

文章编号: 1002-2694(2007)09-0923-03

水温对广州管圆线虫感染福寿螺影响的研究^{*}

刘和香, 张 仪, 吕 山, 朱 丹, 王显红, 吴 纛, 胡 铃, 吴世芳, 周晓农

摘 要:目的 通过观察不同水温对广州管圆线虫感染福寿螺的影响, 了解福寿螺受感染的适宜水温和最低临界温度。
方法 实验室培养子代福寿螺和福建株广州管圆线虫 I 期幼虫分别于 5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、和 30℃ 的恒温箱中预温 4h, 达到所需温度后, 分别将各温度组广州管圆线虫 I 期幼虫倒入相应温度组的螺容器内使其感染, 24h 后观察记录各组螺的开扉率并移置 (24℃±1℃) 水温环境中饲养。20d 后进行解剖, 统计各组螺的感染率及感染度, 分析感染率和感染度与感染水温的相关性。
结果 6 组温度螺的感染率依次为 0%、20%、55%、95%、100%、100%, 福寿螺的感染率与水温间变化趋势的曲线方程为 $Y=1E-05x^4-0.0011x^3+0.0292x^2-0.2362x+0.5833$ 推算最低临界感染温度值为 6.66℃。感染度与水温有相关性 ($r_s=0.3448, P<0.0032$)。其中 25℃ 与 30℃ 虫负荷较高, 25℃ 感染温度大于 500 条幼虫的螺数最多。
结论 广州管圆线虫感染福寿螺的适宜水温范围为 20~30℃, 最佳感染温度为 25~30℃, 理论上水温 < 6.66℃, 福寿螺丧失摄入幼虫的能力。根据温度范围及幼虫生长规律推断: 春夏秋冬为螺感染的危险温度; 夏秋季为流行该病的危险季节。

关键词: 广州管圆线虫; 福寿螺; 水温; I 期幼虫; 临界温度
中图分类号: R383.1 文献标识码: A

Effect of temperature on the infection with *Pomacea canaliculata*
by *Angiostrongylus cantonensis*

LIU He xiang, ZHANG Yi, LV Shan, ZHU Dan, WANG Xian hong,
WU Ying, HU Ling, WU Shi fang, ZHOU Xiao nong

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention,
WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT: To explore the optimum temperature range and the lower critical temperature for *Pomacea canaliculata* infected by *Angiostrongylus cantonensis*, by observing the infections under various temperature conditions offsprings of adult *P. canaliculata* and first stage larvae of *A. cantonensis* were put separately into constant temperature boxes for 4 hours at 5, 10, 15, 20, 25 and 30℃, respectively. And then the snails and worms in the same box were mixed to infect for 24 hours. The infected snails were observed for the status of operculum. All the snails were washed and put into aquarium (24±1℃) by temperature group. The infection rates and intensities were recorded and the correlation between them and temperature was established. It was found that the infection rates were 0%, 20%, 55%, 95%, 100%, 100% at 5, 10, 15, 20, 25 and 30℃, respectively. The relationship between infection rate and temperature was depicted by the function $Y=1E-05x^4-0.0011x^3+0.0292x^2-0.2362x+0.5833$. The lower critical temperature for infection was 6.66℃ according to the function. and the infection intensities were associated with temperature ($r_s=0.3448, P<0.0032$), there were higher intensities at 25 and 30℃, and the proportion of snails with infection intensity of more than 500 worms was bigger at 25℃ than other groups. It is concluded that the optimum temperature range is 20-30℃ and the lower critical temperature is 6.66℃. Spring, summer and autumn are the risk seasons for *P. canaliculata* infected by *A. cantonensis*, summer and autumn are the risk reasons for angiostrongylia sis epidemic according to these parameters.

