

# 不同发育期福寿螺对广州管圆线虫 易感性的实验研究

刘和香<sup>1</sup>, 张仪<sup>1</sup>, 周晓农<sup>1</sup>, 吕山<sup>1</sup>, 朱丹<sup>1</sup>, 林金祥<sup>2</sup>, 李莉莎<sup>2</sup>, 李友松<sup>2</sup>, 殷位刚<sup>3</sup>

【摘要】目的 探讨和了解广州管圆线虫幼虫对不同发育期福寿螺感染的差异。方法 将实验室饲养的子 1 代福寿螺按体重分为 4 个等级, 分别为螺苗级、仔苗级、中螺级和成螺级。应用福建同一来源并经实验室传代的广州管圆线虫 I 期幼虫分别感染 4 级螺, 观察比较其感染率、感染死亡率、感染度、III 期幼虫(感染期幼虫)大小和幼虫在螺体的发育速度及分布情况。结果 4 级螺均能被广州管圆线虫感染, 其感染率在 76%和 100%之间, 差异无显著性( $P>0.05$ )。螺级越小感染死亡率越高。中螺级的感染度较高, 体内超过 100 条幼虫的螺数也较多。螺级间螺体幼虫发育状态基本相似。各级螺中的 III 期幼虫大小及 III 期幼虫出现前期和盛期均无明显差异( $P>0.05$ )。幼虫广泛分布于螺体各脏器与肌肉等处, 但以肺与肌肉中居多。各级螺内 III 期幼虫均能成功感染大白鼠。结论 不同发育期福寿螺对广州管圆线虫均易感而相容, 螺级间螺体幼虫发育状态基本相似。螺苗级和仔苗级福寿螺在传播广州管圆线虫病中的潜在危害应予进一步认识。

【关键词】福寿螺; 广州管圆线虫; III 期幼虫; 螺级

中图分类号: R383.241

文献标识码: A

## Studies on Susceptibility of *Pomacea canaliculata* of Different Developmental Stages to Infection with *Angiostrongylus cantonensis*

LIU He-xiang, ZHANG Yi, ZHOU Xiao-nong, LV Shan, ZHU Dan,  
LIN Jin-qiang, LI Li-sha, LI You-song, YIN Wei-gang

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control  
and Prevention, Shanghai 200025, China)

【Abstract】Objective To study the susceptibility of *Pomacea canaliculata* of different developmental stages to *Angiostrongylus cantonensis* infection. Methods *P. canaliculata* snails breeding at laboratory were divided into four rank ( - ) according to the weight, and infected with the first stage larvae of *A. cantonensis* from Fujian Province. Their mortality, infection rate, worm burden, and the size, development and distribution of larvae in snails were examined. Results Snails at different developmental stages were readily infected with *A. cantonensis*. The infection rate was between 76% and 100%, with no significant difference among the groups ( $P>0.05$ ). Snails at earlier developmental stage showed higher mortality. The heaviest worm burden and the largest number of snails harboring more than 100 larvae were found in snails of rank III. In general the larvae in snails showed a synchronous development in the groups. Sizes of the third stage larvae in snails of various ranks were homogeneous. The period before the third stage larva emergence and the time for a peak percentage of the larvae exhibited no significant difference among the four ranks. The larvae widely distributed in various parts of snails, with more in the lung and foot, and larvae from snails of different ranks could all infect rats successfully. Conclusion *P. canaliculata* of the four ranks can all be infected by the first stage larvae of *A. cantonensis*. Rank III snails may be better for studying the relationship between *P. canaliculata* and *A. cantonensis*. The potential role of young snails in angiostrongyliasis transmission should be recognized.

【Key words】*Pomacea canaliculata*; *Angiostrongylus cantonensis*; Third stage larvae; Snail rank

Supported by the Key Science and Technology Project of the National Tenth Five-Year Plan of China (No.2003BA712A09-01)

\* Corresponding author, E-mail: zhouxn@sh163.com

基金项目: "十五"国家科技攻关计划项目(No.2003BA712A09-01)

作者单位: 1 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 上海 200025;

2 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001; 3 南京市疾病预防控制中心, 南京 210023

