

文章编号: 1000-7423(2006)-04-0277-04

【论著】

三种淡水螺与广州管圆线虫相容性的实验研究

吕山¹, 张仪¹, 王显红¹, 刘和香¹, 朱丹¹, 殷位刚², 周晓农^{1*}

【摘要】 目的 比较福寿螺、中国圆田螺、铜锈环棱螺等 3 种食用淡水螺与广州管圆线虫的相容性。方法 在相同条件下, 用广州管圆线虫福建株感染 3 种螺, 1、3、6、12 及 24 h 后, 随机抽样各 20 只, 分别饲养于置有滤水器、水温 (24±1) 的玻璃缸内。记录感染 2 周内各组螺死亡数。第 15 天开始解剖, 记录螺软体重量和感染虫数。同时设不感染螺对照组。结果 3 种螺感染后第 1 周死亡数达高峰。感染率和死亡率与螺的种类及感染时间均无相关性。虫负荷与虫密度, 福寿螺感染 6、12 及 24 h 均显著高于感染 1 h 的 (P 值均<0.05); 铜锈环棱螺, 感染 24 h 的均显著高于感染 1、3、6 及 12 h 的 (P 值均<0.05); 中国圆田螺, 感染 1、3、6、12 及 24 h 各组间差异均无显著性 (P 值均>0.05)。福寿螺感染 6、12 及 24 h 的虫负荷均显著高于铜锈环棱螺和中国圆田螺 (P 值均<0.05)。感染 6、12 及 24 h, 福寿螺及铜锈环棱螺虫密度均高于中国圆田螺 (P 值均<0.05)。结论 3 种螺对广州管圆线虫均易感并有较高的相容性, 其中福寿螺的相容性较强。

【关键词】 广州管圆线虫; 福寿螺; 中国圆田螺; 铜锈环棱螺; 相容性

中图分类号: R383.1

文献标识码: A

Experimental Study on Compatibility of Three Species of Freshwater Snails with *Angiostrongylus cantonensis*

LV Shan¹, ZHANG Yi¹, WANG Xian-hong¹, LIU He-xiang¹, ZHU Dan¹,
YIN Wei-gang², ZHOU Xiao-nong^{1*}

(1 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China; 2 Nanjing Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210023, China)

【Abstract】 Objective To compare the compatibility of three species of freshwater snails, *Pomacea canaliculata*, *Cipangopaludina chinensis*, *Bellamya aeruginosa*, with *Angiostrongylus cantonensis*. Methods The snails were infected by the first-stage larvae of *A. cantonensis* under the same conditions. Twenty snails of each species were randomly sampled after exposed to the larvae for 1, 3, 6, 12, 24 hours, respectively. Each group was placed into an aquarium. Each species with same number was established as control. All the aquaria were equipped with a filter, the water temperature was kept at (24±1). In the first two weeks, the number of death was recorded. Later, the snails were successively examined to record the weight and worm burden of each snail. Results Some snails were dead which mainly happened in the first week postinfection. The death rate and infection rate were not associated with exposure time and snail species. Worm burden of *P. canaliculata* was significantly higher than the other two species, however, the worm density of *P. canaliculata* and *B. aeruginosa* was not significantly different but higher than that of *C. chinensis*. The worm burden and worm density of *P. canaliculata* and *B. aeruginosa*, respectively, were significantly different among five exposure-time groups, but that of *C. chinensis* was not. Conclusion All the three snail species show a high compatibility with *A. cantonensis*. In general, the compatibility of *P. canaliculata* is superior to the other two species.

【Key words】 *Angiostrongylus cantonensis*; *Pomacea canaliculata*; *Bellamya aeruginosa*; *Cipangopaludina chinensis*; Compatibility

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

* Corresponding author, E-mail: ipdzhouxn@sh163.net

基金项目: 国家“十五”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, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 上海 200025; 2 南京市疾病预防控制中心, 南京 210023

* 通讯作者, E-mail: ipdzhouxn@sh163.net

随着气候变暖和气象异常事件的频繁发生, 专家预测螺类传播媒介的生存范围可能扩大, 这对寄生虫病的发生、发展有重要影响^[1]。自 1986 年福寿螺 (*Pomacea canaliculata*) 首次被证明是广州管圆线虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) 的适宜中间宿主以后,

