

舟山渔场主要食用经济鱼类异尖线虫感染及其理化耐受特性研究

王建跃 张均和 林启 张乾通 何伟贤 李科峰 徐徐

【摘要】 目的 了解舟山渔场海鱼异尖线虫三期幼虫感染情况及理化特性。方法 解剖鱼体,分离体内异尖线虫幼虫,镜下鉴定虫种;观察异尖线虫三期幼虫在不同的介质、抗蠕虫药、温度下的生存耐受情况。结果 海鱼异尖线虫总感染率为49.10%(218/444),感染率较高的鱼种有带鱼、鲈鱼、鲢鱼、白姑鱼和海鳗等(感染率均>90%),218条海鱼体内共检出异尖线虫3314条,平均强度为每条鱼感染异尖线虫15.20条。异尖线虫三期幼虫对常用的调味品有较强的耐受力,高度白酒杀虫效果优于低度白酒;低浓度复方甲苯咪唑(6.25 g/L)杀虫效果优于高浓度复方甲苯咪唑(12.50、18.75 g/L),也优于其他药物;异尖线虫三期幼虫对低温有较强的耐受力,在-20℃、-10℃时分别可存活9 h、12 h;对高温非常敏感,50℃、60℃时分别在11 s内及1 s内死亡。结论 舟山渔场海鱼异尖线虫三期幼虫感染率较高。海鱼进入市场前在-20℃冰冻24 h、高温烹饪可有效预防和控制异尖线虫感染。

【关键词】 海鱼;异尖线虫;感染;耐受

Infection and physico-chemical characteristics of *Anisakis* among marine fish caught in Zhoushan Fishery WANG Jian-yue, ZHANG Jun-he, LIN Qi, ZHANG Qian-tong, HE Wei-xian, LI Ke-feng, XU Xu. Zhoushan Center for Disease Control and Prevention, Zhoushan 316021, China

Corresponding author: WANG Jian-yue, Email: xwyu0716@163.com

This work was supported by grants from the Key Medical Disciplines Construction of Zhejiang Province, China (No. 07-F11), Medical Scientific Research Foundation of Zhejiang Province (No. 2007B239) and Science and Technology Planning Project of Zhoushan (No. 07556).

【Abstract】 Objective To study the rates of infection and physicochemical characteristics of the third stage *Anisakis simplex* larvae among marine fish caught in Zhoushan Fishery. **Methods** Fish were dissected to detect *Anisakis* larvae and identified morphologically. The survival tolerance of the third stage *Anisakis simplex* larvae in various medium, anthelmintic drug, temperature were studied in laboratory. **Results** The total infection rate of *Anisakis simplex* larvae in fish was 49.10%. High rates of *Anisakis* infection were observed in hairtails, *Pneumatophorus japonicus*, *Miichthys miiuy*, *Argyrosomus argentatus* and *Muraenesox cinereus* (infection rates >90 percent). The infection intensity of *Anisakis* per fish varied from 1 to 114. The mean intensity of *Anisakis* larvae was 15.20 per fish. 3314 *Anisakis* were detected in 218 marine fish. The survival tolerance of the third stage *Anisakis simplex* larvae in various Medium, anthelmintic drug, temperature were observed in laboratory condition. The third stage *Anisakis simplex* larvae showed a strong endurance to stock condiment. The anisakicidal effects of the high purity wine were more effective than that of the low purity wine. The anisakicidal effects of 6.25 g/L mebendazole composite were more effective than that of 18.75 g/L and also more effective than those of other drugs. The third stage *Anisakis simplex* larvae could survive with length up to 9 h and 12 h in condition of -20℃, -10℃ and very sensitive to high temperature treatment. However, they could barely survive in more than 11 s and 1 s under the temperature of 50℃ and 60℃. **Conclusion** The percentage of infection was fairly high for *Anisakis* larvae of marine fish caught in Zhoushan Fishery. The third stage *Anisakis simplex* larvae was shown to have a fairly good tolerance to the external environments. The marine fish were frozen under -20℃ beyond 24 h before they were sold on market and cooked with high temperature seemed to be helpful for preventing and controlling effectively the infection of *Anisakis*.

