

兔球虫病的诊断及虫种鉴定

范国英, 杨雪峰, 刘俊伟

(河南科技学院 动物科学学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 为探讨兔球虫病的诊断方法, 对新乡市某兔场以消瘦下痢为主要症状的病兔进行临床检查、粪便直接涂片检查、饱和食盐水漂浮检查, 并对粪样中检出的球虫卵囊及其孢子化卵囊进行形态学观察和虫种鉴定。在粪便中检出大量的球虫卵囊, 经鉴定, 分别为盲肠艾美耳球虫、黄艾美耳球虫、肠艾美耳球虫、梨形艾美耳球虫、大型艾美耳球虫、中型艾美耳球虫和长型艾美耳球虫, 最后确诊该兔场发生的是由多种艾美耳球虫混合感染引起的兔球虫病。

关键词: 兔球虫病; 诊断; 粪便实验室检查; 虫种鉴定

中图分类号: S884.2⁺3 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)01-0122-04

Diagnosis and Identification of Insect Species Causing Rabbit Coccidiosis

FAN Guo-ying, YANG Xue-feng, LIU Jun-wei

(The Animal Science College, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: To provide a theoretical basis for prevention and control of rabbit coccidiosis, rabbits showing weight loss and diarrhea as the main clinical symptoms from a rabbit farm in Xinxiang city were examined by stool direct smears and saturated salt water flotation examination. The insect species of coccidia oocysts and sporulated oocysts in fecal samples were observed and identified. Large coccidian oogonia were detected by appraisalment, and they were *E. coecicola*, *E. flaves-cens*, *E. intestinalis*, *E. piri formis*, *E. magna*, *E. media*, and *E. elongata*. This indicated that the field coccidiosis of rabbits was caused by mixed infection of species of *Eimeria*.

Key words: rabbit coccidiosis; diagnosis; stool laboratory examination; identification of insect species

球虫病是由艾美耳属(*Eimeria*)的多种球虫寄生于家兔肝胆管及肠上皮细胞内引起的一种寄生性原虫病, 具有很高的发病率和死亡率, 是养兔场及散养户最常见、危害最大的一种流行性寄生虫病^[1-3]。该病对养兔业危害极大, 显著降低养兔业的经济效益, 严重阻碍其健康发展, 1~3月龄的幼兔最易感染, 以春末夏初和秋末冬初发病最多, 流行严重时感染率可达90%~100%, 死亡率可达50%^[4-7]。2012年4月, 新乡市某兔场出现兔食欲减退、精神沉郁、伏卧不动、眼鼻分泌物增多、体温升高、腹部胀大、下痢等症状。经临床检查和实验室检查, 初步确定为

兔球虫病。对卵囊孢子化培养后测定其大小, 并观察卵囊结构: 包括有无卵膜孔、内残体、外残体、斯氏体, 确定其是否为优势虫种。为了给兔球虫病的诊断和防治提供理论依据, 现将诊断过程汇报如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 饱和食盐水、2.5%的重铬酸钾溶液、生理盐水、卢戈氏碘液、0.4%的NaOH溶液。

1.1.2 器材 舜宇光学显微镜, SPX-150B智能型生化培养箱。

收稿日期: 2012-08-06

基金项目: 河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(2010HASTIT026)

作者简介: 范国英(1973-), 女, 河南焦作人, 副教授, 博士, 主要从事动物中毒性及营养代谢性疾病研究。

E-mail: fanguoy@163.com

1.1.3 病料 病兔及其粪便采自新乡市洪门镇某养兔场,粪使用处理干净的青霉素瓶盛放,置于4℃下保存备用。

1.2 方法

1.2.1 临床检查法 通过一般临床检查法进行系统检查。

1.2.2 病理解剖法 利用解剖学方法依次解剖病兔各组织器官并进行观察,重点注意肠道的病理变化。

1.2.3 粪便直接涂片法 在载玻片上加数滴水,用镊子取少许粪便,与玻片上的水混匀,加盖玻片,显微镜下观察^[8]。

1.2.4 饱和盐水漂浮法 取4℃下保存的粪样2g,放入50 mL烧杯中,加入30 mL饱和食盐水,充分搅拌,用粪筛和漏斗将溶液筛入青霉素瓶中,漂浮约20 min。将清洁的载玻片在突起后的液面上轻轻触一下,迅速翻转,盖上盖玻片,置显微镜下观察^[9]。

