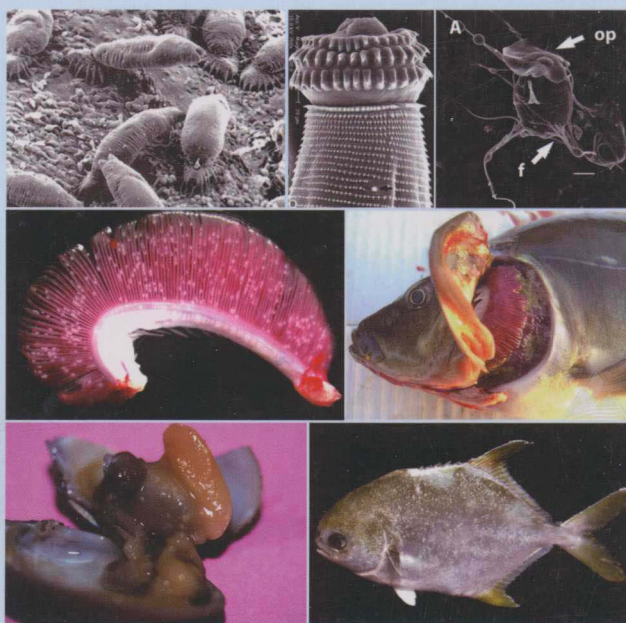



# 水生动物寄生虫学

吴绍强 主编

AQUATIC ANIMAL  
PARASITOLOGY

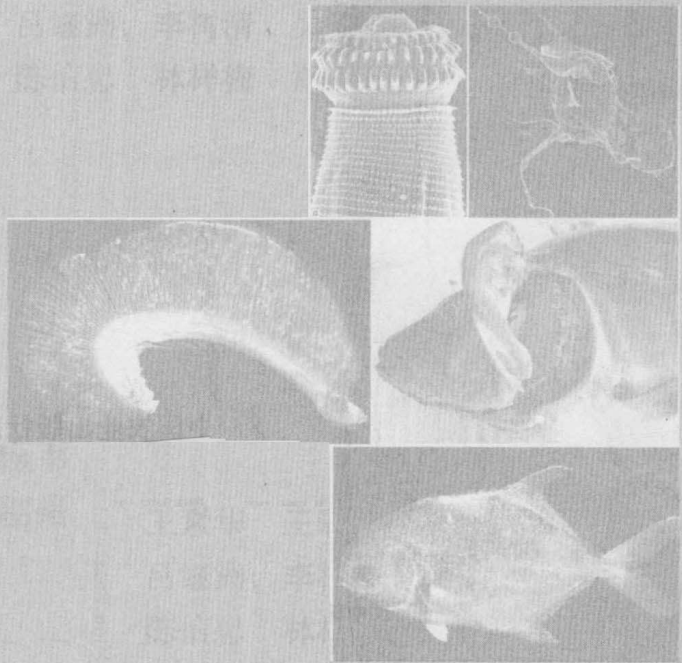


 中国农业出版社

# 水生动物寄生虫学

吴绍强 主编

AQUATIC ANIMAL  
PARASITOLOGY



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据 0021870

水生动物寄生虫学 / 吴绍强主编. —北京: 中国农业出版社, 2014. 7

ISBN 978-7-109-19408-3

I. ①水… II. ①吴… III. ①水生动物-寄生虫学  
IV. ①S941.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 151723 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码 100125)

责任编辑 郑珂 黄向阳

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

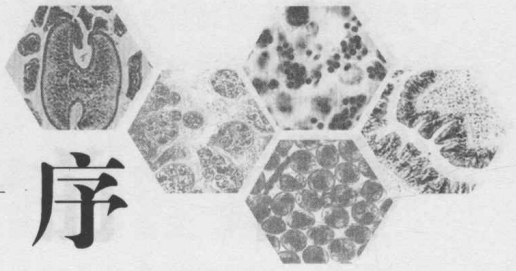
2015 年 1 月第 1 版 2015 年 1 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 15.75 插页: 8

字数: 358 千字

定价: 60.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)



# 序

由于寄生虫病不如病毒病和细菌病的危害严重，寄生虫学始终是一门冷学科，研究者甚少，由此也导致人们对寄生虫的了解较少。实践证明，随着我国对外开放和外贸事业的纵深发展，寄生虫已成为一项重要的技术性贸易壁垒。输韩国泡菜含寄生虫卵、输日本水产品含异尖线虫、印度尼西亚进境黄鳝含颚口线虫等事件就是很好的例证。

本书作者多为年轻的专家，且在口岸一线及科研部门工作，为满足口岸检疫把关的技术需求，他们编写了本书。本书主要具有如下特点：一是实用性强，包括形态学、免疫学、分子生物学等寄生虫病实用检疫技术，可满足不同水平实验室对寄生虫病的初筛和准确鉴定需求；二是理论水平高，编者多具有博士学位，查阅了丰富的外文资料，做到了与国际接轨；三是创新性强，本书收集的部分成果是相关科研人员的科研结晶，是填补国际空白的成果。