【Key words】 Marine fish; *Anisakis* larvae; Infection; Tolerance

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.09.010

基金项目:浙江省医学重点学科资助项目(07-F11);浙江省医药卫生科学研究基金(2007B239);舟山市科技局资助项目(07556)

作者单位:316021 浙江省舟山市疾病预防控制中心

通信作者:王建跃, Email: xwyu0716@163.com

异尖线虫病最早于1960年由荷兰的 van Thiel 和 Kuipers^[1]报道,此后日本、韩国、法国等国家报道了大量异尖线虫病病例,中国异尖线虫病感染的报告较少。舟山市位于浙江省东北地区,拥有全国最大的渔场,鱼类资源有300余种,其中具有捕捞价值的有50余种,当地许多居民和游客习惯生食、半生食海鲜。本研究于2007—2009年对舟山渔场食用海鱼异尖线虫寄生情况进行调查。

材料与方 法

1. 海鱼来源:随机选择舟山市水产品交易市场(沈家门)、定海南珍菜市场、普陀东河菜市场和长峙海产品养殖场4家海鲜交易市场作为本次调查点。于2007年11月至2008年12月间每月采集东海捕获的新鲜海产品1次。由舟山市水产养殖防治所专家在采集点做海产品现场初鉴,最终确认参照文献[2]。

2. 鱼体解剖和虫体制作:将海鱼洗净、编号、称重、测量体长后进行解剖,检查其胃肠道、腹腔、内脏表面及肌肉有无异尖线虫虫体或囊包存在,并利用解剖镜进行细致观察。取出虫体或囊包置于生理盐水中洗净,将虫体从囊包内分离出来,用70%乙醇固定,置载玻片上滴加数滴含有10%甘油的乙醇溶液,做透明处理。盖上盖玻片置显微镜下观察。

3. 虫种鉴定:参照文献[3,4]鉴定异尖线虫三期幼虫。

4. 理化耐受试验:

(1) 介质种类:①常用调味品:酱油为舟山裕大酿造有限公司产品,90 ml/L 米醋为宁波佐餐王调味食品有限公司产品,380 ml/L 白酒为上海成广酒业有限公司产品,560 ml/L 白酒为北京红星股份有限公司产品。②人工胃液配制:取稀盐酸16.4 ml,加水约800 ml与胃蛋白酶10 g,摇匀后,加水稀释成1000 ml。③抗蠕虫药:阿苯达唑(中美天津史克制药有限公司,批号:国药准字H12020496)400 mg,甲苯咪唑(西安杨森制药有限公司,批号:国药准字H61022951)100 mg,复方甲苯咪唑(广东环球制药有限公司,批号:国药准字H20043441)125、250、375 mg,分别溶于20 ml蒸馏水中。

(2) 观察条件:异尖线虫三期幼虫经海鱼分离后,选取10条活泼完整的幼虫,用含100 U/ml青霉素和100 mg/L链霉素的生理盐水洗涤3次,分别置于盛有不同介质溶液的平皿中,每天换1次介质,室温观察。

(3) 不同温度下的生存情况:选取感染率高的2种海鱼于-20、-10、-5℃冷藏保存,取出异尖线虫三期幼虫各10条置生理盐水中,分别于2~8、37、50及60℃培养观察,定时观察并记录虫体状态及存活时间。

(4) 存活判定:定时观察虫体,若静止,在显微镜下给予轻微刺激后连续观察5 min,不运动者再进行轻微加热,仍无运动则视为死虫。

5. 统计学分析:调查和检测数据录入Excel,应用描述性流行病学方法对所获资料进行统计分析,采用SPSS 13.0软件进行统计分析。

结 果

1. 异尖线虫幼虫感染情况:共解剖海鱼29种444条,共发现21种218条有异尖线虫感染,海鱼总感染率为49.10%,感染率高的鱼种有带鱼、鲈鱼、鲢鱼、白姑鱼和海鳗等(感染率均>90%),而鲱鱼、乌贼等8种均未检出。在感染的218条海鱼体内共检出异尖线虫幼虫3314条(表1)。

