以 200 尾蚴/鼠逐只感染远交系 CD1 鼠,感染 57 d 后采集鼠粪便计数虫卵;78 d 后剖杀鼠收集成虫计数并摘取肝脏和肠做组织虫卵计数;95 d 后取肝脏组织切片、染色测量虫卵肉芽肿面积和周长。对抗性株与敏感株进行比较:结果抗性株和敏感株感染鼠成虫回收数相仿,分别为 22.5 条/鼠和 21.8 条/鼠;抗性株感染鼠粪便虫卵数为 68.6 只/100 mg,敏感株为 31.7 只/100 mg,两者间差异有统计学意义;感染第 78 d,敏感株产于肝和肠组织虫卵数为 4 665 只/对成虫,抗性株为 8 364 只/对成虫,两者间的差异有高度统计学意义;抗性株和敏感株感染鼠肝虫卵肉芽肿面积及周长间的差异均无统计学意义。

体内检测指标目前仍沿用小鼠体内进行实验性治疗的方法,但因其成本高、费时及影响因素多等,仅局限于实验室研究使用[47]。况且在寄生虫药物抗性株与敏感株生物学特性比较研究中所发现的差异,是寄生虫种群间自然变异,还是与抗性相关生物学特性,往往难以区别[48]。

2.2 体外监测指标

2.2.1 血吸虫成虫

2.2.1.1 虫肌肉张力 Ismail 等[49]对从吡喹酮治疗失效病人体内分离到的 12 株曼氏血吸虫成虫在吡喹酮作用下的虫肌肉张力的变化进行了测定,发现抗性株虫体的反应强度明显低于敏感株虫体。在鼠体内生物学实验测得的对吡喹酮的敏感性与体外测得的虫体肌肉的收缩强度存在良好的相关性。然而,该方法操作程序复杂,并需要专门的仪器,难以在现场使用。

2.2.1.2 成虫存活率 Sobhon 和 Upatham 报告,将血吸虫成虫孵育于含同一浓度吡喹酮的 MEM 中,曼氏血吸虫、日本血吸虫和湄公血吸虫(*Schistosoma mekongi*)存活率间存有显著不同;同种血吸虫雌与雄虫的反应性也不同,与雌虫相比,雄虫显得更为敏感[50]。梁幼生等[51]在比较曼氏血吸虫吡喹酮敏感株与抗性株成虫对吡喹酮的体外反应性结果进一步证实了 Sobhon 和 Upatham 的结果。

2.2.2 尾蚴(断尾率) 一定浓度的吡喹酮作用于尾蚴体与尾部肌肉,使得血吸虫尾蚴的体与尾部出现分离[52-54]。将曼氏血吸虫尾蚴移入 4×10^{-7} mol/L 吡喹酮溶液中 80～100 min 后,镜下计数其断尾率,比较抗性株和敏感株尾蚴断尾率间的差异作为曼氏血吸虫对吡喹酮敏感性的检测方法,可用于吡喹酮抗性虫株的现场监测。由于吡喹酮敏感株与抗性株尾蚴肌肉相应的靶位对吡喹酮敏感性存在差异,当尾蚴暴露于相同浓度的吡喹酮中,其反应性(肌肉收缩的强度)也必然存在差异。尾蚴的断尾率作为反映这一差异较客观的指标,在吡喹酮抗性监测上具有一定的意义[55]。2007 年,梁幼生等[56]研究显示,将日本血吸虫尾蚴移至 4×10^{-7} mol/L 吡喹酮溶液中 80～100 min 后,镜下计数其断尾率,用于判断该日本血吸虫分离株对吡喹酮的敏感性,此法可用于吡喹酮敏感性虫株的现场监测。同年梁幼生等[57]在曼氏血吸虫中比较吡喹酮敏感株雌雄断尾率、吡喹酮抗性株雌雄尾蚴断尾率、敏感株与抗性株雄性断尾率时发现:曼氏血吸虫雌雄尾蚴对吡喹酮的敏感性存在差异,雄性尾蚴敏感性高于雌性;曼氏血吸虫吡喹酮抗性的产生与雄虫对吡喹酮的敏感性降低有关。