相信本书将成为口岸动物检疫人员、高校及科研单位动物检疫教学与研究专家、水产养殖业者不可或缺的参考书，希望本书的出版能成为相关读者的一件幸事。

蒋金书

2014年4月

我国是世界水产养殖及进、出口大国，2010年统计数据显示，水产品产量占全世界的35%，水产品出口额连续10年居世界首位，连续多年农产品出口首位。近年来，由于养殖密度加大，养殖管理水平相对滞后，集约式、高密度、多品种的养殖环境下，水产动物的疾病频发，日趋严重。据FAO统计，2010年，我国的水产养殖因灾损失170万t（33亿美元），其中，病害造成的损失为79.5万t，出口面临严峻考验，欧盟、日本等贸易伙伴多次从我国输出的水产品中查获异尖线虫并作出退货处理，我国对世界水产养殖产量的贡献从2000年的65.4%下降到2010年的61.4%。同时，一些外来疾病和新出现的水生动物疾病给我国的水产养殖业和生态环境乃至人类健康带来极大的风险和考验。2007年，福建省罗源湾海区发生的海水鳗小瓜虫病，导致直接经济损失在3亿元以上，严重影响了当地水产养殖业的健康发展。

近年来，为满足国民饮食需求，我国口岸进境水生动物数量激增。与此同时，



# 前言

随着全球人口的增多、经济的迅猛发展和陆地资源的紧缺，人类正在积极向海洋要资源。但海洋捕捞业的规模相对固定，为满足消费者需求，丰富群众菜篮子，水产养殖业得到迅速发展。据联合国粮食及农业组织（FAO）统计，20世纪70年代，全世界只有6%的食用鱼来自水产养殖，2011年已达49%，并在不断增长。现今，超过6000万t的水生动物被圈养在水下的网箱或者是池塘中。养殖的高密度使疾病的危害更加严重，其中寄生虫病的危害不容忽视。如自1995年阿根廷圣安东尼奥（San Andonio）海湾初次报道牡蛎包纳米虫病以来，1996年导致33%的牡蛎死亡，1997年牡蛎死亡率高达95%，使得当地的牡蛎养殖业遭到重创。

同时，随着人类饮食习惯的改变，食用生鲜的牡蛎（生蚝）、生鱼片等引起的人体寄生虫病，导致严重的公共健康危害。众多研究表明，异尖线虫、棘颚口线虫、管圆线虫、华支睾吸虫、卫氏并殖吸虫、肝片吸虫、血吸虫、曼氏双槽绦虫、阔节裂头绦虫等多种寄生虫（蚴）均为淡水鱼、蛙、螺携带的人畜共患寄生虫病原。据报道，全世界约有3500万人感染华支睾吸虫，到医院就诊的患者感染异尖线虫的病例达3万多例并呈上升趋势。2006年，在北京蜀国演义酒楼就餐的消费者即由于食用凉拌福寿螺导致感染管圆线虫。

我国是世界水产养殖及进、出口大国，2010年统计数据表明，我国养殖水产品产量占全世界的35%，水产品出口额连续10年居世界首位，连续12年居我国大宗农产品出口首位。近年来，由于养殖密度加大，养殖管理水平相对滞后，在集约式、高密度、多品种的养殖环境下，水产动物的疾病频发，日趋严重。据FAO统计，2010年，我国的水产养殖因灾损失170万t（33亿美元），其中，病害造成的损失为29.5万t，出口面临严峻考验，欧盟、日本等贸易伙伴多次从我国输出的海产品中查获异尖线虫并作出退货处理，我国对世界水产养殖产量的贡献从2000年的66.4%下降到2010年的61.4%。同时，一些外来疾病和新出现的水生动物疾病给我国的水产养殖业和生态环境乃至人类健康带来极大的风险和考验。2007年，福建省罗源湾海区发生的海水鱼小瓜虫病，导致直接经济损失在2亿元以上，严重影响了当地水产养殖业的健康发展。

近年来，为满足国民饮食需求，我国口岸进境水生动物数量猛增。与此同时，

口岸截获水生动物疫病批次增加。2011年5月,我国口岸检疫机构连续9次从印度尼西亚和菲律宾进口的黄鳝中检出颚口线虫幼。2012年1—6月,我国口岸截获进境动物疫情225批次,其中,水生动物疫情191批次,占85%;寄生虫55批次,占水生动物疫情数量的29%,主要为异尖线虫、颚口线虫。

有资料表明,亚洲太平洋地区由于人口众多,水产养殖业发展迅速,疫病危害相对严重,水生动物及产品出口面临较大压力,如日本、韩国均加强了对我国出口水产品的检疫。同时,有很多寄生虫,如贝类的包纳米虫、马尔太虫等在欧洲、澳洲、美洲等地危害严重,但在我国尚未发生。为维持国际贸易并保护养殖业安全,世界动物卫生组织(OIE)将奥尔森派琴虫病等4种贝类寄生虫病列为法定上报动物疫病;农业部公告第1125号附件《一、二、三类动物疫病病种名录》中将刺激隐核虫病列为二类动物疫病,并将小瓜虫病、黏孢子虫病、三代虫病、指环虫病、包纳米虫病、折光马尔太虫病、奥尔森派琴虫病列为三类动物疫病。为加强口岸检疫工作,国家质量监督检验检疫总局和农业部于2013年发布第2013号联合公告,将鲑三代虫感染、牡蛎包纳米虫感染、杀蛎包纳米虫感染、折光马尔太虫感染、奥尔森派琴虫感染、海水派琴虫感染以及异尖线虫病等水生动物寄生虫病列入新修订的《中华人民共和国进境动物检疫疫病名录》中。鉴于水产品携带寄生虫的危害性,我国《农产品安全质量 无公害水产品安全要求》(GB18406.4—2001)规定水产品中不得检出颚口幼、双槽幼和裂头幼等致病性寄生虫。