表1 舟山渔场东海海产品异尖线虫幼虫感染情况

海产品种类	检查鱼条数	感染鱼条数	异尖线虫条数
带鱼	28	28(100.00)	724
鲈鱼	24	24(100.00)	1053
鲢鱼	6	6(100.00)	43
白姑鱼	23	22(95.65)	521
海鳗	22	20(90.91)	418
黄鲛鲷	8	6(75.00)	52
鲟鱼	15	11(73.33)	51
真鲷	16	11(68.75)	28
小黄鱼	25	17(68.00)	196
海鲂	17	11(64.71)	58
蓝点马鲛	10	6(60.00)	36
龙头鱼	32	19(59.38)	43
黄姑鱼	20	11(55.00)	27
黑鳃梅童鱼	25	12(48.00)	39
刀鲚	12	4(33.33)	7
银鲱	11	2(18.18)	3
大黄鱼	6	1(16.67)	2
黑鲷	22	3(13.64)	7
绿鳍马面鲀	15	2(13.33)	4
鳓鱼	8	1(12.50)	1
宽体舌鳎	16	1(6.25)	1
鲱鱼	11	0	0
孔鳐	6	0	0
云纹石斑鱼	14	0	0
鲻鱼	8	0	0
乌贼	12	0	0
鱿鱼	12	0	0
赤魴	4	0	0
弹涂鱼	16	0	0
合计	444	218(49.10)	3314

注:括号外数据为感染鱼数,括号内数据为感染率(%)

2. 异尖线虫幼虫感染强度:21 种 218 条海鱼中共检出异尖线虫三期幼虫 3314 条,总感染强度为 1~114 条,平均强度为每条鱼感染异尖线虫 15.28 条,感染强度大的鱼种有鲈鱼(平均感染强度为 43.9)、带鱼(25.9)、白姑鱼(23.7)、海鳗(20.9)等,异尖线虫三期幼虫寄生最多的为 1 条鲈鱼(重 382 g、长 38 cm),达 114 条(表 2)。

表 2 舟山渔场海鱼异尖线虫幼虫感染强度

鱼种	海鱼			异尖线虫感染		
	条数	体重(g)	体长(cm)	条数	强度	平均强度
鲈鱼	24	160~382(279)	24~38(28.8)	1053	2~114	43.9
带鱼	28	318~1534(762)	56~132(84.3)	724	9~84	25.9
白姑鱼	22	116~253(186)	17~27(22.8)	521	5~68	23.7
海鳗	20	400~2045(1406)	69~138(93.6)	418	2~55	20.9
小黄鱼	17	102~221(164)	12~25(19.7)	196	2~46	11.5
黄鲛鲷	6	486~1215(746)	24~37(30.6)	52	3~18	8.7
鳓鱼	6	1221~3608(1954)	24~60(34.3)	43	1~15	7.2
蓝点马鲛	6	500~1055(842)	37~51(42.4)	36	1~13	6.0
海鲂	11	168~340(246)	25~34(28.5)	58	1~13	5.3
鲈鱼	11	420~782(579)	35~39(37.2)	51	1~9	4.6
黑梅鳢	12	26~65(43)	10~16(14.3)	39	1~11	3.3
真鲷	11	410~698(552)	20~26(22.4)	28	1~7	2.5
黄姑鱼	11	121~240(182)	18~26(23.4)	27	1~7	2.5
龙头鱼	19	70~136(102)	21~31(24.6)	43	1~8	2.3
黑鲷	3	390~710(528)	19~27(23.1)	7	1~3	2.3
大黄鱼	1	412~710(574)	30~42(37.2)	2	2	2.0
绿鳍马面鲀	2	250~415(361)	17~22(18.8)	4	2	2.0
刀鲚	4	22~40(34)	21~34(27.9)	7	1~3	1.8
银鲳	2	140~456(315)	12~19(16.7)	3	1~2	1.5
鳓鱼	1	347~450(407)	33~38(35.6)	1	1	1.0
宽体舌鳎	1	550~1206(814)	28~39(33.8)	1	1	1.0