\* 通讯作者, E-mail: zhouxn@sh163.com

广州管圆线虫(*Angiostrongylus cantonensis*, Chen, 1935) 是引起人体嗜酸粒细胞增多性脑膜炎或脑炎的重要病原体<sup>[1]</sup>。该病为人兽共患病, 感染者的症状为剧烈头痛、恶心、呕吐、发热、昏迷、精神失常等, 严重者可造成死亡或有后遗症<sup>[2]</sup>。目前在我国有报道的广州管圆线虫中间宿主有福寿螺(*Pomacea canaliculata*, Lamarck, 1822)、褐云玛瑙螺、皱疤坚螺、短梨巴蜗牛、同型巴蜗牛、中华园田螺、环棱螺及蛞蝓等。近年来, 浙江温州和福建长乐等地广州管圆线虫病暴发均由食用福寿螺引起<sup>[3,4]</sup>, 该螺为广州管圆线虫的重要中间宿主之一, 也是广州管圆线虫病暴发流行的重要生物因素之一。因此, 开展不同发育期福寿螺对广州管圆线虫易感性的实验研究, 对深入研究福寿螺与广州管圆线虫之间的宿主-寄生虫相互关系, 了解本虫的传播规律和制定对本病的防治措施具有重要意义。

## 材料与方法

### 1 实验螺

1.1 实验螺的繁殖与培养 将福建现场采集的福寿螺排出的鲜红色卵置于培养皿, 在室温 25.5~26℃、水温 24.5~25.5℃ 的条件下, 11 d 左右卵孵出幼螺并移入泥沙缸内饲养, 1 个月后移置配有换气泵的 50 cm × 35 cm × 60 cm 大玻璃缸内饲养, 每天投放青饲料(卷心菜或大白菜)、精粉、钙粉等, 3 个月后半部分螺进入成螺期。

1.2 不同发育期实验螺的分级 由于不同发育期福寿螺与体重有一定的相应关系, 因此按傅先源等<sup>[5,6]</sup>报道的方法将幼成螺按重量分为 4 个螺级(图1), 依次为:

螺苗级(I)(Rank I *P. canaliculata*) <0.30 g/只,  
仔苗级(II)(Rank II *P. canaliculata*) 0.30~1.5 g/只,  
中螺级(III)(Rank III *P. canaliculata*) 1.5~6.5 g/只,  
成螺级(IV)(Rank IV *P. canaliculata*) >6.5 g/只。  
其中成螺级性腺发育成熟, 性腺未发育成熟的螺苗、仔苗、中螺统称幼螺。

挑选螺壳完整有活力的螺苗级 30 只、仔苗级 25

只、中螺级 20 只、成螺级 20 只备感染用。另挑选相应螺级福寿螺各 30 只作为阴性对照。

### 2 实验动物

雄性, 90~100 g SD 大鼠, 购自上海医科大学实验动物中心。

### 3 广州管圆线虫 I 期幼虫

将现场感染性福寿螺按林金祥等<sup>[7]</sup>方法压碎去壳分离出广州管圆线虫 III 期幼虫(以下简称 L<sub>3</sub>), 吸取活动良好的 L<sub>3</sub> 50~100 条, 采用经口或腹腔注射感染大鼠。感染后第 35~38 天, 排出含有 I 期幼虫(以下简称 L<sub>1</sub>) 的粪便, 从中收集 L<sub>1</sub>。

### 4 人工感染实验螺

收集大鼠感染后的第 45 d 新鲜大便, 加少许水将大便调成糊状, 过滤数遍后, 再加入脱氯水至 1 000 ml, 充分调匀成幼虫液, 分成 4 份 250 ml, 然后分别倒入禁食 24 h 的各螺级福寿螺的容器内, 24 h 后再用上述方法加入新粪液, 持续感染 2 d 后, 将各螺级福寿螺置室温 25.5~26℃、水温 24.5~25.5℃ 的条件下按上述 1 方法饲养。

### 5 感染性(阳性)螺的确定

将感染螺研磨镜检以观察到广州管圆线虫 II 期或 III 期幼虫(以下简称 L<sub>2</sub> 或 L<sub>3</sub>) 即确定为感染性螺。

### 6 L<sub>3</sub> 的测量

随机选取各螺级 L<sub>3</sub> 30 条, 用目镜测微计测量并统计各螺级 L<sub>3</sub> 体长与体宽。

### 7 螺体幼虫发育速度和分布观察

4 级螺感染 13 d 后, 进行解剖检查, 观察螺体幼虫发育情况, 记录每螺含 L<sub>3</sub> 和 L<sub>2</sub> 的数量, 观察 L<sub>3</sub> 出现前期(螺体内幼虫最先发育成 L<sub>3</sub> 的时间)与 L<sub>3</sub> 盛期(螺体幼虫内 L<sub>3</sub> 比例达到 95% 以上的时间)。解剖观察螺体幼虫分布情况。