针对上述情况,我们编写了本书,旨在就危害我国水产养殖业的重要寄生虫病和主要水生动物食源性寄生虫病的病原、传播途径、危害、诊断与防治措施以及外来病潜在传入风险进行介绍,以利于口岸检疫把关人员提高对相关病原的认识水平及检疫把关能力,切实保障口岸进、出口生物的安全。本书编写人员多为检疫系统科研工作者及口岸一线检疫工作人员,相关资料可供检疫把关人员借鉴,也可作为高等院校、科研单位的教学人员和科技工作者的参考书。

由于编者水平所限,对水生动物寄生虫知识掌握不够,书中谬误、疏漏之处在所难免,期望读者不吝指正。

编者

2014年3月



# 目 录

序  
前言

## 第一节 寄生虫及其危害

绪论 .....	1
第一节 寄生虫及其危害 .....	1
第二节 水生动物寄生虫检查 .....	6
第三节 寄生虫对水产养殖业的影响 .....	13
<b>第一篇 水生动物寄生虫病</b> .....	<b>17</b>
<b>第一章 贝类寄生虫病</b> .....	<b>19</b>
第一节 派琴虫病 .....	19
第二节 包纳米虫病 .....	32
第三节 马尔太虫病 .....	42
第四节 单孢子虫病 .....	52
<b>第二章 鱼类寄生虫病</b> .....	<b>60</b>
第一节 黏孢子虫病 .....	60
第二节 刺激隐核虫病 .....	72
第三节 小瓜虫病 .....	79
第四节 车轮虫病 .....	89
第五节 隐鞭虫病 .....	96
第六节 斜管虫病 .....	102
第七节 瓣体虫病 .....	107
第八节 三代虫病 .....	111
第九节 指环虫病 .....	121
第十节 本尼登虫病 .....	128
第十一节 鳃居线虫病 .....	137
第十二节 鱼虱病 .....	145
第十三节 鲺病 .....	157
<b>第二篇 食源性寄生虫病</b> .....	<b>165</b>
<b>第三章 鱼源性寄生虫病</b> .....	<b>167</b>
第一节 华支睾吸虫病 .....	167

第二节	异尖线虫病 .....	172
第三节	颚口线虫病 .....	186
第四节	双槽蚴病 .....	200
第四章	螺源性寄生虫病 .....	207
第一节	并殖吸虫病 .....	207
第二节	肝片吸虫 .....	216
第三节	管圆线虫病 .....	224
第五章	双栖源性寄生虫病 .....	234
裂头蚴病 .....		234



# 绪 论

## 第一节 寄生虫及其危害

生存于自然界的有机体，种类繁多，它们的生活方式极为复杂。有的营自由生活；有的必须与特定的生物营共生生活；有的在某一部分或全部生活过程中，必须生活于另一生物之体表或体内，夺取该生物之营养或以该生物之体液或组织为食物来维持其本身的生存并获得保护，同时对该生物带来危害，此种生活方式称为寄生生活，或谓之寄生。水生动物寄生虫顾名思义是寄生于水生动物体表或体内的寄生虫，以寄生虫为病原的疾病是水生动物疾病的一大类型，病原的种类繁多，生活方式复杂，严重危害了水生动物的健康。

### 一、寄生方式

水生动物寄生虫同其他动物寄生虫一样，按照寄生方式可分为下列几种类型。

#### (一) 按寄生虫对寄生生活的依赖性分

##### 1. 兼性寄生

也称假寄生，这类寄生虫通常营自由生活，只有在特殊条件下（遇有机会）才转变为寄生生活。例如，马蛭与小动物相处时和欧洲蛭一样营自由生活，当它和大动物相处时就营寄生生活。

##### 2. 专性寄生

也称真寄生，寄生虫全部或部分生活阶段从宿主取得营养，或以宿主为自己的生活环境。如黏孢子虫可侵袭鱼体内、外的各种器官和组织，每一种黏孢子虫在宿主中有它的寄生部位。按照寄生时间的长短，专性寄生又可分为暂时性寄生和经常性寄生。

##### (1) 暂时性寄生

亦称一时性寄生。寄生虫寄生于宿主的时间很短，仅在获取食物时才寄生。此类寄生虫多寄生于宿主的体表，如鱼蛭。

##### (2) 经常性寄生

亦称滞留性寄生。寄生虫的一个或几个生活阶段甚至整个生活过程必须营寄生生活。经常性寄生方式又可分为阶段寄生和终身寄生。

##### ① 阶段寄生

仅在发育的某一阶段营寄生生活，寄生虫的全部生活过程由营自由生活和寄生生活的不同阶段组成。如贝类派琴虫的游走孢子期在海洋环境中自由生活，而营养孢子期则在贝类体内寄生。