日本、台湾地区、中国大陆等地相继发现了自然感染的福寿螺^[2-5], 并成为中国大陆广州管圆线虫病传播中最为重要的中间宿主之一^[6]。但是, 广州管圆线虫的中间宿主多达 50 余种, 国内市场上常见的铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*)、中国圆田螺(*Cipangopaludina chinensis*)等食用淡水螺也被证明可以自然感染广州管圆线虫^[7,8]。为了掌握这些食用淡水螺的潜在传播危险性, 作者对 3 种食用淡水螺与广州管圆线虫的相容性进行了实验研究。

材料与方法

1 广州管圆线虫 期幼虫

自然感染广州管圆线虫的福寿螺, 于 2005 年 5 月采自福建省连江县流行区。将其压碎、去壳、组织匀浆后, 按照文献^[9]的消化法, 置于人工消化液(0.2% 胃蛋白酶, 0.7% HCl)中 37 ℃ 2 h, 解剖镜下分离广州管圆线虫 期幼虫。取 80 条活跃幼虫灌胃感染 SD 大鼠, 6 周后, 每隔 12 h 收集 1 次 24 h 内的粪便, 将所有粪便浸泡在去氯水中, 过滤、淘洗 5~6 次, 每次静置 15~30 min 后倾除上清液, 用去氯水稀释沉渣, 配制 期幼虫混悬液, 备用。

2 中间宿主 3 种食用淡水螺

福寿螺, 于 2005 年 7 月采自四川省井研县养殖场, 体重为(10.7±2.8)g。中国圆田螺及铜锈环棱螺, 均于 2005 年 7 月采自上海市南汇区河中, 体重分别为(15.1±2.4)g 及(2.7±0.3)g。3 种螺分别抽样检查 10%, 均未感染广州管圆线虫。

3 感染螺

3.1 方法 将 3 种螺分别置于有充气泵和滤水器的恒温(24±1)℃ 玻璃缸(59 cm×55 cm×33 cm)中饲养 1 周, 待其生存状态稳定后进行感染。将过滤、淘洗后的广州管圆线虫 期幼虫混悬液搅匀, 分成 2 份, 每份含 期幼虫约 150 000 条, 分别倒入 2 个感染缸内, 加水至深 1 cm。随机取 3 种螺各 50 只, 混匀, 随机放入 2 个感染缸内使其感染。分别于感染后 1、3、6、12 及 24 h 从 2 个感染缸中随机取 3 种螺各 20 只, 清水洗净。另外取未感染的 3 种螺各 20 只作为阴性对照。

3.2 饲养 取感染后不同时间的 3 种螺各 20 只常规饲养在带充气泵和滤水器的玻璃缸中。统计 2 周内死亡情况。

3.3 解剖 感染螺饲养 2 周后解剖, 在解剖镜(Nikon,

日本)及显微镜(Nikon, 日本)下检查螺体感染情况。将螺压碎、去壳、称重, 剪碎软体, 置绞碎机进一步粉碎, 然后倒入量杯, 加入人工消化液(按“2 g 胃蛋白酶/1 000 ml 及 0.7% HCl”配制)于 37 ℃ 消化 2 h。检查福寿螺体内幼虫, 采用混匀抽样方法, 抽样比例为 10%。中国圆田螺和铜锈环棱螺则检查全部沉渣。均在解剖镜下进行。

4 观察指标

包括实验螺数、已感染螺数、死亡螺数、检出幼虫数、各螺的重量等。统计死亡率、感染率、感染度和虫密度。

死亡率=死亡螺数/实验感染螺总数;

感染率=被感染螺数/实验感染螺总数;

感染度即为虫负荷, 是每一螺体内幼虫的绝对数量;

虫密度=虫负荷/螺重量。

5 统计与分析

采用 SPSS11.0 软件统计分析螺死亡率、感染度、感染率。用 logistic 回归分析死亡率、感染率与螺的种类及感染时间的相关性。用直方图(中位数、四分位数、最大值、最小值)描述 3 种螺的虫负荷与虫密度随感染时间的变化。用 Kruskal-Wallis 法检验同种螺的虫负荷和虫密度与感染时间的关系, 检验相同感染时间组 3 种螺的虫负荷和虫密度的差异。如差异显著, 则进一步对各观察值取秩次, 并通过方差分析法进行两两比较。

