

枯氏住肉孢子虫在黄牛与水牛之间的交叉感染研究

肖兵南 张长弓 龚振芳

汪明

(湖南省畜牧兽医研究所,长沙 410131)

(北京农业大学兽医学院)

摘要 试验选用7日龄黑白花奶牛4头和4—5月龄水牛4头。用从犬获得的水牛源孢子囊人工感染2头奶牛和2头水牛,用黄牛源孢子囊人工感染1头水牛,2头奶牛和1头水牛不感染留作对照。在试验期间,1头感染奶牛和1头对照奶牛因急性肠炎死亡,2头感染水牛因急性住肉孢子虫病死亡,从感染奶牛和感染水牛的内脏器官查出裂殖体。1头感染奶牛,1头感染水牛和2头对照牛在第98—115天剖检,从感染水牛源孢子囊的1头奶牛和感染黄牛源孢子囊的1头水牛肌肉查出大量包囊,1头对照奶牛和1头对照水牛均未查出任何虫体。对奶牛和水牛肌肉包囊超薄切片的电镜观察显示,所有包囊的超微结构均与文献对枯氏住肉孢子虫的报道一致。这一试验性研究证明:水牛与黄牛同是枯氏住肉孢子虫的中间宿主。

枯氏住肉孢子虫 *Sarcocystis cruzi* 是致病力最强、危害最大的一种住肉孢子虫,已知它的终末宿主是犬,中间宿主是黄牛。Manuel等(1983)通过组织学检查,曾在菲律宾水牛的肌肉中观察到与黄牛枯氏住肉孢子虫形态相似的组织包囊^[1]。作者1984年在对湖南家畜住肉孢子虫的调查中,注意到有55.9%屠宰黄牛感染枯氏住肉孢子虫,79.17%水牛寄生有相似形态的包囊,并试验感染犬成功^[2]。对此包囊的透射电镜研究也揭示,其超微结构与枯氏住肉孢子虫的报道一致^[2]。为了进一步地证实水牛是枯氏住肉孢子虫的新宿主,我们设计进行了此项交叉感染试验研究。

材料与方 法

(一) 终末宿主感染与孢子囊的收集 一月龄未吃过生肉的幼犬8只,隔离喂养,4只喂给含枯氏住肉孢子虫的水牛食道肌,2只喂给含枯氏住肉孢子虫的黄牛食道肌,2只不感染留作对照。每天收集犬粪,检查孢子囊,在排卵高峰期扑杀动物,刮取小肠粘膜,蔗糖溶液离心

漂浮,收集孢子囊,悬浮在磷酸缓冲液中,血球计数板计数后,存入4℃冰箱备用。

(二) 交叉感染与样品制备 一周龄黑白花奶牛4头,4—5月龄水牛4头,隔离饲养,血清学试验(IHA)均为抗体阴性。2头奶牛经口一次接种水牛源孢子囊100万个,2头不感染留作对照;2头水牛接种水牛源孢子囊80万个,一头水牛接种黄牛源孢子囊22万个,一头水牛不感染作对照。实验动物编号见表1。

自感染之日起,每天作临床检查,测试体温。试验期末剖检所有动物。试验期间死亡动物与期末剖检动物,均取心、肝、肾、肺、脾、肠、肠系膜淋巴结、胃、食道肌、舌肌和膈肌组织,10%福尔马林液固定,石蜡包埋,切片,HE染色,光镜检查;部分材料用2.5%戊二醛液固定,1%锇酸液复固定,脱水后用812树脂包埋,LKB切片机制出超薄切片,电子染色后,JEM-100s透射电镜下观察。

结 果

6只感染犬分别在吞食包囊后的15—18

天排出孢子囊,对照犬为阴性,不同来源的枯氏住肉孢子虫在犬体的潜在期一致,孢子囊的大小分别为 $15.24 \times 9.95 \mu\text{m}$ (黄牛源)和 $15.22 \times 9.98 \mu\text{m}$ (水牛源), $N = 50$,两种来源的孢子囊未见形态学区别。