② 终身寄生：寄生虫的一生全部在宿主体内度过，它没有自由生活阶段，所以一旦离开宿主，就不能生存。此类寄生虫多为组织内寄生虫，或发育需要中间宿主的寄生虫。

## (二) 按寄生虫寄生的部位分

### 1. 体外寄生

寄生虫暂时地或永久地寄生于宿主的体表。寄生在鱼的皮肤、鳍、鳃等处的寄生虫均属体外寄生，如小瓜虫和锚头蚤寄生在鱼的皮肤和鳃上，鲑三代虫用后吸器的锚钩和小钩固着在宿主的身上。

### 2. 体内寄生

寄生虫寄生于宿主的脏器、组织和腔道内。如九江头槽绦虫寄生在草鱼肠内。牡蛎包纳米虫主要寄生于牡蛎的血细胞内，感染严重时，在鳃、内脏、外套膜上皮、消化道、性腺及胃等处均有寄生。

此外，寄生虫还有一种特异的现象——超寄生，即寄生虫本身又成为其他寄生虫的宿主。如三代虫寄生在鱼体上，而车轮虫又寄生在三代虫上。

## 二、宿主种类

### (一) 终末宿主 (definitive host)

寄生虫的成虫时期或有性生殖时期所寄生的宿主，称为终末宿主或终宿主。如异尖线虫成虫寄生于海洋哺乳动物鲸、鳍足类动物海豹等的肠道内，则这些海洋动物为异尖线虫发育的终末宿主。

### (二) 中间宿主 (intermediate host)

寄生虫的幼虫期或无性生殖时期所寄生的宿主。若幼虫期或无性生殖时期需要两个宿主时，依其发育阶段的前后，分别称之为第一中间宿主和第二中间宿主。如华支睾吸虫的发育过程需要两个中间宿主，第一中间宿主为沼螺属和豆螺属的淡水螺，第二中间宿主为淡水鱼虾，终末宿主为人和肉食性哺乳动物。脑黏体虫以寡毛类的颤蚓为中间宿主，在颤蚓肠道黏膜内发育成放射孢子虫，鲢、鳙吞食颤蚓后，放射孢子虫进入鱼体内继续发育成脑黏体虫。

### (三) 保虫宿主 (reservoir host)

寄生虫寄生于某种动物体的同一发育阶段，有的可寄生于其他动物体内，这类其他动物常成为某种动物体感染寄生虫的间接来源，故站在某种动物寄生虫学的立场可称之为保虫宿主。如华支睾吸虫的成虫寄生于人、猫、狗等肝脏的胆道内，人、猫、狗皆为其终末宿主；而站在人体寄生虫学的立场上，猫及狗又是保虫宿主。因此，要彻底消灭某种寄生虫病，除消灭中间宿主外，还必须消灭保虫宿主体内的寄生虫，否则保虫宿主随时可以把储存的寄生虫传播开来。如鳃隐鞭虫是草鱼鳃病中危害严重的一种寄生虫，但在冬、春两季常常大量寄生在鲢、鳙的鳃耙上，在这种情况下，鲢、鳙成为鳃隐鞭虫

病的保虫宿主。

#### (四) 转续宿主 (paratenic host, transport host)

某些寄生虫的幼虫侵入非正常宿主体内, 不能发育为成虫, 长期保持幼虫状态, 当此幼虫期有机会再进入正常终末宿主体内后, 才可继续发育为成虫, 这种非正常宿主称为转续宿主, 或称为传递宿主。如曼氏迭宫绦虫的幼虫——裂头蚴在蛙的肌肉内寄生, 当受感染的蛙被蛇、鸟类或猪等非正常宿主吞食后, 裂头蚴不能在其肠中发育为成虫, 而是穿出肠壁, 移居到腹腔、肌肉或皮下等处继续生存, 成为转续宿主。猫、犬等终末宿主吞食了带有裂头蚴的转续宿主后, 裂头蚴在其肠内发育为成虫。

#### (五) 迷路宿主 (accidental host)

寄生虫在发育的某一阶段进入非发育所需的宿主(如人)体内, 可引起一定的症状和危害, 但不能继续发育, 也难以再转入其他宿主体内发育。则此宿主称为迷路宿主。如异尖线虫成虫寄生于海洋鲸类、鳍足类消化道中, 幼虫可在鱼类、头足类的内脏或肌肉内发育。人在采食生的或者未充分熟制的鱼肉后, 简单异尖线虫的感染性三期幼虫(L<sub>3</sub>)可引起人发病。但幼虫在人体内不能发育, 人即为异尖线虫发育的迷路宿主。

### 三、水生动物寄生虫的感染途径

#### (一) 经口感染

具有感染性的虫卵、幼虫或包囊, 随污染的食物等经口吞入所造成的感染称经口感染。如感染贝类的派琴虫, 其游动孢子在海水中自由生活, 当被牡蛎、蛤等滤食后, 则可侵入机体而引起贝类感染。