KEY WORDS: *Angiostrongylus cantonensis*; *Pomacea canaliculata*; lower critical temperature; first stage larva

我国大陆广州管圆线虫病的流行, 中间宿主福寿螺起到了极其重要的作用^[1], 其已成为广州管圆线虫病的重要中间宿主之一^[2]。螺摄食行为是感染上广州管圆线虫的主要途径, 幼虫主动钻入仅为其

次。在自然条件下, 影响和制约幼虫感染福寿螺的

^{*} 国家“十五”科技攻关项目 (No. 2003BA712A09-01)
通讯作者: 周晓农 Email: ipdzhouXN@sh163.net
作者单位: 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病学重点实验室, 上海, 200025

因素很多,但水温仍是最重要的因素之一,如螺的开厝、软体暴露程度与摄食行动及幼虫活力等直接受温度的制约,水温的变化必然影响其摄食习性,从而导致其感染率和感染强度的变化。因此,温度是影响广州管圆线虫传播的重要条件。近几年来,广州管圆线虫病的几起暴发流行^[3,6]集中在8~11月份,10~11月份为流行高峰。然而,该病的流行季节与螺被感染时的温度关系还缺乏系统的实验结果,为了探索螺受感染时的最佳水温范围和最低临界温度,进一步了解螺的感染程度与感染时水温存在的相关关系,在实验室进行了广州管圆线虫置不同水温环境下感染福寿螺的实验研究。本研究对预测广州管圆线虫病流行程度与季节变化的关系具有重要的意义,从而为现场流行病学及疾病的防治对策提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大白鼠购自上海医科大学实验动物中心,雄性,鼠的大小为90~100g。

1.2 实验器材 恒温箱6台、Niken 解剖镜一台、食品粉碎机一台、12cm 培养皿6只、6cm 培养皿及相关器材若干。

1.3 阳性大白鼠 将福建产福寿螺体内分离出的Ⅱ期幼虫(以下简称L3)50~100条用特制针头注射器灌入SD 大白鼠的口内(经口感染),或以消毒注射器吸取生理盐水中的L3直接注入SD 大白鼠的腹腔内(腹腔感染),饲养35~40d后,鼠粪中检测到L1,即大白鼠阳性。

1.4 I 期幼虫(以下简称L1)的准备 收集当天阳性鼠粪,置去氯水中浸泡充分溶解,静置沉淀4~6h,过滤取沉渣加去氯水至900mL,充分调匀至幼虫混悬液后平均分成6份,每份150mL(含L1约420条/mL)。

1.5 实验螺 采自现场福建省闽侯县经实验室繁殖获得子代螺。方法:将现场福寿螺排出的鲜红色卵置于培养皿内,室温25~26℃、水温24.5~25.5℃条件下,10~12天左右卵孵出幼螺,然后将其移置装有换气泵的50cm×35cm×60cm大玻璃泥沙缸内饲养^[7],3~4个月后螺进入成螺期(子代螺)。挑选活度好、壳完整的成熟子代福寿螺120只,螺大小为10~15g,实验螺分成6组,每组20只于12cm培养皿内,禁食24后备感染用。

1.6 福寿螺的人工感染 按孙乐平等方法^[8]将6份阴性福寿螺与广州管圆线虫L1分别于5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、和30℃的恒温箱中预温4h,达到所需温度后,再将各恒温箱中的I期幼虫

倒入螺容器内使其感染,连续感染24h后,取出移至水温24.5~25.5℃备有换气泵的50cm×35cm×60cm大玻璃缸内饲养,20d后待解剖观察用。

1.7 福寿螺的检测 按文献^[9]检测L2或L3。

1.8 观察内容 感染24h后,观察各温度组螺的开厝率、L1的活力。20天后,观察螺的感染率和感染度等。

1.9 数据的整理与分析 统计分析螺感染率、感染度与开厝率。借助SPSS.11软件分析螺感染率及感染度与水温间的相关性并作图分析。

2 结果

2.1 感染率 螺的感染水温在5℃、10℃、15℃、20℃、25℃和30℃时,螺的感染率依次为0%、20%、55%、95%、100%、100%(表1)。 χ^2 检验总体上有差别($\chi^2=81.50$, $P<0.0001$),其中20℃以上感染率无差别,且显著高于20℃以下水温组,其余两两之间有差别。当感染水温10℃时,螺的感染率仍可达20%,但显著低于15℃水温组,见表1。