2.2.3 毛蚴(变形率) 一定浓度的吡喹酮可使得血吸虫毛蚴发生形态学变化[52,58]。将吡喹酮敏感株和抗性株毛蚴分别暴露于 10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、5×10^{-6}、10^{-6}、5×10^{-7} mol/L 和 10^{-7} mol/L 吡喹酮溶液中,0、1、5 min 后观察比较毛蚴的运动及形态学变化。当毛蚴暴露于 5×10^{-6} mol/L 吡喹酮溶液中,敏感株 100%毛蚴体中部立刻收缩变形,而抗性株仅见 13.4%毛蚴变形;当暴露于 10^{-6} mol/L 吡喹酮溶液 0、1、5 min 后敏感株毛蚴的变形率分别为 35.5%、63.9%、91.2%;抗性株毛蚴的变形率分别为 0、7.6%、14.3%。敏感株毛蚴的变形率与抗性株间差异有非常显著性。实验表明,对曼氏血吸虫来说,将一定量刚孵出的毛蚴移入 10^{-6} mol/L 溶液中 1 min 后,滴加卢戈氏碘液,显微镜下计数变形毛蚴所占比例,可用于现场判断病人化疗失败的原因是由于吡喹酮抗性株造成或是因其他因素如再感染等引起。对于日本血吸虫来说,将一定量刚孵出的毛蚴移入含吡喹酮 5×10^{-7} mol/L 的溶液中按上述操作进行也可用于判断病人化疗失败的原因[56]。

体外尾蚴、毛蚴抗性检测技术只需直接从现场采集阳性螺逸出尾蚴、采集病人粪便孵化毛蚴即可进行检测，勿需使用动物和特殊设备，是简单、快速、经济及可直接用于现场检测和监测吡喹酮抗药性的方法[47,56]。

2.2.4 虫卵(孵化率)[47] 将吡喹酮敏感株和抗性株虫卵分别孵育于 5×10^{-6}、10^{-6}、5×10^{-7} mol/L 和 10^{-7} mol/L 吡喹酮溶液中 24 h，后移至清水孵化，比较虫卵的孵化率。结果经 10^{-6} mol/L 和 5×10^{-7} mol/L 吡喹酮孵育 24 h 后，敏感株曼氏血吸虫虫卵的孵化率分别为 4.2%和 30.7%，抗性株分别为 24.2%和 61.2%，两者间差异均有统计学意义。

由于血吸虫生活史中从虫卵开始，毛蚴、尾蚴均存在于体外，血吸虫成虫也能够人工培养，这就为体外直接检测血吸虫对抗虫药物的抗性提供了基础[59]。研究发现，日本血吸虫各现场分离株间在虫卵、毛蚴和尾蚴阶段对吡喹酮的敏感性无明显差异，但均明显高于曼氏血吸虫[56]；曼氏血吸虫吡喹酮敏感株与抗性株在虫卵与毛蚴阶段对吡喹酮的体外反应性差异有显著性，证明血吸虫对吡喹酮的抗性有可能表现在各个生活阶段。运用这些体外反应性的差异，建立相应抗性检测技术，对吡喹酮抗性的诊断和监测具有重要的意义[47]。

2.2.5 分子生物学指标

2.2.5.1 差异蛋白 曲国立等[60]对中国大陆日本血吸虫不同地理株间成虫差异表达蛋白的分离、鉴定，结果发现不同地理株虫体可溶性蛋白组分蛋白点在 600～700 之间，两两比较发现雌虫蛋白质表达存在 18 个差异点，雄虫存在 14 个差异表达蛋白点，且地理株间两两均有差异，提示自然状态下的不同地理株血吸虫虫体在蛋白质表达水平上的差异，可能是环境适应的结果。部分蛋白表达差异与虫体对吡喹酮敏感性密切相关。

2.2.5.2 线粒体细胞色素氧化酶-C 亚单位 1[61] 利用 PCR 技术对实验室筛选抗性分离株以及从塞内加尔和埃及分离的可疑抗性株进行与药物抗性表型相关的遗传和生理学差异的研究提示，实验室筛选抗性株成虫表达的线粒体细胞色素氧化酶-C 亚单位 1 比其亲代高 5～10 倍，而其活性却要低 4 倍。

2.2.4.3 DNA 核苷酸序列[62] 随机扩增多态 DNA PCR 实验结果显示，埃及的抗性株与来自同一地区的敏感株相比较，至少有 2 个主要的 DNA 核苷酸序列扩增并不相同。

2.2.5.4 β 亚单位基因[63] 在对吡喹酮作用的靶器官-钙离子通道的β亚单位基因的研究发现，血吸虫的β亚单位基因的主要结构成分与其他已知的β亚单位基因不同，将血吸虫β亚单位基因转染入非血吸虫细胞可以增加后者对吡喹酮的敏感性。