#### (二) 经皮感染

感染阶段的寄生虫通过宿主的皮肤或黏膜(包括鱼类的鳍和鳃)进入体内所造成的感染称为经皮感染。此种感染一般又可分为两种方式。

##### 1. 主动经皮感染

感染性幼虫主动由皮肤或黏膜侵入宿主体内。如双穴吸虫的尾蚴主动钻入鱼的皮肤造成的感染, 鲑三代虫的幼虫通过体表的小钩吸附于宿主体表而引起感染。

##### 2. 被动经皮感染

感染阶段的寄生虫并非主动侵入宿主体内, 而是通过其他媒介物之助, 经皮肤将其送入体内所造成的感染, 称为被动经皮感染。如秉志锥体虫需借鱼蛭吸食鱼血而传播, 即属此种方式。

其他寄生虫感染途径还包括黏膜接触感染(如阴道毛滴虫、马媾疫锥虫的传播)以及垂直传播(如弓形虫从母体传给胎儿)等。

### 四、水生动物寄生虫的危害

寄生虫对宿主的影响有时很显著, 可引起宿主生长缓慢、不育、抵抗力降低, 甚至

造成宿主大量死亡；有时则不显著。寄生虫对宿主的危害，可归纳为以下几个方面。

### 1. 机械性刺激和损伤

这是最普遍的一类影响，寄生虫对宿主所造成的刺激及损伤的种类甚多，如鲷寄生于鱼体表，用其倒刺及口器刺激或撕破宿主皮肤，从而使宿主极度不安，常在水中狂游或时而跳出水面。机械性损伤是一切寄生虫病所共有的，只是在程度上有所不同而已，严重的可引起组织器官的破坏、脱落、形成溃疡、充血、大量分泌黏液等病变，损伤神经、循环等重要器官系统，还可引起病鱼大批死亡。

机械性刺激和损伤的典型病例为具有锚钩等固着器的寄生虫，如三代虫、指环虫的固着器可抓伤鱼体、鳃等重要部位，导致组织变性、坏死，并由于创伤的形成，继发细菌性鳃病。

另一种寄生虫虽然不具有锚钩等固着器，但虫体通过附着器官固着在宿主体表或者脏器表面，造成组织功能障碍或者器官损伤。如通过扫描电镜观察，可见聚缩虫借助主柄固着在对虾体表或鳃，形成 $15\sim 20\ \mu\text{m}$ 的圆盘，主柄穿过甲壳并在其表面形成一个直径为 $10\sim 20\ \mu\text{m}$ 的圆孔，主柄呈树根状，从圆孔中央伸入甲壳下面的组织，寄生在鳃上的聚缩虫除了可导致鳃组织的变性坏死外，还容易附着大量的污物，从而影响鳃的呼吸功能。

还有一种寄生虫是对体内组织造成损伤，如牡蛎包纳米虫寄生于牡蛎的血淋巴内，并随血淋巴分布到全身各器官，其增殖可导致血细胞的损伤，造成血细胞大量减少，使各器官组织受损，并导致宿主死亡。

### 2. 夺取营养

寄生虫在其寄生时期所需要的营养都来自宿主，因此，宿主营养或多或少地被寄生虫所夺取，故寄生虫对宿主本身造成或多或少的损害；但其后果仅在寄生虫虫体较大或寄生虫数量较多时才明显地表现出来。如寄生在鲟鳃上的尼氏吸虫 (*Nitzschia siturionis*)，每只寄生虫每天要从鱼体上吸血 $0.5\ \text{mL}$ ，在严重时，1尾鲟鳃上寄生 $300\sim 400$ 只寄生虫，这样鲟鳃每天损失血液达 $150\sim 200\ \text{mL}$ ，因而鱼体很快消瘦。

### 3. 压迫和阻塞

宿主体内寄生虫大量寄生时，寄生虫对组织造成压迫，可引起组织萎缩、坏死甚至死亡，此种影响以在肝脏、肾脏等实质器官较为常见。如寄生在鲤科鱼类体腔内的双线绦虫，由于腹腔中大量寄生双线绦虫，整个腹腔的大部分被虫体充塞，从而压迫鱼体的各腹内器官，引起萎缩坏死，甚至死亡。寄生在鱼鳃上的黏孢子虫的包囊对鳃组织具有压迫作用，从而导致黏液细胞增多，上皮细胞肿大、增生。

寄生虫对宿主机体的阻塞作用指虫体或包囊对鱼体管腔的阻塞作用。如鱼类血居吸虫在血管中大量增殖，导致血管的阻塞。九江头槽绦虫的大量寄生，可引起草鱼肠管的阻塞；有时虽然寄生虫的数量不多，但由于刺激了中枢神经后，引起痉挛收缩，也可发生阻塞现象。

### 4. 毒素作用

寄生虫在宿主体内生活过程中，其代谢产物都排泄于宿主体内，有些寄生虫还能分泌特殊的有毒物质，这些代谢产物或有毒物质作用于宿主，能引起中毒现象。如鲷的口刺基部有一堆多颗粒的腺细胞，能分泌毒液；寄生在草鱼鳃上的鳃隐鞭虫分泌的毒素可