结 果

1 3 种螺死亡情况

感染后 2 周内 3 种螺的死亡数相似, 福寿螺占 32%(8/25)、中国圆田螺占 36%(9/25)、铜锈环棱螺占 32%(8/25)。死亡高峰为感染第 1 周, 占总死亡数的 88%(22/25)。第 11、12、13、14 天无死亡。通过 logistic 回归分析结果表明, 死亡率与螺的种类及感染时间无相关性(表 1)。

2 感染率

² 检验结果显示, 感染 24 h, 福寿螺和铜锈环棱螺的感染率显著高于中国圆田螺($\chi^2=7.348$, $P<0.05$), 其他各感染组感染率差异均无显著性($P>0.05$)。3 种螺的感染率随感染时间的延长均无显著性变化($P>0.05$), 均维持在较高的水平(表 1)。Logistic 回归分析表明感染率与螺的种类及感染时间无相关性。

表 1 3 种螺不同感染时间的死亡率和感染率
Table 1 The death rate and infection rate of each species of snails

分 组 Group	感染时间 Exposure time (h)	福寿螺 <i>P.canaliculata</i>		中国圆田螺 <i>C. chinensis</i>		铜锈环棱螺 <i>B.aeruginosa</i>	
		死亡率 Death rate (%)	感染率 Infection rate (%)	死亡率 Death rate (%)	感染率 Infection rate (%)	死亡率 Death rate (%)	感染率 Infection rate (%)
感染组 Infection group	1	5.0(1/20)	61.1(11/18)	5.0(1/20)	61.1(11/18)	5.0(1/20)	70.6(12/17)
	3	10.0(2/20)	70.6(12/17)	10.0(2/20)	68.8(11/16)	0(0/20)	66.7(12/18)
	6	10.0(2/20)	83.3(15/18)	5.0(1/20)	66.7(12/18)	5.0(1/20)	78.9(15/19)
	12	10.0(2/20)	88.2(15/17)	15.0(3/20)	68.8(11/16)	15.0(3/20)	80.0(12/15)
	24	0(0/20)	95.0(19/20)	10.0(2/20)	66.7(12/18)	15.0(3/20)	93.8(15/16)
对照组 Control group	0	0(0/20)		5.0(1/20)		10.0(2/20)	

3 感染度

3.1 虫负荷 福寿螺的虫负荷在不同感染时间组, 差异具有显著性($P<0.05$)。6、12、24 h 组显著高于 1 h 组, 其他各组之间差异不显著。铜锈环棱螺不同感染时间组, 24 h 组显著高于其他各组($P<0.05$)。中国圆田螺不同感染时间组, 差异无显著性($P>0.05$)。

相同感染时间的 3 种螺比较显示, 1、3 h 感染组, 虫负荷差异无显著性($P>0.05$), 而 6、12、24 h 感染组虫负荷, 福寿螺显著高于其他 2 种螺 ($P<0.05$) (图 1)。

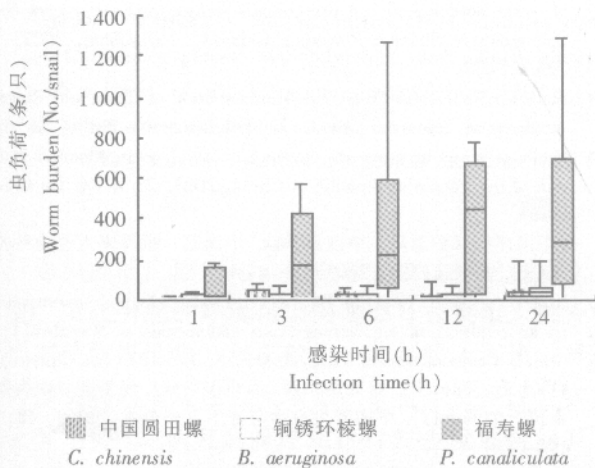


图 1 3 种螺的虫负荷比较
Fig.1 Comparison on worm burden among three species of snails

3.2 虫密度 福寿螺的虫密度, 感染 6、12、24 h 组显著高于 1 h 组 ($P<0.05$)。铜锈环棱螺虫密度, 感染 24 h 组高于其他各组 ($P<0.05$)。中国圆田螺的虫密度在不同感染时间组差异无显著性 ($P>0.05$)。相同感染时间的 3 种螺, 1 h 组铜锈环棱螺的虫密度高于中国圆田螺, 而福寿螺的虫密度与二者差异均无显著性。感染 3 h 组, 3 种螺的虫密度差异不显著 ($P>0.05$)。其他不同感染时间组内, 均是福寿螺和铜锈