1.2.5 斯陶尔氏法 斯陶尔氏计数法参见文献^[7],在显微镜下计数虫卵,将所得的虫卵数乘以100,即为1g粪便中含有的虫卵数。每天检查3次,连续检查3d,取其平均数,以减少误差。

1.2.6 卵囊鉴定

根据卵囊的形状、大小、颜色、内外残体、卵膜孔,孢子囊的大小、形状,卵囊孢子化时间等进行虫种鉴定^[8]。

1.2.6.1 卵囊收集和培养 卵囊收集和培养参见文献^[7],将收集的卵囊,加入10倍量的2.5%重铬酸钾溶液,移入培养皿中,培养液的深度不超过0.7 cm,8℃下培养1~6 d。此间每3~6 h对培养液轻轻搅拌几次,并观察孢子化发育情况。当有80%以上的卵囊完成孢子化时,停止培养,并记录孢子化时间。

1.2.6.2 卵囊测量 先利用物镜测微尺矫正好目镜测微尺。将培养过程中不同时间的卵囊经卢戈氏碘液染色后,置于400倍光学显微镜下观察。利用测微尺测定卵囊的大小,以及卵囊孢子化后其内部结构,根据卵膜孔、内残体、外残体、斯氏体等确定虫种类。在高倍镜下对各种卵囊进行拍照,根据卵囊特征确定其种类。

2 结果与分析

2.1 临床检查结果

病兔食欲减退或废绝,精神沉郁,动作迟缓,伏卧不动,眼鼻分泌物增多,口腔周围被毛潮湿,后肢和肛门周围为粪便所污染。病兔虚弱消瘦,结膜苍白,可视黏膜轻度黄染。

2.2 病理解剖结果

病兔肠道血管充血,十二指肠扩张、肥厚,黏膜发生卡他性炎症,小肠内充满气体和大量黏液,黏膜充血,上有溢血点。肠黏膜呈淡灰色,上有许多小的白色结节,压片镜检可见大量卵囊,肠黏膜上有时有小的化脓性、坏死性病灶。

2.3 直接涂片结果

粪便直接涂片法检查结果见图1-1,在显微镜下观察到大量不同种类的球虫卵囊。

2.4 饱和盐水漂浮法结果

饱和盐水漂浮法染色镜检后结果见图1-2,可见该法比直接涂片法检查出更多、更清楚的球虫卵囊。

2.5 斯陶尔氏计数法结果

计数结果显示,每克粪便含有大约11 600个卵囊。

2.6 卵囊鉴定结果

经过鉴定,发现此次病料中的虫种为盲肠艾美耳球虫、黄艾美耳球虫、肠艾美耳球虫、梨形艾美耳球虫、大型艾美耳球虫、中型艾美耳球虫和长型艾美耳球虫,其中前4种为优势虫种。

盲肠艾美耳球虫(*E. coecicola*)见图1-3、1-4。卵囊呈卵圆形、淡黄色,卵囊壁在卵膜孔周围加厚形成堤状隆起向前突出,卵囊平均大小为31.53 μm×18.37 μm,卵膜孔周围的卵囊壁稍加厚或不厚但不突出,卵囊壁为双层有卵膜孔,有卵囊内残体和外残体,孢子化时间为72 h。

黄艾美耳球虫(*E. flsvescens*)见图1-5、1-6。卵囊呈卵圆形,卵囊平均大小为31.51 μm×22.68 μm,卵囊壁由窄端向宽端逐渐显著加厚,呈黄色。无外残体,孢子囊为卵圆形,有内残体和斯氏体,在宽端有明显的卵膜孔,凹陷。孢子化时间为38 h。