### 8 L<sub>3</sub> 的感染性

从各螺级获取的广州管圆线虫 L<sub>3</sub>, 按上述方法 3 感染大白鼠, 35 d 后粪检结果。

## 结 果

### 1 感染情况

共感染福寿螺 95 只, 获得感染性螺 70 只, 阴性

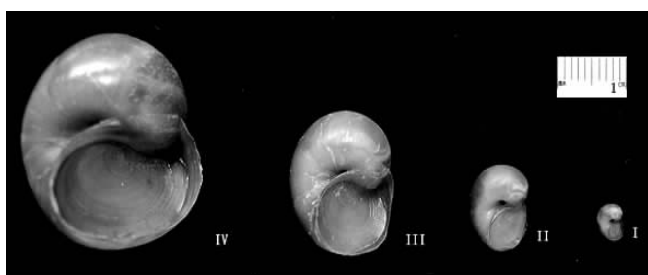


图 1 4 个螺级福寿螺

Fig.1 Four development ranks of *P. canaliculata*

螺 10 只, 死亡螺 15 只。4 个螺级福寿螺均能被广州管圆线虫感染。I、II 级螺的死亡率 (30%和 20%) 明显高于 III、IV 级螺 (5%和 0), I、II 级螺死亡率与 III、IV 级螺死亡率相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 死螺经解剖, 软体中均含有数量不等的  $L_1$ 。4 个螺级感染率依次为 76%(I 级)、85%(II 级)、100%(III 级)、90%(IV 级), 差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。感染度比较: I~IV 螺级平均获虫数依次为  $4.17 \pm 1.31$  条、 $20.53 \pm 4.12$  条、 $89.66 \pm 2.93$  条及  $84.73 \pm 3.62$  条, I、II 级螺的感染度低于 III、IV 级螺, 差异有显著性 ( $P < 0.01$ ) (表 1)。中螺级中含 100 条以上幼虫的螺数最多。各螺级中幼虫分别为 2~7 条、3~231 条、4~308 条及 7~1355 条。

## 2 幼虫发育分布情况

2.1 发育速度 在室温 25.5~26、水温 24.5~25.5 的条件下, 各螺级螺体内幼虫发育历期均为 15~20 d, 其中 15~16 d 为  $L_3$  最早出现时间, 但螺体幼虫发育速度均不一致 (表 2), II~IV 螺级 (螺苗级 I 因虫数少

未计入) 螺体内  $L_3$  (图 3) 与  $L_2$  (图 2) 构成比分别为 24.2%与 75.8%, 24.6%与 75.4%, 20%与 80%, 各螺级内  $L_3$  明显低于  $L_2$ , 但螺级间幼虫发育状态基本一致, II~IV 螺级  $L_3$  分别占总虫数的 20%、25%和 20%, 差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。17~18 d 各螺级幼虫中  $L_3$  数已递增到 63.7%; 19~20 d 螺体内  $L_3$  盛期出现, II~IV 螺级  $L_3$  分别占总虫数的 98%、95%和 90%, 显示各螺级间幼虫发育状态无明显差异, 20 d 后仍可见  $L_2$ 。

2.2  $L_3$  的大小与分布 I~IV 螺级的  $L_3$  平均大小分别为  $(472.0 \pm 33.0) \mu\text{m} \times (25.5 \pm 2.1) \mu\text{m}$ 、 $(475.0 \pm 35.0) \mu\text{m} \times (25.7 \pm 2.0) \mu\text{m}$ 、 $(474.0 \pm 38.0) \mu\text{m} \times (25.5 \pm 2.0) \mu\text{m}$ 、 $(472.0 \pm 44.0) \mu\text{m} \times (25.0 \pm 2.5) \mu\text{m}$ , 差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

2.3 幼虫的分布情况 解剖所获 70 只阳性螺, 肺中均有幼虫, 当螺体内幼虫密度很高时, 幼虫广泛分布于螺体各脏器与肌肉等处, 但以肺与肌肉中居多。4 个螺级所获的  $L_3$  均能成功感染大鼠。

表 1 4 个螺级福寿螺的感染结果

Table 1 Results of *A. cantonensis* infection in *P. canaliculata* of four ranks

螺级 Snail rank	实验螺数(只) No. snails exposed	存活螺数(只) No. snails survived	感染螺数(只) No. snails infected	感染率 Infection rate(%)	感染度 Worm burden			
					>100 条幼虫的螺数 No. snails harboring more than 100 larvae	最高 Max.	最低 Min	G $\pm$ s
螺苗级(I)	30	21	16	76	0	7	2	$4.17 \pm 1.32$
仔苗级(II)	25	20	17	85	4	231	3	$20.54 \pm 4.12$
中螺级(III)	20	19	19	100	10	308	4	$89.66 \pm 2.93$
成螺级(IV)	20	20	18	90	7	1355	7	$84.73 \pm 3.62$