梁幼生[64]等对曼氏血吸虫吡喹酮抗性的遗传学分析显示：抗性遗传结果遵循孟德尔遗传定律，并认为曼氏血吸虫吡喹酮抗性是有单一或一组显性基因所决定。由此提示有可能采用分子生物学方法建立吡喹酮抗性检测技术。随着血吸虫基因测序以及人类基因组计划的完成，生命科学已进入了后基因组时代，分子生物学技术将更加有利于我们精确区分抗性株和敏感株虫体间的差异。但由于该技术需要专门的技术人员及仪器，操作复杂，费用相对较高，作为常规化的检测方法在现场使用可能会有局限性。

3 结　语

吡喹酮是治疗人体 5 种血吸虫感染的主要药物，也是治疗日本血吸虫病的惟一抗虫药[65]。抗药性的产生是寄生虫种群在药物选择压力下出现的一种适应性反应，这种反应是生理性的和可遗传的，涉及遗传基因的改变[7]。抗药性的出现是一个严重的公共健康问题[66]。监测血吸虫对吡喹酮抗药性的研究具有重大意义，尤其是中国要加强日本血吸虫对吡喹酮抗药性的监测的研究，以控制抗药性基因在流行区蔓延和更有效地防治血吸虫病[67]。

自 2005 年 3 月以来，我国已设立了 80 个血吸虫病疫情纵向监测点[68]，这些监测点对疫情实施系统、连续不断地监测，在预防和控制血吸虫病工作中发挥了重要作用。如今，随着我国血吸虫病防治进程的推进，如何建立快速、敏感的吡喹酮抗药性监测技术并在监测点中广泛运用，充分发挥监测点的作用，推动血吸虫病监测与预警体系的完善，是一个亟待解决的问题。

参考文献：

[1]Ribeiro-dos-Santos G, Verjovski-Almeida S, Leite LC. Schistosomiasis-a century searching for chemotherapeutic drugs[J]. Parasitol Res, 2006, 99(5): 505-521.

[2]陈名刚. 世界血吸虫病流行情况及防治进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(2): 81-83.

[3]黄一心, 肖树华. 抗蠕虫药吡喹酮的研究与应用[M]. 北京：人民卫生出版社, 2008: 1-16.

[4]杨频, 戴菁, 高石, 等. 基于 Web of Science 的血吸虫病文献计量研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2010, 22(1): 20-25.

[5]陈晶, 林矫矫, 蔡幼民, 等. 血吸虫基因操作研究进展[J]. 生命科学, 2009, 21(4): 579-583.

[6]宋丽君, 余传信. 血吸虫病治疗药物的进展[J]. 医学前沿, 2009, 38(12): 16-19.

[7]黄一心, 肖树华. 抗蠕虫药吡喹酮的研究与应用[M]. 北京：人民

卫生出版社,2008:475.

[8] Katz N, Dias EP, Araujo N. Estudo de ume cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistence a agents esquistossomicidas[J]. Rev Soc Bras Med Trop,1973,7:381-387.

[9]Campos R,Moreira AA,Sette H Jr,et al. Hycanthone resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,1976,70(3):261-262.

[10]Fallon PG,Doenhoff MJ. Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific[J]. Am J Trop Med Hyg,1994, 51(1):83-88.

[11]郝阳,吴晓华,夏刚,等. 2005 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2006,18(5):321-324.

[12]郝阳,郑浩,朱蓉,等. 2008 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2009,21(6):451-456.

[13]杨巧林,蔡茹,李欣,等. 日本血吸虫吡喹酮耐药虫体筛选及其超微结构观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2010,22(3):206-212.

[14]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 X. 日本血吸虫中国大陆株对吡喹酮敏感性的现场调查[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2005,17(5):328-332.

[15] Davis A . Antischistosomal drugs and clinical practice[M]. Wallingford U K:CAB Internatinal,1993:367-404.

[16]Kumar V,Gryseels B. Use of praziquantel against schistosomiasis:a review of current status[J]. Int J Antimicrob Agents, 1994,4(4):313-320.

[17]杭盘宇,梁幼生,戴建荣,等. 不同阶段日本血吸虫对吡喹酮敏感性的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2001,13(6):343-346.

[18]Telma FF,Talla I,Sow S,et al. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*[J]. Am J Trop Med Hyg,1995,53(2):167-170.

[19]Guisse F,Polman K,Stelma FF,et al. Therapeutic evaluation of two different dose regiments of praziquantel in a recent *Schistosoma mansoni* focus in northern Senegal[J]. Am J Trop Med Hyg,1997,56(5):511-514.