大型艾美耳球虫(*E. magna*)见图1-7、1-8。卵囊呈卵圆形、淡黄色,卵囊平均大小为34.50 μm×24.69 μm,有卵膜孔、内残体、外残体,孢子化时间为48~72 h。卵囊壁平滑,卵囊壁周围呈衣领样突起,此为该种主要特征。外残体大而明显,孢子囊呈卵圆形,有孢子囊残体,原生质球位于中央,斯氏体不明显。

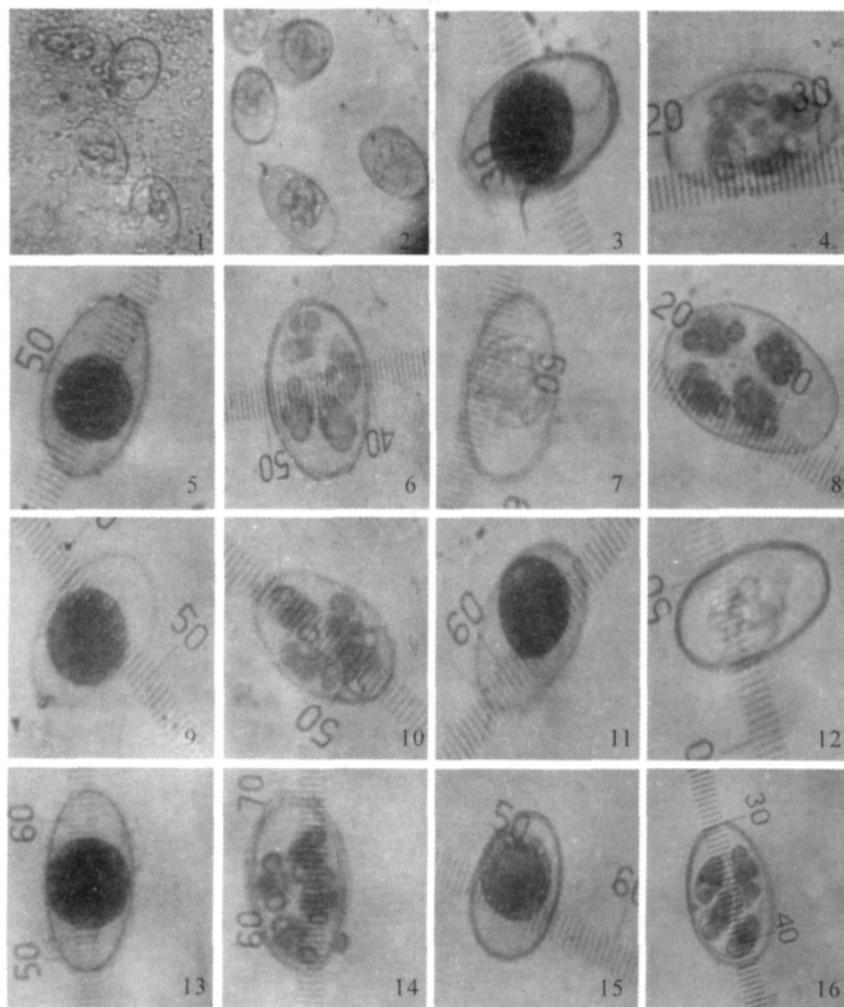
梨形艾美耳球虫(*E. piri formis*)见图1-9、1-10。卵囊呈梨形,卵囊平均大小为28.69 μm×19.18 μm,有卵膜孔和内残体,卵膜孔削平且明显,无外残体,孢子化时间为48 h。

肠艾美耳球虫(*E. intestinalis*)见图1-11、1-12。卵囊呈卵圆形,浅褐色,卵囊平均大小为27.78 μm×18.69 μm,有卵膜孔、内残体,无外残

体,卵膜孔削平且明显,孢子化时间为 24~48 h。

长型艾美耳球虫(*E. elongata*)见图 1-13、1-14。卵囊呈长椭圆形,颜色为灰褐色,卵囊平均大小为 $34.25\ \mu\text{m} \times 19.95\ \mu\text{m}$,有卵膜孔、内残体,无外残体,孢子化时间为 40 h。