引起溶血，大中华鲮摄食时能分泌酶进行肠外消化等。

### 5. 其他疫病的媒介

吸食血液的外寄生虫往往是另一些病原入侵的媒介，如鱼蛭在鱼体表吸血时，可把血液寄生虫（如锥体虫）由病鱼传递给健康鱼。

### 6. 继发细菌性疾病

某些寄生虫感染侵害宿主体表或某些器官，为病原菌的入侵打开通道，易导致宿主继发各种细菌性疾病。如中华鲮的寄生能破坏鱼的鳃组织，锚头鲮破坏鱼的表皮，为各种病原菌的入侵打开通道，容易导致患病鱼烂鳃和体表各种疾病的发生。

(吴绍强 王彩霞)

1. 肉眼检查

此外，被检测对象已取用时应注意以下几点：(1) 取用对象时应注意其健康状况，如发现有异常表现，应立即停止检测。(2) 取用对象时应注意其采样时间，最好在清晨或傍晚进行。(3) 取用对象时应注意其采样地点，应选择在清洁、无污染的环境中。(4) 取用对象时应注意其采样方法，应使用无菌操作。(5) 取用对象时应注意其采样量，应根据检测项目的要求进行。(6) 取用对象时应注意其采样容器，应使用无菌容器。(7) 取用对象时应注意其采样记录，应详细记录采样时间、地点、对象、数量等信息。(8) 取用对象时应注意其采样安全，应做好个人防护，避免感染。

(1) 湿抹片法 是最常用的一种方法。取一点受检的组织，置于载玻片上，加上一滴清水（或海水）用镊子将组织压平，使其成为薄片状，然后盖上另一载玻片，制成湿抹片。将湿抹片置于显微镜下观察。此法适用于检查鱼体表的寄生虫，如鱼锚头虫、鱼鱼鳞虫等。

## 第二节 水生动物寄生虫检查

寄生虫种类繁多,不同种类的寄生虫形态各异、大小不一,即使是同一种寄生虫的不同发育阶段在动物不同部位寄生时其形态、大小也不尽一致。采取科学、可行的检查方法并准确鉴定病原,是采取相应防控措施的重要依据。

目前,随着分子生物学的发展和学科间的交叉渗透,许多分子生物学技术已经应用于寄生虫病的诊断、分类和流行病学的调查工作中。依赖于特异性核酸序列分析的分子生物学技术,核酸扩增(如 PCR、荧光 PCR、LAMP)、核酸探针(如 ISH、SSCP)等日趋成熟并在寄生虫种类鉴定、流行病学调查与溯源分析等工作中逐渐得到应用,很多方法已成为 OIE 推荐方法。

核酸扩增技术是一种敏感、特异的 DNA 体外扩增方法,可将目的 DNA 片段扩增百万倍以上,检测敏感性可以达到单拷贝基因、单虫体 DNA 的水平。而且操作过程简便快捷,无需对病原进行分离纯化。该法同时可以克服抗原和抗体持续存在的干扰,直接检测到病原的 DNA,既可用于临床诊断,又可用于流行病学调查。为避免 PCR 检测的非特异性,以 PCR 技术为基础的衍生技术如 PCR-SSCP 技术、PCR-RFLP 技术等近年来发展很快,为研究寄生虫的遗传变异、分类鉴定、分子流行病学调查提供了新的途径。如 OIE 推荐的牡蛎包纳米虫和杀蛎包纳米虫的鉴别诊断就是采用 PCR-RFLP 技术进行的。同时,PCR 结合扩增产物测序的技术更是包括寄生虫在内的诸多病原生物诊断、鉴定的推荐方法。

核酸探针技术又称核酸分子杂交技术,是最近几年迅速发展起来的一种敏感性高,特异性强,应用面广的研究手段。在寄生虫病诊断中,探针是病原的特异核酸序列,可用来检测出病原是否存在。其中应用最广的是原位杂交检测(ISH)技术,近十年来应用特异的核酸探针鉴定寄生虫和诊断寄生虫病的研究报道较多。现有资料表明,DNA 探针检测的特异性和敏感性高,并且 DNA 探针是直接检测寄生虫的基因,因此比血清学方法可靠;又因探针 DNA 较稳定,在合适条件下可较长期保存;在试验条件不变时试验结果的重现性较好。在寄生虫病的诊断、现场调查、寄生虫种的鉴定及分类等方面的研究中均已使用了 DNA 探针技术,内容包括原虫、吸虫、绦虫、线虫等的鉴定和病原诊断。另外,核酸探针已成功地用于许多媒介体内的寄生虫鉴定。

但目前,大多数寄生虫的分子生物学诊断技术仍不成熟,仍停留于实验室阶段,缺乏大量样品的检测应用和进一步优化、验证,特别是在稳定性、重复性等方面还有待提高,距离实际应用仍有一定距离,病原分离及形态学鉴定仍然是寄生虫种类鉴定的金标准。

水生动物寄生虫检查大多采用全身剖检法,即在流行病学调查、分析的基础上,采取发病的鱼或者贝类,在实验室内,按照先表后里的顺序逐只剖检,并对分离获得的虫体,借助显微镜等工具进行种类鉴定。本节以鱼为例进行介绍。