奶牛与水牛枯氏住肉孢子虫交叉感染的结果见表1。在奶牛组,1号牛在感染后40天因急性肠炎死亡,剖检可见,胃肠胀气,粘膜糜烂、溃疡,肠壁充血和出血,心扩张,胸腔积液;组织学检查,在心、肝、肾、肠系膜淋巴结等器官的血管内皮细胞发现裂殖体,大小为 $4.4-14.0 \times 4.0-7.0 \mu\text{m}$ 。2号牛在试验期间未出现明显症状,于第98天扑杀,剖检见心内膜有3块出血斑,肠系膜淋巴结有少数针尖大小的出血点,在心肌、食道肌等横纹肌查出许多包裹,测出大小为 $0.192-0.518 \times 0.038-0.058\text{mm}$ 。2头对照牛在试验开始后不久拉稀,3号牛从第35天起,腹泻加剧,排水样粪便,于第38天倒地死亡,剖检结果与1号牛相同,但全身器官组织学检查未见裂殖体;4号牛自然康复,于试验期末剖检,未发现病变和虫体。

表1 枯氏住肉孢子虫在黄牛与水牛之间交叉感染试验结果

组别	编号	日龄	性别	感染剂量(万)	孢子囊来源	剖检时间(天)	光镜和电镜检查结果	
							内脏器官	肌肉
黄牛	1	7	♂	100	水牛源	40*	M	N
	2	7	♂	100	水牛源	98	N	C
	3	7	♀	0		38*	N	N
	4	7	♀	0		98	N	N
水牛	5	150	♂	22	黄牛源	115	N	C
	6	150	♂	80	水牛源	37 ^a	M	N
	7	150	♂	80	水牛源	44 ^a	M	N
	8	120	♂	0		115	N	N

* 因胃肠炎死亡 △ 因住肉孢子虫病死亡 M 查出裂殖体 C 查出包裹 N 未查出虫体

在水牛组,感染黄牛源孢子囊的5号牛第22—23天体温升高(39.2°C),第32—39天出现第二次体温升高($39.0-39.4^\circ\text{C}$),以后恢复正常,于第115天扑杀剖检,除胆囊有少数散在的出血点外,未见其它病理变化,在心肌、食道肌等横纹肌查出大量包裹,测量体积为 $0.274-$

$0.588 \times 0.039-0.059\text{mm}$ 。感染水牛源孢子囊的6号和7号牛,在第22—23天出现第一个体温高热期($39.0-39.6^\circ\text{C}$),第32天开始出现第二个高热期,体温达 $42.0-42.2^\circ\text{C}$,临床表现食欲下降或废绝,精神委顿,鼻镜干燥,瘤胃胀气,大便干结,尿少或停止,先后于第37天和44天倒地死亡;剖检可见:全身组织器官广泛性出血,心、肝、肾、淋巴结、胃、肠、膀胱、胆囊、大小网膜、脑等器官散布密集的针尖到针头大小的出血点,有时连成斑块,肌肉呈虎纹状出血,皮下组织、心冠和肾周围等处的脂肪组织呈胶冻样;血液稀薄,临床化验血细胞压积不足正常值的10%;心、肝、肾、淋巴结等组织的切片检查显示,小血管与毛细血管内皮细胞含有裂殖体,大小为 $9.6-19.2 \times 7.2-14.4 \mu\text{m}$ 。8号对照牛在试验期末扑杀剖检,未见异常变化和住肉孢子虫感染。

在透射电镜下,对2号奶牛和5号水牛肌肉包裹的超薄切片进行了观察,所有包裹均显示一致的超微结构形态。包裹壁由原囊壁和基质层组成,原囊壁向表面形成倒伏的长指形突起,突起内无致密颗粒和纤丝或微管,只含有少量基质,突起壁是平滑的,基部壁保留小凹陷;基质层衬于原囊壁之下,并向囊腔内伸入形成隔。包裹内含有缓殖子,或仅在浅层含有少数母细胞。缓殖子呈香蕉形,头部具有锥体、极环、膜下微管、微线,中部有线粒体、致密体、多糖颗粒和被膜小泡,后部主要是一个细胞核。母细胞呈卵圆或椭圆形,见有锥体和极环,核大,核被膜核孔丰富,细胞质电子染色较浅,含有线粒体、内质网、核糖体等细胞器,及少量致密体、多糖颗粒和半透明小泡。