中型艾美耳球虫(*E. media*)见图 1-15、1-16。卵囊呈长圆形,颜色为橙黄色,卵囊平均大小为 $25.05\ \mu\text{m} \times 16.78\ \mu\text{m}$,有卵膜孔、内残体、外残体,外残体明显,小而清晰。卵膜孔突起,像无沿帽状,孢子化时间为 36~48 h。



1. 粪便直接涂片法镜检球虫卵囊; 2. 饱和盐水漂浮法镜检球虫卵囊; 3. 未孢子化盲肠艾美耳球虫; 4. 孢子化盲肠艾美耳球虫; 5. 未孢子化黄艾美耳球虫; 6. 孢子化黄艾美耳球虫; 7. 未孢子化大型艾美耳球虫; 8. 孢子化大型艾美耳球虫; 9. 未孢子化梨形艾美耳球虫; 10. 孢子化梨形艾美耳球虫; 11. 未孢子化肠艾美耳球虫; 12. 孢子化肠艾美耳球虫; 13. 未孢子化长型艾美耳球虫; 14. 孢子化长型艾美耳球虫; 15. 未孢子化中型艾美耳球虫; 16. 孢子化中型艾美耳球虫

图 1 兔球虫卵囊鉴定结果(400×)

3 讨论

3.1 兔球虫病的诊断

在诊断过程中发现,发病兔场环境条件恶劣,管理不当,卫生消毒制度不规范,在平时的饲养过程中没有定期使用驱虫药物。经过实验室诊断,在粪便中发现大量球虫卵囊,经过计数,每克粪便球虫卵囊数达 11 600 个,确诊为兔球虫病。

3.2 兔球虫虫种的鉴定

在球虫的培养过程中,要有足够的氧气,卵囊的

收集过程中要尽可能减少杂质,因为杂质影响氧气扩散;温度控制在 $28\ ^\circ\text{C}$ 左右;培养皿中培养液的深度不能超过 $0.7\ \text{cm}$ ^[9-10]。大多数兔球虫根据其卵囊形态、大小、颜色、内部构造、有无卵膜孔、有无外残体、孢子囊的形态、斯氏体及孢子化时间等特征很容易做出鉴定^[11],但是梨形艾美耳球虫和肠艾美耳球虫之间以及盲肠艾美耳球虫和斯氏艾美耳球虫之间,用上述方法不易做出鉴别,因为无论是卵囊的外貌特征还是卵囊大小都非常相似,梨形艾美耳球虫和肠艾美耳球虫唯一的区别 (下转第 147 页)

- 性及临床研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(11):721-725.
- [3] 何家宝,朱秀芹,陈政,等. 木瓜化学成分及药理研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(8):98-100.
- [4] Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: Antioxidant activity and its potential in model systems[J]. Food Chemistry, 2012, 135(3):1118-1126.
- [5] 晏志梅,张春玲,刘娟,等. 文献计量分析我国番木瓜的研究现状与发展趋势[J]. 广东农业科学, 2008(2):112-114.
- [6] Othman O C. Physical and chemical composition of storage-ripened papaya (*Carica papaya* L.) fruits of Eastern Tanzania [J]. Tanzania Journal of Science, 2009, 35:47-56.
- [7] 白进发,刘志强,张瑞萍,等. 虎眼万年青和其他 3 种抗癌中草药的微量元素含量及其溶出特性[J]. 首都医科大学学报, 2009, 30(2):208-211.
- [8] 夏延斌,食品化学[M]. 北京:中国农业出版社, 2004: 186-187.
- [9] 王玉宝,陈玉静,候法菊. 双波长分光光度法测定食品中的钙[J]. 食品科学, 2009, 30(6):216-218.
- [10] 高宇萍,袁静宇. 食品营养与卫生[M]. 北京:海洋出版社, 2010:44-47.
- [11] 张荣. 缺钙与身体疾病的关联[J]. 黑龙江医药, 2009, 22(2):193-194.
- [12] 朱志怀,李永民,王志园. 低聚果糖对钙元素吸收的作用研究[J]. 中国乳品工业, 2008, 36(8):62-64.
- [13] 孟妍,李荔,高远,等. 酪蛋白磷酸肽促进钙吸收效果的研究[J]. 黑龙江医药, 2009, 38(4):489-491.
- [14] 姜波,姜国斌,刘长建,等. 微波消解-FAAS 法分析银杏叶中金属元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(3):812-815.
- [15] 妍君,张俊杰,汪正平. 镁离子辅助镇痛作用研究进展[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(10):717-719.
- [16] 陈宝生,张振,莫耀南,等. 镁离子在支气管哮喘气道重塑中的作用研究[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39(8):967-969.
- [17] 杨美玉,王利利,涂彧. 镁离子对放射性脑损伤的脑保护作用[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2010, 34(6):363-366.
- [18] 孙设宗,唐微,张红梅,等. 镁离子、山药多糖对四氯化碳肝损伤的保护作用[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(18):2780-2783.