### 一、采样和送样

采样前,在条件许可的情况下应察看现场,测量池中的水温及 pH,察看水色、水

源和塘面及鱼群的活动与死鱼的情况，了解发病的经过及已采取的措施等，详细记录以备确诊时参考之用。

做检查诊断的病鱼要采用活鱼或刚死不久的，否则会因鱼死后太久，而使某些症状消失或体表的病原死亡，或病原离开宿主而无法鉴别，从而影响诊断结果的可靠性、正确性。

为了流行病学调查而进行的采样，所采集样品数量应满足该病发病率下疫病诊断所需的最少量，一般情况是按照 2% 的发病率计算、采取 150 尾送样。

需要送样时，采集的样品应冰鲜运输，但应避免冷冻，防止样品在运输途中腐败变质，保持组织的完整性；动物个体较大时，为了运输方便，也可只采取感染、发病组织送检。

送样时，应该根据动物品种、采样地点等分别采样并做好标记，在必要时标明组织部位。如有可能，将动物发病率、感染率、症状等流行病学情况作为备注信息注明。

## 二、实验室检查

### (一) 检查应注意的事项

检查过程中要保持鱼体表面的湿润。因鱼体一经干燥，部分病症就自行消失，病原难以识别。取样时，标本（待检病鱼）应放在盛水的桶中，如路途较远，病鱼应用湿布或湿纸包裹，以防干燥。

检查时，分离器官应力保各器官的完整性，并分别放置，特别要注意，切莫让各器官之病原相互污染，并保持湿润，防止干燥。

所有用具要洗净，防止其相互污染，影响检查结果。检查应按一定的顺序进行，否则会发生忙乱或遗漏。遇到一时不能肯定的病原或病变的材料应留下标本，以备进一步研究。

用于检查的病鱼应有一定的数量，以保证结果的代表性和可靠性，有条件时应检查 3~10 尾。

### (二) 检查方法

#### 1. 肉眼检查

鱼类的寄生虫病有时会在有关部位出现一定的病理变化，呈现出症状，有时症状清楚，可用肉眼作现场初步诊断。但有时有些病并无特殊明显的症状，或由于病原细小或隐藏于组织器官中，肉眼难于查看。因此，凡有条件者应进行镜检，以保证诊断之准确。

#### 2. 镜检

指利用显微镜或解剖镜进行检查。主要采用湿抹片法、压片法、组织切片法等方法。

(1) 湿抹片法 是最常用的一种方法。取一点受检的组织，如鳃丝、体表溃疡处、消化道的内含物、体表附着物或黏液等放置于载玻片上，加上一滴清水（或海水）用镊子将组织分散，盖上盖玻片，稍加压平，即可观察。玻片上的受检组织不能放置太多、

太厚和互相重叠。

(2) **压片法** 是用一些柔软组织,如肝胰脏、肌肉、心脏、肠壁等进行检查。取一小块组织于玻片上,轻轻盖上另一载玻片,轻压令受检组织压成一透明薄片即可观察,无需加水。亦可用盖玻片加压,做成血片检查。

(3) **组织切片法** 是寄生虫形态学观察的主要方法,可在原位呈现寄生虫的形态,包括取材、固定、洗涤和脱水、透明、浸蜡、包埋、切片与粘片、脱蜡、染色、脱水、透明等步骤。切片标本经过染色、封片后可长期保存使用,为永久性显微玻片标本。

染色的目的是使细胞组织内的不同结构呈现不同的颜色以便于观察。经典的苏木精(Hematoxylin)和伊红(Eosin)染色法是组织学标本及病理切片标本的常规染色,简称HE染色。经HE染色后,细胞核被苏木精染成紫蓝色,多数细胞质及非细胞成分被伊红染成粉红色。

为了更为精确的观察寄生虫的形态结构,有时候需要对组织切片或者寄生虫标本进行电镜观察。为了进行透射电镜观察而制作标本时,样品需用戊二醛、锇酸固定 Epon树脂包埋,然后用超薄切片机切片。超薄切片置铜网格上进行柠檬酸铅和醋酸铀复染后,透射电镜观察。

### (三) 检查步骤

检查病鱼时,需按一定步骤顺序进行,一般先体外,后体内。以鲤为例,其解剖结构如图0-1所示。各器官的顺序先后如下:①黏液、②鳍、③鼻腔、④血液、⑤鳃、⑥口腔、⑦脂肪组织、⑧胃肠、⑨肝、⑩脾、⑪胆囊、⑫心脏、⑬鳔、⑭肾、⑮膀胱、⑯性腺、⑰眼、⑱脑、⑲脊髓、⑳肌肉。