讨 论

一般认为,住肉孢子虫对中间宿主的感染有着严格的特异性,这一点已得到一些试验的证明。例如,曾有人用牛的枯氏住肉孢子虫感染绵羊和用绵羊的柔嫩住肉孢子虫 *Sarcocystis tenella* 感染牛^[9],也有人用山羊的山羊犬住肉孢子虫 *S. caprocanis* 感染绵羊^[3]和用绵羊的柔

嫩住肉孢子虫感染山羊均未成功^[4],故此利用宿主的特异性已成为虫种鉴别的一种生物学方法,Heydorn 等(1975)曾建议以中间宿主和终末宿主的种名组合成的复合词来作为住肉孢子虫的种名^[6]。本试验用黄牛和水牛的枯氏住肉孢子虫在水牛与奶牛(黄牛)之间交叉感染成功,突破了一种住肉孢子虫—中间宿主的传统概念,说明住肉孢子虫对中间宿主的特异性有一定的宽度。

关于水牛存在枯氏住肉孢子虫的问题,最早 Manuel 等(1983)在对菲律宾水牛作肌肉切片检查时,观察到第三种类型包囊的存在,推测可能属枯氏住肉孢子虫^[7],但没有见到进一步的研究报告。作者(1989)对采自湖南自然感染水牛肌肉中的小包囊进行了电镜观察,发现其超微结构与枯氏住肉孢子虫的相同^[8],随后,我们又用此包囊感染犬成功^[9],用从犬收获的孢子囊试验感染水牛,对其内生发育的超微结构进行了研究,发现其发育史及发育阶段虫体的超微结构与国外作者对枯氏住肉孢子虫在黄牛的研究报道一致,初步确定为枯氏住肉孢子虫^[9]。本试验用水牛的枯氏住肉孢子虫感染黄牛和用黄牛的枯氏住肉孢子虫感染水牛成功,并通过电镜切片观察得到验证,进一步地证实水牛是枯氏住肉孢子虫的新宿主,第一次通过试验方法证明,枯氏住肉孢子虫能通过犬在黄牛与水牛之间相互传递。

枯氏住肉孢子虫对牛有极强的致病力。据报道,感染 20 万个孢子囊,就能引起犊牛严重发病或死亡^[4]。本试验以 80 万个水牛源孢子

囊感染 2 头水牛犊,均引起急性住肉孢子虫病死亡;而以 100 万个水牛源孢子囊感染 2 头 1 周岁奶牛,一头未出现任何临床症状,一头于感染后 40 天死于急性胃肠炎;用 22 万个黄牛源孢子囊感染一头水牛犊,虽出现轻微的体温反应,但无其它症状,扑杀剖检后,除在肌肉中查出包囊外,未见其它变化。这一结果提示,枯氏住肉孢子虫在黄牛或水牛作异源感染时,毒力可能减弱。

参 考 文 献

- [1] 肖兵南等 1988 家畜住肉孢子虫的调查 中国兽医杂志 14(10): 12—14。
- [2] 汪明等 1989 中国水牛两种住肉孢子虫包囊超微结构的比较研究 畜牧兽医学报 20(4): 356—362。
- [3] ——1991 在试验感染水牛枯氏住肉孢子虫内生发育的超微结构 动物学报 37(1): 1—5。
- [4] Dubey, J. P. 1980 Coyote as a final host for *Sarcocystis* species of elk, sheep, goats, cattle, moose and bison in Montana. *Am. J. Vet. Res.* 41: 1227—1229.
- [5] Fayer, R. and A. J. Johnson 1974 *Sarcocystis fusiformis*: Development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs. *Proc. Helminth. Soc. Wash.* 41: 105—109.
- [6] Heydorn, A. O. and R. Gestrich 1975 Proposal for new nomenclature of the Sarcosporidia, *Z. Parasitenkd* 48: 73—82.
- [7] Manuel, K. F. et al. 1983 Histomorphological studies of bubalin *Sarcocystis* in the Philippine. *Phil. J. Vet. Med.* 22: 24—36.
- [8] Pethkar, D. K. and H. L. Sbah 1982 Attempted cross transmission of *Sarcocystis caprocanis* of the goat to the sheep. *Indian Vet. J.* 59: 766—768.
- [9] Gestrich, R. et al. 1975 Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VI. Untersuchungen zur artendifferenzierung bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis senella*. *Berl. Munch. Tierärztl. Wschr.* 88: 191—204.