(上接第 124 页) 在于梨形艾美耳球虫孢子化卵囊无外残体,而肠艾美耳球虫孢子化卵囊有外残体;盲肠艾美耳球虫和斯氏艾美耳球虫的区别在于盲肠艾美耳球虫孢子化卵囊有外残体,寄生部位在盲肠,而斯氏艾美耳球虫孢子化卵囊无外残体,寄生部位在胆管上皮细胞^[12]。

本次试验鉴别出 7 种兔球虫,分别为盲肠艾美耳球虫、黄艾美耳球虫、肠艾美耳球虫、梨形艾美耳球虫、大型艾美耳球虫、中型艾美耳球虫和长型艾美耳球虫。这 7 种兔球虫与文献中形态描述及图谱对比基本一致^[13]。但个别球虫大小有差异,尤其是大型艾美耳球虫,可能与兔的品种、饲养管理条件等有关。在本试验中还发现了出现频率较低的长型艾美耳球虫。另外,黄艾美耳球虫、长型艾美耳球虫为新乡市首次发现^[14]。

参考文献:

- [1] 展锁成,曹亮,黄淑芳,等. 规模兔场球虫病综合防制探讨[J]. 山西农业科学, 2011, 39(4):83-84.
- [2] 王彤斐,王晋. 襄垣县山羊球虫种类及感染情况调查[J]. 山西农业科学, 2006, 34(3):83-84.
- [3] 田青蓉,禹志梅. 家兔球虫病的综合防治措施[J]. 现代

- 农业科技, 2008(18):258.
- [4] 张开臣,连世界. 肉兔球虫病的综合防治[J]. 现代农业科技, 2008(13):296.
- [5] 马德海,贫谦吉. 中草药治疗家兔球虫性腹泻[J]. 现代农业科技, 2008(6):181.
- [6] 张宗森,张文财. 獭兔球虫病的诊治[J]. 现代农业科技, 2008(4):177-178.
- [7] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2010:21-25.
- [8] 张福军. 动物疫病检疫指南[M]. 北京:中国农业出版社, 2009:46-48.
- [9] 张晓东,石泉,苏丽娜,等. 呼和浩特市周边地区奶牛球虫病流行病学调查[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 5(4):56-64.
- [10] 李宏娟,刘聚祥,刘静. 中药复方对鸡柔嫩艾美耳球虫病的疗效观察[J]. 华北农学报, 2008, 23(B06):292-296.
- [11] 乔军,才学鹏,田广孚,等. 兰州地区兔球虫种类调查[J]. 中国兽医科技, 2008, 44(8):43-44.
- [12] 郑明学,李元平. 肉鸡柔嫩艾美耳球虫病的病理学免疫研究[J]. 华北农学报, 1998, 13(2):141-144.
- [13] 张龙现,殷佩云,林昆华. 我国兔球虫的研究现状[J]. 动物学杂志, 1999, 34(5):45-51.
- [14] 汤明,聂奎,荆安,等. 重庆市部分地区家兔球虫的种类调查[J]. 四川畜牧兽医学院学报, 2002, 16(2):42-46.