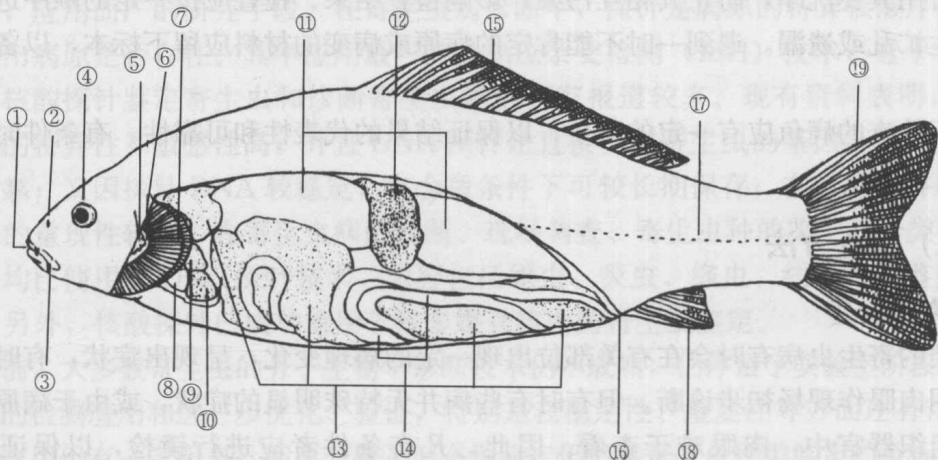


图0-1 鲤解剖结构

- ①口 ②鼻孔 ③须 ④眼 ⑤鳃耙 ⑥鳃弓 ⑦鳃丝 ⑧动脉球 ⑨心房 ⑩心室  
⑪鳔 ⑫肾脏 ⑬肝胰脏 ⑭肠 ⑮背鳍 ⑯肛门 ⑰侧线 ⑱臀鳍 ⑲尾鳍

(畑井喜司雄和小川和夫, 2007)

#### 1. 肉眼检查病鱼体表

将病鱼放在解剖盘上,首先注意其体色及肥瘦情况;观察体表黏液之多少或鳍条上有没有小白点并与黏液相伴呈米粉状样结构;有无明显病症出现,如有无白色瘤状物或细



小白点、有无突出的红点、有无炎症、鳞片下有无花纹存在、有无黑点或肉眼可见寄生虫的存在；头背面有无充血等种种异常现象的出现。

体表检查之后，将鳃盖掀起，注意观察鳃的色泽，黏液的多少，有无白点，瘤块是否存在，鳃有无肿大，鳃丝末端是否肿大发白及是否有异物存在，鳃盖是否有外翻等变化，并注意鳍的非正常改变。

## 2. 镜检有关器官

肉眼外表检查之后，进入解剖检查。由于病鱼的发病部位，一般常见于皮肤、鳃及肠道，故主要介绍这3个部位，余者请参照执行。

(1) 皮肤 在鱼类的体表，除肉眼检查时可见的寄生虫外，往往还有许多肉眼看不见的寄生虫，例如口丝虫、颤动隐鞭虫、黏孢子虫、小瓜虫、车轮虫、三代虫以及吸虫囊蚴等。检查的方法是用解剖镊刮取体表的黏液，加上盖玻片，进行观察。

(2) 鳃 检查鳃时，先用剪刀将左右两边的鳃完整地取出，放在培养皿里。首先仔细观察鳃上有没有肉眼可见的寄生虫，再看色泽如何；然后，用小剪刀剪取小块鳃组织，放在载玻片上，加上少量清水，盖上盖玻片，在显微镜下检查。鳃瓣是特别容易被寄生虫侵害的器官，如各类原生动物、单殖类和复殖类吸虫的囊蚴、蛭类、软体动物寄生幼虫、甲壳类等，在鳃上往往都可以找到。检查时，在每边鳃的第一片鳃片接近两端的位置剪取一小块鳃丝，因为这个地方寄生虫较集中。

检查小型寄生虫后，可把整个鳃放在培养皿里，加入清水（淡水或海水），将鳃小片逐片剪开，在解剖镜下观察。观察时，用两根解剖针，把鳃丝逐条拉开，仔细检查，或用镊子将每片鳃片的鳃上所有内含物完全刮下，放在培养皿里，用清水稀释、搅匀后，在解剖镜或低倍显微镜下进行检查。也可用清水洗涤数次，倒弃上清液，检查单殖类。

(3) 肠道 检查肠胃时，首先要把肠的外壁上的脂肪组织尽量除干净，否则脂肪会混进肠的内含物，从而妨碍观察。除净脂肪组织后，将肠管前后拉长，摆在解剖盘上。先用肉眼检查，看肠外壁有无白点，这些白点通常是黏孢子虫或微孢子虫的孢囊。

肉眼检查完后，一般分段检查（分前、中、后三段），取肠内含物进行镜检，每段检查两片，常可见到各类寄生物，如各种原生动物、蠕虫。

镜检后，将肠管剪开，如果发现大型寄生虫，就先行取出，放在培养皿中，并注意肠管是否有溃烂、发红发紫或有无白点等变化。最后再用压片法，检查肠管。同时在作压片法检查之前应将肠的内含物都刮下来，放在培养皿里，加入生理盐水冲洗搅匀，再检查吸虫之类寄生虫存在与否。

## 三、鱼病的诊断

鱼病诊断的目的在于通过观察、检查、分析，对病鱼所患疾病，做出正确的判断，以便对症下药，采取合理措施。

见到病鱼后，先用肉眼观察，注意哪里有病变、病变程度等有关情况，什么病变是主要的，这样大致就可初步确定鱼患什么病。

如果病鱼所出现的病症不明显，或单凭肉眼无法确定的疾病，应进行镜检。依据病