环棱螺的虫密度高于中国圆田螺($P<0.05$), 而福寿螺和铜锈环棱螺的虫密度差异无显著性($P>0.05$) (图 2)。

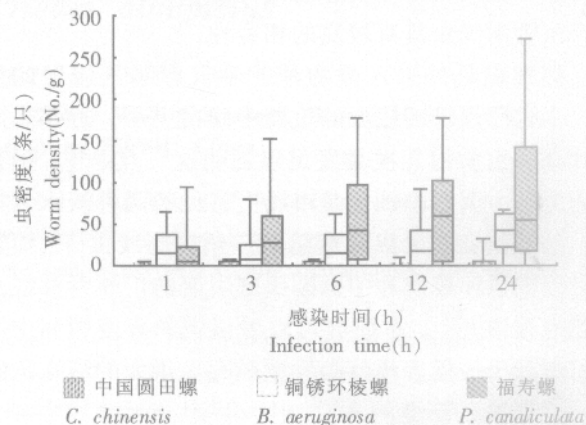


图 2 3 种螺的虫密度比较
Fig.2 Comparison on worm density among three species of snails

讨 论

寄生虫的感染性和毒性与宿主的抵抗力都是寄生关系的直接表现, 但它们之间常有品系的差异。应用相容性可以更好地表达寄生虫和宿主之间的相互关系^[10]。相容性包括寄生虫对宿主的识别、穿透及在宿主体内的发育^[10]。评价其相容性的指标有: 感染致死率、感染率、感染度、发育历期等^[11,12]。

实验结果表明, 3 种螺感染广州管圆线虫后, 死亡率与感染相关, 但与螺的种类及感染时间无相关性。感染螺的死亡主要集中在感染后 1 周内, 可能与广州管圆线虫幼虫的侵入与移行有关。螺的感染率与种类及感染时间也无相关性, 3 种螺均处于较高水平, 均易感。

螺的虫负荷、虫密度, 存在较大的变异。其异常点与感染时间无关, 表明在螺的群体中存在少数超易感的个体, 在很短的感染时间内即可达到较大的虫负荷或虫密度。由于虫负荷和虫密度的个体差异不呈正

态分布,不能用算术均数统计描述。故本研究采用了直方图描述 3 种螺的虫负荷与虫密度的变化。

虫负荷常被用于评价感染度^[13,14]。本研究中的 3 种螺体重差异较大,若单用虫负荷来衡量与各种螺的相容性可能会掩盖其真实性,故作者采用了虫密度这一指标,从而解决了由于螺体重差异较大所带来的偏差。用虫负荷进行统计分析显示,福寿螺的感染度显著高于其他两种螺;而用虫密度进行统计分析则表明,铜锈环棱螺的感染度与福寿螺差异无显著性,两者的感染度明显高于中国圆田螺。这一结果提示,铜锈环棱螺作为广州管圆线虫的中间宿主应当受到重视。在对 3 种螺的感染度(虫负荷与虫密度)分析时发现,福寿螺和铜锈环棱螺的虫负荷和虫密度与感染时间相关,而中国圆田螺的虫负荷和虫密度与感染时间无关。表明铜锈环棱螺与福寿螺相似,反映了二者与广州管圆线虫具有较高的相容性。

福寿螺是外来入侵物种,不仅影响入侵地的生态,也是广州管圆线虫的重要中间宿主^[15]。近年来广州管圆线虫病的几次暴发足以证明这一点^[16,17]。铜锈环棱螺和中国圆田螺也是市场上常见的两种淡水食用螺,已经被证实可以自然感染广州管圆线虫^[7,8],而且因食用铜锈环棱螺和中国圆田螺引起的广州管圆线虫病已有报道^[18,19]。本研究可以看出铜锈环棱螺和中国圆田螺对于传播广州管圆线虫病存在很大的潜在危害性,应当提高警惕。