2.2 开厝率 6组不同感染水温环境下,螺的开厝率依次为5%、30%、60%、90%、100%、90%。20℃以上水温组福寿螺的开厝率相似(呈全开厝状态),开厝率显著高于20℃以下水温组。5℃水温组福寿螺的开厝率仍可达5%(呈半开厝状态),但显著低于10℃与15℃水温组且针刺后回缩能力差。

2.3 感染度 6组不同水温(5、10、15、20、25和30℃)环境下,螺体幼虫≤50条的螺数依次为0、4、8、1、0与3只;≥50条并≤100条的螺数依次为0、0、3、6、3与7只;≤500条的螺数依次为0、0、0、8、4与7只;≥500条的螺数依次为0、0、0、4、13与3只。显示螺受感染水温高于20℃时,螺体虫负荷较高,25℃感染水温时,螺体幼虫>500条的螺数最多(13只)。

2.4 幼虫的活力 24h后,不同水温组幼虫均存活,5℃~10℃水温组幼虫虽存活但活力欠佳,回暖后活力恢复。幼虫置水温35℃持续24h时,幼虫呈休眠状态,常温片刻后,幼虫恢复活力。当水温>37℃持续24h以上时,大部分幼虫死亡。

2.5 感染率、感染度及开厝率与水温的关系 5℃~20℃水温组,随着水温的升高,螺的感染率、感染度及开厝率呈上升趋势,螺的感染率的变化趋势与曲线方程 $y=1E-05x^4-0.0011x^3+0.0292x^2-0.2362x+0.5833$ 。感染率趋向于0时,幼虫感染福寿螺的最低临界温度值为6.66℃。6组螺的感染度与水温的关系用等级相关系数分析有相关性($r=0.3448$, $P<0.0032$),但相关性不强。

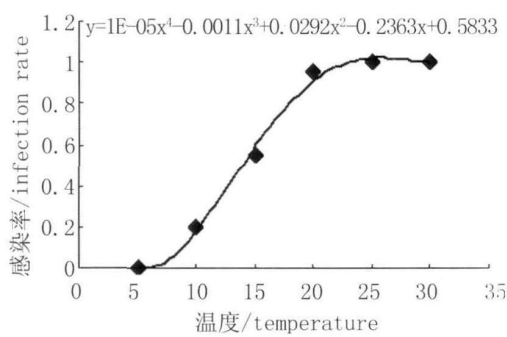


图1 福寿螺感染率与感染水温的关系
Fig. 1 The relationship between snail infections rate and temperature

表1 不同温度广州管圆线虫感染福寿螺的观察

Table 1 The infections rate of snail infected with first stage larva of <i>A. cantonensis</i> under different temperatures							
温度(℃) Temperature	螺数 (只) No. snail	开庖率 Percent with open	感染率 Infections rates(%)	不同虫负荷的螺数(只) No. snail of different worm burden			
				< 50 50< X≤100 100< X≤500 > 500			
5	20	5	0(0/20)	—	—	—	—
10	20	30	20(4/20)	4	—	—	—
15	20	60	55(11/20)	8	3	—	—
20	20	90	95(19/20)	1	6	8	4
25	20	100	100(20/20)	—	3	4	13
30	20	90	100(20/20)	3	7	7	3