注:括号内数据为 \bar{x}

3. 海鱼体重和体长与异尖线虫感染关系:从总体样本中抽取代表性强的带鱼、白姑鱼、海鳗和小黄鱼,以前 2 种鱼的体重和后 2 种鱼的体长与其异尖线虫幼虫平均感染强度进行 Pearson 相关分析。结果显示,海鱼体重和体长与异尖线虫幼虫感染差异无统计学意义($r_1=0.038, P_1=0.962; r_2=0.552, P_2=0.448; r_3=0.565, P_3=0.435; r_4=0.317, P_4=0.683$)。

4. 异尖线虫幼虫在鱼体内寄生分布情况:从总体样本中抽取代表性强的带鱼、鲈鱼、白姑鱼和小黄鱼,观察异尖线虫幼虫在上述 4 种鱼体内寄生分布情况。该幼虫的寄生部位主要是肠系膜和胃壁,其次是肝脏、体腔和生殖腺,脂肪块、气鳔和腹肌少有分布(表 3)。

5. 异尖线虫幼虫的理化耐受特性:

(1) 异尖线虫三期幼虫在不同介质中耐受力观

察:异尖线虫三期幼虫在酱油和米醋中平均存活 9.8 h 和 90.4 h,在 380 ml/L 和 560 ml/L 白酒中可存活 127.1 min 和 42.6 min($P<0.05$);三期幼虫在人工胃液(37 °C)中比较活泼,虫体活动频繁,均能存活 9 d 以上,平均存活 10.4 d(表 4)。

表 3 异尖线虫幼虫在鱼体内寄生分布

部位	带鱼(n=28)	鲈鱼(n=24)	白姑鱼(n=22)	小黄鱼(n=17)
肠系膜	338(46.7)	602(57.1)	319(61.3)	43(21.9)
胃壁	126(17.4)	284(27.0)	144(27.6)	128(65.4)
肝脏	19(2.6)	8(0.8)	12(2.3)	1(0.5)
体腔	157(21.7)	84(8.0)	20(3.8)	13(6.6)
生殖腺	78(10.8)	71(6.7)	20(3.8)	8(4.1)
脂肪块	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)
气鳔	1(0.1)	0(0)	2(0.4)	0(0)
腹肌	5(0.7)	4(0.4)	4(0.8)	0(0)
合计	724	1053	521	196

注:括号外数据为感染条数,括号内数据为构成比(%)

表 4 异尖线虫三期幼虫在不同介质中耐受力观察

介质	浓度(ml/L)	存活时间($\bar{x} \pm s$)	CV(%)
酱油	-	6~13(9.8±2.53) h	25.82
米醋	90	67~112(90.4±14.93) h	16.52
白酒	380	47~234(127.1±63.40) min	49.88
	560	22~67(42.6±14.77) min	34.67
人工胃液	-	9~12(10.4±0.97) d	9.33

(2) 抗蠕虫药的杀虫效果:异尖线虫三期幼虫在 6.25、12.50 和 18.75 g/L 复方甲苯咪唑中存活时间分别为 28.1、98.2、113.6 h,其中 6.25 g/L 的杀虫效果明显优于其他 2 种浓度($F=45.198, P<0.01$),在 20 g/L 阿苯达唑和 5 g/L 甲苯咪唑中存活时间分别为 65.8 h 和 94.2 h,较 6.25 g/L 复方甲苯咪唑中存活时间长($F=17.393, P<0.01$)(表 5)。

表 5 抗蠕虫药对异尖线虫三期幼虫的杀虫效果

药物浓度(g/L)	存活时间(h, $\bar{x} \pm s$)	CV(%)	
复方甲苯咪唑	6.25	20~35(28.1±4.95)	17.62
	12.50	67~151(98.2±25.69)	26.16
	18.75	78~153(113.6±26.35)	23.20
阿苯达唑	20.00	44~97(65.8±17.03)	28.71
甲苯咪唑	5.00	58~157(94.2±39.77)	42.21