致谢 感谢福建省疾病预防控制中心林金祥主任医师、李莉莎副主任医师及其他同行对本项研究的支持和帮助。

参 考 文 献

- [1] McCarthy JJ, Canziani OF, Leary NA, et al. Climate change 2001: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of working group II to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change (IPCC)[M]. Cambridge University Press, UK, 2001.
- [2] Nishimura K, Mogi M, Okazawa T, et al. Angiostrongylus cantonensis infection in Ampullarius canaliculatus (Lamarck) in Kyushu, Japan[J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 1986, 17: 595-600.
- [3] Yen CM, Chen ER, Cheng CW. A survey of Ampullarium canaliculatus for natural infection of Angiostrongylus cantonensis in south Taiwan[J]. J Trop Med Hyg, 1990, 93: 347-350.
- [4] Pan CW, Xing WL, Liang SH, et al. Discovery of Angiostrongylus cantonensis from Pomacea canaliculata for the first time[J]. Chin J Parasit Dis Control, 1998, 11: 78. (in Chinese)
(潘长旺, 邢文鸾, 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] Yang FZ, Zhang YZ, Huang XH, et al. A Study on Angiostrongylus cantonensis in Fujian[J]. Strait J Prev Med, 2001, 7: 11-14. (in Chinese)
(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.)
- [6] Yan L. Angiostrongyliasis in China[J]. J Clin Exp Med, 2003, 2: 5-7. (in Chinese)
(严笠. 国内广州管圆线虫病[J]. 临床和实验医学杂志, 2003, 2: 5-7.)
- [7] Lin JX, Zhou XN, Li LS, et al. Bellamya aeruginosa acts as the intermediate host for Angiostrongylus cantonensis[J]. Chin J Zoonoses, 2005, 21: 21-26. (in Chinese)
(林金祥, 周晓农, 李莉莎, 等. 铜锈环棱螺(Bellamya aeruginosa)作为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: 21-26.)
- [8] Chang PK, Cross JH, Chen SS. Aquatic snails as intermediate hosts for Angiostrongylus cantonensis on Taiwan[J]. J Parasitol, 1968, 54: 182-183.
- [9] Ishii AI. Effects of temperature on the larval development of Angiostrongylus cantonensis in the intermediate host, Biomphalaria glabrata[J]. Z Parasitenkd, 1984, 70: 375-379.
- [10] Webster JP, Davies CM. Coevolution and compatibility in the snail-schistosome system[J]. Parasitology, 2001, 123: S41-S56.
- [11] Webster BL, Southgate VR. Compatibility of Schistosoma haematobium, S. intercalatum and their hybrids with Bulinus truncatus and B. forskalii[J]. Parasitology, 2003, 127: 231-212.
- [12] He YX, Guo YH, Ni CH, et al. Studies on the strain differences of Schistosoma japonicum in the mainland of China. Compatibility between schistosomes and their snail hosts[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 1990, 8: 92-95. (in Chinese)
(何毅勋, 郭源华, 倪传华, 等. 中国大陆日本血吸虫品系的研究. 幼虫-钉螺的相容性[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1990, 8: 92-95.)
- [13] Steel C, Ottesen EA, Weller PF, et al. Worm burden and host responsiveness in Wuchereria bancrofti infection: use of antigen detection to refine earlier assessment from the South Pacific[J]. Am J Trop Med Hyg, 2001, 65: 498-503.
- [14] Hubbard A, Liang S, Maszle D, et al. Estimating the distribution of worm burden and egg excretion of Schistosoma japonicum by risk group in Sichuan Province, China[J]. Parasitology, 2002, 125:221-231.
- [15] State Environmental Protection Administration of China and Chinese Academy of Sciences. Circular on publishing the list of the first batch of alien invasive species in China[R]. State Council Bulletin of the People's Republic of China, 2003, 23: 41-46. (in Chinese)
(中国环境保护总局, 中国科学院. 中国第一批外来入侵物种名单[R]. 国务院公报, 2003, 23: 41-46.)
- [16] Xue DY, Ruan YZ, Lin BC, et al. Epidemiological investigation on an outbreak of angiostrongyliasis cantonensis in Wenzhou[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2000, 18: 176-177. (in Chinese)
(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: 176-177.)
- [17] Lin JX, Li YS, Zu K, et al. Epidemiological study on group infection of Angiostrongylus cantonensis in Changle City[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2002, 21: 110-112. (in Chinese)
(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, 2003, 21: 110-112.)
- [18] Chen ER. Current status of food-borne parasitic zoonoses in Taiwan[J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 1991, 22(Suppl): 62-64.
- [19] Zhang RY, Li LS, Lin CX, et al. Report of two angiostrongyliasis cases[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2005, 23: 456. (in Chinese)
(张榕燕, 李莉莎, 林陈鑫, 等. 广州管圆线虫病两例报告[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23: 456.)

(收稿日期: 2006-03-16 编辑: 富秀兰)