本文结果显示: 10~20℃水温下, 螺的感染率随水温的升高呈上升趋势。20~30℃环境下, 螺的感染率均较高, 25~30℃螺体虫负荷较高。结果表明: 20~30℃适宜温度下, 螺呈全开庖状态(暴露)且活泼, 摄人幼虫也多, 故感染率、感染度均高。理论上水温在6.66℃以下, 福寿螺丧失摄入幼虫的能力。当水温高于37℃持续24h以上时, 大部分幼虫失去活力而不能使螺感染, 且高温能抑制螺体幼虫的生长发育(此研究仍进一步观察)。

一般情况下, 25~30℃温度大多集中在夏季与早秋, 理论上, 夏季才会出现小型暴发流行, 根据多起广州管圆线虫病的暴发流行资料分析, 本病流行的季节集中于8~11月, 以秋季居多^[11]。分析原因可能为①虽然广州管圆线虫与螺类的繁殖高峰在春夏季节, 但9~11月仍是其生长繁殖的适宜温度。②根据本虫的生长规律及温度分析, 春季为螺受感染与幼虫繁殖的启(始)动阶段, 幼虫发育成熟还需一定时间, 期间螺仍有不断摄入幼虫的机会。夏季又是螺受感染的最佳时机(温湿度较高且雨量充沛, 螺与幼虫活动量增加)。因此, 夏季螺体内的感染期幼虫数量应该较多, 而秋季螺体幼虫数量应更多, 因其经历了2~3个季节摄食幼虫行为而获得反复感

3 讨论

广州管圆线虫主要分布于热带、亚热带地区, 该病散发或流行于太平洋某些岛屿和东南亚一些国家及我国东南亚沿海环境气候相似的两广、福建、浙江和云南等省^[6, 10]。因此, 气候是发生本病的重要原因之一。研究感染温度对广州管圆线虫感染福寿螺的影响, 为建立广州管圆线虫病流行的预测模型提供重要的参数。

环境温度对广州管圆线虫病的流行影响则是通过中间宿主软体动物来实现的^[3], 环境温度与湿度越适宜, 螺的摄食能力越强, 本病传播强度也越强。

染幼虫机会的缘故。据此推断, 夏季为感染高峰, 是发生本病的危险季节; 秋季则为流行高峰, 是发生本病更危险的季节。

在自然条件下, 气候条件对福寿螺的生存、感染性及广州管圆线虫病的流行影响很大。实验室10℃~15℃虽能感染上螺(感染后置25℃环境), 但在自然条件下(<15℃), 螺摄入幼虫后仍于其温度下生长, 螺体幼虫即停滞生长发育, 因其发育起点温度为15.7℃^[12], 但温度回升后, 仍可启动螺体幼虫的发育^[2], 此对本虫的生活史仍有重要意义。

众所周知, 泰国是一个温暖、湿润的热带国家, 气候温度常年适宜于螺类感染及螺与幼虫的生长, 因此病人大多可发生于各月份^[10]。我国沿海地带一些地区的气候环境相似于泰国, 故应常年警惕本病的发生。06年夏季北京福寿螺事件后, 各界人士对本病的螺宿主虽有了一定的认识, 但对其体内幼虫的发生、生育和生长规律还认识不足, 为防止本病的屡屡发生, 提醒人们: 不论是本病的疫源地还是非疫源地, 任何季节均不吃生与半生螺肉, 在螺的感染高峰季节尤其是夏秋季, 还应注意接触感染, 进一步加强自我防护意识, 以防止本病的发生。

参考文献:

[1]刘和香, 张仪, 吕山, 等. 三种方法检测福寿螺肺囊内广州管圆线虫效果的比较研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25 (1): 53 56.

[2]刘和香, 张仪, 周晓农, 等. 福寿螺休眠期体内广州管圆线虫生长发育及其感染性的观察研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(4): 269 272.

[3]吕山, 周晓农. 全球气候变暖对广州管圆线虫病流行的潜在影响[J]. 国外医学寄生虫病分册, 2005, 32(5): 195 199.