表 2 4 个螺级福寿螺广州管圆线幼虫发育构成比

Table 3 Larvae development in the four ranks of *P. canaliculata*

螺级 Snail rank	检查数(只) No. snails tested	不同时间幼虫发育构成比(%) Proportion of larvae at different stages (%)							
		15~16 d <sup>**</sup>		17~18 d		19~20 d <sup>***</sup>		>20 d	
		$L_3$	$L_2$	$L_3$	$L_2$	$L_3$	$L_2$	$L_3$	$L_2$
螺苗级 *	20	...		...		...		...	
仔苗级	17	24.20	75.80	58.50	41.50	98.00	2.00	99.25	0.75
中螺级	19	24.60	75.40	68.20	31.80	95.20	4.80	99.25	0.75
成螺级	18	20.00	80.00	66.10	33.90	90.00	10.00	98.50	1.50

注: \* 因螺苗级虫数太少故无法计算幼虫发育构成比, \*\* 感染后 15~16 d 为 期幼虫出现前期, \*\*\* 感染后 19~20 d 为 期幼虫数达到盛期。

Note: \*No data available in rank because of the limited no. of larvae, \*\*Period of the pre-third-stage larvae, \*\*\*Peak time of the third stage larvae.

## 讨 论

福寿螺又称大瓶螺、苹果螺、金宝螺, 在分类上属中腹足目、瓶螺科、瓶螺属<sup>[6,8]</sup>, 是近年来国际上倍受关注的危险性有害生物<sup>[9,10]</sup>, 也是南方主要水生农作

物的有害生物<sup>[10-12]</sup>。随着福寿螺在我国的大量引进与繁殖, 该螺已成为我国淡水养殖的一种大型螺类<sup>[8]</sup>。1997 年以来随着淡水养殖业的发展, 广州管圆线虫病也逐年上升, 福建和浙江等地发生的广州管圆线虫病, 其中间宿主主要为福寿螺<sup>[13,14]</sup>。因此, 福寿螺已





图2 广州管圆线虫第二期幼虫  
Fig.2 The second stage larvae  
of *Angiostrongylus cantonensis*



图3 广州管圆线虫第三期幼虫  
Fig.3 The third stage larvae  
of *Angiostrongylus cantonensis*

成为我国传播广州管圆线虫病的主要中间宿主, 已引起寄生虫学者们的广泛重视。

实验观察表明: 广州管圆线虫  $L_1$  均能感染不同发育期福寿螺, 螺级越小感染后死亡率越高, I、II 级螺的死亡率 (30%、20%) 明显高于 III、IV 级螺 (5%、0)。螺苗级在感染初期死亡率最高, 可能的原因是幼虫大多寄生在螺的肺与肌肉处, 而其个体小肺与肌肉处抵抗幼虫机械损伤的能力相对较差。螺级的感染率、感染度均为中螺级最高 (表 1), 幼虫超过 100 条螺数最多的也是中螺级, 该螺级感染时大多挑选其重量在 2.5~5 g 间 (15~20 d 解剖时已达 5~8 g 左右), 上述状况与本研究观察到的大多数现场螺 6~10 g 间含虫密度较高情况基本相似, 从螺级的感染死亡率、感染率、感染度等诸多方面综合评价, 中螺级应被视为实验研究中的最佳选择对象。

各螺级螺体幼虫发育历期均为 15~20 d, 其 III 期幼虫出现前期均为 15~16 d, 但此时螺体  $L_3$  仅占总幼虫的 20% 以上 (表 2), 而大部分幼虫为  $L_2$ , 各螺级螺体内幼虫发育速度有快慢, 可能原因: 一是螺共感染了 48 h, 第 1 h 与第 48 h 感染时间差距约 2 d; 二是幼虫广泛分布在螺体各部位, 推测可能是幼虫寄生在螺体不同部位而造成发育速度不一致的缘故 (另作报道); 三是幼虫发育本身存在个体差异, 有些幼虫大小悬差很大, 甚至个别幼虫由于蜕皮困难等原因而终身不能发育, 结果显示: 螺级间幼虫整体发育状态基本一致, 20 d 后仍可见  $L_2$  (图 2)。