(3) 异尖线虫三期幼虫在不同温度中耐受力观察:异尖线虫三期幼虫在-20 °C 9 h、-10 °C 12 h 冰冻后均被冻死,-5 °C 3~4 d 有些幼虫解冻后仍能存活,所有幼虫在冰冻 7 d 后均被冻死;2~8 °C 是三期幼虫比较适宜休眠的温度,虫体静止不动,卷曲成团,直至 7 个月后全部死亡;37 °C 生理盐水中培养的幼虫非常活泼,虫体快速扭动,均能存活 7 d 以上;50 °C 时只存活 8.4 s,60 °C 时 1 s 内虫体全部死亡(表 6)。

表 6 异尖线虫三期幼虫在不同温度中耐受力观察

温度(℃)	存活时间($\bar{x} \pm s$)	CV(%)
-20	4 ~ 9(6.5 ± 1.91) h	23.93
-10	7 ~ 12(9.5 ± 1.58) h	16.63
-5	3 ~ 7(4.9 ± 1.20) d	24.43
2 ~ 8	2 ~ 7(4.6 ± 2.01) d	31.24
37	7 ~ 11(9.0 ± 1.15) d	12.83
50	6 ~ 11(8.4 ± 1.51) s	17.92
60	< 1 s	-

讨 论

异尖线虫幼虫的适应性很强, 现已发现 249 种海鱼和头足类动物感染^[5], 我国北部湾、东海、黄海、渤海、辽河、图们江及黑龙江的鱼类共有 151 种感染, 感染率均很高^[6-8]。以舟山渔场为主的东海鱼类异尖线虫幼虫感染率也较高, 感染总检出率高达 49.10%(218/444)。带鱼、鲈鱼、鳊鱼、白姑鱼、海鳗、黄鲛、鲑鱼、真鲷、小黄鱼、海鲂、蓝点马鲛、龙头鱼、黄姑鱼、黑鳃梅童鱼等百姓餐桌上常见的食用鱼种异尖线虫幼虫感染率高达 48% ~ 100%。带鱼和白姑鱼也发现异尖线虫感染。鳊鱼、海鲂、黄姑鱼和绿鳍马面鲀这 4 种海鱼感染异尖线虫幼虫, 在我国东海区域尚属首次报道。本研究结果显示鲱鱼、孔鳕、云纹石斑鱼、鲑鱼、乌贼、鱿鱼、赤魃、弹涂鱼 8 种鱼体内没有异尖线虫幼虫的感染, 而孙世正、马宏伟等的调查显示这几种鱼类存在异尖线虫幼虫感染, 可能与鱼类的食物链、调查季节、时间跨度、调查地点和剖检数量不同等有关。

在 21 种带虫海鱼中, 有些鱼种的异尖线虫感染率和感染强度均较高, 如鲈鱼(100%, 43.9)、带鱼(100%, 25.9)、白姑鱼(95.65%, 23.7)、海鳗(90.91%, 20.9)等, 有些鱼种则感染率高而感染强度不大, 如鳊鱼(100%, 7.2)、鲑鱼(73.33, 4.6)、真鲷(68.75, 2.5)等。但总体结果显示感染率与感染强度成正比。从带鱼、白姑鱼、海鳗和小黄鱼 4 种鱼种的体重和体长与其感染异尖线虫幼虫的强度做相关分析, 结果显示异尖线虫幼虫寄生的多少与海鱼鱼体的轻重和长短无关, 这与马宏伟等^[5]的报道并不相符。

异尖线虫幼虫在海鱼体内的寄生部位主要是肠系膜和胃壁, 其次是肝脏、体腔和生殖腺, 值得注意的是在带鱼、鲈鱼、白姑鱼腹部肌肉中发现了异尖线虫幼虫, 由于沿海居民有可能摄食生的或不熟的鱼片, 因而在流行病学上具有重要意义。