[3]林金祥, 李友松, 朱凯, 等. 长乐市广州管圆线虫集体感染的流行病学研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 21(1): 110 112.

[4]薛大燕, 阮云洲, 林宝楚, 等. 温州市一起广州管圆线虫病暴发流行的调查[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2000, 18(3): 176 177.

[5]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(1): 11 14.

[6]潘长旺, 邢文莺, 梁韶辉, 等. 温州市广州管圆线虫宿主的调查研究[J]. 温州医学院学报, 1998, 28(1): 8 10.

[7]刘和香, 张仪, 周晓农, 等. 不同发育期福寿螺对广州管圆线虫易感性的实验研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23 (5): 262 264.

[8]孙乐平, 周晓农, 洪青标, 等. 全球气候变暖对中国血吸虫病传播影响的研究Ⅲ钉螺感染率与环境温度的关系[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2003, 15(3): 161 163.

[9]林金祥, 周晓农, 李丽莎, 等. 铜锈环棱螺作为广州管圆线虫中间宿主的发现[J]. 中国人兽共患病, 2005, 21(1): 24 26.

[10]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(1): 95 101.

[11]李莉莎, 周晓农, 林金祥, 等. 福建省广州管圆线虫6种新宿主的发现及疫源地的感染率周年变化[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(6): 533 537.

[12]Lv S, Zhou XN, Zhang Y, et al. The effect of temperature on the development of in *Pomacea canaliculata*(Lamarck 1822) [J]. Parasitol Res, 2006, 99(5): 583 587.

收稿日期: 2007 05 22; 修回日期: 2007 06 18

(上接第 922 页)

[10]Guan Y, Shortridge K F, Krauss et al. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: Were they the donors of the internal genes of H5N1 viruses in Hong Kong [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1999, 96: 9363 9367.

[11]Camern K R, Gregory V, Barks J, et al. H9N2 subtype influenza viruses in poultry in Pakistan are closely related to the H9N2 viruses responsible for human infection in Hong Kong [J]. Virology, 2000, 278(1): 36 41.

[12]Mase M, Imada T, Sanada Y, et al. Imported parakeets harbor H9N2 influenza viruses that are genetically closely related to those transmitted to human in Hong Kong [J]. Virol 2001, 75: 3490 3494.

[13]Rohm C, Horimoto T, Kawaoka Y, et al. Do hemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza virus constitute unique phylogenetic lineages [J]. Virology, 1995, 209: 664 670.

[14]Kawaoka Y, Webster R G. Sequence requirements for cleavage activation of influenza virus hemagglutinin expressed in mammalian cells [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1988, 85: 324 328.

[15]卢建红, 刘秀梵, 邵卫星, 等. H9N2 亚型禽流感病毒基因组全长序列测定和各基因的遗传分析[J]. 微生物学报, 2003, 43(4): 434 441.

[16]Weis W, Brwn J H, Cusack S, et al. Structure of the influenza virus hemagglutinin complex with its receptor sialic acid [J]. Nature 1988, 333: 426 431.

[17]Matrosovich M N, Krauss S, Webster R G. H9N2 influenza virus from poultry in Asia have human virus like receptor specificity [J]. Virology, 2001, 281: 156 162.

[18]Lin Y P, Shaw M, Gregory V, et al. Avian to human transmission of H9N2 subtype influenza viruses: Relationship between H9N2 and H5N1 human isolates [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(17): 9654 9658.

[19]Rogers G N, Paulson J C, Daniels R S, et al. Single amino acid substitutions in influenza haemagglutinin change receptor binding specificity [J]. Nature 1983, 304: 76 78.

[20]甘孟侯. 禽流感[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社. 2004: 28 39.

收稿日期: 2006 12 15; 修回日期: 2007 03 15

本刊承接与医药卫生、兽医兽药、医疗器械
有关的产品及生物制品、保健品的广告业务。

联系电话: 0591 - 87552018; 传真: 0591 - 87563582