[20]Ismail M,Metwally A,Farghaly A,et al. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel[J]. Am J Trop Med Hyg,1996, 55(2):214-218.

[21]郭俭,郭家钢. 血吸虫对吡喹酮抗药性评价方法的研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2005,23(3):182-184.

[22]Raso G N,Goran EK,Toty A,et al. Efficacy and side effects of praziquantel against *Schistosoma mansoni* in a community of western Cote d'lvoire[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,2004,98 (1):18-27.

[23]Van LL,Stelma FF,Guisse F,et al. The contribution of host-related factors to low cure rates of praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* in Senegal[J]. Am J Trop Med Hyg, 1999,61(5):760-765.

[24]Gryseels B,Mbaye A,De Vlas SJ,et al. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance An overview of the evidence[J]. Trop Med Int Health,2001,6(11):864-873.

[25]Coles GC,Bauer C,Borgsteede FHM,et al. World association for the advancement of veterinary parasitology methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance[J]. Vet Parasitol,1992,44(1-2):35-44.

[26]中华人民共和国卫生部疾病控制司. 血吸虫病防治手册[M]. 3 版. 上海:上海科学技术出版社,2000:31.

[27]Stelma FF,Talla I,Polman K,et al. Epidemiology of *Schistosoma mansoni* infection in a recently exposed community in northern Senegal[J]. Am J Trop Med Hyg,1993,49(6):701-706.

[28]Stelma FF,Talla I,Sow S,et al. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*[J]. Am J Trop Med Hyg,1995,53(2):167-170.

[29]Guisse F,Polman K,Stelma FF,et al. Therapeutic evaluation of two defferent dose regimens of praziquantel in a recent *Schistosoma mansoni* focus in Northern Senegal[J]. Am J Trop Med Hyg,1997,56(5):511-514.

[30]Picquet M,Vercruysse J,Shaw DJ,et al. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* in northern Senegal[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,1998,92(1):90-93.

[31]Tchuem Tchuente LA,Southgate VR,Mbaye A,et al. The efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* infection in Ndombo,northern Senegal[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2001,95(1):65-66.

[32]吴忠道,张绍基,高祖禄,等. 日本血吸虫人群再感染规律的研究 I. 化疗后人群再感染的流行病学分布特征[J]. 中国血吸虫病防治杂志,1997,9(5):257-259.

[33]杨忠,郑江,王家龙,等. 云南重疫村人群普治后再感染的观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志,1997,9(2):101-102.

[34]Fallon PG,Hamilton JV,Doenhoff MJ,et al. Efficacy of treatment of murine *Schistosoma mansoni* infections with praziquantel and oxamniquine correlates with infection intensity: role of host antibody[J]. Parasitology,1995,111(pt1):59-66.

[35]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 I. 微粒化吡喹酮对小鼠感染曼氏血吸虫不同分离株的疗效[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2002,14(5):326-330.

[36]石孟芝,余冬保,魏望远,等. 洞庭湖反复化疗地区日本血吸虫对吡喹酮敏感性实验研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2004,16 (3):171-173.

[37]Ismail M,Attia M,Metweally AA,et al. Assessment of praziquantel therapy in treatment of *Schistosoma mansoni* infection[J]. J Egypt Soc Parasitol,1994,24(1):231-238.

[38]Bennett JL,Day T,Liang FT,et al. The development of resistance to anthelmintics: a perspective with an emphasis on the aneischistosomal drug praziquantel[J]. Exp Parasitol,1997,87 (3):260-267.

[39]Cioli D,Botros SS,Wheatcroft-Francklow K,et al. Determination of ED50 values for praziquantel in praziquantel-resistant and susceptible *Schistosoma mansoni* isolates[J]. Int J Parasitol,2004,34(8):979-987.

[40]Coles GC,Kinoti GK. Defining resistance in *Schistosoma*[J]. Parasitol Today,1997,13(4):157-158.

[41]Renganathan E,Cioli D. An international initiative on praziquantel use[J]. Parasitol Today,1998,14(10):390-391.

[42]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 V. 吡喹酮对曼氏血吸虫吡喹抗性株与敏感株成虫皮层的损伤[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(4):247-250.

[43]William S,Botros S,Ismail M,et al. Praziquantel-induced tegumental damage *in vitro* is diminished in schistosomes derived from praziquantel-resistant infections[J]. Parasitology,2001,122(pt1):63-66.

[44]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 VI. 吡喹酮对曼氏血吸虫吡喹酮抗性株和敏感株虫卵肉芽肿形成的影响[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(5):331-334.