异尖线虫幼虫对各种理化因素的耐受力均较强, 胃酸能增强虫体活动性, 对酒精(乙醇)、盐、放射

线等有一定耐受力, 但对温度的耐受性很弱。低浓度复方甲苯咪唑杀虫效果优于高浓度复方甲苯咪唑, 可能与药物理化性质有关, 低浓度时进入虫体内的药物反而多于高浓度, 而甲苯咪唑的单方与复方效果不同的原因可能与药物的晶型有关, 与马宏伟等^[9]报道相符。本研究提示异尖线虫幼虫对低温有较强的耐受力, 海鱼在 -5℃ 冷冻 3 ~ 4 d 后解冻, 其中有些幼虫仍能存活, 只有在 -20℃ 9 h、-10℃ 12 h 冰冻后才被冻死。2 ~ 8℃ 是幼虫比较适宜休眠的温度, 直至 7 个月全部死亡。37℃ 虫体活泼, 均能存活 7 d 以上; 50℃ 时只存活 11 s, 60℃ 时 1 s 内虫体全部死亡, 说明该幼虫对高温非常敏感, 因此海鱼高温烹饪后食用即可预防感染异尖线虫。

参 考 文 献

- [1] van Thiel P, Kuipers FC. A nematode parasite to herring causing acute abdominal syndromes in man. Trop Geogr Med, 1960, 12: 97-113.
- [2] Meng QW, Su JX, Miao XZ. Fish taxonomy. Beijing: China Agriculture Press, 1995. (in Chinese)
孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [3] Lu JW. Research methods of *anisakis* in seawater fish. J Zhanjiang Normal College (Natural Sciences Edition), 1995, 16(1): 124-125. (in Chinese)
陆建伟. 鱼类寄生异尖线虫的研究方法. 湛江师范学院学报(自然科学版), 1995, 16(1): 124-125.
- [4] Huang WY. Feeding marine fish and anisakiasis. Chin J Parasitol Parasitic Dis, 1998, 16(4): 300-303. (in Chinese)
黄维义. 摄食海鱼与异尖线虫病. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16(4): 300-303.
- [5] Ma HW, Jiang TJ, Quan FS, et al. Investigation for infection status of anisakid larvae in marine fish and cephalopods from the Bohai Sea. Chin J Med Sci Yanbian University, 2001, 24(2): 105-114. (in Chinese)
马宏伟, 姜泰京, 全福实, 等. 渤海鱼类和头足类异尖线虫幼虫感染情况调查. 延边大学医学学报, 2001, 24(2): 105-114.
- [6] Ruan YQ, Zhang HM. Survey of *anisakis* in seawater fish in coast areas of China. Chin J Zoonoses, 2007, 23(9): 948-949. (in Chinese)
阮延清, 张鸿满. 中国海鱼感染异尖线虫调查研究进展. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(9): 948-949.
- [7] Sun SZ. Investigation on *anisakis* simplex larvae infestation in marine fishes from South China and bohai sea. Chin J Parasitol Parasitic Dis, 1996, 14(3): 173-176. (in Chinese)
孙世正. 南海、渤海鱼类简单异尖线虫幼虫感染的调查. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1996, 14(3): 173-176.
- [8] Ye LP, Sun F, Xu GZ, et al. Survey of infectious status of fish in East Sea with *anisakis* and observation on the tolerance of its larvae to kingzest. Chin Tropical Med, 2006, 6(8): 1345-1512. (in Chinese)
叶丽萍, 孙峰, 许国璋, 等. 东海鱼类异尖线虫感染调查及其幼虫对青芥蜂的耐受研究. 中国热带医学, 2006, 6(8): 1345-1512.
- [9] Ma HW, Jiang TJ, Cui MS. Tolerant experiment of *anisakis* larvae to condiments, antihelminth medicine and Chinese herbs. J Med Sci Yanbian University, 2001, 24(3): 173-176. (in Chinese)
马宏伟, 姜泰京, 崔明善, 等. 简单异尖线虫幼虫对调味品、抗蠕虫药和中药的耐受试验. 延边大学医学学报, 2001, 24(3): 173-176.

(收稿日期: 2010-03-11)

(本文编辑: 万玉立)