一般而言, 实验室与自然条件下 (感染率、感染度及发育速率) 的研究结果可能存在些差异, 因为自然环境下福寿螺有反复多次感染的机会, 螺体幼虫可处在不同幼虫阶段, 中、成螺感染率、感染度均很高, 曾查到 1 只螺含 5 000 多条幼虫,  $L_3$  大小差异很大, 小的约  $340 \mu\text{m} \times 22 \mu\text{m}$ , 大的可达  $520 \mu\text{m} \times 26 \mu\text{m}$ , 估计因反复多次摄食而过多的幼虫寄生螺体后, 幼虫发育可能受空间限制及寄生虫拥挤效应的影响所致。且幼虫在自然变温条件下和恒温条件下生长发育也存

在差别, 多数变温动物在自然变温环境中的发育速率要快于恒温环境<sup>[15]</sup>, 故两者条件研究结果可能存在一定的差异。但实验室试验结果仍具有重要参考价值。

虽然 4 个螺级福寿螺均能被广州管圆线虫感染, 但作者认为螺苗级 (I 级) 潜在的传播性或危害性较高, 因其个体较小, 可随田水串灌或提灌扩散, 也可附着土壤中或水生植物根部、茎部随运输而扩散, 造成远距离的人为因素传播<sup>[16]</sup>, 在有适宜生长的生态环境中, 可能会造成福寿螺的扩散和广州管圆线虫疫源地的扩大。

随着饮食的多样化, 生吃水生植物、半生螺类、喝生水或食用吞入了螺苗级螺的小鱼小虾已成为一些人的习惯, 特别是福寿螺养殖后放任不管<sup>[13,16]</sup>, 加速了广州管圆线虫病的传播。因螺苗级螺较小误吃了也不易被发现, 因此就诊时患者常否认食用过螺, 从而增加了医生的诊断难度, 造成人为的误诊而耽误治疗。由于广州管圆线虫病具有临床经过轻重不一的特点, 轻的可无症状, 重的可引起死亡<sup>[17]</sup>。因此, 在广州管圆线虫病疫源地区, 螺苗级及仔苗级福寿螺在传播本病的作用应特别引起重视。

#### 参 考 文 献

- [1] 梁浩昆. 关于广州管圆线虫病的概述[J]. 广州医学院学报, 1988, (16): 95-101.
- [2] 李雅龙. 人体寄生虫学[M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 212-215.
- [3] 杨发柱, 张莹珍, 屠邵平. 一起疑为食用螺肉引起的广州管圆线虫病暴发流行[J]. 海峡预防医学杂志, 2004, 10: 44-45.
- [4] 潘长旺, 邢文莺, 梁韶辉, 等. 温州福寿螺体内首次发现广州管圆线虫幼虫[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 1998, 11: 78.
- [5] 傅先源, 王洪全. 温度对福寿螺生长发育的影响[J]. 水产学报, 1999, 23: 21-26.
- [6] 尹绍武, 颜亨梅, 王洪全, 等. 福寿螺生物学研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2000, 23: 75-82.
- [7] 林金祥, 周晓农, 李丽莎, 等. 铜锈环棱螺-广州管圆线虫中间宿主的发现[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21: 24-26.
- [8] 胡自强, 胡运瑾. 福寿螺的形态构造[J]. 动物学杂志, 1991, 26 (5): 4-6.
- [9] Litsinger JA, Estano BD. Management of the golden apple snail *Pomacea canaliculata* Lamarck in rice [J]. Crop Protection, 1993, 12: 363-370.
- [10] 周卫川, 吴宇芬, 杨佳琪. 福寿螺在中国适生性研究[J]. 福建农业学报, 2003, 18: 25-28.
- [11] 赵国珊, 周卫川. 防止福寿螺扩散蔓延[J]. 植物检疫, 1993, 7: 128-129.
- [12] 赵国珊, 周卫川. 福寿螺在福建晋江、云南暴发成灾[J]. 植物检疫, 1996, 10: 290.
- [13] 杨发柱, 张莹珍, 黄晓红, 等. 福建省广州管圆线虫的研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2001, 7: 11-14.
- [14] 杨发柱, 张莹珍, 黄晓红, 等. 福建广州管圆线虫形态及实验感染的观察[J]. 实用寄生虫病杂志, 1999, 7: 145-148.
- [15] 华东师范大学. 动物生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1984. 19.
- [16] 吴志平, 程开禄, 卿雨文. 四川福寿螺的发生及防除初步研究[J]. 植物检疫, 1995, 9: 266-269.
- [17] 陈清清, 黄建洲, 郑开作, 等. 闽南地区广州管圆线虫病的首次[J]. 中国人兽共患病杂志, 2001, 17(3): 115-116.

(收稿日期: 2005-04-15 编辑: 伯韦)