[45]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 VII. 曼氏血吸虫吡喹酮抗性株与敏感株某些生物学特性[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(6):403-440.

[46]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 VIII. 曼氏血吸虫吡喹酮抗药性株与敏感株对鼠的易感性及其产卵量[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2004,16(1):4-7.

[47]梁幼生,戴建荣,朱荫昌, 等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 II. 曼氏血吸虫吡喹酮敏感株与抗性株虫卵和毛蚴对吡喹酮的反应性[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2002,14(6):407-411.

[48]黄一心,肖树华. 抗蠕虫药吡喹酮的研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:493.

[49]Ismail M,Botros S,Metwally A,et al. Resistance to praziquantel:direct evidence from *Schistoma mansoni* isolated from Egyptian villagers[J]. Am J Trop Hyg,1999,60(6):932-935.

[50]Sobhon P,Upatham ES. Effect of praziquantel on adult oriental schistosomes[A]. //Sobhon P, Upatham ES(Eds). Snails, hosts, life-cycle and tegumental structure of oriental schistosomes[C]. Lincoln Promotion, Thailand,1990: 247-270.

[51]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性研究 IV. 曼氏血吸虫吡喹酮敏感株与抗性株成虫对吡喹酮的体外反应性[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(2):84-88.

[52]Xiao SH,Catto BA,Webster LT. Effects of praziquantel on different developmental stages of *Schistosoma mansoni in vitro* and *in vivo*[J]. J Infect Dis,1985,151(6):1130-1137.

[53]Xia M Y,Combes C. Effect of praziquantel on larval stages of *Schistosoma japonicum*[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,1987,81(4):645-650.

[54]Xiao SH,Yue WJ,Yang YQ,et al. Susceptibility of *Schistosoma japonicum* of different development stages to praziquantel[J]. Chin Med J,1987,100(9):759-768.

[55]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 Ⅲ. 曼氏血吸虫吡喹酮敏感株与抗性株尾蚴对吡喹酮的反应性[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(1):12-16.

[56]梁幼生,戴建荣,李洪军,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 Ⅺ. 日本血吸虫中国大陆现场分离株虫卵 毛蚴 尾蚴对吡喹酮的敏感性[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2007,19(5):321-327.

[57]梁幼生,戴建荣,李洪军,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 Ⅻ. 曼氏血吸虫吡喹酮敏感株和抗性株雌雄尾蚴对吡喹酮敏感性的比较[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2007,19(6):405-409.

[58]Coles GC. The effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*[J]. J Helminthol,1979,53(1):31-33.

[59]黄一心,肖树华. 抗蠕虫药吡喹酮的研究与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:504.

[60]曲国立,陶永辉,李洪军,等. 中国大陆日本血吸虫地理株间成虫蛋白质组分的差异[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2010,22(4):315-319.

[61]Pereira C, Fallon PG, Cornette J, et al. Alterations in cytochrome-c oxidase expression between praziquantel-resistant and susceptible strains of *Schistosoma mansoni*[J]. Parasitology,1998,117(pt1):63-73.

[62]Tsai MH, Marx KA, Ismail MM, et al. Randomly-amplified polymorphic DNA(RAPD) polymerase chain reaction assay for determnatiom of *Schistosoma mansoni* strains sensitive or tolerant to anti-schistosomal drugs[J]. J Parasitol, 2000, 86(1): 146-149.

[63]Kohn AB,Anderson PAV,Roberts-Misterly JM,et al. *Schistosome calcium* channel β subunits:unusual modulatory effects and potential role in the action of the antischistosomal drug praziquantel[J]. J Biol Chem,2001,276(40):36873-36876.

[64]梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 Ⅸ. 曼氏血吸虫吡喹酮抗性的遗传学分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2004,16(2):81-85.

[65]Garba A,Toure S,Dembele R,et al. Present and future schistosomias is control activities with support from the schistosomiasis control initiative in West A frica[J]. Parasitology,2009,136(13):1731-1737.

[66]Caffrey CR. Chemotherapy of schistosomiasis: present and future[J]. Curr Opin Chem Biol,2007,11(4):433-439.

[67]吴月英,宁安. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究现状[J]. 中国人兽共患病学报,2009,25(1):81-83.

[68]党辉,朱蓉,郭家钢. 2005 年全国血吸虫病疫情监测报告[J]. 热带病与寄生虫学,2006,4(4):182-192,196.

收稿日期:2011-01-13;**修回日期**:2011-02-28